

**T.C**

**SİNOP ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DEHİDROABİETİK ASİTİN TUZ STRESİ ALTINDAKİ SOYA (*Glycine max.* L.)  
BİTKİSİNDE OLUŞTURDUĞU SAVUNMA CEVAPLARI VE SİNYAL İLETİM  
YOLU ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**EDA TAŞCI**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN**

**DOÇ. DR. BURCU SEÇKİN DİNLER**

**SİNOP-2019**

## TEZ KABUL

Eda TAŞÇI tarafından hazırlanan “ DEHİDROABİETİK ASİTİN TUZ STRESİ ALTINDAKİ SOYA (*Glycine max. L.*) BİTKİSİNDE OLUŞTURDUĞU SAVUNMA CEVAPLARI VE SİNYAL İLETİM YOLU ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI ” başlıklı bu çalışma, 28.06.2013 tarihinde yapılan savunma sınavı sonucunda başarılı bulunarak, jürimiz tarafından **YÜKSEK LİSANS tezi** olarak kabul edilmiştir.

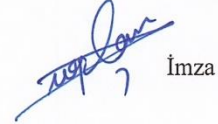
**Başkan** Doç. Dr. Burcu SEÇKİN DİNLER  
Sinop Üniversitesi/ Fen-Edebiyat Fakültesi

 İmza

**Üye** Dr. Öğretim Üyesi Sevda TÜRKİŞ  
Ordu Üniversitesi / Eğitim Fakültesi

 İmza

**Üye** Dr. Öğretim Üyesi Pınar ÇAM İCİK  
Sinop Üniversitesi/ Fen-Edebiyat Fakültesi

 İmza

## **ETİK BEYANI**

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım tez çalışmasında; tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

**EDA TAŞÇI**

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa

SEMBOLLER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	iii
ŞEKİLLER VE ÇİZELGELER LİSTESİ.....	vi
ÖZET.....	ix
ABSTRACT.....	x
TEŞEKKÜR.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
3. MATERYAL METOD.....	11
3.1. Bitki Materyali ve Deneme Düzenegi.....	11
3.2. Büyüme parametreleri.....	11
3.2.1. Uzunluk Ölçümü.....	11
3.2.2. Yaş ve Kuru Ağırlık Ölçümü.....	12
3.2.3. Bağlı Su İçeriğinin Ölçülmesi.....	12
3.3. Klorofil Miktarının Belirlenmesi.....	12
3.4. Yaprak Alanının Ölçülmesi.....	12
3.5. Bağlı Elektrolit İletkenliği.....	12
3.6. Prolin Miktarı.....	13
3.7. Lipit Peroksidasyon Düzeyi (MDA).....	13
3.8. Hidrojenperoksit (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) Miktarı.....	13
3.9. Süperoksit Anyon Radikali (O <sub>2</sub> <sup>•-</sup> ) Savurma Kapasitesi.....	14
3.10. Hidroksil Ayon Radikali (OH <sup>•</sup> ) Savurma Kapasitesi.....	14
3.11. Antioksidan Enzim ve İzoenzim Aktiviteleri.....	14
3.11.1. Süperoksit dismutaz (SOD; EC 1.15.1.1) enzim ve izoenzim aktivitesi.....	14
3.11.2. Askorbat Peroksidaz (APX; EC 1.11.1.11) Enzim ve İzoenzim Aktivitesi.....	15
3.11.3. Peroksidaz (POX; EC 1.11.1.7) Enzim Aktivitesi.....	16
3.11.4. Glutatyon- S-Transferaz (GST; EC) 2.5.1.18) Enzim ve İzoenzim Aktivitesi.....	16
3.12. <i>GmWRKY71</i> Gen İfadesi.....	17
3.13. İstatistiksel analiz.....	17
4. BULGULAR.....	18
4.1. Büyüme Parametrelerinin Sonuçları.....	18
4.1.1. Uzunluk, Kuru ve Yaş Ağırlık Ölçümleri.....	18

4.1.2.	Bağlı Su İçeriği, Yaprak Alanı, Elektrolit İletkenliği, Klorofil Miktarı .....	21
4.2.	Hidroksil Anyon Radikali (OH <sup>-</sup> ) Savurma Kapasitesi .....	23
4.3.	Süperoksit Anyon Radikali (O <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) Savurma Kapasitesi.....	23
4.4.	Hidrojen (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) Peroksit Miktarı.....	24
4.5.	Lipit Peroksidasyonu (MDA) .....	25
4.6.	Prolin Miktarı .....	26
4.7.	WRKY 71 Gen İfadesi .....	27
4.8.	Antioksidan enzim ve izoenzim aktiviteleri .....	28
4.8.1.	Süperoksit dismutaz (SOD; EC 1.15.1.1) enzim ve izoenzim aktivitesi .....	28
4.9.	Peroksidaz (POX; EC 1.11.1.7) Enzim Aktivitesi.....	30
4.10.	Askorbat Peroksidaz (APX; EC 1.11.1.11) Enzim ve İzoenzim Aktivitesi.....	32
4.11.	Glutasyon- S-Transferaz (GST; EC 2.5.1.18) Enzim ve İzoenzim Aktivitesi.....	34
5.	TARTIŞMA .....	36
5.1.	Büyüme Parametreleri .....	36
5.2.	Bağlı su içeriği.....	37
5.3.	Yaprak alanı.....	38
5.4.	Bağlı Elektrolit İletkenliği .....	38
5.5.	Klorofil miktarı.....	38
5.6.	Prolin miktarı.....	39
5.7.	Hidrojen Peroksit H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	39
5.8.	Lipit Peroksidasyonu (MDA) .....	40
5.9.	Hidroksil Anyon Radikali (OH <sup>-</sup> ) Savurma Kapasitesi .....	40
5.10.	Süperoksit Anyon Radikali (O <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) Savurma Kapasitesi .....	40
5.11.	Antioksidan enzim ve izoenzim aktiviteleri .....	41
5.11.1.	Süperoksit dismutaz (SOD; EC 1.15.1.1) enzim ve izoenzim aktivitesi.....	41
5.11.2.	Peroksidaz (POX; EC 1.11.1.7) Enzim Aktivitesi .....	41
5.11.3.	Askorbat Peroksidaz (APX; EC 1.11.1.11) Enzim ve İzoenzim Aktivitesi.....	42
5.11.4.	Glutasyon- S-Transferaz (GST; EC: 2.5.1.18) Enzim ve İzoenzim Aktivitesi ..	42
5.12.	WRKY .....	43
6.	SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	44
	KAYNAKLAR.....	45
	ÖZGEÇMİŞ .....	53

## SEMBOLLER VE KISALTMALAR LİSTESİ

### SEMBOLLER

%	Yüzde
(O <sub>2</sub> <sup>•-</sup> )	Süperoksit Radikali
(OH <sup>•</sup> )	Hidroksil Radikali
µmol	Mikromolar
€	Ekstraksiyon Katsayısı
°C	Santigrat Derece
<sup>1</sup> O <sub>2</sub>	Singlet Oksijen
Cm	Santimetre
CO <sub>2</sub>	Karbondioksit
dIH <sub>2</sub> O	Deiyonize Su
dk	Dakika
gr	Gram
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen Peroksit
L	Litre
mA	Miliamper
mg	Miligram
ml	Mililitre
mM	Milimolar
mmol	Milimol
nm	Nanometre
O <sub>2</sub>	Oksijen
pg	Pikogram
rpm	Dakikada Devir Sayısı
UV	Ultraviyole

## KISALTMALAR

ABA	Absisik Asit
APX	Askorbat Peroksidaz
ATP	Adenozin Trifosfat
BSİ	Bağıl Su İçeriği
CDNB	1-kloro-2,4-dinitrobenzen
DA	Dehidroabietinal
DAB	3,3'-Diaminobenzidin Tetrahidrokloroid
DHA	Dehidroabietik asit
DHAR	Dehidroaskorbat Redüktaz
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
EC	Enzim Numaraları
EDTA	Etil Diaminotetra Asetik asit
GPX	Glutasyon Peroksidaz
GRXC9	Glutaredoksin C9
GSH	Glutasyon
GSNO	S- Nitroglutasyon
GSSH	Okside Glutasyon
GST	Glutasyon s-transferaz
HPLC	Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
JA	Jasmonik Asit
KA	Kuru Ağırlık
MDA	Malondialdehid
MDAR	Monodehidroaskorbat Redüktaz
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NBT	Nitro Blue Tetrazolium
NO	Nitrik Oksit
PAGE	Poliakrilamid Jel Elektroforez
PAL	Fenilalanin Amino Liyaz
POX	Peroksidaz
PVPP	Polivinil Polipirolidin
RNA	Ribo Nükleik Asit

ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SA	Salisilik Asit
SAR	Sistemik Kazanılmış Direnç
SOD	Süperoksit Dismutaz
TA	Turgorlu Ağırlık
TBA	Tiobarbutrik Asit
TCA	Trikloroasetik Asit
TF	Transkripsiyon faktör
WRKY	Worky Geni
YA	Yaş Ağırlık





## ŞEKİLLER VE ÇİZELGELER LİSTESİ

### ŞEKİLLER

#### Sayfa

- Şekil 1.1. Bitkilerde tuz kaynaklı stresin sonuçları (Hasanuzzaman ve ark., 2018) .....2
- Şekil 2.1. Tuz stresinin ROT sinyalleme (Yang ve Guo 2018).....4
- Şekil 2.2. Dehidroabietinal (DA), Dehidroabietik asit (DHA)(Gonzalez ve ark. 2010).....6
- Şekil 2.3. Dehidroabietinal (DA) ve dehidroabietik asit (DHA) oluşumu (Shah, 2016) .....6
- Şekil 2.4. DA'nın FLD ve SAR mekanizmasını uyarması (Shah, 2016).....8
- Şekil 2.5. Yüksek bitkilerde WRKY familyasının filogenetik ağacı (Rushton ve ark 2010) 9
- Şekil 2.6. Soya Bitkisi ( Çırak ve Esenal 2005) .....10
- Şekil 3.1. Soya bitkisinin (*Glycine max* L.) genel görünümü .....11
- Şekil 4.1. Ön DHA uygulamasının soya yapraklarında Hidroksil anyon radikali savurma kapasitesi üzerindeki zamana bağlı etkisi [K: Kontrol, DHA: Dehidroabietik asit, NaCl: Tuz stresi, DHA + NaCl: Dehidroabietik asit + Tuz stresi;  $\pm$ : standart hata. Sütunlar üzerindeki farklı harfler farklılığın  $P<0,05$  düzeyinde anlamlı olduğunu göstermektedir, (n=6)]. .....23
- Şekil 4.2. Ön DHA uygulamasının soya yapraklarında Süperoksit anyon radikali savurma kapasitesi üzerindeki zamana bağlı etkisi [K: Kontrol, DHA: Dehidroabietik asit, NaCl: Tuz stresi, DHA + NaCl: Dehidroabietik asit + Tuz stresi;  $\pm$ : standart hata. Sütunlar üzerindeki farklı harfler farklılığın  $P<0,05$  düzeyinde anlamlı olduğunu göstermektedir, (n=6)]. .....24
- Şekil 4.3. Ön DHA uygulamasının soya yapraklarında hidrojen peroksit miktarı üzerindeki zamana bağlı etkisi. [K: Kontrol, DHA: Dehidroabietik asit, NaCl: Tuz stresi, DHA + NaCl: Dehidroabietik asit + Tuz stresi;  $\pm$ : standart hata. Sütunlar üzerindeki farklı harfler farklılığın  $P<0,05$  düzeyinde anlamlı olduğunu göstermektedir, (n=6)]......25
- Şekil 4.4. A: Ön DHA uygulamasının soya yapraklarında lipit peroksidasyon miktarı üzerindeki farklı konsantrasyonlara bağlı etkisi. B: Ön DHA uygulamasının soya yapraklarında MDA miktarı üzerindeki zamana bağlı etkisi [K: Kontrol, DHA: Dehidroabietik asit, NaCl: Tuz stresi, DHA + NaCl: Dehidroabietik asit + Tuz stresi;  $\pm$ : standart hata. Sütunlar üzerindeki farklı harfler farklılığın  $P<0,05$  düzeyinde anlamlı olduğunu göstermektedir, (n=6)]. .....26
- Şekil 4.5. Ön DHA uygulamasının soya yapraklarında prolin miktarı üzerindeki zamana bağlı etkisi [K: Kontrol, DHA: Dehidroabietik asit, NaCl: Tuz stresi, DHA + NaCl:

- Dehidroabietik asit + Tuz stresi;  $\pm$ : standart hata. Sütunlar üzerindeki farklı harfler farklılığın  $P<0,05$  düzeyinde anlamlı olduğunu göstermektedir, (n=6)]. .....27
- Şekil 4.6. Ön DHA uygulamasının soya yapraklarında gen ifadesi üzerindeki zamana bağlı etkisi [K: Kontrol, DHA: Dehidroabietik asit, NaCl: Tuz stresi, DHA + NaCl: Dehidroabietik asit + Tuz stresi;  $\pm$ : standart hata. Sütunlar üzerindeki farklı harfler farklılığın  $P<0,05$  düzeyinde anlamlı olduğunu göstermektedir, (n=6)]. .....28
- Şekil 4.7. Ön DHA uygulamasının soya yapraklarında SOD enzim ve izoenzim ativitesi üzerindeki zamana bağlı etkisi. A: Elektroforez jel görüntüsü B: Total SOD enzim grafiği C: SOD izoenzim grafiği [K: Kontrol, DHA: Dehidroabietik asit, NaCl: Tuz stresi, DHA + NaCl: Dehidroabietik asit + Tuz stresi;  $\pm$ : standart hata. Sütunlar üzerindeki farklı harfler farklılığın  $P<0,05$  düzeyinde anlamlı olduğunu göstermektedir, (n=6)]. .....29
- Şekil 4.8. Ön DHA uygulamasının soya yapraklarında POX enzim ve izoenzim ativitesi üzerindeki zamana bağlı etkisi. A: Elektroforez jel görüntüsü B: Total POX enzim grafiği C: POX izoenzim grafiği [K: Kontrol, DHA: Dehidroabietik asit, NaCl: Tuz stresi, DHA + NaCl: Dehidroabietik asit + Tuz stresi;  $\pm$ : standart hata. Sütunlar üzerindeki farklı harfler farklılığın  $P<0,05$  düzeyinde anlamlı olduğunu göstermektedir, (n=6)]. .....31
- Şekil 4.9. Ön DHA uygulamasının soya yapraklarında APX enzim ve izoenzim ativitesi üzerindeki zamana bağlı etkisi. A: Elektroforez jel görüntüsü B: Total APX enzim grafiği C: APX izoenzim grafiği [K: Kontrol, DHA: Dehidroabietik asit, NaCl: Tuz stresi, DHA + NaCl: Dehidroabietik asit + Tuz stresi;  $\pm$ : standart hata. Sütunlar üzerindeki farklı harfler farklılığın  $P<0,05$  düzeyinde anlamlı olduğunu göstermektedir, (n=6)]. .....33
- Şekil 4.10. Ön DHA uygulamasının soya yapraklarında GST enzim ve izoenzim ativitesi üzerindeki zamana bağlı etkisi. A: Elektroforez jel görüntüsü B: Total SOD enzim grafiği C) SOD izoenzim grafiği [K: Kontrol, DHA: Dehidroabietik asit, NaCl: Tuz stresi, DHA + NaCl: Dehidroabietik asit + Tuz stresi;  $\pm$ : standart hata. Sütunlar üzerindeki farklı harfler farklılığın  $P<0,05$  düzeyinde anlamlı olduğunu göstermektedir, (n=6)]. .....35

## ÇİZELGELER LİSTESİ

### Sayfa

Çizelge 3.1. *GmWRKY71* Genine Özgü Primer Tasarımı 17

Çizelge 4.1. Ön DHA uygulamasının soya yapraklarında büyüme parametleri üzerindeki zamana bağlı etkisi [K: Kontrol, DHA: Dehidroabietik asit, NaCl: Tuz stresi, DHA + NaCl: Dehidroabietik asit + Tuz stresi; ±: standart hata. Sütunlar üzerindeki farklı harfler farklılığın  $P < 0,05$  düzeyinde anlamlı olduğunu göstermektedir, (n=6)]..... 20

Çizelge 4.2. Ön DHA uygulamasının soya yapraklarında klorofil, yaprak alanı, bağlı su içeriği, bağlı elektrolit içeriği, parametleri üzerindeki zamana bağlı etkisi. [K: Kontrol, DHA: Dehidroabietik asit, NaCl: Tuz stresi, DHA + NaCl: Dehidroabietik asit + Tuz stresi; ±: standart hata. Sütunlar üzerindeki farklı harfler farklılığın  $P < 0,05$  düzeyinde anlamlı olduğunu göstermektedir, (n=6)]..... 22

## ÖZET

Dehidroabietik asit R=COOH (DHA), bitkilerde biyotik stres altında sistemik direnç mekanizmasında rol alan diterpen resin asididir. Ancak, literatürde tuzluluk altında nasıl çalıştığına dair herhangi bir çalışma mevcut değildir. Bu çalışmada, soya (*Glycine max* L.) yapraklarında tuz stresi (200 mM) NaCl) altında DHA'nın olası sinyal iletim rolü tespit edilmiştir. Fizyolojik parametreler, klorofil miktarı, prolin miktarı, lipid peroksidasyon ürünü (MDA), hidrojen peroksit miktarı (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), süperoksit radikali (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) ve hidroksil radikali (OH<sup>•</sup>) savunma kapasitesi, antioksidan enzimler (SOD, POX, APX, GST) ve *GmWRKY-71* gen ifadeleri stres uygulamasının 6. 12. ve 24. saatlerinde tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, ön DHA uygulamasının tuz stresinin oluşturduğu hasarı azalttığı, klorofil ve yaprak alanını değerlerini iyileştirdiği, bağıl elektrik iletkenliği ve prolin seviyelerini düzenlediği, ROT savurma kapasitesini arttırdığı ve oksidatif hasarı indirgediği yönündedir. Ek olarak, ön DHA altında yapılan tuz uygulaması ile *GmWRKY-71* gen ifadelerindeki değişimler dikkat çekicidir. Sonuç olarak bu çalışmada, DHA'nın hem ROT inhibe edici olarak davranabildiği ve soya yapraklarında tuz toleransını arttırmada sinyal molekül olarak görev alabildiği ortaya konulmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Dehidroabietik asit, Soya, ROT, *WRKY-71*, Tuz stresi

## **ABSTRACT**

Dehydroabietic acid R=COOH (DHA), natural occurring diterpene resin acid is an activator of systemic acquired resistance (SAR) under biotic stress. However, there is no report how it works under salinity. In the present study, we determined the effects of DHA on salinity and it's possible role as a signal transmitter on soybean (*Glycine max* L.) leaves under salt treatment (200 mM NaCl) Furthermore physiological parameters, chlorophyll content, proline content, lipid peroxidation product malondialdehyde (MDA), hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) content, superoxide radical (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) and hydroxyl radical (OH<sup>•</sup>) scavenge capacity, antioxidant enzymes (SOD, POX, APX and GST) and *GmWRKY-71* gene expressions were investigated in treated plants at 6 h, 12 h and 24 h. The results obtained that pretreatment of DHA caused a reduction in salt induced damage, improvement in biomass yield, water status, chlorophyll and leaf area, regulation proline level and relative electrolyte leakage, an increased reactive oxygen species scavenging capacity and thus alleviation in oxidative damage. In addition to this, the changes in *GmWRKY-71* gene expressions were remarkable in soybean plants under salinity. Collectively, this results showed that DHA can behaviour as a ROS inhibitor or a signal molecule in increasing salt tolerance in soybean leaves under salinity.

**Keywords:** Dehydroabietic acid, soybean, ROS, *WRKY-71*, salt stress

## **TEŞEKKÜR**

Yüksek lisans öğrenimimi sağlayan, her zaman bana inanan bilimsel, maddi ve manevi açıdan beni destekleyip yanımda olan saygıdeğer danışman hocam Doç. Dr. Burcu SEÇKİN DİNLER'e sonsuz saygı ve teşekkürlerimi arz ederim.

Tez çalışmam sırasında cihaz temini ve kullanımı konusunda desteklerini esirgemeyen kıymetli hocam Dr. Emire ELMAS'a ve çalışmalarımnda desteğini esirgemeyen Ufkun SARISOY'a her zaman yanımda olan ve beni bu günlere getiren anne ve babama saygı ve teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Bu tezi, bana tüm kalbiyle inanan ve bana hayallerimi yaşatan abim Mehmet TAŞÇI'ya ithaf etdiyorum.

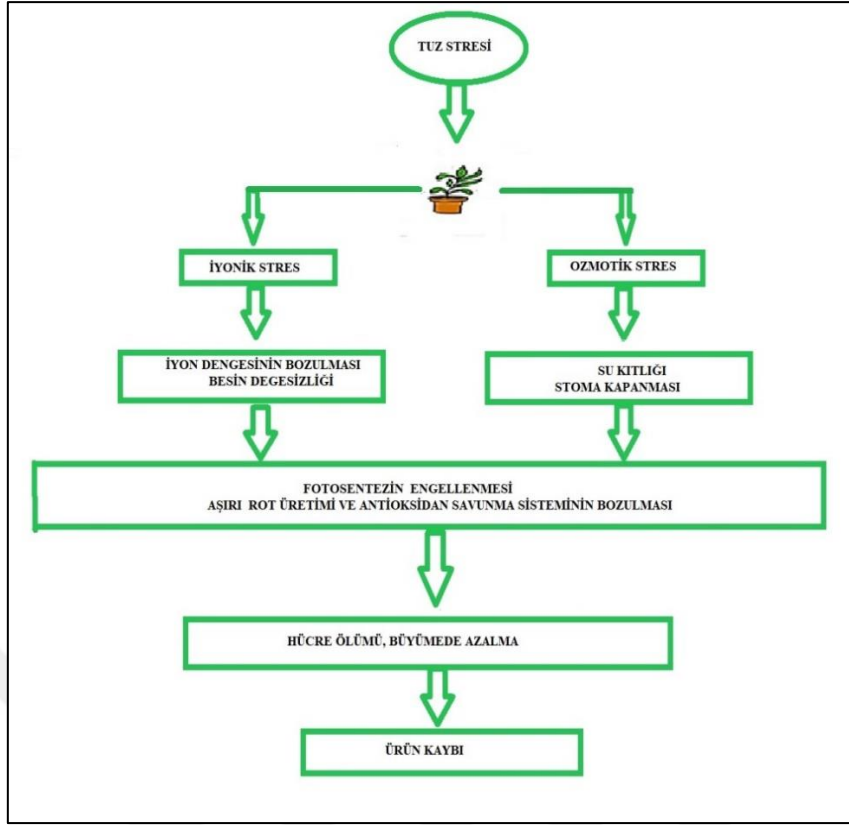
**Eda TAŞÇI**

## 1. GİRİŞ

Terpenler bitkilerde bulunan sekonder metabolitlerin en büyük grubunu oluşturur (Yazaki ve ark., 2017). Terpenler (terpenoitler veya izoprenoitler)'in alt gruplarından biri olan diterpenler, bitki büyüme ve gelişmesinde belirgin bir role sahiptirler (Croteau ve ark. 2000; Zi ve ark. 2014). Son yıllarda yapılan araştırmalarda, bitkilerde sistemik direnç mekanizmasının (SAR) hareketli sinyal molekülü (Chaturvedi ve ark., 2012) olan dehidroabietinalin (DA) de, bir diterpen olduğu öne sürülmüştür (Tholl, 2006). Dehidroabietinalden türevlenen diterpen ailesine ait asitlerden bir diğeri de dehidroabietik asittir. Dehidroabietik asit, R= COOH (DHA) doğal olarak oluşan reçine asididir (Gonzalez ve ark. 2010) .

