

**BAZI TRİTİKALE (× *TRITICOSECALE*)  
GENOTİPLERİNDE HİDROJEN PEROKSİT ÖN  
UYGULAMASIYLA TUZ STRESİNİN MEYDANA  
GETİRDİĞİ OKSİDATİF HASARIN GİDERİLMESİNDE  
SÜPEROKSİT DİSMUTAZ ENZİMİNİN İŞLEVİ**

**Sezer KÜÇÜKKARAKAŞ**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı**

**Danışman: Yrd. Doç. Dr. Sefer DEMİRBAŞ**

**2017**

**T.C.**

**NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BAZI TRİTİKALE (*× TRITICOSECALE*) GENOTİPLERİNDE HİDROJEN  
PEROKSİT ÖN UYGULAMASIYLA TUZ STRESİNİN MEYDANA GETİRDİĞİ  
OKSİDATİF HASARIN GİDERİLMESİNDE SÜPEROKSİT DİSMUTAZ  
ENZİMİNİN İŞLEVİ**

**Sezer KÜÇÜKKARAKAŞ**

**TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN: Yrd. Doç. Dr. Sefer DEMİRBAŞ**

**TEKİRDAĞ-2017**

**Her hakkı saklıdır**

Bu tez çalışması, Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından **NKUBAP.03.YL.15.007** numaralı proje ile desteklenmiştir.

Yrd. Doç. Dr. Sefer DEMİRBAŞ danışmanlığında, Sezer KÜÇÜKKARAKAŞ tarafından hazırlanan “Bazı Triticale ( $\times$  *Triticosecale*) Genotiplerinde Hidrojen Peroksit Ön Uygulamasıyla Tuz Stresinin Meydana Getirdiği Oksidatif Hasarın Giderilmesinde Süperoksit Dismutaz Enziminin İşlevi” isimli bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Doç. Dr. Okan ACAR

*İmza:*

Üye: Yrd. Doç. Dr. Sefer DEMİRBAŞ (Danışman)

*İmza:*

Üye: Yrd. Doç. Dr. Behiye Banu BİLGİN

*İmza:*

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Prof. Dr. Fatih KONUKCU

**Enstitü Müdürü**

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BAZI TRİTİKALE ( $\times$  *TRITICOSECALE*) GENOTİPLERİNDE HİDROJEN PEROKSİT ÖN UYGULAMASIYLA TUZ STRESİNİN MEYDANA GETİRDİĞİ OKSİDATİF HASARIN GİDERİLMESİNDE SÜPEROKSİT DİSMUTAZ ENZİMİNİN İŞLEVİ

**Sezer KÜÇÜKKARAKAŞ**

Namık Kemal Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Sefer DEMİRBAŞ

Tritikale buğday tarımının yapılmadığı alanlarda ekilmesi önerilen serin iklim tahılıdır. Bu tez çalışmasında, tohumlara ekim öncesi yapılan  $H_2O_2$  ön uygulamasının (0, 50, 100  $\mu$ M), Tatlıcak-97 ve Mikham-2002 genotiplerinin tuz stresi koşullarına olan toleransının artırılması amaçlanmıştır. Petri kabı denemesinde  $H_2O_2$  ön uygulamasının çimlenme dönemindeki etkisi, saksı denemesinde ise ekim öncesi  $H_2O_2$  ön uygulamasının fide döneminde yapılan tuz stresine (0, 50, 100 mM NaCl) karşı SOD enziminin tritikale fidelerinin toleransındaki işlevi belirlenmiştir. Saksı denemesinde, tuz stresi uygulamasından 0 (tuz uygulama günü), 7 ve 14 gün sonra tritikale fidelerinin SOD aktivitesi ve bu enzimi kodlayan *SOD1.1*, *SOD1.2*, *SOD2* ve *SOD3* genlerinin ifade düzeyindeki değişimler ile  $H_2O_2$ , TBARS ve BSİ içeriklerinde meydana gelen değişimler saptanmıştır. Çimlenme denemesinde, NaCl konsantrasyonunun artması kök ve gövde uzunluğu, gövde yaş ve kuru ağırlığı baskıladığı, her iki genotip de 100  $\mu$ M  $H_2O_2$  ön uygulamasının bu baskıyı ortadan kaldırdığı gözlemlenmiştir. Tatlıcak-97 çeşidinin Mikham-2002 çeşidine göre  $H_2O_2$  ön uygulamasına daha iyi bir yanıt oluşturduğu saptanmıştır. Tatlıcak-97 çeşidinin tuz stresi koşullarına karşı Mikham-2002 çeşidine oranla Petri kabı ve saksı denemesi sonuçlarına göre daha toleranslı olduğu saptanmıştır.