Bitkiler, yaşamsal faaliyetlerini, üreme ve gelişme yeteneklerini kısıtlayıcı birden çok olumsuz koşula maruz kalırlar. Buldukları ortamlarda belli aralıklarla veya sürekli meydana gelen tuzluluk, bitki yaşamını tehdit eden en önemli abiyotik stres etmenlerinden biridir. Tuzluluk, sadece çimlenme ve bitki büyümesini engellemekle kalmaz, aynı zamanda verimi azaltır ve verimle ilişkili parametreleri de olumsuz etkilemektedir (Reddy ve ark., 2017; Stavridou ve ark., 2017).

Tuz stresi, fizyolojik düzeyde ozmotik ve iyonik strese neden olmaktadır. Tuzlu bir ortamda, bitkilerin ozmotik stres nedeniyle su alamamaları, dehidrasyon stresine, stoma iletkenliği ve fotosentetik enzimlerin işleyişinin bozulmasına neden olmaktadır. Bu farklı tepkiler tuzluluktan etkilenen bitkilerde iyonik toksisiteye ve besin dengesizliğine yol açmaktadır (Hasanuzzaman ve ark., 2018) İyon toksisitesi ve ozmotik stres, oksidatif strese ve bir dizi ikincil strese neden olabilen birincil streslerdir (Liang ve ark., 2018) (Şekil 1.1). Bu fizyolojik değişiklikler, protein oksidasyonu ve lipidlerin peroksidasyonu yoluyla hücre zarlarına ve diğer hücresel bileşenlere ciddi şekilde zarar veren reaktif oksijen türlerinin (ROT) aşırı üretilmesine neden olmaktadır. Bu nedenle, tuzdan kaynaklı meydana gelen oksidatif stresin bitkilerde olumsuz etkileri vardır (Hasanuzzaman ve ark., 2013).



**Şekil 1.1.** Bitkilerde tuz kaynaklı stresin sonuçları (Hasanuzzaman ve ark., 2018)

Bitkiler, tuz stresi ile meydana getirilen ROT'den hücreyi korumak için enzimatik (süperoksit dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (APX), katalaz (KAT), glutatyon redüktaz (GR), peroksidaz (POD), monodehidroaskorbat redüktaz (MDAR), dehidroaskorbat redüktaz (DHAR) ve glutatyon peroksidaz (GPX) ) ve enzimatik olmayan (askorbat, glutatyon (GSH), a-tokoferol, karotenoid ve fenolik bileşikler) (Mittler ve ark., 2004), antioksidanların yanı sıra birçok gen ailesini kullanmaktadırlar. Bugüne kadar, birçok bitkide çok sayıda strese duyarlı gen tanımlanmıştır. Bu genler genellikle iki tipte sınıflandırılır (Shinozaki ve ark., 2003). Bunlardan biri, hücreleri doğrudan strese karşı korumak için işlev gören detoksifikasyon enzimi, su kanalı, geç embriyogenez bol (LEA) proteini gibi önemli enzimleri ve metabolik proteinleri (fonksiyonel proteinler) kodlayan fonksiyonel genlerdir. Diğerleri ise transkripsiyon faktörleri (TF'ler) ve stres yanıtındaki sinyal ve gen ifadesini düzenleyen protein kinazları içeren çeşitli proteinleri kodlayan düzenleyici genlerdir. Sinyal iletilme işlemlerinde, TF'ler, stres sinyali algısının strese cevap veren gen ifadesinin dönüştürülmesinde önemli rol oynamaktadır. Sinyal yanıtındaki birçok genin yanı sıra en önemli genlerden biri WRKY transkripsiyon faktörü ailesidir. Soya bitkisinde tuz toleransı ile işlevselliği bildirilen 64 WRKY gen dizisi tuz stresine yanıt vermiştir (Zhou ve ark. 2008). Ancak bu sayı toplam WRKY genlerinin sadece yaklaşık üçte birini temsil etmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, tuz stresi altındaki

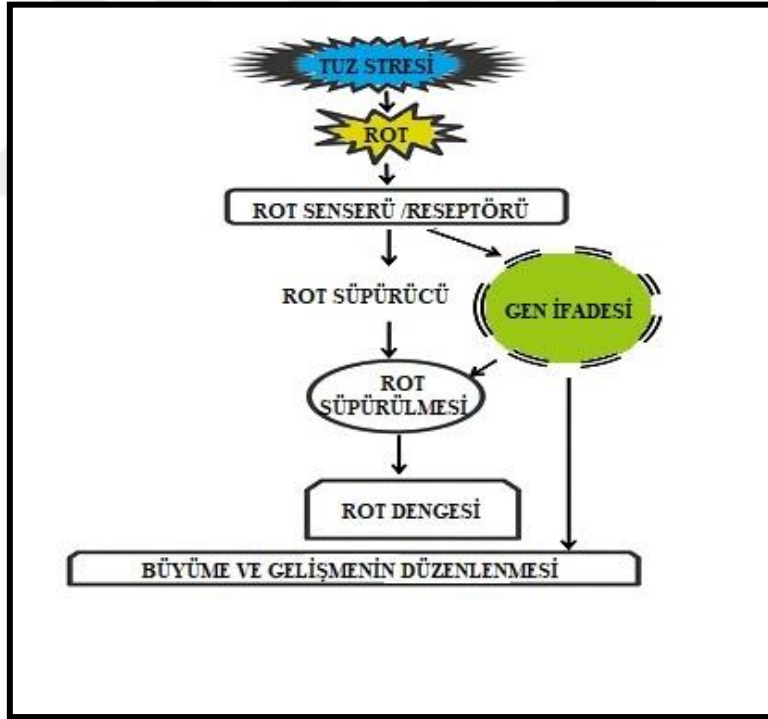


soya bitkisi yapraklarında 188 WRKY geninin 66'sının transkripsiyonel olarak düzenlendiği ancak tek inaktif genin *WRKY-71* olduğu tespit edilmiştir (Yu ve ark., 2016)

Bu nedenle çalışmamızda, 3 gün süre ile 12 saatte bir ön (3,3 mM) DHA uygulaması yapılan soya bitkisi (*Glycine max* L.) SA-88 yaprakları, 200 mM NaCl konsantrasyonuna maruz bırakılmıştır. Literatürde DHA'nın abiyotik stres koşulları altındaki etkilerinin (reaktif oksijen türlerinin oluşması veya süpürülmesi, antioksidan enzimlerinin uyarılması, transkripsiyon faktörlerinin etkinleştirilmesi) tespitine ilişkin bilgiye rastlanmamıştır. Bu nedenle elde edilen sonuçlar, hareketli sinyal molekülü olan DHA'nın, tuzluluk ile tetiklenen savunma mekanizmaları arasındaki ilişkisinin ortaya konulması ve özellikle reaktif oksijen türleri ile etkileşiminin aydınlatılmasının ilk kez rapor edilmesi açısından son derece önemlidir. Ayrıca soya bitkisinde ilk defa dehidroabietik asit (DHA)'in ROT ve tuzlukta inaktif olan tek *WRKY71* geni arasındaki etkileşiminin tespit edilmesi hedeflenmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

Bitkiler, çoğu zaman elverişsiz veya biyotik ve abiyotik strese bağlı sürekli değişen ortamlarda yaşarlar. Abiyotik streslerden biri olan tuzluluk bitkilerin coğrafi dağılışını etkileyen en önemli çevresel faktördür (Zhu 2016). Doğadaki bitkilerin sayısı, tarımdaki bitki verimliliğini sınırlandırır ve gıda güvenliğini tehdit eder. Tuz stresi, hücreler üzerinde hem ozmotik hem de iyonik veya iyon toksisitesi olarak bilinen birincil etkilere neden olmaktadır (Liang ve ark., 2018). Tuz stresinin ikincil etkileri ise oksidatif strese, proteinlere, membran lipidleri ve nükleik asitler gibi hücresel bileşenlerin zarar görmesine ve metabolik fonksiyon bozukluğuna sebep olmaktadır (Yang ve Guo 2018). Tuz stresi, bitki hücrelerinde ROT sinyal iletimini ve tepkileri tetikler (Şekil 2.1). ROT'lar tekli oksijen ( $O_2$ ), süperoksit molekülü ( $O_2^{\bullet-}$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), hidroksil radikali ve ( $OH^{\bullet}$ ) perhidroksil radikali ( $HO_2$ ) gibi moleküllerdir. Bu moleküller  $O_2$ 'nin  $H_2O$  oluşturmak için enerji veya elektron transferinin gerçekleştirdiği indirgenme reaksiyonlarının ara ürünleridir (Apel ve Hirt, 2004).

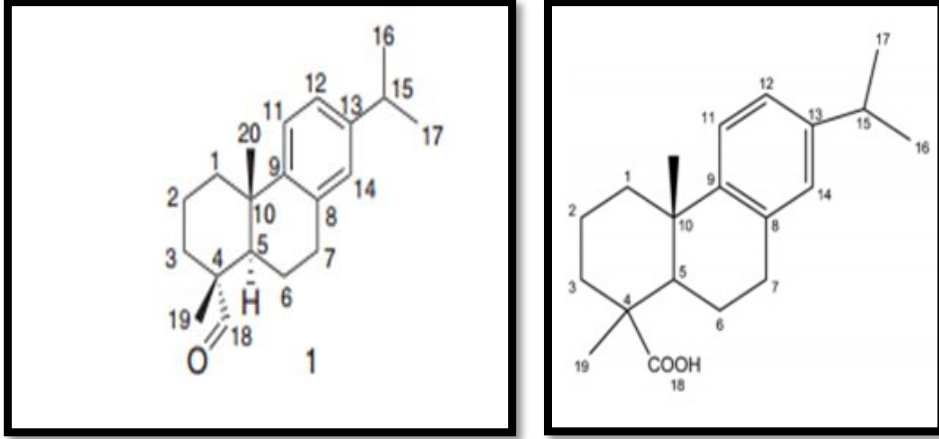


Şekil 2.1. Tuz stresinin ROT sinyalleme mekanizması (Yang ve Guo 2018)

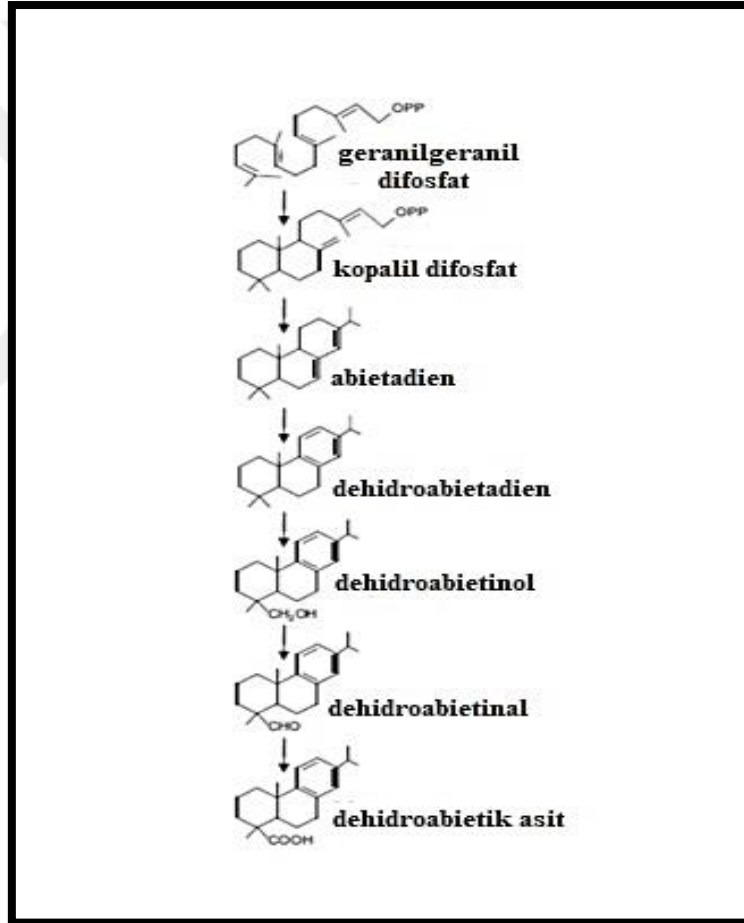
ROT'lar süperoksitdismutaz (SOD), askorbatperoksidaz (APX), katalaz (CAT), glutatyon S transferaz (GST), peroksidaz (POX), glutatyonperoksidaz (GPX) ve peroksitoksin (PRX) ve ayrıca askorbik asit ve glutatyon (GSH) gibi çok sayıda detoksifiye edici antioksidanlar tarafından yok edilir (Choudhury ve ark., 2017; Mittler ve ark., 2004). SOD,  $O_2^{\bullet-}$ 'i hızla  $H_2O_2$

ve O<sub>2</sub>'ye dönüştürmektedir (Demidchik, 2015). KAT ile çeşitli peroksidazlar, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin parçalanmasını katalizlemektedir (Parida ve Das, 2005). Askorbat-glutasyon döngüsünün ilk adımında askorbatperoksidaz (APX) enzimi, elektron vericisi olarak askorbatı kullanarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> detoksifikasyonunda rol oynamaktadır (Foyer ve Noctor, 2018). İndirgenmiş glutasyon (GSH), yükseltgenmiş glutasyonu (GSSG) oluşturan askorbat havuzunun oluşumundan sorumludur. NADPH'a bağlı GSSG indirgenmesi, sitoplazma, kloroplast ve mitokondrilerde bulunan GR enzimi ile katalizlenmektedir. GR, Halliwell-Asada yolunun son adımını katalizleme, kloroplastlardaki CO<sub>2</sub> tutucu enzimlerin aktivasyonu ve askorbat üretimi için gereklidir (Azevedo-Neto ve ark., 2006).

Reçine asitleri doğal olarak dehidroabietik formundan oksitlenmektedirler (Şekil 2.2) (Gonzalez ve ark., 2010). Bu oksidasyon süreçleri üzerine yapılan çalışmalarda, diterpenoid asitlerdeki kimyasal bileşimlerin ve moleküler değişimlerin oksidasyon ve polimerizasyon işlemleri sonucunda meydana geldiği belirlenmiştir (Shah, 2016) (Şekil 2.3). Diterpen reçine asitleri, çifte bağ izomerleri, çeşitlilik gösteren birkaç iskelet tipinin 20 karbonlu iki veya üçlü karboksilik asitleridir. Birçok konifer, abiyetik, dehidroabietik, izopimarik, levopimarik, neoabietik, palustrik, pimarik ve sandarakopimarik asitler gibi trisiklikditerpen asitleri üretmektedir (Keeling ve Bohlmann 2006). Dehidroabietan iskeletine sahip doğal olarak bulunan diterpenoidler (ketonlar, alkoller ve fenoller) sıklıkla bitkilerden bulunup izole edilmiş ve biyolojik aktiviteleri rapor edilmiştir (Ulubelen ve ark., 2000, Mensah ve ark., 2000). Bu abietanditerpenlerin, izole kloroplastlar ve mikrozoamlardaki lipid peroksidasyonunu ve süperoksit oluşumunu engelleyebildiği, biyolojik membranları kimyasal olarak uyarılan oksidatif streslere karşı koruyabileceği gösterilmiştir (Haraguchi ve ark., 1995; Haraguchi, 1998). Ayrıca kuraklığa maruz kalan biberiye bitkisinin yapraklarında bulunan aşırı miktarda karnosik asit, a-tokoferol ve karotenoidlerin (terpenoidler) oksidatif hasarın önlenmesine katkıda bulunduğu belirlenmiştir (Munné-Bosch ve ark., 1999). Bunun dışında reçine asitlerden biri olan karnosik asit ile yapılan bir çalışmada, kuraklık stresi altında fotosentetik zarları oksidatif hasara karşı koruduğu tespit edilmiştir (Munné-Bosch ve ark., 2001).



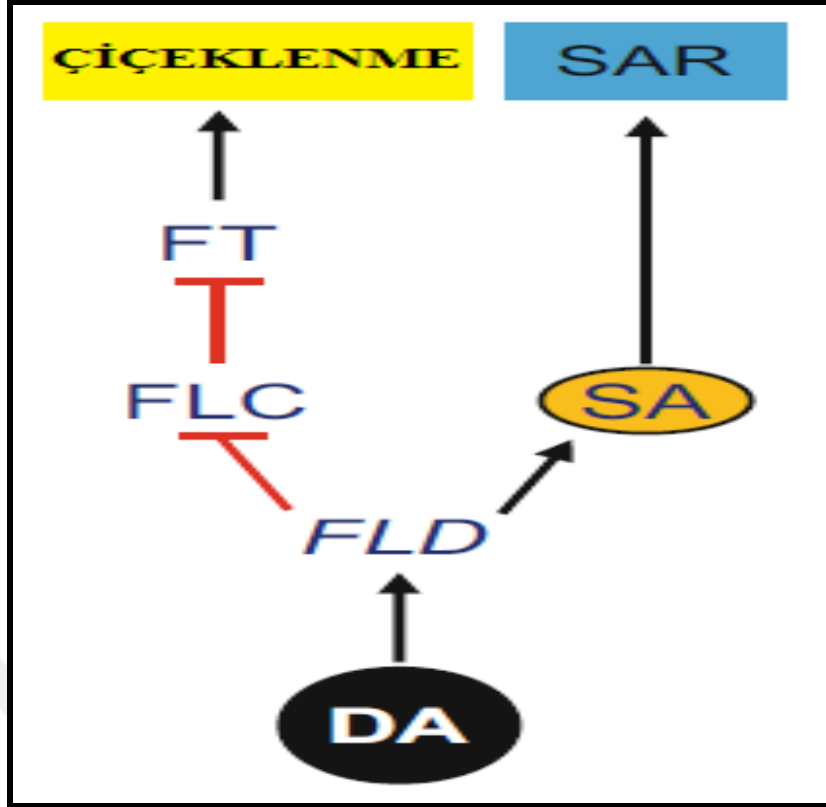
Şekil 2.2. Dehidroabietinal (DA), Dehidroabietik asit (DHA)(Gonzalez ve ark. 2010)



Şekil 2.3. Dehidroabietinal (DA) ve dehidroabietik asit (DHA) oluşumu (Shah, 2016)

Arabidopsis (*Arabidopsis thaliana*), tütün (*Nicotiana tabacum*) ve domates (*Solanum lycopersicum*) bitkilerinde yapılan çalışmalarda DA'nın SAR'ı teşvik etmesinde en güçlü etkisinin dışardan pM konsantrasyonlarda uygulanması olduğu gösterilmiştir. Gen ifadeleri çalışmaları sonucu Arabidopsis'te DA uygulamasının salisilik asit biyosentezine katılan sinyal genlerinin transkript birikimini teşvik ettiği belirtilmiştir. Nitekim DA uygulanan bitki

yapraklarında salisilik asit seviyesi artmaktadır (Chaturvedi ve ark., 2012). Bu uyarılmanın SD2 ve NPR1 genlerine bağlı salisilik asit sentezi sinyalinin kaynaklandığı tespit edilmiştir (Shah, 2001). Biyotik veya abiyotik stress koşulları altındaki bitkilerde protein sentezlenmekte ve üretilen bu proteinlerin çoğunda salisilik asit (Hoyos ve Zhang, 2000) gibi fitohormonlar etkili olmaktadır. Son yıllarda salisilikasitin (SA) farklı patojenlere karşı bitkilerde SAR oluşmasında rol oynadığı bildirilmiştir (Mettrauxs, 2001). Ayrıca DA bitkilerin çiçeklenme dönemlerinde içsel bir düzenleyici gibi rol almaktadır. Ancak DA tarafından uyarılan SAR ve çiçeklenme birbirine bağlı değildir. Sinyal iletimine bakıldığında, FLD (Flowering Locus D) ifadesinin artışına neden olduğu bunun da SA düzeylerini tetiklediği belirlenmiştir (Shah, 2016) (Şekil 2.4). Ancak literatürde DHA'nın abiyotik stress koşulları altındaki etkilerinin (reaktif oksijen türlerinin oluşması veya süpürülmesi, antioksidan enzimlerinin uyarılması, transkripsiyon faktörlerinin etkinleştirilmesi) tespitine ilişkin bilgiye rastlanmamıştır. Çalışmamızda yapılan ödenemeler doğrultusunda, dışarıdan uygulanacak olan dehidroabietik asitin, dehidroabietinalin SAR mekanizmasında üstlendiği aktivatör rolüne benzer şekilde tuzlulukta da reaktif oksijen türlerini, antioksidan enzim sistemini, transkripsiyon faktörlerini uyararak savunma cevaplarını harekete geçirebileceğini ve bitkiyi tuzluluk stresinin yaratmış olduğu hasardan koruyacağını düşünmekteyiz.

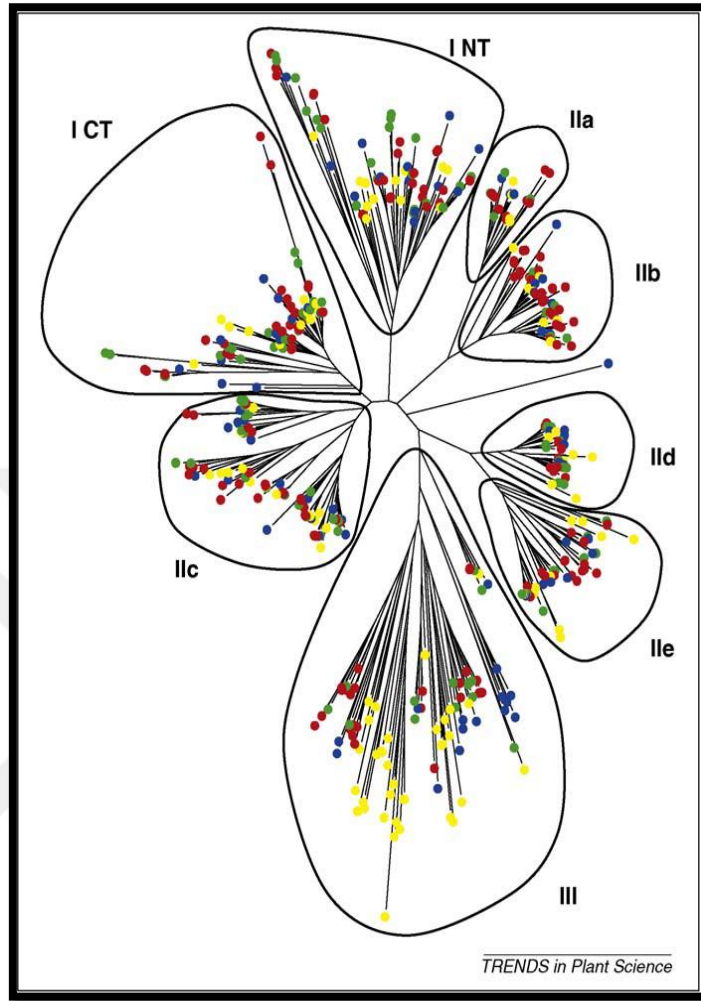


Şekil 2.4. DA'nın FLD ve SAR mekanizmasını uyarması (Shah, 2016)

WRKY transkripsiyon faktörleri, bitkilerdeki en büyük transkripsiyon düzenleme ailelerinden biridir. Birçok bitki işlevini düzenleyen sinyal ağlarının ayrılmaz parçalarını oluşturur (Ruston ve ark. 2010). WRKY proteinlerinin, W-box dizisini (T) TTGAC (C / T) içeren promoter bölgelere spesifik WRKY TF'ler üç ana gruba ayrılmıştır) iki heptapeptide sahip olanlar, grup I'de toplanmıştır; hem grup I hem de II üyeler bir C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> tipi çinko parmak motifini barındırırken, III. grup üyeler bir C<sub>2</sub>HC tane içerir. Grup II'nin büyük boyutu, peptid dizisine dayanarak beş alt gruba (IIa, IIb, IIc, IId ve IIe) bölünmesiyle ele alınmıştır (Eulgem ve ark. 2000; Rushton ve ark. 2010) (Şekil 2.5). WRKY transkripsiyon faktörleri, bitkilerde birçok stress reaksiyonunun düzenlenmesinde çok önemli rol oynar. Ancak abiyotik stress tepkilerindeki rolleri tam anlamıyla açıklanamamıştır (Zhou ve ark., 2008) Son zamanlarda yapılan çalışmalar, WRKY proteinlerinin tuz, kuraklık ve soğuk gibi abiyotik streslere cevap olarak rol oynadığını göstermiştir (Wu ve ark., 2009 ; Ren ve ark., 2010 ; Zou ve ark., 2010 ; Jiang ve ark., 2012 ; Rushton ve ark., 2012 ).