**Anahtar kelimeler:** tuz stresi, süperoksit dismutaz, hidrojen peroksit, gen ifadesi

2017, 50 sayfa

## ABSTRACT

MSc. Thesis

THE ROLE OF SUPEROXIDE DISMUTASE IN AVOIDING THE OXIDATIVE  
DAMAGE CAUSED BY SALT STRESS WITH HYDROGEN PEROXIDE PRE-  
TREATMENT IN SOME TRITICALE ( $\times$  *TRITICOSECALE*) GENOTYPES

**Sezer KÜÇÜKKARAKAŞ**

Namık Kemal University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Agriculture Biotechnology

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Sefer DEMİRBAŞ

Triticale is a kind of cool climate grain suggested to plant in unsuitable areas for wheat farming. In this thesis, it was aimed to increase of the salt tolerance of Tatlıcak-97 and Mikham-2002 genotypes with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0, 50, 100 µM) pre-treatment to seeds under salt stress. It was determined that the effect of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pre-treatment on triticale seeds germination period in Petri dish experiment and the role of superoxide dismutase in the triticale seedling tolerance at two leaf levels against to salt stress (0, 50, 100 mM NaCl) were determined. In pot experiment, it was determined that the alteration of SOD activity and the gene expression level of *SOD1.1*, *SOD1.2*, *SOD2* and *SOD3* and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, TBARS and leaf relative water (RWC) content in triticale seedlings at 0, 7, and 14 days after salt stress application. In the germination experiment, it was determined that increasing of NaCl concentration inhibited root and shoot length, shoot fresh and dried weight, however 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pre-treatment removed this inhibitory effect in both genotypes. Thus, Tatlıcak-97 genotype responded to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pre-treatment better than Mikham-2002 was found. According to the results of both Petri dish and pot experiment, Tatlıcak-97 genotype was more tolerant to salt stress than Mikham-2002 genotype.

**Keywords:** salt stress, superoxide dismutase, hydrogen peroxide, gene expression.

**2017, 50 pages**

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa

<b>ÖZET</b> .....	<b>i</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>ii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>iii</b>
<b>ÇİZELGE DİZİNİ</b> .....	<b>v</b>
<b>ŞEKİL DİZİNİ</b> .....	<b>vi</b>
<b>SİMGELER DİZİNİ</b> .....	<b>vii</b>
<b>ÖNSÖZ</b> .....	<b>x</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1. Tuz Stresi .....	2
1.2. Antioksidan Savunma Sistemi .....	2
1.3. Hidrojen Peroksit (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) .....	6
1.4. Tritikale .....	8
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ</b> .....	<b>10</b>
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM</b> .....	<b>16</b>
3.1. Bitkisel Materyal .....	16
3.2. Bitkilerin Yetiştirilmesi .....	16
3.2.1. Yüzeysel sterilizasyon .....	16
3.2.2. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ön uygulaması .....	16
3.2.3. Petri kabı denemesi .....	16
3.2.3.1. Morfolojik parametreler .....	17
3.2.4. Saksı denemesi .....	17
3.2.4.1. Morfolojik parametreler .....	18
3.3. Bitki Analiz Yöntemleri .....	18
3.3.1. Yaprak bağıl su içeriğinin (BSİ) belirlenmesi .....	18
3.3.2. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> miktarının belirlenmesi .....	19
3.3.3. Lipit peroksidasyonu analizi .....	19
3.3.4. Toplam protein miktarının belirlenmesi .....	19
3.3.5. Süperoksit dismutaz (SOD; EC 1.15.1.1) aktivitesinin belirlenmesi .....	19
3.3.6. Gen ifade düzeyindeki değişimlerin belirlenmesi .....	20
3.3.6.1. RNA izolasyonu ve toplam RNA miktarının hesaplanması .....	20
3.3.6.2. Reverse transkripsiyon (RT) PCR .....	22
3.3.6.3. Genlerin PCR'da çoğaltılması .....	23
3.3.6.4. Bağıl gen ifade düzeyinin belirlenmesi .....	24
3.4. İstatistiksel Analiz .....	24

<b>4. BULGULAR</b> .....	<b>25</b>
4.1. Çimlendirme denemesi.....	25
4.1.1 Morfolojik parametreler .....	25
4.2. Saksı Denemesi .....	30
4.2.1 Morfolojik parametreler .....	30
4.2.2 Yaprak bağıl su içeriği (BSİ) .....	35
4.2.3. Hidrojen peroksit (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) miktarı .....	36
4.2.4. Lipit peroksidasyonu (TBARS) miktarı .....	37
4.2.5. SOD aktivitesi .....	38
4.2.6. Gen ifadesinde meydana gelen değişimler.....	39
<b>5. TARTIŞMA ve SONUÇ</b> .....	<b>43</b>
<b>6. KAYNAKLAR</b> .....	<b>45</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>50</b>



## ÇİZELGE DİZİNİ

Çizelge 3. 1. Tatlıcak-97 çeşidine ait yapraklardan izole edilen toplam RNA miktarları ( $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ).....	21
Çizelge 3. 2. Mikham-2002 çeşidine ait yapraklardan izole edilen toplam RNA miktarları ( $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ) ....	22
Çizelge 3. 3. RT-PCR aşamasında her bir örnek için gerekli olan maddeler ve hazırlama sırası .....	22
Çizelge 3. 4. RT-PCR aşamasında kullanılan sıcaklık ve döngü sayıları .....	22
Çizelge 3. 5. PCR' da kullanılan karışımlar .....	23
Çizelge 3. 6. Çalışmada kullanılan genlere ait primer dizileri ve PCR uygulamaları.....	23
Çizelge 3. 7. PCR'da genlerin çoğlatılması .....	23
Çizelge 4. 1. Tatlıcak-97 ve Mikham-2002 genotiplerinin çimlendirme denemesinde çimlenme süresi (gün) ve çimlenme oranına (%) ait değişimler .....	25
Çizelge 4. 2. Tatlıcak-97 ve Mikham-2002 genotiplerinin çimlendirme denemesinde kök parametrelerine ait değişimler .....	27
Çizelge 4. 3. Tatlıcak-97 ve Mikham-2002 genotiplerinin çimlendirme denemesinde gövde parametrelerine ait değişimler .....	29
Çizelge 4. 4. Tatlıcak-97 ve Mikham-2002 genotiplerinin saksı denemesinde kök parametrelerine ait değişimler .....	31
Çizelge 4. 5. Tatlıcak-97 ve Mikham-2002 genotiplerinin saksı denemesinde gövde parametrelerine ait değişimler .....	33

## ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 1. 1. Reaktif oksijen türlerinin oluşumu ve dönüşümü (Smirnoff 2005) .....	3
Şekil 1. 2. Askorbat-Glutatyon döngüsü (Smirnoff 2005) .....	5
Şekil 1. 3. ROT'nun sinyal iletimi (Smirnoff 2005) .....	7
Şekil 1. 4. Tritikale bitkisinin genel görünümü (Anonim 2016) .....	8
Şekil 3. 1. Tatlıcak-97 (A) ve Mikham-2002 (B) tritikale genotiplerinin 14. gün hasat öncesi görüntüsü .....	18
Şekil 3. 2. RNA izolasyon aşamaları.....	21
Şekil 4. 1. Tatlıcak-97 (a) ve Mikham-2002 (b) tohumlarına yapılan H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> uygulaması sonrası NaCl stresi koşullarında 0., 7. ve 14. günlerdeki yaprak BSİ değerinde meydana gelen değişimler .....	36
Şekil 4. 2. Tatlıcak-97 (a) ve Mikham-2002 (b) tohumlarına yapılan H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> uygulaması sonrası NaCl stresi koşullarında 0., 7. ve 14. günlerdeki yaprak H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> miktarında meydana gelen değişimler.....	37
Şekil 4. 3. Tatlıcak-97 (a) ve Mikham-2002 (b) tohumlarına yapılan H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> uygulaması sonrası NaCl stresi koşullarında 0., 7. ve 14. günlerdeki yaprak TBARS miktarında meydana gelen değişimler.....	38
Şekil 4. 4. Tatlıcak-97 (a) ve Mikham-2002 (b) tohumlarına yapılan H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> uygulaması sonrası NaCl stresi koşullarında 0., 7. ve 14. günlerdeki yaprak SOD aktivitesinde meydana gelen değişimler.....	39
Şekil 4. 5. Tatlıcak-97 ve Mikham-2002 genotiplerinin <i>SOD1.1</i> genine ait UV ışık altındaki jel görüntüsü.....	40
Şekil 4. 6. Tatlıcak-97 (a) ve Mikham-2002 (b) tohumlarına yapılan H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> uygulaması sonrası NaCl stresi koşullarında 0., 7. ve 14. günlerdeki <i>SOD1.1</i> geninin ifadesinde meydana gelen değişimler.....	40
Şekil 4. 7. Tatlıcak-97 ve Mikham-2002 genotiplerinin <i>SOD3</i> genine ait UV ışık altındaki jel görüntüsü.....	41
Şekil 4. 8. Tatlıcak-97 (a) ve Mikham-2002 (b) tohumlarına yapılan H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> uygulaması sonrası NaCl stresi koşullarında 0., 7. ve 14. günlerdeki <i>SOD3</i> geninin ifadesinde meydana gelen değişimler.....	42

## SİMGELER DİZİNİ

$^1\text{O}_2$	: Tekil oksijen
AA	: Askorbik asit
ABA	: Absisik asit
APX	: Askorbat peroksidaz
BSA	: Bovin serum albümin
BSİ	: Bağlı su içeriği
Ca	: Kalsiyum
cAPX	: Cytosolic ascorbate peroxidase
CAT	: Katalaz
Cl	: Klorür
Cu	: Bakır
DHAR	: Dehidroaskorbat redüktaz
dI	: Deiyonize
dk	: Dakika
dNTPs	: Serbest nükleotidler (deoksiribonükleosit triptofosfatlar)
dS/m	: Desi Simens/metre
E.C.	: Uluslararası enzim komisyonu
EC	: Elektriksel iletkenlik
EDTA.Na <sub>2</sub>	: Etilen diamin tetraasetik asit disodyum
Fe	: Demir
GA	: Gibberellik asit
GPx	: Glutasyon peroksidaz
GR	: Glutasyon redüktaz
GSH	: İndirgenmiş glutasyon
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: Hidrojen peroksit

HCl	: Hidroklorik asit
HO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	: Hidroperoksil
ISR	: Uyarılmış sistemik dayanıklılık
JA	: Jasmonik asit
K	: Potasyum
Kl	: Klorofil
MDA	: Malondialdehit
MDAR	: Sitosolik mono dehidroaskorbat redüktaz
MDHA	: Monodehidroaskorbat
mg	: Miligram
Mg	: Magnezyum
MgSO <sub>4</sub>	: Magnezyum Sülfat
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
Mn	: Mangan
ms	: Milisaniye
MSİ	: Membran stabilite indeksi
Na	: Sodyum
NaCl	: Sodyum klorür
Na-P	: Sodyum fosfat
NBT	: Nitro bluetetrazolium
ng	: Nanogram
nm	: Nanometre
NO	: Azot oksit
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	: Süperoksit radikali
OH <sup>-</sup>	: Hidroksil radikali
P	: Fosfor