Zhou ve ark. (2008), Soya fasulyesi genomunun dizilemesinde önce 64 GmWRKY genini tanımlamış ve *GmWRKY13*, 21 ve 54 genlerinin abiyotik streslerde ifade edildiğini doğrulamıştır. Tuz stresi altındaki soya bitkisinde, 188 WRKY geninin 66'sının ifade edildiği

tespit edilmiştir. Ayrıca tuz stresine bağlı olarak soya bitkisinde *WRKY-71* geninin inaktif olması oldukça ilgi çekicidir (Yu ve ark., 2016).



**Şekil 2.5.** Yüksek bitkilerde WRKY familyasının filogenetik ağacı (Rushton ve ark 2010)

WRKY soya fasulyesi (*Glycine max*, kırmızı noktalar), pirinç (*Oryza sativa*, sarı), *Arabidopsis thaliana* (mavi) ve kavak bitkisindeki (*Populus trichocarpa*, yeşil) tam WRKY gen familyasından alanlar ve WRKY gen ailesinin evrimsel tarihi kullanılmıştır. WRKY alt ailesi, INT ve ICT, sırasıyla Grup I WRKY proteinlerinden N-terminal ve C-terminal bölgelerini belirtir. Ağaç, WRKY ailesinin I, Ila + I Ib, I Ic, I Id + I Ie ve III bölümünü ve Grup II genlerinin monoflitik olmadığı gözlemini destekler.

Soya bitkisi (*Glycine max* L.) Magnoliopsida sınıfının Fabaceae (Baklagiller) familyasına aittir (Şekil 2.6). Yüksek protein ve yağ içeriği nedeniyle bitkisel protein ve yağ kaynağı olarak kullanılan baklagillerin en önemli bitki türlerinden biridir (Moussa, 2004). Dünyanın başlıca yemeklik bitkisel yağ ve yüksek proteinli hayvan yemi kaynaklarını oluşturur (Greenway ve Munns, 1980). İnsan ve hayvan beslemesine olan katkısının yanı sıra, biyodizel üretimi ve

endüstriyel bir çok işlem için önemli bir hammaddedir (Phang ve ark., 2008; Wang ve ark., 2010). Soya bitkisi, protein, mineral, vitamin ve omega-3 yağ asitleri yönünden oldukça zengindir. Taze tohumlarda protein oranı %11-12, yağ oranı ise %5-7 civarındadır. Kuru tohumlarda ise protein oranı %36-46 iken yağ oranı %18-24'dür (Arioğlu ve ark. 2003; Çömlekçioğlu, 2009).



Şekil 2.6. Soya Bitkisi ( Çırak ve Esenal 2005)

Beş bin yıl önce keşfedilen ve halk arasında sarı altın olarak isimlendirilen soya bitkisi Çin'de yaygın olarak yetiştirilmektedir. 1830'lu yıllarda Ülkemize getirilen soya bitkisi, en fazla doğu akdeniz bölgesinde yetiştirilmektedir. Adana, Osmaniye illeri ülkemizde yetiştirilen soya miktarının %85-90 'ını karşılamaktadır (Aktaş 2013). Soya fasulyesi (*Glycine max*), tuza orta derecede duyarlı bir bitki olarak sınıflandırılır (Katerji ve ark., 2003). Özellikle erken üreme aşamasında kuraklık stresine, duyarlı olarak bilinmektedir (Westgate ve Peterson, 1993). Ülkemizdeki yaklaşık 100 milyon hektarlık alanın artan tuzluluktan etkilendiği ve durumun daha da kötüleştiği göz önüne alındığında, soyanın tuz toleransını iyileştirmeye yönelik çalışmalar büyük önem taşımaktadır.

Bu bilgiler doğrultusunda çalışmamızda, dünyada en fazla tüketilen bitkilerden biri olan soya bitkisinin tuz stresine olan toleransını arttırmak amacıyla dışarıdan uygulanan dehidroabietik asitin ROT sinyalleme, antioksidan enzim aktiviteleri ve *WRKY-71* gen ifadelrine olan etkisi incelenmiştir.



### 3. MATERYAL METOD

#### 3.1. Bitki Materyali ve Deneme Düzenegi

Soya (*Glycine max* L.) tohumları SA-88 çeşidi Agrova Tarımsal Üretim Pazarlama ve Limited Şirketi'nden temin edilmiş ve yapılan ön denemeler sonucunda uygun DHA konsantrasyonu (0,206 mM, 0,412 mM, 0,825 mM, 1,65 mM, 3,3 mM) tespit edilmiştir (Şekil 3.1) Çalışmada tohumlar, 24 °C ± 1 °C'de %60-70 nem oranına sahip iklimlendirme ortamında, 6 tekrarlı toprak kültüründe 2 litrelik plastik saksılara 6'şar adet ekilmiştir. 5- 7 gün boyunca karanlık ortamda çimlendirilen tohumlar saf su ile sulanmıştır. Çimlenen tohumlar 16 saat aydınlık / 8 saat karanlık fotoperiyotta tam kuvvethoagland besin çözeltisi (Hothem ve ark., 2003) ile fide aşamasına getirilmiştir. 21 günlük soya fideleri 50 şer adetli 4 ayrı gruba ayrılmıştır (Şekil 3.1) Soya bitkisi yapraklarına 3 gün boyunca 12 saat aralıklarla 3,3 mM ön DHA uygulaması yapılmıştır. Daha sonra bitkiler 200 mM tuz stresine maruz bırakılarak 6., 12. ve 24. saatlerde hasat edilmiştir.



Şekil 3.1. Soya bitkisinin (*Glycine max* L.) genel görünümü

#### 3.2. Büyüme parametreleri

##### 3.2.1. Uzunluk Ölçümü

Tüm gruplardan stres uygulamasının 6., 12. ve 24. saatlerinde 6'şar adet bitki örneği alınarak kök ve gövde uzunlukları (cm) alınmıştır.

### 3.2.2. Yaş ve Kuru Ağırlık Ölçümü

Tüm gruplardan stres uygulamasının 6. 12. ve 24. Saatlerinde 6'şar adet bitki örneği alınarak yaş ağırlıkları tartılıp bekletilerek kök ve gövde kuru ağırlıkları (gr) alınmıştır.

### 3.2.3. Bağlı Su İçeriğinin Ölçülmesi

Stres uygulamasının 6., 12. ve 24. saatlerinde tüm gruplardan yaprak örnekleri alınıp bağlı su içeriği (Smart ve Bingham 1974) yöntemine göre tespit edilmiştir. Yaprak örneklerinin yaş ağırlıkları alıntıktan sonra petri kaplarında dH<sub>2</sub>O içinde 6 saat bekletilip turgorlu hale getirilmiştir. Daha sonra turgorlu halleri ölçülmüş ve 70 °C'de 72 saat bektildikten sonra kuru ağırlıkları alınmıştır.

$(YA-KA) / (TA-KA) \times 100$  fomülüne göre bağlı su içerikleri % olarak hesaplanmıştır.

### 3.3. Klorofil Miktarının Belirlenmesi

Stres uygulamasının 6., 12. ve 24. saatlerinde tüm gruplardan yaprak örnekleri alınıp klorofil miktarı (Lichtenthaler ve Wellburn 1983) yöntemine göre tespit edilmiştir.

Yaprak örneklerinden 100 mg alınmış ve cam havanda 1-2 ml %80'lik aseton ile yapraklardan tüm klorofil alınmaya kadar homojenize edilmiştir. Elde edilen ekstraktın son hacmi 10 ml olacak şekilde %80'lik asetonla tamamlanmış ve tüp karıştırıcıda çalkalanmıştır. Thermo Scientific Genesys (10S UV-VIS) spektrofotometre yardımı ile klorofil a 663, klorofil b 645 nm'de okunmuştur. Klorofil a ve Klorofil b miktarları aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\text{Klorofil a} = 11.75A_{662} - 2.35A_{645}$$

$$\text{Klorofil b} = 18.61A_{645} - 3.96A_{662}$$

### 3.4. Yaprak Alanının Ölçülmesi

Stres uygulamasının 6. 12. ve 24. saatlerinde tüm gruplardan 6'şar bitki örneği alınarak yaprak alanı CID Bio-Science CI-201 taşınabilir lazer yaprak alan sayacı kullanılarak ölçülmüştür. Hesaplamalar cihazdaki program tarafından yapıp yaprak alanı mm<sup>2</sup> olarak hesaplanmıştır.

### 3.5. Bağlı Elektrolit İletkenliği

Stres uygulamasının 6. 12. ve 24. saatlerinde tüm gruplardan 6'şar yaprak örneği alınıp bağlı elektrolit iletkenliği (Singh ve ark., 2008 ) yöntemine göre tespit edilmiştir. Yapraklar (-100

mg) deiyonize suda 30 dakika boyunca titreştirildi, ardından ortamının (C1) iletkenliğinin ölçümü yapılmıştır. Örnekler 15 dakika boyunca kaynatıldı ve tekrar iletkenliği ölçülmüştür. (C2) Yüzde nispi elektrolit sızıntısı (Bağıl elektrolit iletkenliği), aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Bağıl Elektrolit İletkenliği} = \frac{C1}{C2} \times 100$$

### **3.6. Prolin Miktarı**

Stres uygulamasının 6. 12. ve 24. saatlerinde tüm gruplardan yaprak örnekleri alınıp serbest prolin miktarı Bates ve ark.,'nın (1973) yöntemine göre tespit edilmiştir. Taze bitki yapraklarından 0,5 gr tartılmış ve %3 (w/v)'lük 5 ml sülfosalisilik asit ile homojenize edilmiştir. Homojenatlar filtre kağıdı ile süzölmüştür. Daha sonra süpernatantlara 1 ml ninhidrin ve 1 ml glasiyel asetik asit ilave edilerek karıştırılmıştır. Elde edilen karışım 100 °C'lik su banyosunda 1 saat bekletilmiştir. Bir saatlik süre sonunda tüpler buzlu su içerisine konularak ve reaksiyon sonlandırılmıştır. Reaksiyon karışımı 4 ml toluen ile ekstrakte edilmiş ve 25-30 saniye tüp karıştırıcıda çalkalanmıştır. Toluene içeren renkli sıvı oda sıcaklığında bekletilmiş ve karışımın toluen içeren üst fazı spektrofotometrede 520 nm'de okunmuştur. Bitki dokularındaki prolin miktarı (µmol/g taze ağırlık) kalibrasyon eğrisi kullanılarak hesaplanmıştır.

### **3.7. Lipit Peroksidasyon Düzeyi (MDA)**

Lipit peroksidasyonun son ürünü olan MDA miktarı, stres uygulamasının 6., 12. ve 24. saatlerinde tüm gruplardan yaprak örnekleri alınıp thiobarbiturik reaksiyonunu kullanarak Madhavo Rao ve Stresty (2000) yöntemine göre tespit edilmiştir. Her gruba ait 0,5 gr yaprak örneklerine 2,5 ml TCA (trikloroasetikasit) eklenerek homojenize edilmiştir. Homojenatlar +4 °C 10.000 g'de 5' boyunca sanrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatantlara TBA (thiobarbitürikasit) ve TCA içeren reaksiyon karışımı pipetlenmiştir. Tüm deney tüpleri 95 °C'de 30' ısıtılmıştır. Karışım 10.000 g x 15' santrifüjlenmiştir. Oluşan süpernatantın 532 ve 600 nm'deki absorbans değerleri okunmuştur. Malondialdehid (MDA) konsantrasyonu, ekstinksiyonkatsayısı (155mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>) kullanılarak hesaplanmıştır.

### **3.8. Hidrojenperoksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) Miktarı**

Stres uygulamasının 6. 12. ve 24. saatlerinde tüm gruplardan yaprak örnekleri alınıp hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) miktarı Velikova ve ark.,'nın (2000) yöntemine göre tespit edilmiştir. Her gruba ait 0,5 g yaprak örneklerine 5 ml TCA (trikloroasetik asit) eklenerek homojenize

edilmiştir. Homojenatlar 15' boyunca 12.000 rpm'de santrifüjlenmiştir. Süpernatantlar 0,5 ml, buffer (potasyum fosfat 10mM, pH7) solüsyonu 0,5 ml ve 1 ml KI tampon maddesi ile karıştırılmıştır. 390 nm'de absorbans değerleri Thermo Scientific Genesys (10S UV-VIS) spektrofotometre yardımı ölçülmüştür.

### **3.9. Süperoksit Anyon Radikali ( $O_2^{\cdot-}$ ) Savurma Kapasitesi**

Süperoksit radikali Xu (2006) yöntemine göre UV-VIS spektrofotometre cihazı ile tespit edilmiştir. Stres uygulamasının 6., 12. ve 24. saatlerinde tüm gruplardan yaprak örnekleri alınıp 0,05 M sodyum karbonat tamponundan (pH) 10,5) 1,2 ml, 3 mM'luk ksantin, 3 mM EDTA , %0,15'lik bovin serum albümin ve 0.75 mM'luk nitro blue tetrazolium çözeltilerinin her birinden 0,1 ml alınarak üzerlerine 0,1 ml örnek konulup 25 °C'de 10 dakika bekletilmiştir. Reaksiyon 6 mM ksantin çözeltisi eklenerek başlatılmış 20. dakikadan sonra 6 mM CuCl'den 0,1 ml eklenerek durdurulmuştur. Absorbans değerleri 560 nm'de Thermo Scientific Genesys (10S UV-VIS) spektrofotometre yardımı ölçülmüştür.

### **3.10. Hidroksil Anyon Radikali ( $OH^{\cdot}$ ) Savurma Kapasitesi**

Hidroksil radikali Chung (1997) yöntemine göre UV-VIS spektrofotometre cihazı ile tespit edilmiştir. Hidroksil radikali,  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  varlığında Fenton reaksiyonu ile üretilmiştir. Her 0,2 ml 10 mM  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ , 10 mM EDTA ve 10 mM 2-deoksiriboz içeren bir reaksiyon karışımı, 0,2 ml ekstrakt çözeltisi ile karıştırılmış ve reaksiyon karışımına, toplam hacim 1,8 ml'ye olana kadar 0,1 M fosfat tamponu (pH 7,4) ilave edilmiştir. Daha sonra reaksiyon karışımına 0,2 ml 10 mM  $H_2O_2$  nihayet eklendi ve 4 saat 37 °C'de inkübe edilmiştir. İnkübe edilme işleminden sonra, her 1 ml %2,8 TCA (trikloroasetik asit) ve %1,0 TBA (Tiyobarbitürik asit) eklenmiştir. Son olarak, karışım 10 dakika boyunca kaynar su banyosuna yerleştirilmiştir. Absorbans 532 nm'de ölçülmüştür.

### **3.11. Antioksidan Enzim ve İzoenzim Aktiviteleri**

#### **3.11.1. Süperoksit dismutaz (SOD; EC 1.15.1.1) enzim ve izoenzim aktivitesi**

SOD enzim aktivitesi nitro blue tetrazolium'un (NBT) indirgenmesini inhibe etme yeteneğinin ölçülmesiyle spektrofotometrik olarak Beauchamp ve Fridovich (1971) ve Giannopolities ve Ries (1977)'in yöntemlerine göre tespit edilmiştir. 50 mM fosfat tamponu (pH 7,8), 33 mM NBT, 10 mM L-metionin, 0,66 mM EDTA.  $Na_2$ , 0,0033mM ribofilavin içeren 3 ml reaksiyon karışımı hazırlanmıştır.

Süpernatantlar seyreltikten sonra karışım 10 dk 300 mmol m<sup>2</sup>s<sup>1</sup> ışık şiddeti altında bekletilerek 560 nm’de verdiği absorban değerleri okunmuştur. SOD için 1 enzim birimi; ışıkla indirgenmenin %50 engellenmesine neden olan protein miktarı (mg) olarak tanımlanmaktadır. Bu nedenle yaprak örneklerindeki SOD aktiviteleri bu tanıma göre belirlenmiştir. SOD izoenzim aktivitesi; Laemli (1970) yöntemine göre eşit miktarda protein içeriğine sahip, sodyum dodesil sülfat dışında denatüre edici olmayan poliakrilamid jel elektroforezine (PAGE) yüklenmiştir. SOD izozimlerinin ayrımı için; %4,5 staking ve %12,5 seperating solüsyonları kullanılmış ve jeller 0-4 °C’de sabit akımda (60 mA) yürütülmüştür. SOD aktivitesinde jeller Beauchamp ve Fridowich (1971)’e göre riboflavin ve NBT ile fotokimyasal boyama ile tespit edilmiştir. Boyanmış olan jeller; Software (4.6.00.0; UVP Biomagingsystems, UK) programına göre görüntülenmiştir. SOD aktivitelerinin densiyometrik analizleri için; kontrol grupları %100 olarak alınmış ve elde edilen değerler % olarak gösterilmiştir. Elde edilen veriler; birbirinden bağımsız 3 jelin ortalaması alınarak elde edilmiştir.

### **3.11.2. Askorbat Peroksidaz (APX; EC 1.11.1.11) Enzim ve İzoenzim Aktivitesi**

APX enzim aktivitesi spektrofotometrik olarak Nakano ve Asada (1981)’nin yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir. Askorbat okside oldukça spektrofotometreden 290 nm’deki absorbansta oluşan azalma okunmuş ve hesaplamalar askorbatın ekstinksiyon katsayısı kullanılarak (2,8 mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>) yapılmıştır. Reaksiyon karışımı 50 mM sodyum fosfat tamponu (pH) 7), 0,5m Askorbat, 0,1 mM EDTA Na<sub>2</sub> ve 1,2 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>’den oluşturulmuştur. Askorbatın oksidasyonu, enzim ekstraktının ek ilave edilmesiyle başlatılmış ve absorbanstaki düşüş 180 sn boyunca izlenmiştir. 1 birim APX aktivitesi dakikada okside olan 1 mmol ml<sup>-1</sup> askorbat ifade edilmiştir. Askorbat peroksidaz izoenzim aktivitesi; Mittler ve Zilinkas (1993)’in yöntemine göre tespit edilmiştir. Örnekler yüklenmeden önce jeller 2 M askorbat içeren tamponda 4 °C’de 30 dakika yürütülmüştür. Daha sonra 35 µl protein içeren örnekler jellere yüklenerek sabit akım altında (60 mA) yürütülmüştür. Yürütme işleminden sonra jeller 2 mM askorbat içeren 50 mM potasyum fosfat tamponunda (pH) 7) 20 dakika inkübe edilmiş ve sonra 4 mM askorbat ve 2 mM hidrojen peroksit içeren 50 mM potasyumfosfat tamponunda (pH 7,8) 20 dakika bekletilmiştir. Ardından jeller tamponla 1 dakika yıkanmış ve 28 mM TEMED ve 2,5 mM NBT içeren 50 mM potasyum fosfattamponuna alınmış ve ışıkta 10-20 dakika bekletilmiştir. Boyanmış olan jeller; Software (4.6.00.0; UVP Biol maging systems, UK) programına göre görüntülenmiştir. APX aktivitelerinin densiyometrik analizleri için; kontrol

grupları % 100 olarak alınmış ve elde edilen değerler % olarak gösterilmiştir. Elde edilen veriler birbirinden bağımsız 3 jelin ortalaması alınarak elde edilmiştir.

### **3.11.3. Peroksidaz (POX; EC 1.11.1.7) Enzim Aktivitesi**

POX enziminin aktivitesi spektrofotometrik olarak Kanner ve Kinsella (1983)'nin metoduna göre tespit edilmiştir. Aktivite 465 nm'de 3,3'-diaminobenzidin tetrahidroklorid (DAB)'in oksidasyonu ile absorbansta meydana gelen artış izlenerek hesaplanmıştır. Polystiren küvetteki reaksiyon karışımı, DAB solüsyonu, %0,6'lık H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, dH<sub>2</sub>O ve enzim ekstraktından oluşturulmuştur. Reaksiyon H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin ilave edilmesiyle başlatılmış ve 180 sn boyunca absorbans artışı izlenmiştir. Spesifik enzim aktivitesi dakikada tüketilen  $\mu\text{mol ml}^{-1}$  H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> olarak ifade edilmiştir. POX izoenzim aktivitesi; Seevers ve arkadaşlarına (1971) göre belirlenmiştir. 75  $\mu\text{g}$  protein içeren örnekler %10'luk denatüre olmayan akrilamid jelde (PAGE) sabit akım altında (60 mA) yürütülmüştür. Elektroforezden sonra oluşan bantların görülebilmesi için jeller 30 dakika boyunca karanlıkta, benzidin ve hidrojen peroksit içeren 200 mM Na-asetat tamponunda (pH 5,0) inkübe edilmiştir. POX aktivitelerinin densiyometrik analizleri için; kontrol grupları % 100 olarak alınmış ve elde edilen değerler % olarak gösterilmiştir. Elde edilen veriler; birbirinden bağımsız 3 jelin ortalaması alınarak elde edilmiştir.

### **3.11.4. Glutasyon- S-Transferaz (GST; EC 2.5.1.18) Enzim ve İzoenzim Aktivitesi**

Glutasyon-transferaz aktivitesi Habig ve arkadaşlarının (1974) yöntemine göre tespit edilmiştir. Glutasyon-transferaz, 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) ile glutasyonun -SH grubu arasındaki tepkimeyi katalizlemiştir. Enzim aktivitesi 340 nm'de GSH ve CDNB kullanılarak dakikada oluşan s-2,4-dinitrofenilglutasyonun 1 mikro molünü katalizleyen enzim miktarının ölçülmesiyle belirlenmiştir. GST aktivitesi, CDNB ekstinksiyon katsayısı ( $\epsilon = 9,6 \text{ mmol L}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) kullanılarak hesaplanmıştır. GST izoenzim aktivitesi; %10 native PAGE'de eşit oranda protein yüklenerek Laemmli (1990) metoduna göre tespit edilmiştir. Daha sonra jel 10 dakika boyunca 0,1 M potasyum fosfat tamponunda (pH 6,5) dengelenmiş ve 4,5 mM GSH, 1 mM CDNB ve 1 mM nitro blue tetrazolyum içeren reaksiyon karışımına aktarılarak 37 °C 10 dakika bekletilmiştir. Ardından jel oda sıcaklığında 3 mM fenazinmetosülfat içeren 0,1 M Tris / HCl (pH 9,6) içinde inkübe edilmiştir. Boyanmış olan jeller; Software (4.6.00.0; UVP BioImaging Systems, UK) programına göre görüntülenmiştir. GST aktivitelerinin densiyometrik analizleri için; kontrol grupları %100 olarak alınmış ve elde edilen değerler % olarak

gösterilmiştir. Elde edilen veri; birbirinden bağımsız 3 jelin ortalaması alınarak elde oluşturulmuştur.