PCD	: Programlanmış hücre ölümleri
POX	: Peroksidaz
PR	: Patojenle ilişkili
PVPP	: Polivinilpolipirolidon
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
ROT	: Reaktif oksijen türleri
SA	: Salisilik asit
SAA	: Sistemik kazanılmış uyum
SAR	: Sistemik kazanılmış dayanıklılık
Sn	: Saniye
SO <sub>4</sub> <sup>-2</sup>	: Sülfat
SOD	: Süperoksit dismutaz
TBA	: Tiobarbitürik asit
TBARS	: Tiobarbitürik asit reaktif maddeler
TBE	: Tris borik asit EDTA
TCA	: Trikloroasetik asit
Zn	: Çinko

## ÖNSÖZ

Toprak tuzluluğu tarım arazilerinde verim kayıplarının en önemli etkileri arasında yer almaktadır. Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) gibi kimyasalların tuzluluk gibi stres koşulları öncesi bitkilere uygulanması bitkilerin toleransını teşvik etmektedir. Bitki savunma sistemleri arasında yer alan antioksidan savunma sistemi bitkilerin toleransının artmasına önemli düzeyde katkı sağlamaktadır. Bitki büyüme ve gelişimine destekleyici nitelikte olan antioksidan savunma sisteminin öncül enzimi olan süperoksit dismutaz (SOD), savunma sisteminde kilit niteliğindedir. Süperoksit anyonu ile girdiği tepkime sonucunda  $H_2O_2$  oluşumuna neden olan bu enzim antioksidan savunma sistemi gibi diğer savunma sistemlerinin de uyarılmasına katkı sağlamaktadır.

Bu yüksek lisans tezinde, ülkemizde yaygın olarak yetiştirilen 2 tritikale çeşidi (Tatlıcak-97 ve Mikham-2002) tohumlarına farklı konsantrasyonda (0, 50, 100  $\mu M$ )  $H_2O_2$  uygulayarak tuzlu ortam şartlarında (0, 50, 100 mM NaCl) tuzluluk toleransının arttırılması amaçlanmıştır. İçsel  $H_2O_2$  seviyesine katkı sağlamak ve bitki tolerans düzeyinin artmasına katkı sağlamak için tritikale tohumları ekim öncesi  $H_2O_2$  çözeltisinde bekletilmiştir. Petri kabında ve saksıda yapılan yetiştirmelerde  $H_2O_2$  ön uygulamasının çimlenme ve fide dönemindeki etkileri belirlenmiştir.

Tuz uygulamasının en fazla Mikham-2002 çeşidinin morfolojik gelişiminde baskı yarattığı saptanmıştır. Ekim öncesi yapılan 100  $\mu M$   $H_2O_2$  ön uygulamasının çimlenme ve erken fide gelişme döneminde tuz stresinin baskılayıcı etkisini azaltabileceği sonucuna varılmıştır. Saksı denemesinde incelenen morfolojik parametreler yönünden Tatlıcak-97 çeşidinin öne çıktığı belirlenmiştir.  $H_2O_2$  ön uygulamasının, fide döneminde uygulanan tuz stresine karşı antioksidan savunma sisteminin daha hızlı bir şekilde yanıt oluşmasına katkı sağladığı saptanmıştır. Bu toleransın oluşmasında SOD aktivitesine katkı sağlayan *SOD3* ve *SOD1.1* genlerinin etkili bir şekilde ifade olduğu, özellikle tuz stresi uygulamasından 14 gün sonra daha yüksek bir ifade olduğu saptanmıştır.

Yüksek lisans çalışmam sırasında tez konusunun belirlenmesi, ilerleyen süreçlerdeki yardım ve önerilerini benden esirgemeyen, daima önümü açan verdiği destekle bu günlere gelmemi sağlayan sayın yüksek lisans hocam Yrd. Doç. Dr. Sefer DEMİRBAŞ'a, bölümümüz öğretim üyelerinden sayın Prof. Dr. Sezen ARAT ve Yrd. Doç. Dr. Behiye BANU BİLGEN'e, tohumların temin edilmesi ve bitkilerin yetiştirilmesi sırasındaki yardımlarından dolayı Tarla Bitkileri Bölümü öğretim üyelerinden Sayın Yrd. Doç. Dr. Alpay BALKAN'a, yüksek lisans çalışmalarım esnasında yanımda olan ekip arkadaşlarım Ezgi ÖZAY, Fatih

ÜDER, Şahsine GÖK ve bölümümüzde yüksek lisans öğrencisi olan Ahmet Kubilay BARUT, Ceren ELİBOL, Elçin PARLAR ve Selen YATKIN'a teşekkürü bir borç bilirim.

Bu tez çalışmasını NKUBAP.03.YL.15.007 numaralı proje ile destekleyen Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Komisyonuna teşekkür ederim.

Yüksek lisans çalışmam sırasında manevi desteğini ve sabrını benden esirgemeyen sevgili ailem ve arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Ocak, 2017

Sezer KÜÇÜKKARAKAŞ

Ziraat Mühendisi

## 1. GİRİŞ

Fizyolojik olarak bitkiler, fiziksel çevrelerinden aldıkları basit bileşikleri enerji kullanarak büyük karmaşık moleküller haline çeviren biyokimyasal makineler olarak kabul edilebilirler (Özen ve Onay 2013). Canlı (biyotik) ve cansız (abiyotik) çevre faktörlerinin ayrı ayrı ya da birlikte fizyolojik olaylarda belirgin değişimler meydana getirmesi stres olarak tanımlanır (Türkan 2008).

Canlılar doğaları gereği dış çevre ile sürekli ilişki halindedirler. İçinde buldukları çevrede uygunsuz koşullar oluşması durumunda adaptasyon eksikliğine bağlı olarak stres koşullarına maruz kalırlar. Bitkilerin maruz kaldığı stres etmenleri abiyotik ve biyotik olarak iki sınıf (Çizelge 1) altında toplanabilir (Demirbaş 2011).

**Çizelge 1.** Abiyotik ve biyotik stres etmenleri

<b>Abiyotik Stres Etmeni</b>	<b>Biyotik Stres Etmeni</b>
Kuraklık	Böcekler
Tuzluluk	Mantarlar
Radyasyon	Virüsler
Aşırı Sulama	Herbivorlar
Soğuk (üşüme ve donma)	Nematodlar
Yüksek Sıcaklık	Bakteriler
Oksidatif Stres	Kemirgenler
Topraktaki Besin Miktarı	Protozoa
Kimyasallar	Mikoplazma

Bu çevresel stres tiplerinin etkileri birbiriyle ilişkilidir. Yüksek sıcaklığa dayanıklılık kuraklık şartlarına olan dayanıklılığa bağlıdır. Donmaya dayanıklılık ise dokunun dehidrasyonuna dayanıklılığı ile önemli derecede bağlantılıdır. Tüm bitkiler belirli derecelerde stres hasarlarına karşı koyma ve canlı kalabilme özelliğindedirler. Bir bitkinin tohumu veya tomurcuğu strese dayanıklı iken fidesi duyarlı olabilir. Strese dayanıklılık, sakınma ve tolerans olmak üzere ikiye ayrılır. Sakınma, bir bitkinin dıştan gelen olumsuz faktörlerin etkisini baskı oluşturmadan önleme yeteneği olarak tanımlanırken tolerans ise strese dayanma kapasitesidir. Toleransa sahip bitkiler stres sonucu oluşan hasarları azaltabilme veya hasar oluşturmama yeteneğine sahiptirler. Strese karşı bitkinin reaksiyon mekanizmasının öğrenilmesi ve tarımsal alanlarda stres altında bulunan bitkilerin biyotik veya abiyotik streslere karşı dayanma yeteneklerinin ölçülmesi ve dolayısıyla yüksek verimli ürün elde edilmesi bu konuda yapılan çalışmaların önemini belirtmektedir. Dayanıklı ve toleransı



yüksek bitkiler yetiştirmek için strese dayanıklılık ve tolerans mekanizmalarının bilinmesi gerektirir (Kanbur 2016).

### **1.1. Tuz Stresi**

Tarımsal üretim alanlarında tuzluluk, toprakların verimliliğini olumsuz yönde etkileyen, ürün verimini sınırlandıran en önemli sorunlardan birisidir. Tuzluluk, özellikle kurak ve yarı kurak bölgelerde yeraltı suyuna karışan çözünebilir tuzların yüksek taban suyuyla birlikte kapillarite yoluyla toprak yüzeyine çıkması ve buharlaşma sonucu suyun uçmasıyla toprak yüzeyinde birikmesi olarak tanımlanmaktadır. Doğal yollarla meydana gelen tuzlanma olayı, tarım alanlarındaki sulama sonucunda da medyana gelmektedir. NaCl ve MgSO<sub>4</sub> toprakta en fazla bulunan tuzlardır. Bu tuzlar çözünebilir oldukları için toprak profilinde suyun hareketiyle kolayca taşınabilirler (Galvani 2007).

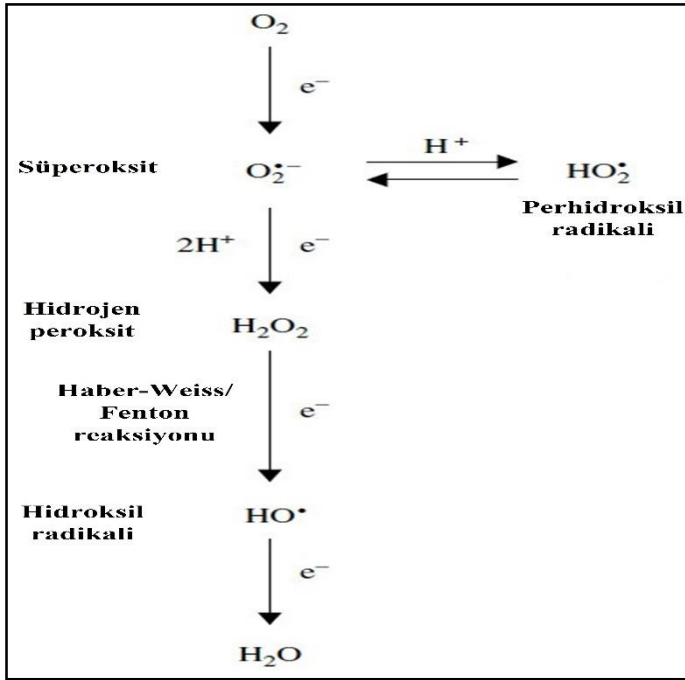
Tuz stresi, bitki üretimi için çok önemli bir sınırlayıcı etkidir. Toprakta oluşan tuzluluğa karşı çeltik, mısır, soya fasulyesi ve fasulye gibi glikofit bitkiler çok duyarlıdır (Mahajan ve Tuteja 2005). Tuzluluğun bitki gelişimine doğrudan (bitki gelişimine zararlı etki yapan iyonların bitkinin kök alanına yığılması) veya dolaylı etkisi (toprağın fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerini bozması) bulunmaktadır (Demirbaş 2011).