### 3.12. *GmWRKY71* Gen İfadesi

Gen ifadesinin kuantitatif ölçümü ve istatistiksel analizi Q-Real Time PCR data ile REST software kullanılarak yapılmıştır (Pfaffl ve ark., 2002). *GmWRKY-71*'e özgü sonuçlar aşağıdaki primerler kullanılarak elde edilmiştir (Çizelge 3.1). Aktin beta geni referans gen olarak kullanılmıştır. Primer tasarımı Tablo 3'te sunulmuştur. Bu analiz Letgen Bio analiz laboratuvarından hizmet alımı şeklinde Uzm. Biyolog Bahtiyar YILMAZ tarafından yapılmıştır.

#### Çizelge 3.1. *GmWRKY71* Genine Özgü Primer Tasarımı

---

Use Universal ProbeLibraryprobe) #143, cat.no. 04694295001

---

Primer	Uzunluk	Posizyon	Tm	%GC	Sekans
İleri Primer	20	611 - 630	59	45	catccaatgaagctgaagca
Geri Primer	20	665 - 684	59	45	acacgcttttgctgcttat

Amplikon (74 nt)

catccaatgaagctgaagcaattatagaagaagactcaaccaagagccagaaagataagcagccaaaagcgtgt

---

### 3.13. İstatistiksel analiz

Elde edilen veriler 6 tekrarlı olarak Tek-Yönlü Varyans Analizi (One-way ANOVA) ile analiz edilmiş ve ortalamalar arasındaki farklılıklar Lowest Standard Deviations (LSD) test ile karşılaştırılmıştır.  $P < 0.05$  olan değerler istatistiksel bakımdan anlamlı kabul edilmiştir.

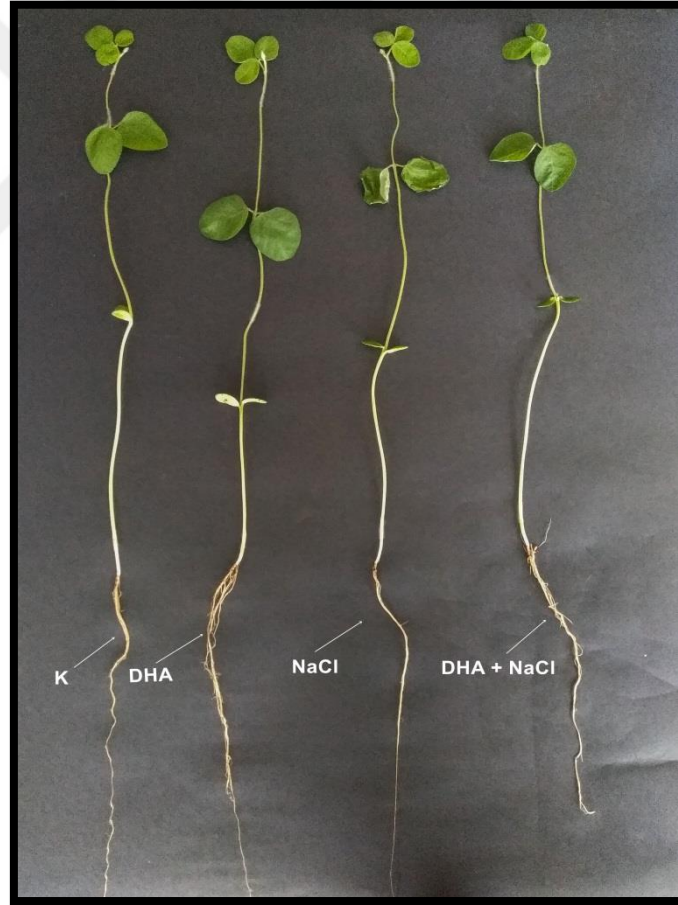
## 4. BULGULAR

### 4.1. Büyüme Parametrelerinin Sonuçları

#### 4.1.1. Uzunluk, Kuru ve Yaş Ağırlık Ölçümleri

SA-88 çeşidi soya bitkisi (*Glycine max* L.) yapraklarına 3 gün boyunca 12 saat aralıklarla 3.3 mM ön DHA uygulaması yapılmıştır (Şekil 3.1) Daha sonra bitkiler Hoagland çözeltisi içinde 200 mM NaCl'lık konsantrasyonuna maruz bırakılmıştır. Tuz stresinin 6., 12. ve 24. saatlerinde hasadı yapılan bitkilerin kök-gövde uzunluk, kuru ve yaş ağırlık değişimleri çizelge 4.1'de rapor edilmiştir.

Soya bitkisinin kök ve gövde uzunlukları tüm gruplarda belirgin bir değişiklik göstermemiştir (Çizelge 4.1., Şekil 4.1.).



Şekil 4.1 Soya Bitkisi (*Glycine max*. L.) Uzunluk ölçümü

Ön DHA uygulaması yapılan soya bitkisinin köklerinde, kuru ağırlıklarında kontrol gruplarına kıyasla 6., 12. ve 24. saatlerde sırasıyla 2,25; 1,5 ve 2 kat artış gözlenirken gövdede herhangi



bir değişime rastlanmamıştır. Bununla birlikte, tuz stresine maruz bırakılan soya kök kuru ağırlıklarında %27,5, %25, %12,5 oranında azalma olurken gövde kuru ağırlığında 6. saatte değişme gözlenmemiştir. Ancak 12. ve 24. saatlerde kontrol gruplarına göre %10,9 ve %11,45 oranında azalma tespit edilmiştir (Çizelge 4.1). Ön DHA uygulaması altında yapılan tuz stresi kök kuru ağırlığında 6. saatte %37,9, 12. saatte %16,6, 24. saatte %43 oranında artışa sebep olurken, gövde kuru ağırlığında 6. saatte değişim olmamıştır. Ancak 12. ve 24. saatlerde sırasıyla %21,4 ve %18,9 oranında artış gözlenmiştir (Çizelge 4.1).

Yaş ağırlık değerleri incelendiğinde, ön DHA uygulaması yapılan gruplarda, kök yaş ağırlığı 6. saatte %53,3 oranında artışa sebep olurken, bu değer 12. ve 24. saatte %16,6 ve %25 olarak belirlenmiştir. Bununla beraber, gövde yaş ağırlığı tüm saatlerde değişime uğramamıştır. Ayrıca tuz uygulanan bitkilerin kök yaş ağırlıkları 6. saatte %20, 12. saatte %33,3 ve 24. saatte %25 azalma göstermiştir. Gövde yaş ağırlıkları ise 6. saatte tuz uygulaması ile kontrol gruplarına kıyasla değişmezken, 12. ve 24. Saatlerde ise %28,4 ve 22,3 oranında azalmıştır. Tuz stresi altında yapılan ön DHA uygulaması, sadece tuz uygulanan gruplara göre, 6. saatte kök yaş ağırlığında %16,6, 12. saatte %50 ve 24. saatte %55,5 oranında artışa sebep olmuştur. Gövde yaş ağırlığında ise 6. saatinde değişme olmazken, 12. ve 24. saatte %29,5 ve %35 oranında artmıştır (Çizelge 4.1).

**Çizelge 4.1.** Ön DHA uygulamasının soya yapraklarında büyüme parametreleri üzerindeki zamana bağlı etkisi [**K:** Kontrol, **DHA:** Dehidroabietik asit, **NaCl:** Tuz stresi, **DHA + NaCl:** Dehidroabietik asit + Tuz stresi;  $\pm$ : standart hata. Sütunlar üzerindeki farklı harfler farklılığın  $P < 0,05$  düzeyinde anlamlı olduğunu göstermektedir, (n=6)].

		UZUNLUK (cm)			KURU AĞIRLIK (g)			YAŞ AĞIRLIK (g)		
		6. SAAT	12. SAAT	24. SAAT	6. SAAT	12. SAAT	24. SAAT	6. SAAT	12. SAAT	24. SAAT
<b>KÖK</b>	<b>K</b>	25 $\pm$ 0,54 <sup>a</sup>	24 $\pm$ 0,44 <sup>a</sup>	24 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	0,004 $\pm$ 0,001 <sup>a</sup>	0,008 $\pm$ 0,004 <sup>a</sup>	0,004 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,15 $\pm$ 0,004 <sup>a</sup>	0,24 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	0,12 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>
	<b>DHA</b>	24 $\pm$ 0,45 <sup>a</sup>	25 $\pm$ 0,55 <sup>a</sup>	25 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>	0,009 $\pm$ 0,002 <sup>b</sup>	0,012 $\pm$ 0,004 <sup>b</sup>	0,008 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>	0,23 $\pm$ 0,005 <sup>b</sup>	0,28 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>	0,15 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>
	<b>NaCl</b>	24,33 $\pm$ 0,57 <sup>a</sup>	25 $\pm$ 0,47 <sup>a</sup>	25 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>	0,002 $\pm$ 0,001 <sup>c</sup>	0,006 $\pm$ 0,001 <sup>c</sup>	0,003 $\pm$ 0,001 <sup>c</sup>	0,12 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	0,16 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	0,09 $\pm$ 0,02 <sup>c</sup>
	<b>DHA + NaCl</b>	24,66 $\pm$ 0,57 <sup>a</sup>	4 $\pm$ 0,57 <sup>a</sup>	25 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup>	0,004 $\pm$ 0,001 <sup>a</sup>	0,008 $\pm$ 0,001 <sup>a</sup>	0,005 $\pm$ 0,001 <sup>a</sup>	0,14 $\pm$ 0,003 <sup>a</sup>	0,24 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	0,14 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>
<b>GÖVDE</b>	<b>K</b>	43,66 $\pm$ 0,70 <sup>a</sup>	44 $\pm$ 0,8 <sup>a</sup>	44 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	0,101 $\pm$ 0,006 <sup>a</sup>	0,11 $\pm$ 0,006 <sup>a</sup>	0,096 $\pm$ 0,007 <sup>a</sup>	1,07 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	1,09 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	1,03 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>
	<b>DHA</b>	42,33 $\pm$ 0,56 <sup>a</sup>	43 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	44 $\pm$ 0,5 <sup>a</sup>	0,11 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	0,12 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,098 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	1,28 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	1,16 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	1,02 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>
	<b>NaCl</b>	43 $\pm$ 0,816 <sup>a</sup>	43 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>	44 $\pm$ 0,8 <sup>a</sup>	0,11 $\pm$ 0,006 <sup>a</sup>	0,09 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,085 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	1,10 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	0,78 $\pm$ 0,2 <sup>b</sup>	0,80 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>
	<b>DHA + NaCl</b>	42 $\pm$ 0,141 <sup>a</sup>	42 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	42 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	0,101 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,119 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	0,101 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	1,08 $\pm$ 0,1 <sup>a</sup>	1,01 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	1,08 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>

#### **4.1.2.Bağıl Su İçeriği, Yaprak Alanı, Elektrolit İletkenliği, Klorofil Miktarı**

Bağıl su içeriği, yaprak alanı, bağıl elektrolit iletkenliği, total klorofil miktarına ait değişimler çizelge 4.2’de verilmiştir.

Bağıl su içeriği, sadece ön DHA uygulanan gruplarda kontrol grubuna kıyasla tüm saatlerde değişmemiştir. Ancak tuz uygulanan gruplarda ise, bu oran 6. saatte %22,5; 12. saatte %59,2; 24. saatte %50,6 oranında azalmıştır. Ayrıca ön DHA uygulaması altında yapılan tuz stresi uygulaması bağıl su içeriğini sadece tuz uygulanan gruplara kıyasla 6. saatte %10,61; 12.saatte %67,2 ve 24.saatte %18,8 oranında arttırmıştır (Çizelge 4.2.).

Yaprak alanı, ön DHA uygulaması ile tüm saatlerde değişmediği belirlenmiştir. Tuz uygulanan gruplarda ise kontrol gruplarına kıyasla, %33,4, %39,4 ve %62,8 oranında azalmıştır (6., 12., 24. saatler). Bunun yanı sıra ön DHA uygulaması tuz stresi altında azalan yaprak alanı değerlerini iyileştirerek sırasıyla %16,9, %47,8 ve %66 oranında arttırmıştır (Çizelge 4.2).

Bağıl elektrolit iletkenliği, ön DHA uygulaması yapılan gruplarda, kontrol gruplarına kıyasla değişmemiştir. Tuz stresi uygulanan gruplarda, kontrol gruplarına göre 6. saatte 3,8, 12. saatte 3,73 ve 24. saatte 4,6 kat artmıştır. Ön DHA uygulaması altında tuz stresi uygulanan gruplarda, sadece tuz uygulanan gruba kıyasla 6. saatte %18,1, 12. saatte %8 ve 24. saatte %12,6 oranında azalmıştır.

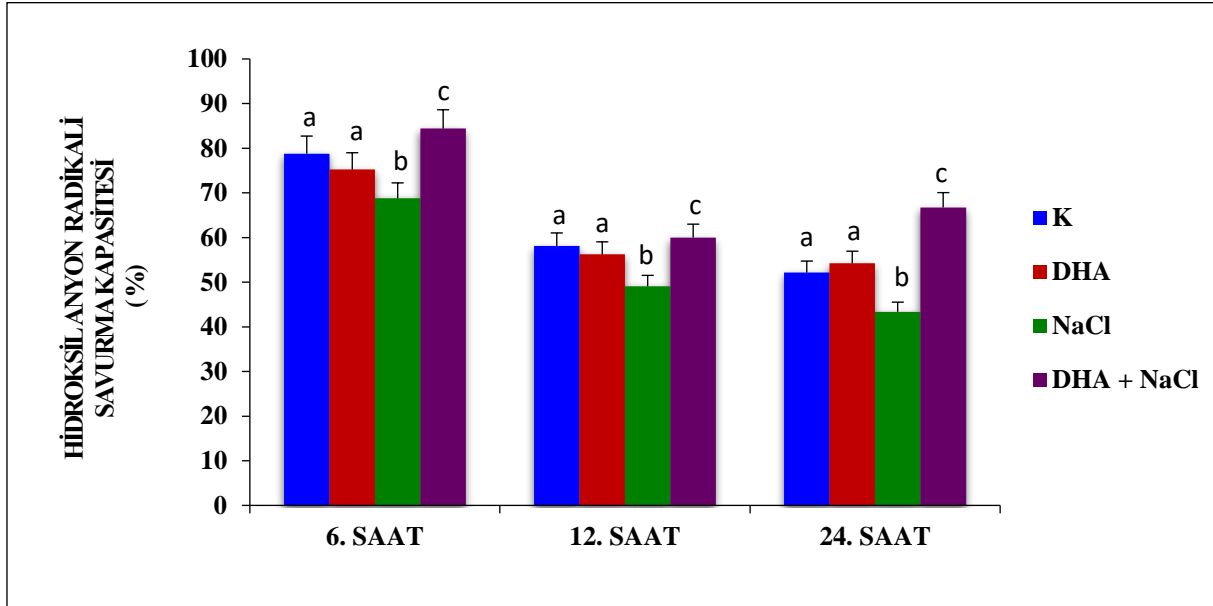
Total klorofil miktarı, ön DHA uygulaması ile tüm gruplarda değişmemiştir. Tuz stresi uygulanan soya yapraklarında kontrol gruplarına kıyasla %19,1, %23,6 ve %22,8 oranında azalmıştır. Buna kıyasla, ön DHA uygulaması altında yapılan tuz stresi, total klorofil miktarını sadece tuz uygulanan gruba göre 6. saatte %25,47, 12.saatte %24,6 ve 24. saatte ise %38,1 oranında arttırmıştır (Çizelge 4.2).

**Çizelge 4.2.** Ön DHA uygulamasının soya yapraklarında klorofil, yaprak alanı, bağıl su içeriği, bağıl elektrolit içeriği, parametleri üzerindeki zamana bağlı etkisi. [**K:** Kontrol, **DHA:** Dehidroabietik asit, **NaCl:** Tuz stresi, **DHA + NaCl:** Dehidroabietik asit + Tuz stresi;  $\pm$ : standart hata. Sütunlar üzerindeki farklı harfler farklılığın  $P < 0,05$  düzeyinde anlamlı olduğunu göstermektedir, (n=6)].

	KLOROFİL (mg)			YAPRAK ALANI (cm <sup>2</sup> )			BAĞIL SU İÇERİĞİ (%)			BAĞIL ELEKTROLİT İÇERİĞİ (%)		
	6. SAAT	12. SAAT	24. SAAT	6. SAAT	12. SAAT	24. SAAT	6. SAAT	12. SAAT	24. SAAT	6. SAAT	12. SAAT	24. SAAT
<b>K</b>	24,19 $\pm$ 1,7 <sup>a</sup>	20,31 $\pm$ 1,0 <sup>a</sup>	16,37 $\pm$ 1,2 <sup>a</sup>	7,71 $\pm$ 0,53 <sup>a</sup>	6,74 $\pm$ 0,74 <sup>a</sup>	8,77 $\pm$ 0,51 <sup>a</sup>	47,22 $\pm$ 3,78 <sup>a</sup>	56,36 $\pm$ 3,53 <sup>a</sup>	54,04 $\pm$ 10,94 <sup>a</sup>	15,24 $\pm$ 3,3 <sup>a</sup>	18,77 $\pm$ 1,6 <sup>a</sup>	16,70 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>
<b>DHA</b>	23,56 $\pm$ 2,4 <sup>a</sup>	19,56 $\pm$ 5,5 <sup>a</sup>	15,78 $\pm$ 1,1 <sup>a</sup>	8,16 $\pm$ 1,22 <sup>a</sup>	7,83 $\pm$ 0,66 <sup>a</sup>	8,06 $\pm$ 0,83 <sup>a</sup>	46,39 $\pm$ 3,65 <sup>a</sup>	55,73 $\pm$ 4,14 <sup>a</sup>	53,84 $\pm$ 4,03 <sup>a</sup>	14,68 $\pm$ 0,8 <sup>a</sup>	16,42 $\pm$ 3,0 <sup>a</sup>	16,34 $\pm$ 1,9 <sup>a</sup>
<b>NaCl</b>	19,55 $\pm$ 1,3 <sup>b</sup>	15,51 $\pm$ 7,2 <sup>b</sup>	12,63 $\pm$ 1,0 <sup>b</sup>	5,13 $\pm$ 0,88 <sup>b</sup>	4,10 $\pm$ 0,54 <sup>b</sup>	3,26 $\pm$ 0,20 <sup>b</sup>	36,56 $\pm$ 2,18 <sup>b</sup>	22,99 $\pm$ 10,46 <sup>b</sup>	26,51 $\pm$ 7,49 <sup>b</sup>	59,17 $\pm$ 3,1 <sup>b</sup>	70,11 $\pm$ 7,7 <sup>b</sup>	76,73 $\pm$ 3,5 <sup>b</sup>
<b>DHA + NaCl</b>	24,53 $\pm$ 1,1 <sup>a</sup>	19,33 $\pm$ 2,1 <sup>a</sup>	17,45 $\pm$ 1,2 <sup>a</sup>	6,00 $\pm$ 1,02 <sup>c</sup>	6,06 $\pm$ 0,59 <sup>c</sup>	5,41 $\pm$ 0,23 <sup>c</sup>	40,44 $\pm$ 5,18 <sup>c</sup>	38,46 $\pm$ 6,34 <sup>c</sup>	31,51 $\pm$ 5,71 <sup>c</sup>	48,43 $\pm$ 5,3 <sup>c</sup>	64,58 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	67,02 $\pm$ 13,3 <sup>c</sup>

## 4.2. Hidroksil Anyon Radikali (OH<sup>-</sup>) Savurma Kapasitesi

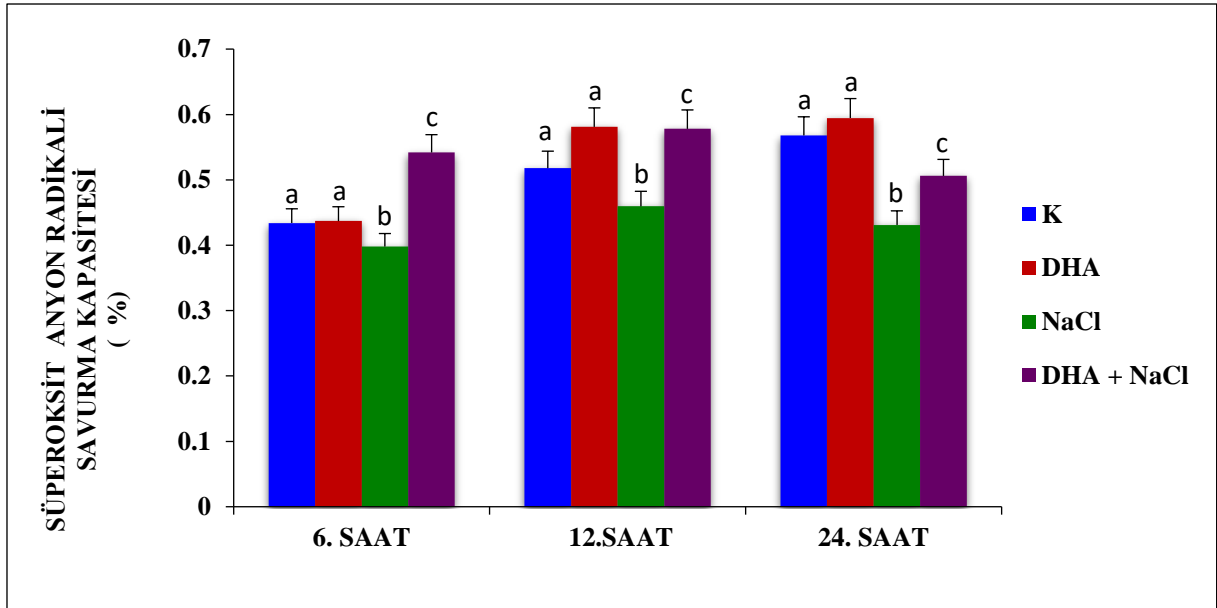
Hidroksil anyon radikali savurma kapasitesi, ön DHA uygulaması yapılan gruplarda, kontrol gruplarına kıyasla değişmemiştir. Stres uygulanan gruplarda kontrol gruplarına kıyasla sırasıyla %12,7, %15,6, %16,8 (6. 12. ve 24. saat) oranında azalma tespit edilmiştir. Ancak ön DHA uygulamasıyla, tuz stresi ile azalan hidroksil anyon radikali savurma kapasitesi değerlerini tüm saatlerde sırasıyla %22,6, %22,3 %53,9 oranında arttırmıştır (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Ön DHA uygulamasının soya yapraklarında Hidroksil anyon radikali savurma kapasitesi üzerindeki zamana bağlı etkisi [K: Kontrol, DHA: Dehidroabietik asit, NaCl: Tuz stresi, DHA + NaCl: Dehidroabietik asit + Tuz stresi; ±: standart hata. Sütunlar üzerindeki farklı harfler farklılığın P<0,05 düzeyinde anlamlı olduğunu göstermektedir, (n=6)].