Tuzlu koşullarda bitki çeşidi ne olursa olsun genellikle çimlenme baskılanır, büyüme yavaşlar, verim azalır ve bazı hallerde bitki hayat devresini tamamlayamadan ölür. Tuz stresi bitkilerde, bodurluğa, kök büyümesinde gerilemeye, tomurcuk oluşumunun azalmasına, yaprak ve meyvelerin küçük kalmasına, dölleme bozukluklarına ve hücrelerin ölmeleri sonucu köklerde, tomurcuklarda, yaprak kenarlarında ve büyüme uçlarında nekroza oluşmasına neden olur (Dölarslan ve Gül 2012). Ülkemiz topraklarının yaklaşık 1,5 milyon hektarı tuzluluk sorunuyla karşı karşıyadır. Dünya üzerinde ise 800 milyon hektardan fazla karasal alan tuzluluktan etkilenmektedir (Yılmaz ve ark. 2011).

### **1.2. Antioksidan Savunma Sistemi**

Stres altındaki bitkide artan düzeylerde sentezlenen serbest radikaller hücrelere zarar vermektedir. Sentezlenen serbest oksijen radikalleri proteinler, membran lipitleri ve nükleik asitler ile klorofil gibi hücre komponentlerini de bozmaktadır (Yaşar ve ark. 2008, Impa ve ark. 2012). Stres altındaki bitkilerde serbest oksijen radikallerini zararsız bileşiklere dönüştüren enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların miktarı yüksek olduğunda bitkiler oksidatif hasara karşı daha dayanıklı olmaktadırlar. Bitkideki kloroplastlar, toksik oksijen türevlerine karşı antioksidan savunma sistemlerine sahip olup, bu antioksidanların

başında vitamin E, vitamin C, glutatyon ve karotenoidler (beta-karoten ve zeaxanthin) gelmektedir. Süperoksit dismütaz (SOD), peroksidaz (POX), askorbat peroksidaz (APX), glutatyon redüktaz (GR), katalaz (CAT) gibi enzimler serbest oksijen radikallerinin yok edilmesinde en etkin antioksidan enzimler olarak bilinmektedirler. Abiyotik stres koşullarından olan tuz stresi, bitkilerde reaktif oksijen türlerinin (ROT) miktarını arttırarak oksidatif stres oluşturmaktadır. ROT arasında süperoksit anyonu ( $O_2^-$ ), tekil oksijen ( $O_2$ ), hidroksil radikali (HO) ve hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) yer almaktadır. Bu radikaller çeşitli reaksiyonlar aracılığıyla bir başka radikale dönüşebilmektedir (Şekil 1.1).  $H_2O_2$  seviyesinde meydana gelen artış hücre içinde  $Ca^{+2}$  sinyalizasyonu, kinazlar, hormonal sinyalizasyon, gen ifadesinin düzenlenmesi ve protein modifikasyonu gerçekleşmesine etki etmektedir. ROT kaynaklı uyarım sonucunda, stoma kapanması, gravitropizma, programlanmış hücre ölümü (PCD), sistemik kazanılmış direnç (SAR), sistemik kazanılmış uyum (SAA), morfolojik değişiklikler ve bitki büyümesinin düzenlenmesi gibi fizyolojik ve gelişimsel sistemlerde tepkilerin olduğu saptanmıştır (Apel ve Hirt 2004, Sharma ve ark. 2012).



**Şekil 1. 1.** Reaktif oksijen türlerinin oluşumu ve dönüşümü (Smirnoff 2005)

Bitkiler oksidatif stres altında yaşamlarını devam ettirebilmek ve stresle başa çıkabilmek için ROT'un kontrolü ve detoksifikasyonunu sağlayan çeşitli antioksidanlara sahiptirler. Antioksidanlar düşük konsantrasyonda oksidasyona karşı mücadele eden maddelerdir. Antioksidanlar, enzimatik olmayan antioksidanlar ve enzimatik antioksidanlar olmak üzere iki kısımda incelenmektedir. Enzimatik olmayanlar, askorbik asit (vitamin C),