## 4.3. Süperoksit Anyon Radikali (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) Savurma Kapasitesi

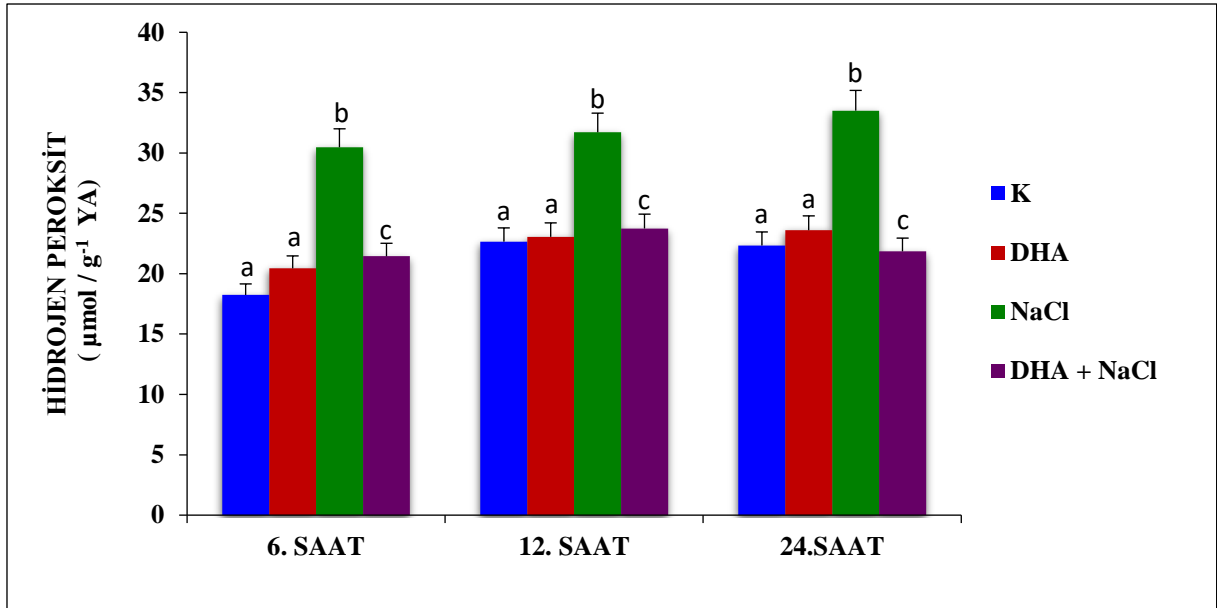
Süperoksit anyon radikali savurma kapasitesinin, sadece ön DHA uygulaması ile tüm saatlerde değişmediği belirlenmiştir. Tuz stresi uygulanan gruplarda ise bu değer 6. saatte %8,3, 12. saatte, %11,4 saatte, %24,11 oranında azalmıştır. Bunun yanı sıra tuz stresi altında yapılan ön DHA uygulaması sadece tuz stresi uygulanan gruplarda, tüm saatlerde sırasıyla 6.saatte %36,1, 12. saatte %26, 24.saatte %17,4 değerlerinde arttırmıştır (Şekil 4.2).



**Şekil 4.2.** Ön DHA uygulamasının soya yapraklarında Süperoksit anyon radikali savurma kapasitesi üzerindeki zamana bağlı etkisi [**K:** Kontrol, **DHA:** Dehidroabietik asit, **NaCl:** Tuz stresi, **DHA + NaCl:** Dehidroabietik asit + Tuz stresi;  $\pm$ : standart hata. Sütunlar üzerindeki farklı harfler farklılığın  $P < 0,05$  düzeyinde anlamlı olduğunu göstermektedir, (n=6)].

#### 4.4. Hidrojen ( $H_2O_2$ ) Peroksit Miktarı

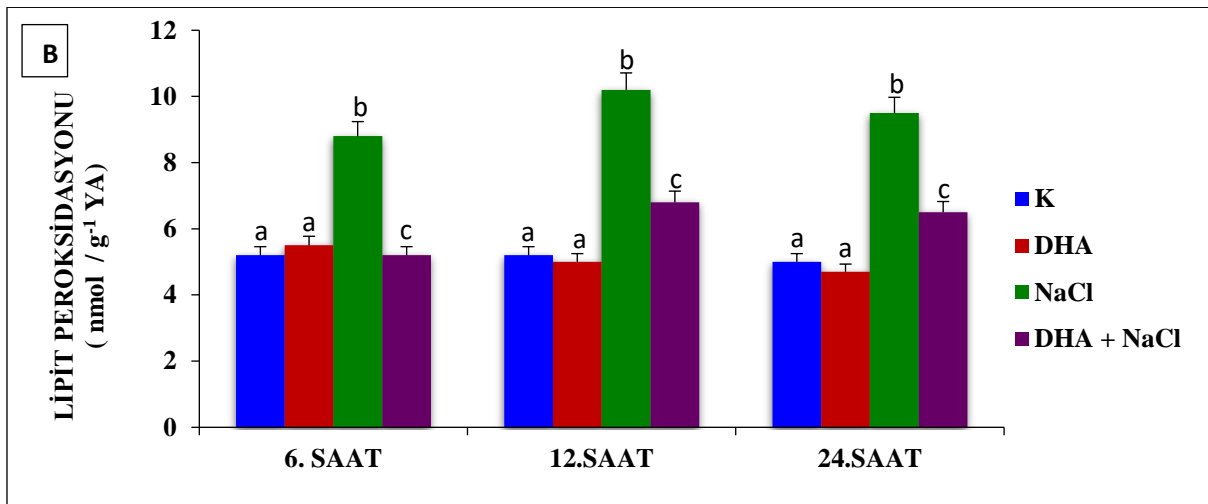
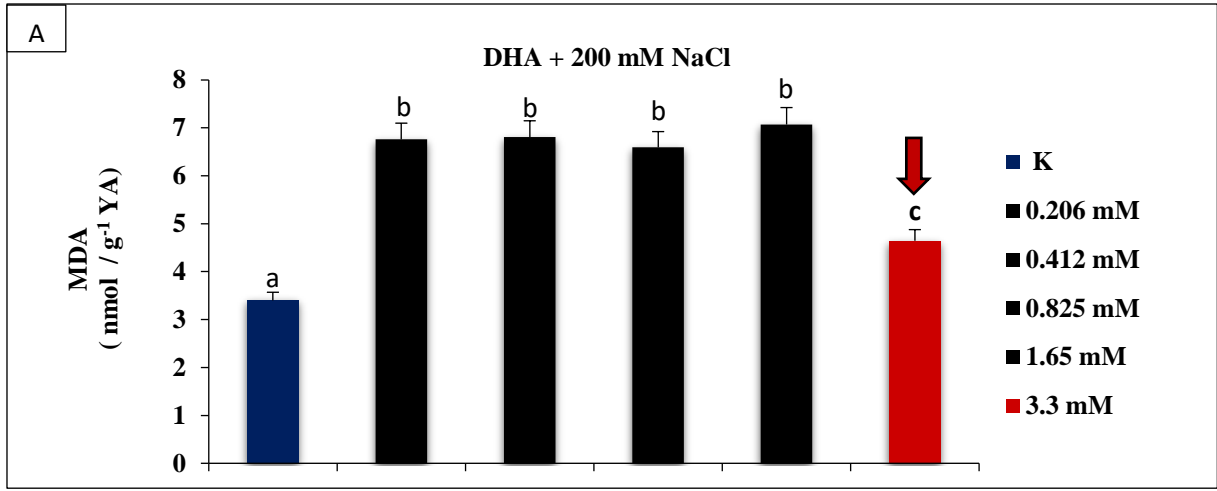
Hidrojen peroksit miktarı, ön DHA uygulaması ile tüm grup ve saatlerde değişmemiştir. Tuz stresi uygulanan soya yapraklarında kontrol gruplarına göre 6. 12. ve 24. saatlerde sırasıyla %67,1, %40, %50 oranında artmıştır. Buna kıyasla ön DHA uygulaması altında yapılan tuz stresi gruplarında hidrojen peroksit miktarı sadece tuz stresi uygulanan gruba göre 6. 12. ve 24. saatlerde sırasıyla %29,6, %25,1, %34,7 oranında azalmıştır (Şekil 4.3).



**Şekil 4.3.** Ön DHA uygulamasının soya yapraklarında hidrojen peroksit miktarı üzerindeki zamana bağlı etkisi. [**K:** Kontrol, **DHA:** Dehidroabietik asit, **NaCl:** Tuz stresi, **DHA + NaCl:** Dehidroabietik asit + Tuz stresi;  $\pm$ : standart hata. Sütunlar üzerindeki farklı harfler farklılığın  $P < 0,05$  düzeyinde anlamlı olduğunu göstermektedir, (n=6)].

#### 4.5. Lipit Peroksidasyonu (MDA)

Lipit peroksidasyonu, tüm grup ve saatlerde ön DHA uygulaması yapılan soya yapraklarında değişmemiştir. Bunun yanı sıra tuz stresi uygulanan gruplarda kontrol gruplarına göre sırasıyla 1,7 kat, 2 kat ve 1,9 kat artmıştır. Ancak, ön DHA uygulaması altında yapılan tuz stresi gruplarında sadece tuz stresi uygulanan gruba göre 6. 12. ve 24. saatlerde sırasıyla 1,6 kat, 1,5 kat ve 1,4 kat azalmıştır (Şekil 4.5.).

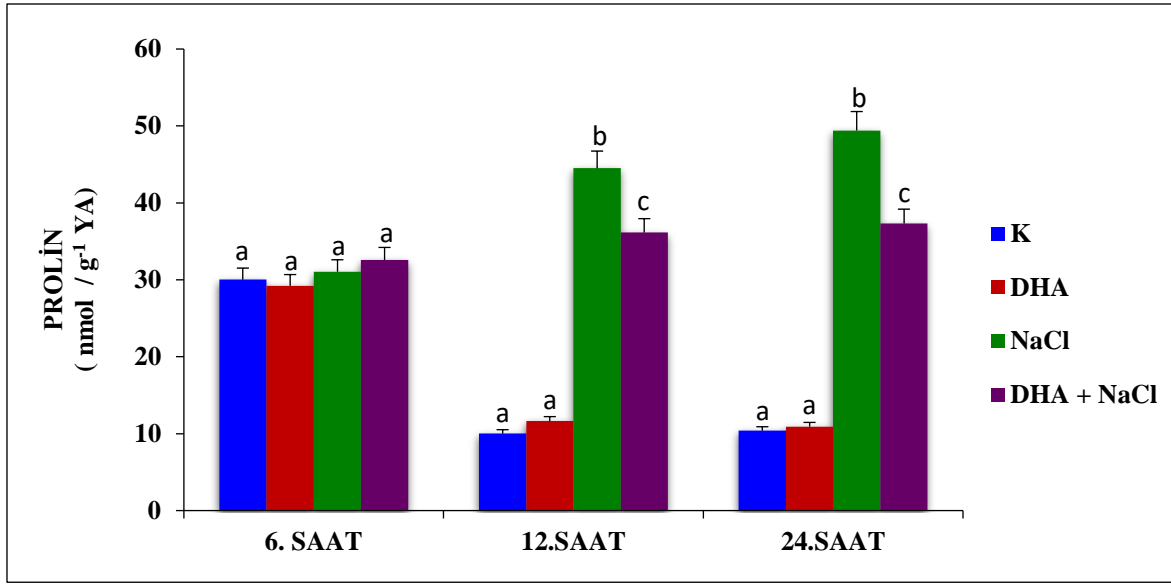


**Şekil 4.4.** A: Ön DHA uygulamasının soya yapraklarında lipit peroksidasyon miktarı üzerindeki farklı konsantrasyonlara bağlı etkisi. B: Ön DHA uygulamasının soya yapraklarında MDA miktarı üzerindeki zamana bağlı etkisi [**K**: Kontrol, **DHA**: Dehidroabietik asit, **NaCl**: Tuz stresi, **DHA + NaCl**: Dehidroabietik asit + Tuz stresi; ±: standart hata. Sütunlar üzerindeki farklı harfler farklılığın P<0,05 düzeyinde anlamlı olduğunu göstermektedir, (n=6)].

#### 4.6. Prolin Miktarı

Prolin miktarı, ön DHA uygulaması ile tüm grup ve saatlerde kontrol grubuna kıyasla değişmemiştir. Sadece tuz stresi uygulanan gruplarda ise 6. saatte değişmezken, 12 ve 24. saatlerde sırasıyla 4,4 kat ve 4,7 kat artmıştır. Bununla birlikte ön DHA uygulaması altında yapılan tuz stresi prolin miktarını sadece tuz uygulanan gruba göre 6. saatte değiştirmezken 12. ve 24. saatlerde 1,2 kat ve 1,3 kat azaltmıştır (Şekil 4.5).

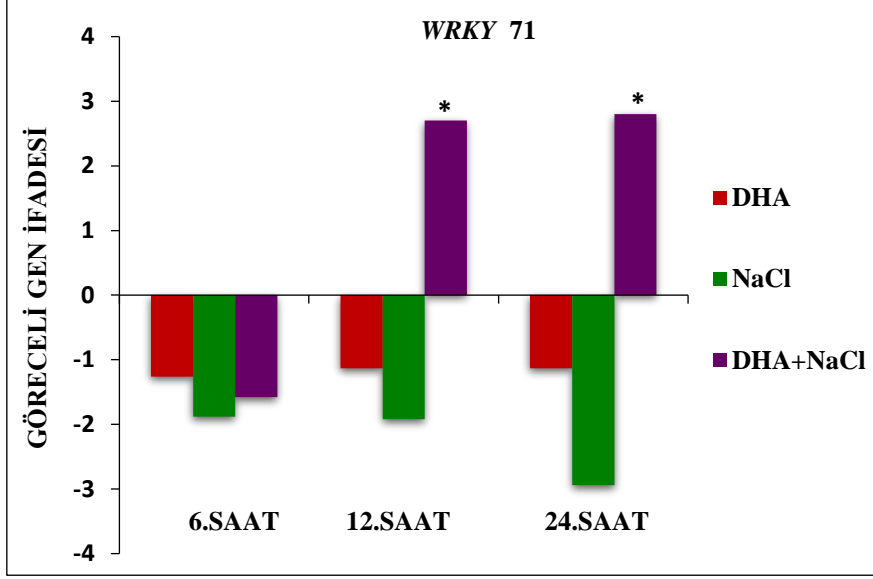




Şekil 4.5. Ön DHA uygulamasının soya yapraklarında **prolin miktarı** üzerindeki zamana bağlı etkisi [**K**: Kontrol, **DHA**: Dehidroabietik asit, **NaCl**: Tuz stresi, **DHA + NaCl**: Dehidroabietik asit + Tuz stresi;  $\pm$ : standart hata. Sütunlar üzerindeki farklı harfler farklılığın  $P < 0,05$  düzeyinde anlamlı olduğunu göstermektedir, (n=6)].

#### 4.7. WRKY 71 Gen İfadesi

WRKY 71 geninin ifadesi, soya bitkisinin sadece DHA uygulaması ve tuz uygulaması ile bir değişiklik göstermezken, ön DHA uygulaması altında yapılan tuz stresi gruplarında önemli ölçüde ifade edilmiştir (12. ve 24. saat) Buna karşın 6. Saatte herhangi bir değişim tespit edilmemiştir. (Şekil 4.6).



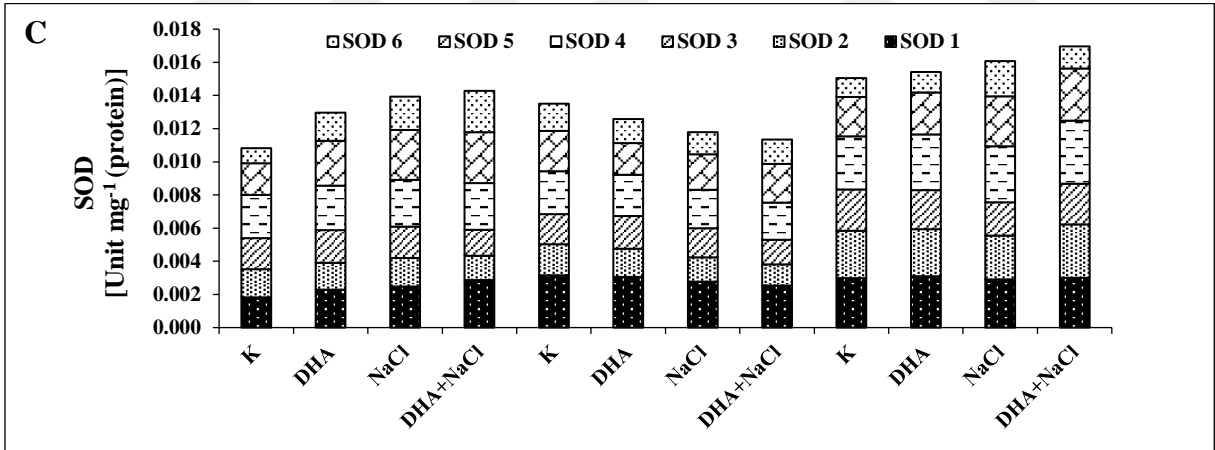
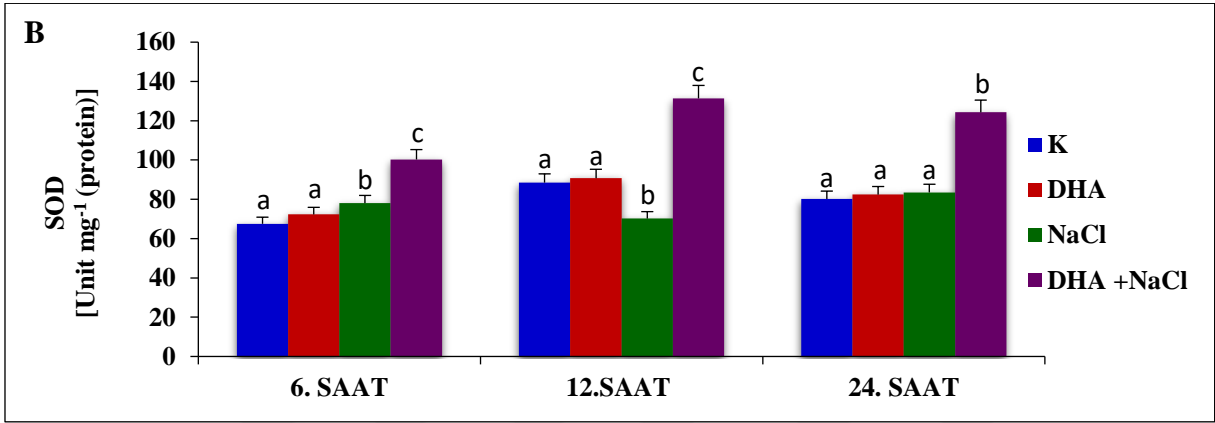
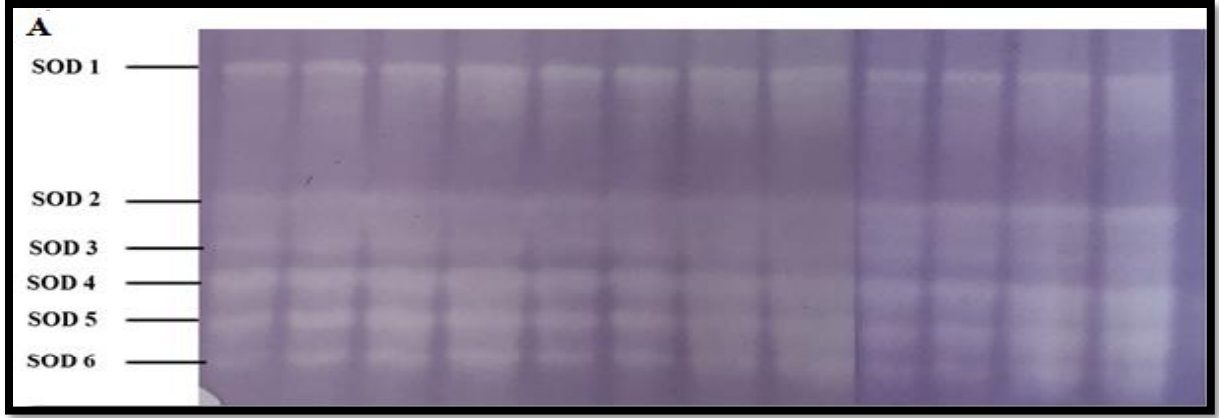
**Şekil 4.6.** Ön DHA uygulamasının soya yapraklarında gen ifadesi üzerindeki zamana bağlı etkisi [**K:** Kontrol, **DHA:** Dehidroabietik asit, **NaCl:** Tuz stresi, **DHA + NaCl:** Dehidroabietik asit + Tuz stresi;  $\pm$ : standart hata. Sütunlar üzerindeki farklı harfler farklılığın  $P<0,05$  düzeyinde anlamlı olduğunu göstermektedir, (n=6)].

#### 4.8. Antioksidan enzim ve izoenzim aktiviteleri

##### 4.8.1. Süperoksit dismutaz (SOD; EC 1.15.1.1) enzim ve izoenzim aktivitesi

Soya bitkisi yapraklarında 6 adet SOD izoenzimi bulunmuştur (Şekil 4.8).

Ön DHA uygulaması yapılan gruplarda SOD enzim aktivitesi tüm saatlerde değişmemiştir. Tuz stresi altındaki soya yapraklarında SOD enzim aktivitesi kontrol grubuna kıyasla 6. saatte %15,6 oranında artarken (SOD 1, 5, 6) 12. saatte %20,6 oranında azalmış (SOD 1, 2, 5, 6) ve 24. saatte ise değişmemiştir. Tuz stresi altında ön DHA uygulaması yapılan gruplarda ise tüm saatlerde sırasıyla 1,3;1,8 ve 1,4 kat (6.saatte SOD 1, 5, 6 / 12.saatte SOD 1, 2, 3, 4, 5, 6 / 24. saatte SOD 1, 2, 3, 4 ) artmıştır (Şekil 4.7).



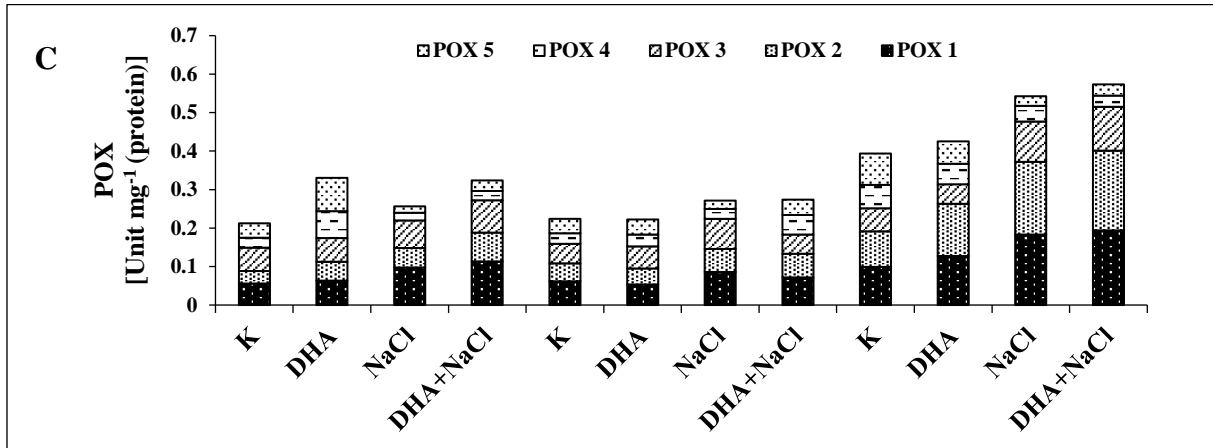
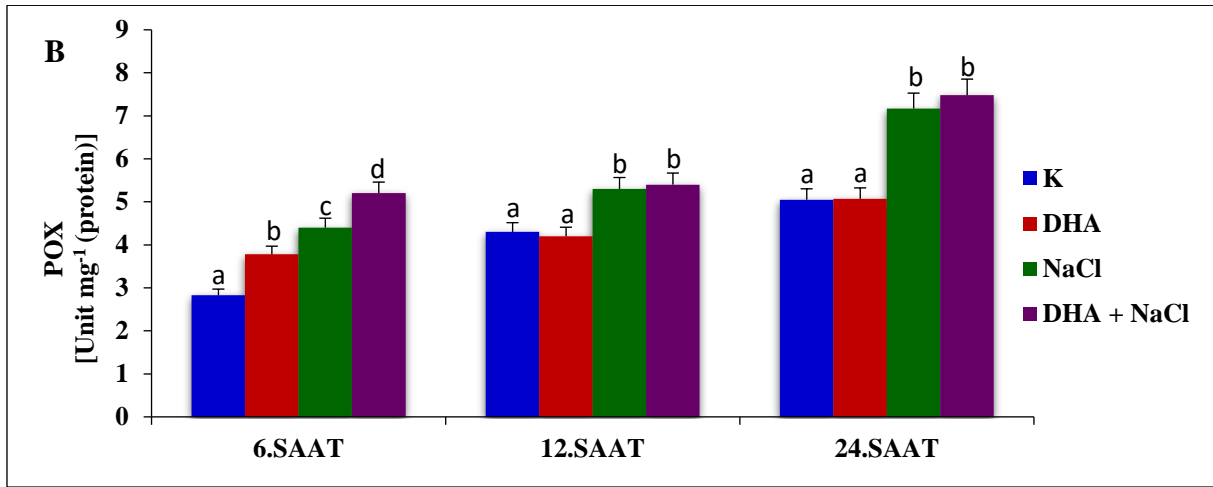
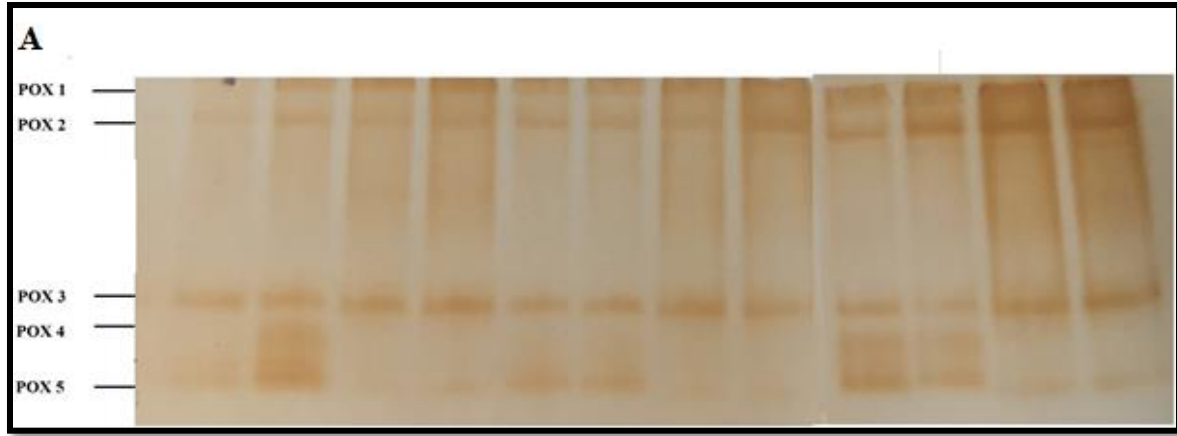
**Şekil 4.7.** Ön DHA uygulamasının soya yapraklarında SOD enzim ve izoenzim aktivitesi üzerindeki zamana bağlı etkisi. A: Elektroforez jel görüntüsü B: Total SOD enzim grafiği C: SOD izoenzim grafiği [K: Kontrol, DHA: Dehidroabietik asit, NaCl: Tuz stresi, DHA + NaCl: Dehidroabietik asit + Tuz stresi; ±: standart hata. Sütunlar üzerindeki farklı harfler farklılığın P<0,05 düzeyinde anlamlı olduğunu göstermektedir, (n=6)].

#### **4.9. Peroksidaz (POX; EC 1.11.1.7) Enzim Aktivitesi**

Soya bitkisi yapraklarında 5 adet POX izoenzimi ifade edilmiştir (Şekil 4.8).

Ön DHA uygulaması yapılan soya yapraklarında, peroksidaz (POX) enzim aktivitesi kontrol gruplarına kıyasla sadece 6. saatte %33,5 oranında artış gözlenmiştir. Bununla birlikte tüm saatlerde tuz stresi altındaki gruplarda kontrole göre artış gözlenmiştir (%57,1 , %26,1, %42). Bu durum POX 1, 2, 3 izoenzimlerinin artışı ile de desteklenmektedir. Ön DHA uygulaması altında tuz stresi uygulanan grupta yalnızca tuz stresi uygulanan gruba göre 6. saatte %18,2 oranında bir artış gözlemlenirken, 12. ve 24. saatlerde herhangi bir değişim tespit edilmemiştir. Benzer şekilde, 6. saatte ise POX1 ve POX2 izoenzimlerinin artışı total aktivitenin artışı ile uyum sağlamaktadır.





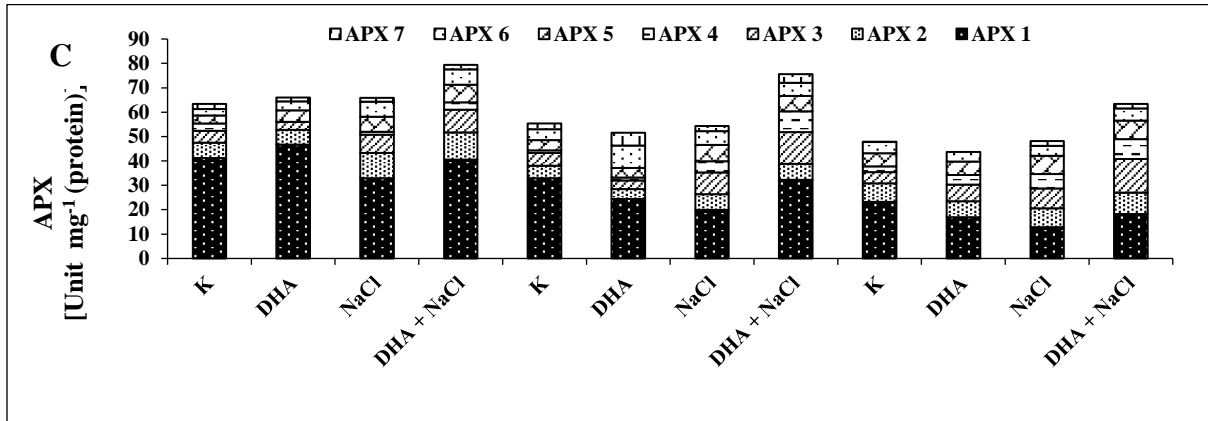
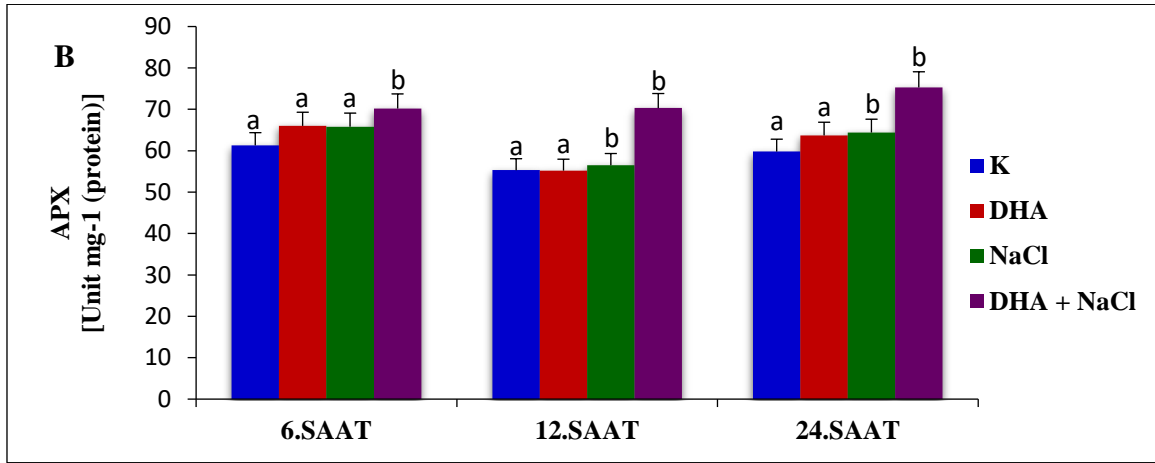
**Şekil 4.8.** Ön DHA uygulamasının soya yapraklarında POX enzim ve izoenzim ativitesi üzerindeki zamana bağlı etkisi. **A:** Elektroforez jel görüntüsü **B:** Total POX enzim grafiği **C:** POX izoenzim grafiği [K: Kontrol, DHA: Dehidroabietik asit, NaCl: Tuz stresi, DHA + NaCl: Dehidroabietik asit + Tuz stresi; ±: standart hata. Sütunlar üzerindeki farklı harfler farklılığın P<0,05 düzeyinde anlamlı olduğunu göstermektedir, (n=6)].

#### **4.10. Askorbat Peroksidaz (APX; EC 1.11.1.11) Enzim ve İzoenzim Aktivitesi**

Soya bitkisi yapraklarında 7 adet APX izoenzimi belirlenmiştir (Şekil 4.9).

Askorbatperoxidaz (APX) enzim ve izoenzim aktiviteleri incelendiğinde, ön DHA uygulaması yapılan grup ile sadece tuz stresi uygulanan grupların tüm saatlerinde kontrol grubuna kıyasla herhangi bir değişim tespit edilmemiştir. Bunun yanı sıra ön DHA uygulaması altında yapılan tuz stresi gruplarında sadece tuz stresi uygulanan gruplara kıyasla tüm saatlerde enzim aktiviteleri de artmıştır (%6,7 ,%24,42, %17 ) Benzer şekilde 6. 12. ve 24. saatlerde APX 1, 3, 4 izoenzimlerinde artış tespit edilmiştir.





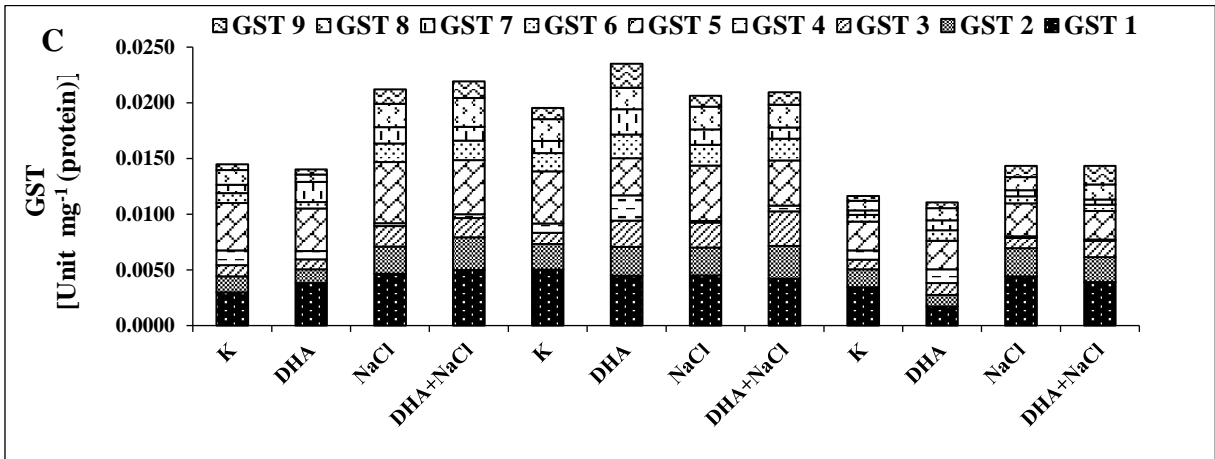
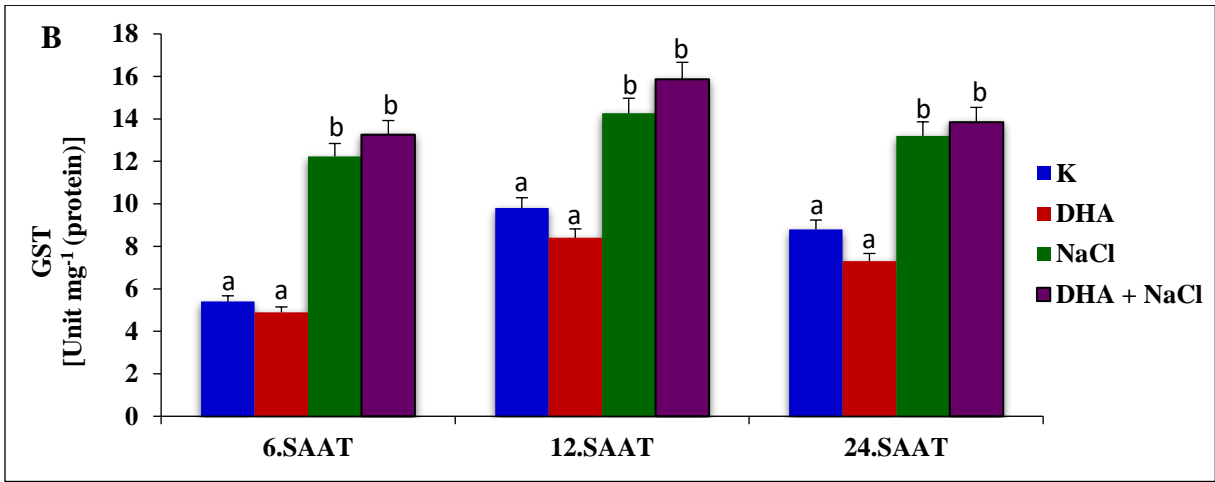
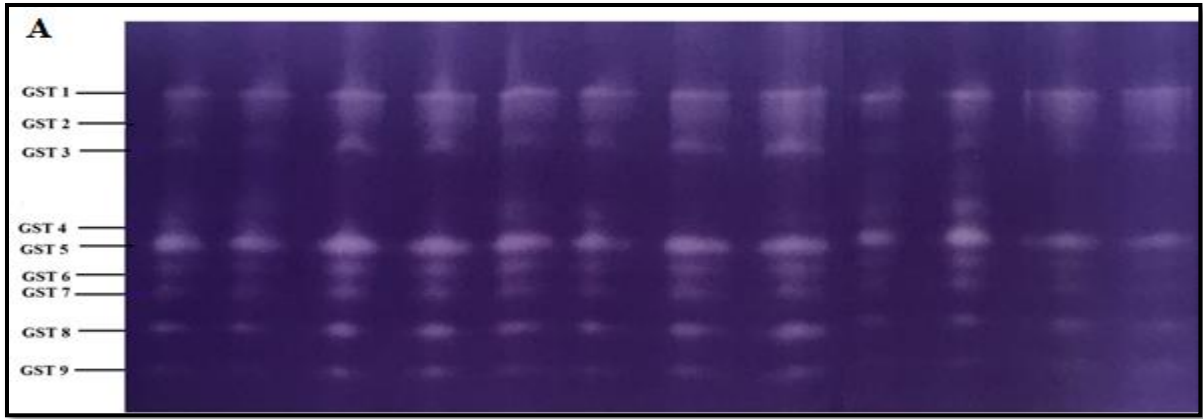
**Şekil 4.9.** Ön DHA uygulamasının soya yapraklarında APX enzim ve izoenzim ativitesi üzerindeki zamana bağlı etkisi. **A:** Elektroforez jel görüntüsü **B:** Total APX enzim grafiği **C:** APX izoenzim grafiği [**K:** Kontrol, **DHA:** Dehidroabietik asit, **NaCl:** Tuz stresi, **DHA + NaCl:** Dehidroabietik asit + Tuz stresi; ±: standart hata. Sütunlar üzerindeki farklı harfler farklılığın  $P < 0,05$  düzeyinde anlamlı olduğunu göstermektedir, (n=6)].

#### **4.11.Glutatyon- S-Transferaz (GST; EC) 2.5.1.18) Enzim ve İzoenzim Aktivitesi**

Soya bitkisi yapraklarında 9 adet GST izoenzimi tespit edilmiştir (Şekil 4.10).

Soya yapraklarına yapılan ön DHA uygulaması, kontrol gruplarına kıyasla tüm saatlerde bir değişime neden olmamıştır. Bununla birlikte tuz stresi uygulanan gruplarda kontrol gruplarına tüm saatlerde göre artış gözlenmiştir (2,2; 1,4 ve 1,5 kat) Benzer şekilde, 6. saatte GST4 hariç tüm izoenzimlerde artış gözlenmiştir. 12. saatte ise, GST 2, 3, 5, 6, 7 izoenzimlerinde artış belirlenmiştir. 24. saatte ise GST4 ve GST6 hariç tüm izoenzimlerde artış gözlenmiştir. Ayrıca tuz stresi altında yapılan ön DHA uygulaması, sadece tuz stresi uygulanan gruplara kıyasla tüm saatlerde değişmemiştir (Şekil 4.10.).





**Şekil 4.10.** Ön DHA uygulamasının soya yapraklarında GST enzim ve izoenzim ativitesi üzerindeki zamana bağlı etkisi. A: Elektroforez jel görüntüsü B: Total SOD enzim grafiği C) SOD izoenzim grafiği [**K**: Kontrol, **DHA**: Dehidroabietik asit, **NaCl**: Tuz stresi, **DHA + NaCl**: Dehidroabietik asit + Tuz stresi; ±: standart hata. Sütunlar üzerindeki farklı harfler farklılığın P<0,05 düzeyinde anlamlı olduğunu göstermektedir, (n=6)].

## 5. TARTIŞMA

### 5.1. Büyüme Parametreleri

Tuzluluk, bitkilerin büyüme ve gelişmesini etkileyen en önemli abiyotik stres faktörüdür. (Yang ve Guo, 2018). Literatürde çalışma materyali olan soya bitkisi ile yapılan çalışmalar dikkate alındığında, dışarıdan uygulanan NaCl konsantrasyonlarının kök ve gövde uzunluklarında azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir (Agarwal ve ark., 2015; Hamayun ve ark., 2010). Ancak araştırmamızda, tüm gruplarda bu değerlerin değişmediği gözlenmiştir. Sonuçlarımıza benzer şekilde, mısır bitkisine yapılan tuz stresi (50 mM) uygulamasının kök ve gövde uzunluğunda herhangi bir değişime neden olmadığı belirtilmiştir (Khodary 2004 ). Bu sonuç sonuçlarımızla benzerlik göstermiştir. Bu durumun, uygulanan tuz konsantrasyonu ve süresi ile ilgili olduğunu düşünmekteyiz.

Çalışma konusu olan dehidroabietik asitin tek başına uygulandığı grupta, kök ve gövde uzunluklarında herhangi bir değişime sebep olmaması dikkat çekicidir (Çizelge 4.1). Terpen ailesine ait bileşiklerin bitkilerde büyümeyi teşvik ettiği bilinmesine rağmen (Tholl, 2015), Çalışmamızda bu etkinin uzunluk değerlerinde görülmemesinin uygulanan konsantrasyona (3,3 mM) ve süreye (3 gün) bağlı olduğunu düşünmekteyiz.

Kök kuru ve yaş ağırlık sonuçları incelendiğinde, ön DHA uygulamasının tüm saatlerde bu değerleri belirgin bir şekilde arttırdığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.1). Bu durumun DHA'nın Ca ve K iyon geçirgenliğini artırmasıyla ilgili olduğunu düşünmekteyiz. Benzer şekilde, Iqbal ve Ashraf 2013 yılında yapmış oldukları bir çalışmada, buğday bitkisine dışarıdan uygulanan terpen yapısında olduğu bilinen giberellik asitin gövde ve tohum kuru ağırlığını arttırarak büyümeyi tetiklediği belirlenmiştir.

Tuzluluk neden olduğu iyonik ve ozmotik stres nedeniyle bitkilerde büyüme ve gelişme için gerekli iyon alınımını engeller ve su kaybına neden olur. Bu durum hücre ölümü ve doku miktarında azalmaya neden olmaktadır.

Çalışmamızda, tuz stresi altında, kök kuru ve yaş ağırlığında azalma meydana gelmiştir. Benzer şekilde Adhikari ve ark.'nın 2019 yılında soya bitkisi ile yaptıkları bir çalışmada, kök kuru ağırlığının tuz stresi (6, 12 dSm<sup>-1</sup>) altında azaldığı rapor edilmiştir.

Ön DHA altında yapılan tuz stresi uygulaması, kök kuru ve yaş ağırlığını sadece tuz uygulanan gruplara kıyasla önemli ölçüde iyileştirmiştir. Bu iyileşmenin, terpen uygulanan bitkilerde, içsel

madde birikimini arttırarak veya büyüme hormonlarını tetikleyerek gerçekleştirdiğini düşünmekteyiz.

Soya bitkisinin gövde kuru ve yaş ağırlıkları incelendiğinde, ön DHA uygulamasının herhangi bir değişime sebep olmadığı gözlemlenirken, tuz stresi altında 12. ve 24. saatlerde azaldığı belirlenmiştir. Benzer şekilde, Seckin-Dinler ve ark. 2018 yılında tuz stresi (200 mM) altındaki soya bitkisi ile yaptıkları bir çalışmada gövde kuru ve yaş ağırlığının azaldığı tespit edilmiştir. Buna ek olarak, Essa 2010 yılında soya bitkisinde arttan tuz konsantrasyonlarının büyüme azalttığını bildirmiştir. Ayrıca ön DHA uygulaması yapılan tuz stresi altındaki soya köklerinde bu değerlerin arttığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.1). Elde edilen sonuçlar incelendiğinde, dışarıdan uygulanan dehidroabietik asitin köklerde duyarlılığa sebep olduğu ve içsel potasyum (K) ve kalsiyum (Ca) iyonlarını tetikleyerek topraktan alınımını arttırdığını ve su dengesini yeniden düzenlediğini düşünmekteyiz. Bu düzenlemenin gövdeden ziyade kök dokularında yapılmasının iki nedene bağlı olduğu düşüncesindeyiz. Birincisi tuzluluktan ilk etkilenen organın kök oluşu ve ilk korumanın hasar gören organdan sinyal yoluyla sağlanmaya çalışılmasıdır. İkincisi ise soya bitkisi köklerinin parankima hücrelerinde iyon değişimi sağlayıcı mekanizmalarının oluşu ve bu mekanizmaların DHA sinyali ile tetiklenebildiğidir.

## 5.2. Bağlı su içeriği

Bitkilerin topraklardaki kullanılabilir su miktarının azalması, hücre genişlemesinin zarar görmesine ve sürgün gelişiminin engellenmesine neden olur (Çulha ve çakırlar 2011; Hu ve Schmidhalter, 2005). Bitkilerde bu durum ozmotik basıncın artmasına neden olmakta ve bitkinin su alma kabiliyetini azaltarak bağlı su içeriğini (BSİ) düşürmektedir. Çalışmamızda, ön DHA uygulaması, herhangi bir değişime sebep olmazken, bağlı su içeriği tuz stresi altında tüm saatlerde önemli ölçüde azalmıştır. Tuz stresi nedeniyle bağlı su içeriğindeki olumsuz değişim, dışsal ozmotik stres sebebiyle kullanılabilir su miktarının azalmasından kaynaklanmaktadır. Bu durum bitkilerde fizyolojik kuraklık olarak tanımlanmaktadır (Tuteja, 2007). Benzer şekilde, tuz stresi altındaki soya bitkilerinde yapılan çalışmalarda artan tuz stresinin BSİ miktarını azalttığı rapor edilmiştir (Ramana ve ark., 2012 Ghassemi-Golezani, 2018). Bu sonuç, çalışmamızdaki yaprak alanı sonuçları ile uyumludur. Bunun yanı sıra, ön DHA uygulaması yapılan tuz stresi altındaki soya yapraklarında ise sadece tuz stresi uygulanan gruba kıyasla önemli ölçüde artmıştır (Çizelge 4.2). Buna paralel olarak; *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis*, *Melissa officinalis* bitkilerinde kuraklık stresi altında BSİ'nin iyileştiği rapor edilmiştir (Munné-Bosch ve Alegre, 2003). Çalışma sonuçları incelendiğinde,

ön DHA uygulamasının stres altında, hücre içinde madde birikimini arttırarak, su alınımını desteklediği kanısındayız. Bu sonuç DHA etkisi ile tuz stresi altında kök ve gövde de azalan ağırlığın iyileşmesi ile uyum içerisindedir.