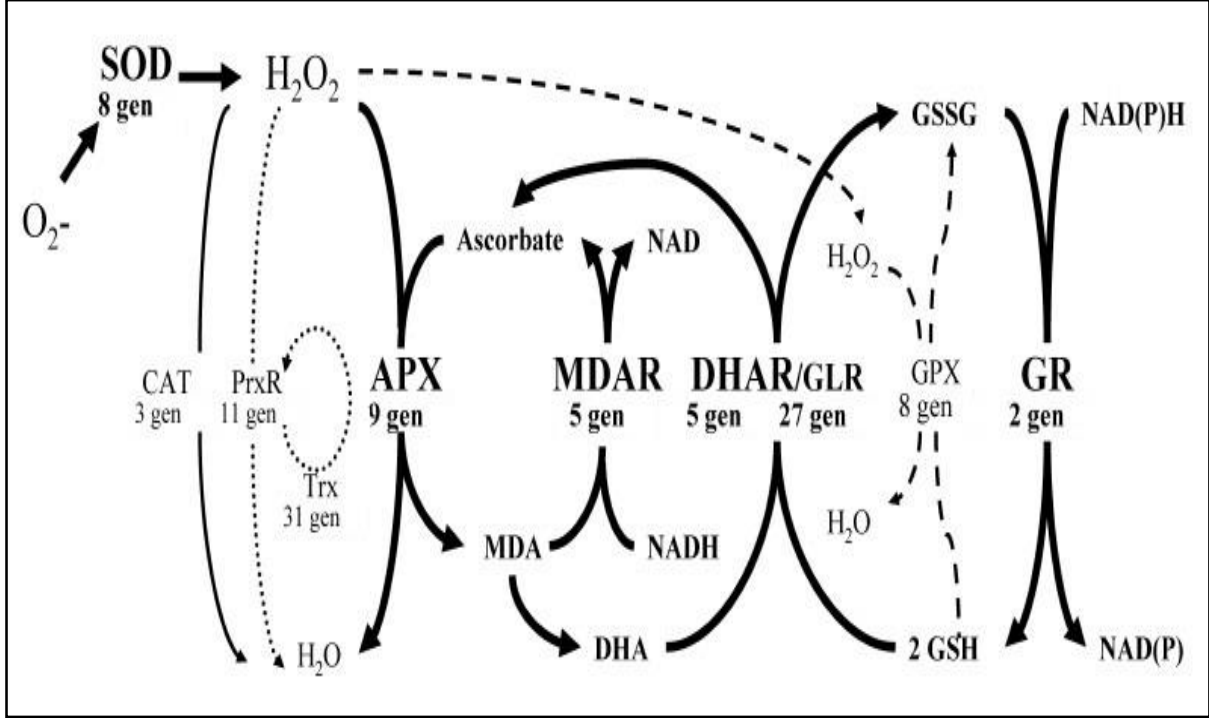
vitamin E, karotenoidler, glutatyon ve fenolik bileşiklerdir. Enzimatik antioksidanlar ise SOD, POX, APX, GPX, GR ve CAT olarak bilinmektedir. Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar hücredeki lokalizasyonlarına ve rollerine göre farklılık göstermektedirler (Smirnoff 2005, Caverzan ve ark. 2016).

POX'lar, bitkilerin büyümesi farklılaşması ve gelişmesi için kontrol noktasındaki anahtar enzimlerden biridir. Peroksidazlar, patojenik mikroorganizmalar tarafından infekte edilerek hasara uğratılmış dokuların korunmasında, oksin katabolizması ve oksin seviyesinin düzenlenmesinde, 1-aminosiklopropan-1-karboksilik asit ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> den etilenin biyosentezinin yapıldığı hücre duvarlarının lignifikasyonu olayında ve sağlamlaştırılmasında görev alır (Dorotea ve ark. 2003). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in yıkılmasında alternatif diğer bir yol ise hücrelerin tümünde bulunan peroksidazların aktivasyonu ile gerçekleştirilebilmekte ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in suya indirgenmesini sağlamaktadır (Koç ve Üstün 2008).

tAPX, gmAPX, sAPX, cAPX gibi en az dört farklı izoformdan oluşan APX ailesi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye karşı CAT'ye kıyasla daha yüksek bir affiniteye sahiptir. Yapılmış olan çalışmalarda *Ceratophyllum demersum* L. (tilki kuyruğu), *Brassica juncea* L. Czern. (hardal), *Triticum aestivum* L. (buğday), *Vigna mungo* L. (siyah mercimek) ve *Phaseolus vulgaris* L. (fasulye) gibi birçok organizmada stres koşulları altında APX enzim aktivitesinde ve gen ekspresyonunda artışlar olduğu gözlenmiş ve bu artışların stres savunmasıyla ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (Harinasut ve ark. 2003).

Askorbat-glutatyon döngüsü, oksidatif strese karşı antioksidan savunma sisteminde kilit rol oynamaktadır. Bu döngüde dehidroaskorbat redüktaz (DHAR), glutatyon redüktaz (GR), monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR) ve askorbat peroksidaz (APX) gibi enzimler yer almaktadır. SOD'un katalizlediği reaksiyon sonucu oluşan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bazı değişikliklere sebep olur. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin hücrede birikmesini önleyen 2 mekanizma vardır. Bu döngüler katalaz ya da askorbat-glutatyon döngüsüdür. Oluşan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, CAT veya DHAR ve APX iş birliği ile süpürülür. Askorbat kullanılır ve reaksiyon sonucunda yeniden oluşur. APX, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi suya indirmek için askorbattan yararlanarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin süpürülmesinde önemli bir rol oynar. Bu reaksiyona MDHA (Monodehidroaskorbat) oluşumu eşlik eder. MDHA, MDHAR ile askorbik asite dönüştürülür veya enzimatik olmayan bir yolla askorbik asit ve DHA'ya dönüştürülür. MDHAR, MDHA'yı askorbata indirgerken NADPH'ı kullanır (Smirnoff 2005). Arabidopsis bitkisinin gen haritasının tamamlanması, APX gen ailesinin kapsamlı bir analizini sağlamıştır. Mikrodizi analizi APX1'den yoksun olan bitkilerin, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kaynaklı strese