### **5.3. Yaprak alanı**

Bitkiler tuz stresine cevap olarak yapraklarda kıvrılma eğilimi gösterir. Bu olay stres esnasında mevcut su durumunun korunmasını sağlar. Ön DHA uygulaması, herhangi bir değişime sebep olmazken yaprak alanı tuz stresi altında tüm saatlerde önemli ölçüde azalmıştır. Benzer şekilde Ghoulam ve ark. (2002), *Beta vulgaris* bitkisinde yaptıkları bir çalışmada yüksek tuz konsantrasyonlarının yaprak alanını azatlığını vurgulamışlardır. Bu bulgu, bağıl su içeriği sonuçları ile uyum içerisindedir. Bununla birlikte tuz stresi altında ön DHA uygulaması yapılan grupta sadece tuz stresi uygulanan gruba kıyasla önemli ölçüde artmıştır (Çizelge 4.2). Stres altında ön DHA uygulamasıyla yaprak alanındaki bu iyileşmenin bağıl su içeriğinin korunmasıyla ilişkili olduğunu düşünmekteyiz.

### **5.4. Bağıl Elektrolit İletkenliği**

Elektrolit iletkenliği bitkilerde membran stabilitesi ve dolayısıyla apoplastik yoldaki bağıl iyon içeriği hakkında bilgi vermektedir (Ashraf ve Ali, 2008). Araştırmamızda, ön DHA uygulaması ile kontrol grubuna kıyasla değişmeyen bağıl elektrolit iletkenliği yalnızca tuz stresi uygulanan gruplarda artmıştır. Buna paralel olarak yapılan çalışmalarda tuz stresi altındaki soya bitkisinde bağıl elektrolit iletkenliğinin arttığı belirtilmiştir (Liu ve ark., 2017; Vieira ve ark., 2018). Bu sonuç tuz stresi nedeniyle hücrel membranların işlev bozukluğuna bağlı olarak, iyonlar ve elektrolitler için geçirgenliği arttırmış olmasıyla ifade edilebilir. Bununla birlikte ön DHA uygulanan stres altındaki gruplarda sadece stres uygulanan gruplara kıyasla azalmıştır. Elde edilen sonuçların ön DHA uygulamasının membran geçirgenliğini düzenleyerek koruma sağladığı kanısındayız. Bu sonuç, bağıl su içeriği ve yaprak alanı ve klorofil miktarı sonuçları ile de uyum içerisindedir (Çizelge 4.2).

### **5.5. Klorofil miktarı**

Çalışmamızda total klorofil miktarı, ön DHA uygulaması ile değişmezken sadece tuz stresi uygulaması ile azalmıştır (Çizelge 4.2). Elde edilen sonuçlar birçok çalışmada rapor edildiği gibi (Ning ve ark., 2018; Onodera ve ark., 2019) tuz stresinin soya bitkisinde de iyon birikimine bağlı olarak total klorofil içeriğini azaltmıştır. Bu sonuç elektrolit iletkenliği sonucu ile de uyum

içerisindedir. Buna ek olarak tuz stresi altında ön DHA uygulaması, sadece tuz stresi uygulanan gruba kıyasla klorofil içeriğini önemli düzeyde iyileştirmiştir. Araştırma sonuçları incelendiğinde, ön DHA uygulamasının membran stabilitesinin yanı sıra bağlı su içeriğini de koruyarak strese karşı toleransı arttırdığı kanısındayız.

## 5.6. Prolin miktarı

Prolin içeriği bitkilerde tuz toleransına karşı önemli bir role sahiptir. Prolin genellikle proteinlerin, membranların ve hücre yapılarının stabilizasyonu sağlar ve ROT'u temizleyerek hücrenin korunması gibi stres koşullarında önemli rollere sahiptir (Hayat ve ark., 2012; Salinas ve ark., 2013). Çalışmamızda, sadece ön DHA uygulaması yapılan gruplarda kontrol grubuna kıyasla değişmemiştir. Ancak sadece tuz stresi altındaki gruplarda, ilk 6 saatte değişmezken 12. ve 24. saatlerde artmıştır. Ayrıca prolin birikimi stres tepkisi olarak kabul edilir, çünkü bitki hücrelerinde ozmotik modifikasyona katkıda bulunan olağanüstü bir ozmolittir (Zhabg ve ark., 2017). Özellikle soya bitkisinde tuz stresi altında prolin birikimi strese verilen cevaplarda çok rastlanan bir durumdur. Buna paralel olarak Mai ve Hang (2016), Sabagh ve ark. (2015) yıllarında yaptıkları çalışmalarda tuz stresi ile prolin miktarının arttığını rapor etmişlerdir. Bunun yanı sıra ön DHA uygulaması altında yapılan tuz stresi gruplarında 6. saatte değişmezken 12. ve 24. saatte azalmıştır. Bu durum DHA'nın stres esnasında biriken prolin miktarını indirgeyerek kendisinin bir antioksidan rolü üstlendiğini ve stresin hasarını azalttığını düşündürmektedir.

## 5.7. Hidrojen Peroksit H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), bitki hücrelerinin çevresel streslere en erken tepkilerinden biri olarak üretilir ve bu molekül çeşitli biyolojik işlemlere zarar verebilir (Halliwell, 2006; Gill ve Tuteja, 2010; Das ve Roychoudhury, 2014) Araştırmamızda, Ön DHA uygulanan gruplarda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarı değişmezken, tuz stresi uygulanan grupların tüm saatlerinde artmıştır. Bu sonuç MDA sonuçları ile uyum içerisindedir (Şekil 4.4). Ancak aynı grupta, SOD enzim aktivitesi artmadığı halde hidrojen peroksit miktarının artış göstermesi, bu maddeyi üreten başka enzimleri (NADPH, XOD) çalıştırması ile açıklanabilir. Benzer şekilde Aksoy ve Seckin-Dinler'in (2014) yılında soya bitkisi ile yaptıkları çalışmada tuz stresi ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarının arttığı kanıtlanmıştır. Bununla birlikte tuz stresi altında ön DHA uygulaması yapılan grupta sadece tuz stresi uygulanan gruba kıyasla tüm saatlerde önemli ölçüde azalmıştır (Şekil 4.3) Bu sonuç aynı saatlerde artan hidrojen peroksitin savrulmasından sorumlu APX enzim aktivitesi ile

uyumludur. Sonuçlar incelendiğinde DHA uygulamasının stres altında bu enzim aktivitesini arttırarak oksidatif hasarı önlediği ortaya çıkmıştır.

### **5.8. Lipit Peroksidasyonu (MDA)**

Lipid peroksidasyon ürünleri, stresli bitkilerde önemli oksidatif stres belirteci olarak kabul edilir (Anjum ve ark., 2015). Çalışmamızda, Ön DHA uygulanan gruplarda MDA miktarı değişmezken, tuz stresi uygulanan grupların tüm saatlerinde artmıştır. Benzer şekilde Seckin-Dinler ve ark.'nın (2016) yılında yaptıkları bir çalışmada tuz stresi altındaki soya bitkisinde MDA miktarının saatlere bağlı arttığı bildirilmiştir. Bu sonuç ön DHA uygulamasının soya bitkilerinde strese neden olmadığının kanıtıdır. Dahası, tuz stresi altında ön DHA uygulaması yapılan grupta sadece tuz stresi uygulanan gruba kıyasla tüm saatlerde önemli ölçüde azalmıştır. Sonuçlar incelendiğinde, dehidroabietik asitin hem membran bütünlüğünü koruduğu, hem de SOD ve APX enzim aktivitelerini arttırarak stresi yok ettiği tespit edilmiştir.

### **5.9. Hidroksil Anyon Radikali (OH•) Savurma Kapasitesi**

En reaktif radikal olarak bilinen OH•, membran fosfolipidlerinin yağ asidi yan zincirlerine saldırır ve stres koşullarından kaynaklanan lipit peroksidasyonunu uyarır (Liu ve ark., 2014). Çalışmamızda, hidroksil anyon radikali savurma kapasitesi ön DHA uygulanan gruplarda kontrol grubuna kıyasla değişmezken, tuz stresi altındaki gruplarda azalmıştır. Bu sonuç MDA miktarındaki değişim ile uyum içerisindedir. Lin ve ark.'nın (2012) yılında *Cucumis sativus* L. ile yaptıkları bir çalışmada OH• savurma kapasitesinin tuz stresi ile azaldığını bildirmişlerdir. Bunun yanı sıra tuz stresi altında ön DHA uygulamasının etkisiyle, hidroksil anyon radikali savurma kapasitesinin arttırışına bağlı olarak MDA ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarları azalmıştır. Bu durum, DHA'nın diğer koruyucu özellikleri ile uyum içerisinde olup, reaktif oksijen türlerini yok edici mekanizmaları aktive ettiğini ortaya koymaktadır.

### **5.10. Süperoksit Anyon Radikali (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) Savurma Kapasitesi**

Superoksit anyon radikali (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>), genellikle hidrojen peroksitve diğer ROT üreten reaksiyon basamaklarının başlatıcısı olarak görev yapan reaktif bir oksijen türüdür. Araştırmamızda, ön DHA uygulaması ile süperoksit anyon radikali (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) savurma kapasitesi değişmezken sadece tuz stresi uygulanan gruplarda azalmıştır. Bu sonuç artan MDA ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sonucu ile uyum içerisindedir. Tuz stresine bağlı olarak oluşan ROT, hücrelerde toksisiteye sebep olmakta ve radikal savurma kapasitelerini azaltmaktadır. Benzer şekilde, şereflioğlu ve ark., (2017) ;Sarısoy ve ark. (2018) yılında soya bitkisi ile yaptıkları bir çalışmada süperoksit anyon radikali

(O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) savurma kapasitesinin azaldığını rapor etmişlerdir. Bunun yanı sıra ön DHA uygulaması altında yapılan tuz stresi gruplarında süperoksit anyon radikali (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>), savurma kapasitesi artmıştır. Bu sonucun, DHA'nın H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarını azaltarak stres toleransını arttırdığı düşüncesindeyiz. Buna paralel olarak diterpenlerden biri olan karnosik asitinde in vitro koşullarda antioksidan özellik gösterdiği bildirilmiştir (Aruoma ve ark. 1992; Schwarz ve ark., 1992).

## **5.11. Antioksidan enzim ve izoenzim aktiviteleri**

### **5.11.1.Süperoksit dismutaz (SOD; EC 1.15.1.1) enzim ve izoenzim aktivitesi**

Süperoksit radikali süperoksitdismutazlar (SOD'lar) ile H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye indirgenebilmektedir (Foyer ve Noctor, 2018) Araştırmamızda ön DHA uygulamasının tüm saatlerde SOD enzim aktivitesini değiştirmedığı tespit edilmiştir. Bu sonuç uygulanan DHA'nın bitkide herhangi bir strese sebep olmadığını kanıtlar niteliktedir. DHA uygulaması ile değişmeyen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarı dikkate alındığında bu sonuç ile uyum içerisinde olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.3). Bunun yanı sıra tuz stresinin SOD enzim aktivitesini 6. Saatte arttırıp, 12. Saatte azaltmış olması dikkat çekicidir. Bu bulgu soya bitkisinin ilk 6 saat içerisinde tuzluluğa (200 mM) cevap verebildiğini düşündürmektedir. Benzer şekilde tuz stresi ile iki farklı soya kültüvarı ile yapılan çalışmada SOD enzim aktivitesinin değişmeği rapor edilmiştir (Vieira ve ark., 2019) Buna zıt olarak, Khan (2018) yılında tuz stresi altındaki soya bitkisinde yaptığı bir çalışmada SOD enzim aktivitesinin azaldığı rapor edilmiştir. Çalışmamızda, 24. saatte ise bu aktivitenin değişmemiş olması tuzluluğun membranlarda yaptığı hasarı ortaya koyan MDA miktarı sonuçları ile uyum içindedir (Şekil 4.4). Ayrıca DHA uygulaması altında yapılan tuz uygulaması SOD enzim aktivitesini sadece tuz stresi uygulanan gruba kıyasla arttırmıştır. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde, DHA'nın tuz stresi altında sinyal iletim rolü üstlenerek SOD enzim aktivitesini arttırdığı düşünülmektedir.

### **5.11.2.Peroksidaz (POX; EC 1.11.1.7) Enzim Aktivitesi**

Peroksidaz enzimi tuz stresiyle oluşan reaktif oksijen türlerinin detoksifikasyonunda etkilidir. Bunun yanı sıra hücre çeperi içinde çepere bağlı bulunan peroksidaz enzimi (POX), üç hidroksisinnamil (p-kumaril, koniferil ve sinapil) alkollerin oksidatif polimerleşmesini katalize eder. Daha sonra sırasıyla lignin polimerin p-hidroksifenil (H), guaiasil (G) ve syringyl (S) birimlerini üreterek ligninleşmeyi sağlar (Boerjan ve ark., 2003) Çalışmamızda POX enzim aktivitesi ön DHA uygulanan grupta kontrol grubuna kıyasla sadece ilk 6 saatte artmış 12. ve

24. saatlerde değişmemiştir. Bu durum, soya yapraklarında artan POX enziminin hidrojen peroksiti süpürme aktivitesindeki rolünün yanı sıra stres altında hücre çeperinde ligninleşmede rol aldığını düşündürmektedir.

Ayrıca, sadece tuz stresine maruz kalan bitkilerdeki sonuçlar ele alındığında, POX enzim aktivitesinin kontrol gurubuna kıyasla arttığı tespit edilmiştir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve MDA miktarlarındaki artış dikkate alındığında, POX enzim aktivitesindeki artışın soya yapraklarını stresten korumak için yeterli olmadığı tespit edilmiştir. Buna paralel olarak Ghafari ve ark.'ı (2018) yılında yaptıkları bir çalışmada tuz stresi altındaki soya bitkisinde POX enzim aktivitesinin arttığını savunmuşlardır. Dahası, Ön DHA uygulaması yapılan tuz stresi altındaki soya yapraklarında ise sadece tuz stresi uygulanan gruba kıyasla sadece 6. saatte artış gözlenmiştir. Bu sonuç, peroksidaz enziminin lignin biyosentezini arttırdığı yönündeki tespitler ile uyum içerisindedir. Benzer şekilde Neves ve arkadaşları (2010) yılında yaptıkları bir çalışmada, 50-200 mM tuz stresi altındaki soya bitkisi köklerinde POX enzim aktivitesine bağlı hücre çeperlerinde lignin miktarının arttığını rapor etmişlerdir.

### **5.11.3.Askorbat Peroksidaz (APX; EC 1.11.1.11) Enzim ve İzoenzim Aktivitesi**

Hidrojen peroksit, (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) metabolizmasında rol oynayan ana enzimlerden biri askorbat peroksidazlar (APX'ler)'dir (Smirnoff, ve ark., 2019). Araştırmamızda, sadece DHA ve sadece tuz uygulanan grupta APX enzim aktivitesi değişmemiştir (Şekil 4.9) Buna paralel olarak Sekmen ve ark. 2007 yılında tuz stresi altındaki *Plantago maritima* L. bitkisinde APX enzim aktivitesinin değişmediği rapor edilmiştir. Tuz stresi uygulaması ile artan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarı bu sonucu destekler niteliktedir. Öte yandan tuz stresi altında ön DHA uygulanan grupta APX enzim aktivitesi artmıştır. Elde edilen sonuçlar, hidrojen peroksit ve malondialdehid miktarlarındaki azalma ile uyum içerisindedir ve stres esnasında DHA'nın bir sinyal moleköl rolü üstlendiğini kanıtlar niteliktedir.

### **5.11.4.Glutatyon- S-Transferaz (GST; EC: 2.5.1.18) Enzim ve İzoenzim Aktivitesi**

GST'ler toksik organik hidroperoksitleri temizleyen ve oksidatif hasardan koruyan GSH'ye bağlı peroksidaz reaksiyonlarını katalize edebilirler (Islam ve ark., 2019) Çalışmamızda, ön DHA uygulaması yapılan gruplarda kontrol gruplarına kıyasla tüm saatlerde bir değişim gözlenmemiştir. Bununla birlikte sadece tuz stresi uygulanan grupta kontrol grubuna kıyasla GST enzim aktivitesi artmıştır (Şekil 4.10). Benzer şekilde, Dinler ve ark. (2014), yılında tuz stresi (200 mM) altındaki soya bitkisinde yaptıkları çalışmada GST enzim aktivitesinin 6. saatte



arttığı rapor edilmiştir. Ayrıca tuz stresi altında yapılan ön DHA uygulaması, sadece tuz stresi uygulanan gruba kıyasla tüm saatlerde değişmemiştir. Elde edilen sonuçlar, DHA'nın GST enzim aktivitesi üzerinde herhangi bir etki oluşturmadığını göstermektedir. Bu durum, DHA'nın uyarabileceği hormonların GST sinyal yolu üzerinde etkisi olmadığını kanıtlar niteliktedir.

## 5.12. WRKY

WRKY transkripsiyon faktörleri, transkripsiyonel düzenleyicilerin en büyük ailesini oluşturmakta ve Arabidopsis'te 72, soya ve kavak bitkilerinde 100'den fazla temsilcisi bulunmaktadır (Rushton ve ark., 2010; Pandey ve ark., 2014). WRKY gen ailesi, bitki stres cevapları ile ilgili transkripsiyonel yeniden programlamanın düzenlenmesinde önemli role sahiptir (Bakshi ve Oelmüller, 2014). Stres koşulları altında soya bitkisinde GmWRKY'ler ile ilgili çok sayıda rapora rastlanmıştır. Transgenik Arabidopsis bitkisinde, *GmWRKY13* geninin hem abiyotik strese hem de yan kök gelişiminde rol oynadığı belirlenmiştir (Zhou ve ark., 2008). Ayrıca, *GmWRKY111* geninin aşırı ifadesinin transgenik soya bitkisinde tuz stresine olan toleransı arttırdığı rapor edilmiştir (Xu ve ark., 2014).

Bu çalışmada, ön DHA uygulaması altında yapılan tuz stresinin 12. ve 24. saatlerinde *WRKY71* gen ifadesinin belirgin bir şekilde arttığı ancak yalnız tuz uygulaması ve yalnız DHA uygulaması ile değişmediği gözlenmiştir (Şekil 4.6). Bu sonuç, DHA'nın soya bitkisinde tuz toleransını arttırmada sinyal iletim yolunda görevli olabileceğini düşündürmektedir.

Öte yandan, WRKY gen ailesinin bitkilerde ROS sinyallemesinde görevli olduğu tespit edilmiştir (Davletova ve ark., 2005). Örneğin, *TaWRKY10* genini buğdaydan alınıp transgenik tütün bitkisinde aşırı ifade edilmesi ile tuzluluk ve kuraklık stresinin oluşturduğu MDA ve hidrojen peroksit miktarını indirgelediği belirlenmiştir (Banerjee ve Roychoudhury, 2015). Araştırmamızda, *WRKY-71* gen ifadesinin DHA etkisi ile arttığı gruplarda POX ve GST enzim aktivitesinin değişmediği gözlenmiştir. Bu durum, DHA'nın içsel hormonlar (ABA, SA, JA, NO)'ın birikimini arttırarak *WRKY-71* gen ifadelerini arttırdığı ve bazı antioksidan enzimlerin de artışına sebep olduğunu kanıtlar niteliktedir.

## 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Araştırmamızda, tuz stresi altındaki soya yapraklarına yapılan ön DHA uygulamasının strese olan cevap mekanizmalarını uyararak stres altında azalan kök yaş ve kuru ağırlığını, bağıl su içeriğini, membran iletkenliğini, klorofil miktarını ve yaprak alanını iyileştirdiği tespit edilmiştir. Ayrıca, çalışmamızda abietikditerpen grubuna dahil olan DHA, soya yapraklarında hem antioksidan özelliği göstermiş hem de antioksidan savunma sistemine ait SOD, POX (sadece 6.saat) ve APX enzim aktivitesini uyarmıştır. Bununla beraber, tuz stresi altında ifade edilmeyen *WRKY-71* geninin DHA uygulaması yapılan stres altındaki bitkilerde ifadesinin artmış olması oldukça ilgi çekicidir. Elde edilen sonuçlar, DHA'nın abiyotik streslerden biri olan tuz stresine verilen cevaplarda koruyucu rol aldığı ve bunuçsel hormon (ABA, SA, JA) düzeylerini arttırarak gerçekleştirebileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle bitkilerin stres toleransını arttırmada DHA'nın önemli bir rol oynayabileceği ve bu maddenin moleküler düzeyde yapılan başka çalışmalar ile araştırılmasının faydalı olacağı kanısındayız.

## KAYNAKLAR

- Adhikari, B., Dhungana, S. K., Kim, I. D., Shin, D.H., 2019: Effect of foliar application of potassium fertilizers on soybean plants under salinity stress. *Saudi J. Biol. Sci.*(Baskıda)
- Agarwal, N., Kumar, A., Agarwal, S., Singh, A., 2015: Evaluation of soybean (*Glycine max L.*) cultivars under salinity stress during early vegetative growth. *Int J Cur Microbiol App Sci*, 4,2, 123-134.
- Agarwal, P. K., Dave, A., Agarwal, P.,2018: Transcriptional regulation of salinity stress: role and spatio-temporal expressions of ion-transporter gene promoters. *Bio. Plant.*, 62,4, 641-646.
- Aksoy, M., ve Dinler, B.S., 2014: Different responses in acclimated and non-acclimated processes of soybean leaves to salinity. *Fresen Environ Bull*, 238, 1915-1919.
- Aktaş, H., ve Kılıç, P., 2013. Sebze soya filizi yetiştiriciliğinde (*Glycine max L.*) tuz uygulamalarının tohum çimlenmesi ve filiz kalitesi üzerine etkileri. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi, 23,3, 236-241.
- Apel, K., and Hirt, H., 2004: Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biological.* 55, 373-399.
- Arıoğlu, H. H., Çalışkan, S., Söğüt, T., İncikli, H., Zaimoğlu, B., Güllüoğlu, L., 2003: Çukurova Bölgesi, İkinci Ürün Koşullarına Uygun Soya (*Glycine max Merr.*) Çeşit Islahı Üzerinde Araştırmalar. *Türkiye*, 5, 13-17.
- Aruoma, OI, Halliwell, B., Aeschbach, R. ve Löliger, J., 1992: Aktif biberiye bileşenlerinin antioksidan ve pro-oksidan özellikleri: karnosol ve karnosik asit. *Xenobiotica*, 22 ,2, 257-268.
- Ashraf, M., ve Ali, Q., 2008: Relative membrane permeability and activities of some antioxidant enzymes as the key determinants of salt tolerance in canola (*Brassica napus L.*). *Environ Exp Bot*, 63,1-3, 266-273.
- Bakshi, M., Oelmüller, R., 2014: WRKY transcription factors: Jack of many trades in plants. *Plant Signal Behav* 9.2. e27700.
- Banerjee, A., Roychoudhury, A., 2015: WRKY proteins: signaling and regulation of expression during abiotic stress responses. *The Sci World J*
- Bates, L. S., Waldren, R. P., Teare, I. D., 1973: Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil*, 39,1, 205-207.
- Beauchamp, C.O., Fridovich, I., 1973: Isozymes of superoxide dismutase from wheat germ. *Biochim et Biop Acta(BBA)-Protein Structure* 317,1, 50-64.

- Boerjan, W., Ralph, J., Baucher, M., 2003: Lignin biosynthesis. Annual review of plantbiology, 54,1, 519-546.
- Chaturvedi, R., Venables, B., Petros, R.A., Nalam, V., Li, M., Wang, X., Takemoto, L.J., Shah, J., 2012: An abietane diterpenoid is a potent activator of systemic acquired resistance. *Plant J.* 71,1, 161-172.
- Choudhury, F. K., Rivero, R. M., Blumwald, E., Mittler, R., 2017: Reactive oxygen species abiotic stress and stress combination. *Plant J.* 90,5, 856-867.
- Croteau, R., Kutchan, T.M., Lewis, N.G., 2000: Natural products (secondary metabolites): *Biochem Mol Biol Plant* 24,1250-1319.
- Çırak, C., Esendal, E. 2005: Soyada bitki gelişim dönemleri. Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi. 20,2, 57-65.
- Çömlekçioğlu, N., 2009: Cultivation of vegetable Soybean (*Glycine Max* (L.) Merrill.) as second crop under Harran Plain conditions. *J. F. Agricul. Harran Uni.* (Turkey:
- Das, K., Roychoudhury, A., 2014: Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. *Front Environ Sci*, 2, 53.
- Davletova, S., Rizhsky, L., Liang, H.J., Zhong, S.Q., Oliver, D.J., Coutu, J., Shulaev, V., Schlauch, K., Mittler, R., 2005: Cytosolic ascorbate peroxidase 1 is a central component of the reactive oxygen gene network of Arabidopsis. *Plant Cell* 17,1, 268-281.
- de Azevedo Neto, A. D., Prisco, J. T., Enéas-Filho, J., de Abreu, C. E. B., Gomes-Filho, E. 2006: Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes. *Environ and Exp Bot*, 56,1, 87-94.
- Demidchik, V., 2015: Mechanisms of oxidative stress in plants: from classical chemistry to cell biology. *Environ exp bot.* 109, 212-228.
- Dinler, B. S., Antoniou, C., Fotopoulos, V., 2014: Interplay between GST and nitric oxide in the early response of soybean (*Glycine max* L.) plants to salinity stress. *J plant physiol*, 171,18, 1740-1747.
- Dinler, B. S., Gunduzer, E., Tekinay, T., 2016: Pre-treatment of fulvic acid plays a stimulant role in protection of soybean (*Glycine Max* L.) Leaves against heat and salt stress. *Acta Biol Cracov Bot*, 58,1, 29-41.
- El Sabagh, A., Ömer, A.E., Saneoka, H., Barutçular, C., 2015: Soya fasulyesi (*Glycine max* L.) çeşitlerinin tuz stresi altındaki karşılaştırmalı fizyolojik çalışmaları. *J Agr Sci*, 25, 269-284.
- Essa, T.A., 2002: Effect of salinity stress on growth and nutrient composition of three soybean (*Glycine max* L. Merrill) cultivars. *J Agron Crop Sci.* 188,2, 86-93.

- Eulgem, T., Rushton, P. J., Robatzek, S., Somssich, I. E. 2000: The WRKY superfamily of plant transcription factors. *Trends plant sci.* 5,5, 199-206.
- Foyer, C. H. (2018). Reactive oxygen species, oxidative signaling and the regulation of photosynthesis. *Environ exp bot.* 154, 134-142.
- Ghafari, H., Tadayon, M.R., Razmjoo, J., 2018: The role of salicylic acid and proline treatment on induction of antioxidant enzyme activities and salt tolerance responses of soybean (*Glycine max* L.).
- Ghassemi-Golezani, K., Farhangi-Abriz, S., 2018: Changes in Oil Accumulation and Fatty Acid Composition of Soybean Seeds under Salt Stress in Response to Salicylic Acid and Jasmonic Acid. *Russ J Plant Physiol*, 65,2, 229-236.
- Ghoulam, C., Foursy, A., Fares, K., 2002: Effects of salt stress on growth, inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in five sugar beet cultivars. *Environ exp Bot*, 47,1, 39-50.
- Gonzalez MA, Perez-Guaita, D., Correa-Royero, J., Zapata, B., Agudelo, L., Mesa-Arango, A., Betancur-Galvis, L., 2010: Synthesis and biological evaluation of dehydroabietic acid derivatives. *Eur J Med Chem* 45, 2, 811-816.
- Greenway, H., Munns, R., 1980: Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. *Annu Rev Plant Biol*, 31,1, 149-190.
- Habig, W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W.B., 1974: Glutathione S-transferases the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem.* 249, 22, 7130-7139.
- Hamayun, M., Khan, S. A., Khan, A.L., Shin, J. H., Ahmad, B., Shin, D. H., Lee, I. J., 2010: Exogenous gibberellic acid reprograms soybean to higher growth and salt stress tolerance. *J Agric Food Chem.*, 5,12, 7226-7232.
- Hang, H.T., 2016: Effects of salinity on soybean (*Glycine max* [L.] Merr.) DT26 cultivar. VNU Journal of Science: *Natural Sci Tec*, 32,1.
- Haraguchi, H., Saito, T., Okamura, N., Yagi, A., 1995: Inhibition of lipid peroxidation and superoxide generation by diterpenoids from *Rosmarinus officinalis*. *Planta Med.* 61, 333-336
- Haraguchi, H., 1998: Protection against oxidative stresses by plant secondary metabolites (abstract no. 1186). *Plant Physiol* 65, 1676
- Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Fujita, M., 2013: Plant response to salt stress and role of exogenous protectants to mitigate salt-induced damages. In *Ecophysiology and responses of plants under salt stress 25-87: Springer, New York, NY.*

- Hasanuzzaman, M., Oku, H., Nahar, K., Bhuyan, M. B., Al Mahmud, J., Baluska, F., Fujita, M., 2018: Nitric oxide-induced salt stress tolerance in plants: ROS metabolism, signaling, and molecular interactions. *Plant Bio Rep*, 12, 2, 77-92.
- Hayat, S., Yadav, S., Wani, A. S., Irfan, M., Alyemini, M. N., Ahmad, A., 2012: Impact of sodium nitroprusside on nitrate reductase, proline content, and antioxidant system in tomato under salinity stress. *Horti Environ, Biotec*, 53,5, 362-367.
- Hediye Sekmen, A., Türkan, İ. Takio, S., 2007: Antioksidan enzimlerin ve lipid peroksidasyonunun tuza toleranslı *Plantago maritima* ve tuza duyarlı *Plantago* ortamlarında tuz stresine farklı tepkileri. *Physiol Plant*, 13, 3, 399-411.
- Hothem, S. D., Marley, K. A., Larson, R.A. 2003: Photochemistry in Hoagland's nutrient solution. *J Plant Nutr* 26,4, 845-854.
- Hoyos, M.E., Zhang, S. 2000: Calcium-independent activation of salicylic acid-induced protein kinase and a 40-kilodalton protein kinase by hyperosmotic stress. *Plant Physiol*, 122,4, 1355-1364.
- Hu, Y., ve Schmidhalter, U., 2005: Drought and salinity: a comparison of their effects on mineral nutrition of plants. *J Plant Nutr Soil Sci.*, 168,4, 541-549.
- Iqbal, M., Ashraf, M., 2013: Gibberellic acid mediated induction of salt tolerance in wheat plants: Growth, ionic partitioning, photosynthesis, yield and hormonal homeostasis. *Environ Exp Bot*, 86, 76-85.
- Islam, T., Molla, M.R., Sultana, R., Rahman, M.B., Rashid, M. 2019: Regulation of a dominant glutathione S-transferase and Na/K by spermidine under salinity in onion. *Afr. J. Biotechnol.* 18,7, 136-143.
- Jiang, Y., Liang, G., Yu, D., 2012: Activated expression of WRKY57 confers drought tolerance in *Arabidopsis*. *Mol plant*, 5,6, 1375-1388.
- Kanner, J. and Kinsella, J.E., 1983: Lipid deterioration initiated by phagocytic-cells in muscle foods-beta-carotene destruction by a myeloperoxidase hydrogen-peroxide halide system. *J Agr Food Chem* 31, 370-376.
- Katerji, N., Van Hoorn, J.W., Hamdy, A., Mastrorilli, M., 2003: Katerji, N., Van Hoorn, J. W., Hamdy, A., Mastrorilli, M., 2003: Salinity effect on crop development and yield, analysis of salt tolerance according to several classification methods. *Agricultural water management*, 62,1, 37-66.
- Keeling, C. I., Bohlmann, J., 2006: Diterpene resin acids in conifers. *Phyto chem*, 67, 22, 2415-2423.
- Khodary, S. E. A., 2004. Effect of salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt stressed maize plants. *Int. J. Agric. Biol*, 6,1, 5-8.

- Laemmli, U.K. 1970: Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. *Nature* 227,680-685.
- Lichtenthaler, H. K., ve Alan, R., Wellburn., 1983: Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. 591-592.
- Liang, W., Ma, X., Wan, P., Liu, L. 2018: Plant salt-tolerance mechanism: A review. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 49,51, 286-291.
- Madhava, Rao K.V., Sresty, T.V.S., 2000: Antioxidative parameters in the seedlings of pigeonpea (*Cajanus Cajan* L. Millspaugh) in response to Zn and Ni stresses. *Plant Sci.* 157, 113-28.
- Mensah, A. Y., Houghton, P. J., Bloomfield, S., Vlietinck, A., Vanden Berghe, D., 2000: Known and novel terpenes from *Buddleja globosa* displaying selective antifungal activity against dermatophytes. *J. Nat. Prod* 63,9, 1210-1213.
- Métraux, J. P., 2001: Systemic acquired resistance and salicylic acid: current state of knowledge. *J Plant Pathol.*, 107(1), 13-18.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M., Van Breusegem, F., 2004: Reactive oxygen gene network of plants. *Trends plant sci*, 9, 10, 490-498.
- Mittler, R., Zilinskas, B.A., 1993: Detection of ascorbate peroxidase activity in native gels by inhibition of the ascorbate-dependent reduction of nitroblue tetrazolium. *Anal Biochem* 212, 2,540-546.
- Moussa, H. R., 2004: Amelioration of salinity-induced metabolic changes in soybean by weed exudates. *Int J Agri Biol*, 6,3, 499-503.
- Munne Bosch, S. ve Alegre, L., 2003: Munné-Bosch, S., Alegre, L., 2003. Drought-induced changes in the redox state of  $\alpha$ -tocopherol, ascorbate, and the diterpene carnosic acid in chloroplasts of Labiatae species differing in carnosic acid contents. *Plant Physiol*, 131,4, 1816-1825.
- Munné-Bosch, S., Schwarz, K., Alegre, L., 1999: Enhanced formation of  $\alpha$ -tocopherol and highly oxidized abietane diterpenes in water-stressed rosemary plants. *Plant Physiol*, 121,3, 1047-1052.
- Munné-Bosch, S., & Alegre, L., 2001: Subcellular compartmentation of the diterpene carnosic acid and its derivatives in the leaves of rosemary. *Plant physiol*, 125,2, 1094-1102.
- Nakano, Y. and Asada, K., 1981: Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts, *Plant Cell Physiol.* 22, 867-880.
- Neves, G. Y. S., Marchiosi, R., Ferrarese, M. L. L., Siqueira-Soares, R. C., Ferrarese-Filho, O., 2010: Root growth inhibition and lignification induced by salt stress in soybean. *J Agron Crop Sci.* 196, 6, 467-473.

- Noctor, G., Reichheld, J. P., Foyer, C. H., 2018: August: ROS-related redox regulation and signaling in plants. *Semin Cell Dev Biol* 80, 3-12: Academic Press.
- Onodera, M., Nakajima, T., Nanzyo, M., Takahashi, T., Xu, D., Homma, K. ve Kokubun, M. 2019: Regulation of root-to-leaf Na and Cl transport and its association with photosynthetic activity in salt-tolerant soybean genotypes. *J. Plant Prod. Sci*, 1-13.
- Pandey S.P., Somssich I.E., 2009: The role of WRKY transcription factors in plant immunity. *Plant Physiol.* 150, 4, 1648-1655.
- Parida, A. K., Das, A. B. 2005: Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotox Environ Safe* 60,3, 324-349.
- Pfaffl, M.W., Horgan, G., Dempfle, L., 2002: Relative expression software tool (REST©) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. *Nucleic Acids Res.* 309, e36-e36.
- Phang, T.H., Shao, G., ve Lam, H.M. 2008: "Salt tolerance in soybean", *J Integr Plant Biol* , 50,10, 1196-1212.
- Ramana, G.V., Padhy, SP ve Chaitanya, K.V., 2012: Differential responses of four soybean (*Glycine max* L.) cultivars to salinity stress. *Legume Research: An International Journal*, 35,3.
- Reddy, I. N. B. L., Kim, B. K., Yoon, I. S., Kim, K. H., Kwon, T. R., 2017: Salt tolerance in rice: focus on mechanisms and approaches. *Rice Science*, 24, 3, 123-144.
- Ren, X., Chen, Z., Liu, Y., Zhang, H., Zhang, M., Liu, Q., Gong, Z., 2010: ABO3, a WRKY transcription factor, mediates plant responses to abscisic acid and drought tolerance in Arabidopsis. *Plant J.* 63,3, 417-429.
- Rushton, D.L., Tripathi, P., Barbara., R.C., Lin, J., Ringler, P., Boken, A.K., Chen, X. 2012: WRKY transcription factors: key components in abscisic acid signalling. *Plant biotec J.* 10,1, 2-11.
- Rushton, P. J., Somssich, I. E., Ringler, P., Shen, Q. J., 2010: WRKY transcription factors. *Trends plant sci*, 15,5, 247-258.
- Sarisoy, U., Dinler, B. S., Tasci, E., 2018: The Effects of NPR1 Dependent Salicylic Acid Change in Increasing Salt Tolerance of Soybean Leaves by Acclimation. *Not Bot Horti Agrobot Cluj Napoca*, 46, 2, 356-364.
- Schwarz, K., Ternes, W. 1992: Antioxidative constituents of Rosmarinus officinalis and Salvia officinalis. II. Isolation of carnosic acid and formation of other phenolic diterpenes. *Zeitschrift fur Lebensmittel-untersuchung Und-forschung*, 195, 2, 99-103.
- Seckin-Dinler, B., Tasci, E., Sarisoy, U., Gul, V., 2018: The Cooperation Between Methyl Jasmonate and Salicylic Acid to Protect Soybean (*Glycine Max* L.) From Salinity. *Fres Environ Bul*, 27, 3, 1618-1626.



- Seevers, F.M., Daly, J.M., Catedral, F.F., 1971: The role of peroxidase isozymes in resistance to wheat stem rust. *Plant Physiol* 48, 353-360.
- Sekmen, A.H., Türkan, I., Takio, S., 2007: Differential responses of antioxidative enzymes and lipid peroxidation to salt stress in salt-tolerant *Plantago maritima* and salt-sensitive *Plantago media*. *Physiol plant*. 131, 3, 399-411.
- Sereflioglu, S., Dinler, B. S., Tasci, E. 2017: Alpha-tocopherol-dependent salt tolerance is more related with auxin synthesis rather than enhancement antioxidant defense in soybean roots. *Acta Biologica Hungarica*. 68, 1, 115-125.
- Shah, J., Giri, M.K., Chowdhury, Z., Venables, B.J., 2016: Signaling function of dehydroabietinal in plant defense and development. *Phytoch Rev*.15, 6, 1115-1126.
- Shah, J., Kachroo, P., Nandi, A., Klessig, D. F., 2001: A recessive mutation in the Arabidopsis SSI2 gene confers SA- and NPR1-independent expression of PR genes and resistance against bacterial and oomycete pathogens. *Plant J*, 25, 5, 563-574.
- Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K., Seki, M., 2003: Regulatory network of gene expression in the drought and cold stress responses. *Curr Opin Plant Biol*, 6, 5, 410-417.
- Singh, A., Kumar, J., Kumar, P., 2008: Effects of plant growth regulators and sucrose on post harvest physiology, membrane stability and vase life of cut spikes of gladiolus. *Plant Growth Regul* 55, 3, 221.
- Smart, R.E., Bingham, G.E., 1974: Rapid estimates of relative water content. *Plant Physiol* 53, 2, 258-260.
- Smirnoff, N., Arnaud, D., 2019: Hydrogen peroxide metabolism and functions in plants. *New Phytol*, 221, 3, 1197-1214.
- Stavridou, E., Hastings, A., Webster, R. J., Robson, P.R., 2017: The impact of soil salinity on the yield, composition and physiology of the bioenergy grass *Miscanthus giganteus*. *Gcb Bioenergy*, 9, 1, 92-104.
- Tholl, D., 2015: Biosynthesis and biological functions of terpenoids in plants In *Biotechnology of isoprenoids*. Springer International Publishing, Cham. 63-106.
- Tuteja, N., 2007: Abscisic acid and abiotic stress signaling. *Plant sig. Behav.* 2, 3, 135-138.
- Ulubelen, A., Öksüz, S., Kolak, U., Bozok-Johansson, C., Çelik, C., Voelter, W. 2000: Antibacterial diterpenes from the roots of *Salvia viridis*. *Planta medica*, 66, 05, 458-462.
- Velikova, V., Yordanov, I., Edreva, A., 2000: Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants protective roles of exogenous polyamines. *Plant Sci* 151, 1, 59-66.

- Vieira, C. F., Silveira, J. A. G., Cavalcanti, F. R., Aragão, R. M., Silva, E. N. 2018: Integrated physiological analysis reveals that recovery capacity after salt stress withdrawal is a crucial mechanism for salt tolerance in soybean cultivars. *Ind J Plant Physiol*, 23, 3, 444-458
- Wang, X., Yan, X., Liao, H., 2010: Genetic improvement for phosphorus efficiency in soybean: a radical approach. *Ann bot.* 106, 1, 215-222.
- Westgate, M. E., Peterson, C. M., 1993: Flower and pod development in water-deficient soybeans (*Glycine max* L. Merr.): *J Exp Bot.* 44, 1, 109-117
- Wu, X., Shiroto, Y., Kishitani, S., Ito, Y., Toriyama, K., 2009: Enhanced heat and drought tolerance in transgenic rice seedlings overexpressing OsWRKY11 under the control of HSP101 promoter. *Plant Cel Rep.* 28, 1, 21-30.
- Xu, Z.L., Ali, Z., Yi, J., Xu, L., Liu, X.Q., He, X., Zhang, D.Y., 2014: Over-expression of GmWRKY111 enhances NaCl tolerance of salt-sensitive genotype of *Glycine max*. *Int J Agric Biol.* 16, 1, 53.
- Yang, Y., Guo, Y., 2018: Unraveling salt stress signaling in plants. *J Integr Plant Biol.* 60,9, 796-804.
- Yazaki, K., Gen-ichiro, A, T., Ohnishi., 2017: Hidden' terpenoids in plants: their biosynthesis, localization and ecological roles. *Plant Cel Physiol* 58, 10, 1615-1621.
- Yu, Y., Wang, N., Hu, R., Xiang, F., 2016 : Genome-wide identification of soybean WRKY transcription factors in response to salt stress. *Springer Plus* 5, 1, 920.
- Zhang, Y., Zhang, Z. G., Chopp, M., Meng, Y., Zhang, L., Mahmood, A., Xiong, Y., 2017: Treatment of traumatic brain injury in rats with N-acetyl-seryl-aspartyl-lysyl-proline. *J Integr Plant Biol*, 126, 3, 782-795.
- Zhou, Q.Y., Tian, A.G., Zou, H.F., Xie, Z.M., Lei, G., Huang C. S. Y., 2008: Soybean WRKY type transcription factor genes. GmWRKY13, GmWRKY21 and GmWRKY54 confer differential tolerance to abiotic stresses in transgenic Arabidopsis plants. *Plant Biotechnol J.* 6, 5, 486-503.
- Zhu, J. K., 2016: Abiotic stress signaling and responses in plants. *Cell.* 167, 2, 313-324.
- Zi, Jiachen., Sibongile, Mafu., and Reuben, J. P., 2014: To gibberellins and beyond! Surveying the evolution of (di) terpenoid metabolism. *Ann rev plant biol.* 65, 259-286.
- Zou, C. S., Jiang, W. B., and Yu, D. Q., 2010: Male gametophyte-specific WRKY34 transcription factor mediates cold sensitivity of mature pollen in Arabidopsis. *J. Exp. Bot.* 61, 3901–3914.

## ÖZGEÇMİŞ

**Ad:** Eda

**Soyadı:** TAŞCI

**Doğum tarihi:** 29.10.1990

## İletişim bilgileri

**Adres:** Sinop Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü SINOP / TÜRKİYE

**Telefon:** 0541 552 34 03

**E-posta:** [eda\\_tsc@hotmail.com](mailto:eda_tsc@hotmail.com)

## Eğitim Bilgileri

**Lisans eğitimi:** Sinop Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü-2016

## Yayınlar

- 1) Sereflioglu Seda, Dinler Burcu Seckin, Tascı Eda (2017). Alpha-tocopherol-dependent salt tolerance is more related with auxin synthesis rather than enhancement antioxidant defense in soybean roots, *Acta Biologica Hungarica* 68/1.
- 2) Cetinkaya Hatice, Seckin Dinler Burcu, Tascı Eda (2014). Investigation of Comparative Regulation on Antioxidant Enzyme System under Copper Treatment and Drought Stress in Maize (*Zea mays* L.), *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 42:2.
- 3) Bayram Duygu, Seckin Dinler Burcu, Tascı Eda (2014). Differential Response of Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Roots and Leaves to Salinity in Soil and Hydroponic Culture. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 42(1), 219-226.
- 4) Cetinkaya Hatice, Tascı Eda, Seckin Dinler Burcu (2014). Regulation of Glutathione S-transferase Enzyme Activity with Salt Pre-treatment under Heat Stress in Maize Leaves. *Research in Plant Biology* , 4(5), 45-56.
- 5) Eda Tascı, Burcu Seckin Dinler (2014). Guano-Induced Germination and Responses of Wheat Seedlings to Guano Under Water Stress Treatments. *Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 8(2), 44-51.

## Posterler

Sarısoy Ufkun, Seckin Dinler Burcu, Tascı Eda (2016). The Role of NPR1-Dependent SA by Acclimation to Increase Salt Tolerance in Soybean (*Glycine max.* L). 2<sup>th</sup>National Plant Physiology Symposium, 85-85.

Seçkin Dinler Burcu, Taşcı Eda, Sarısoy Ufkun, Gül Volkan (2017). The Role of Methyl Jasmonate Application in Salicylic Acid Dependent Reactive Oxygen Species Scavenging in Soybean (*Glycine max.* L.). ISEEP-2017 VIII. International Symposium on Ecology and Environmental problems.

Cetinkaya Hatice, Tascı Eda, Seckin Dinler Burcu (2014). The Changes in Pretreatment of Salt Treatment Under Heat Stress in Maize Leaves. 22<sup>th</sup> National Biology Congress, 511-511.

Tascı Eda, Seckin Dinler Burcu (2014). The Investigation of Responses of Zn and Flooding Stress in durum wheat in Sinop. 21<sup>th</sup> National Biology of Student Congress.

Cetinkaya Hatice, Seckin Dinler Burcu, Tascı Eda (2014). Copper treatment alleviates drought stress-induced oxidative damage in maize (*Zea mays* L.) Leaves. Plant Physiology and Genetics – Achievements and Challenges, 60-60.

## Proje ve Sunumlar

1) Tubitak 2209/A, 2014-2014 Investigation Of The Responses Of The Most Common Pandas Bread Wheat (*Triticum durum*) Cultivar Against Zinc And Water Stress Stress In Sinop Province

2) 20 Th National Biology Student Congress -Oral Presentation 13 June 2013, Bülent Ecevit University

3)International 21st National Biology Student Congress Oral Presentation September 2014, Karadeniz Technical University

4) Workshop On The Purification And Activity Measurement Of Ribulase Enzyme September 2014, 21<sup>th</sup> National Biology Student Congress