etki edebilecek bir dizi sinyal iletim transkriptini tanımlanmıştır. Bunların arasından yer alan *ZeT12*, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> stresi sırasında APX1 geninin yüksek ifadesi için gerekli olduğu bulunmuştur (Şekil 1. 2) (Rizhsky ve ark. 2004, Smirnoff 2005).



Şekil 1. 2. Askorbat-Glutatyon döngüsü (Smirnoff 2005)

CAT'lar stres koşulları altında oluşan zararlı H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in H<sub>2</sub>O ve O<sub>2</sub>'ya direkt olarak dönüşümünü sağlayarak hücreleri strese karşı korumada görevli en önemli enzimatik antioksidanlardan biridir. Yüksek bitkilerde tanımlanmış çok sayıda katalaz izozimi; *Hordeum vulgare* (arpa), *Helianthus annuus* L. (ayçiçeği), *Brassica oleracea* L. (karnabahar) ve *Zea mays* L. (mısır) bitkileri ile çalışılmıştır. Elde edilen veriler neticesinde enzimin farklı stres koşulları ve farklı bitkilerde değişik düzeylerde koruma sağladığı gözlenmiştir. Farklı katalaz izozimlerini kodlayan genlerin stres altındaki davranışlarını incelemek amacıyla gerçekleştirilmiş olan gerçek zamanlı kantitatif PCR çalışmaları sonucunda *Lycopersicon esculentum* (domates), *H. vulgare*, *Corylus maxima* Mill. (fındık), *Pinus nigra* J.F.Arnold (karaçam) ve daha birçok bitkide bu enzimi kodlayan genlerin stresle ilişkili olarak ifade düzeylerinin de arttığı gözlenmiştir (Matsumura ve ark. 2002).

GPX'ler glutatyonu H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, organik ve lipit hidroperoksitlerin miktarını azaltmada kullanan çeşitli izozimleri olan geniş bir ailedir ve oksidatif strese karşı bitkileri korumada görevlidirler. Millar tarafından *Arabidopsis* bitkisinin sitozolünde, kloroplastında, mitokondrisinde, endoplazmik retikulumda tanımlanmış yedi proteinden oluşan AtGPX1-

AtGPX7 olarak adlandırılan bir GPX ailesi belirlenmiştir. *Capsicum annuum* L. (biber), *Pisum sativum* (bezelye) ve *L. esculentum* başta olmak üzere pek çok bitkide stres koşulları altında GPX'in koruyucu bir rolü olduğu bulunmuştur (Leisinger ve ark. 2001).

SOD'lar olağanüstü katalitik etkinlikte çalışan metalloproteinlerdir (Beauchamp ve Fridovich 1986).  $O_2$ 'i  $H_2O_2$ 'e dönüştürme rolü olan SOD'ların aktif merkezlerinde yer alan metal iyonlarına göre üç izoenzimi vardır. Bunlar bakır ve çinko içeren Cu/ZnSOD, mangan içeren MnSOD ve demir içeren FeSOD'lardır (Kukreja ve ark. 2005). Yapılan çalışmalarda; SOD'ların ifadesindeki artışların biyotik ve abiyotik strese bağlı oluşan oksidatif stresle başa çıkmada ve bitkilerin stres koşulları altında canlılığı sürdürmesine katkı sağlamada önemli rolleri olduğu ileri sürülmüştür. *Morus alba* L. (dut), *Cicer arietinum* L. (nohut) ve *L. esculentum* gibi birçok bitkide çeşitli stres koşulları altında gerçekleştirilen çalışmalarda SOD aktivitesinde artışlar meydana geldiği gözlenmiştir (Attia ve ark. 2009). SOD'lar, süperoksidin oksijen ve  $H_2O_2$ 'ye dismutasyonunu katalizler ve bir hücre içinde ROT'a karşı savunmanın ilk basamağını oluşturur ve üç tip SOD geni transkriptlerinin NaCl uygulamasına yanıt olarak azaldığı mikroarray analizleriyle belirlenmiştir. SOD miktarındaki artış, tuz stresine toleransı yüksek türlerin birçoğunda saptanmıştır. SOD enzimidaki bu değişiklikler, tuz stresinin üstesinden gelmek için anahtar bir ROT savaşçısı olduğunun göstergesidir (Yıldız ve ark. 2014). SOD enzimi kodlayan genlerin gerçek zamanlı kantitatif PCR tekniği kullanılarak ifade seviyelerinin incelendiği çalışmalarda ise çeşitli stres koşulları ve bitki türlerine bağlı olarak gen ifadesinin değişiklik gösterdiği bu ifade değişikliklerinin stres savunmasında rolü olduğu gösterilmiştir (Soydam ve ark. 2013).

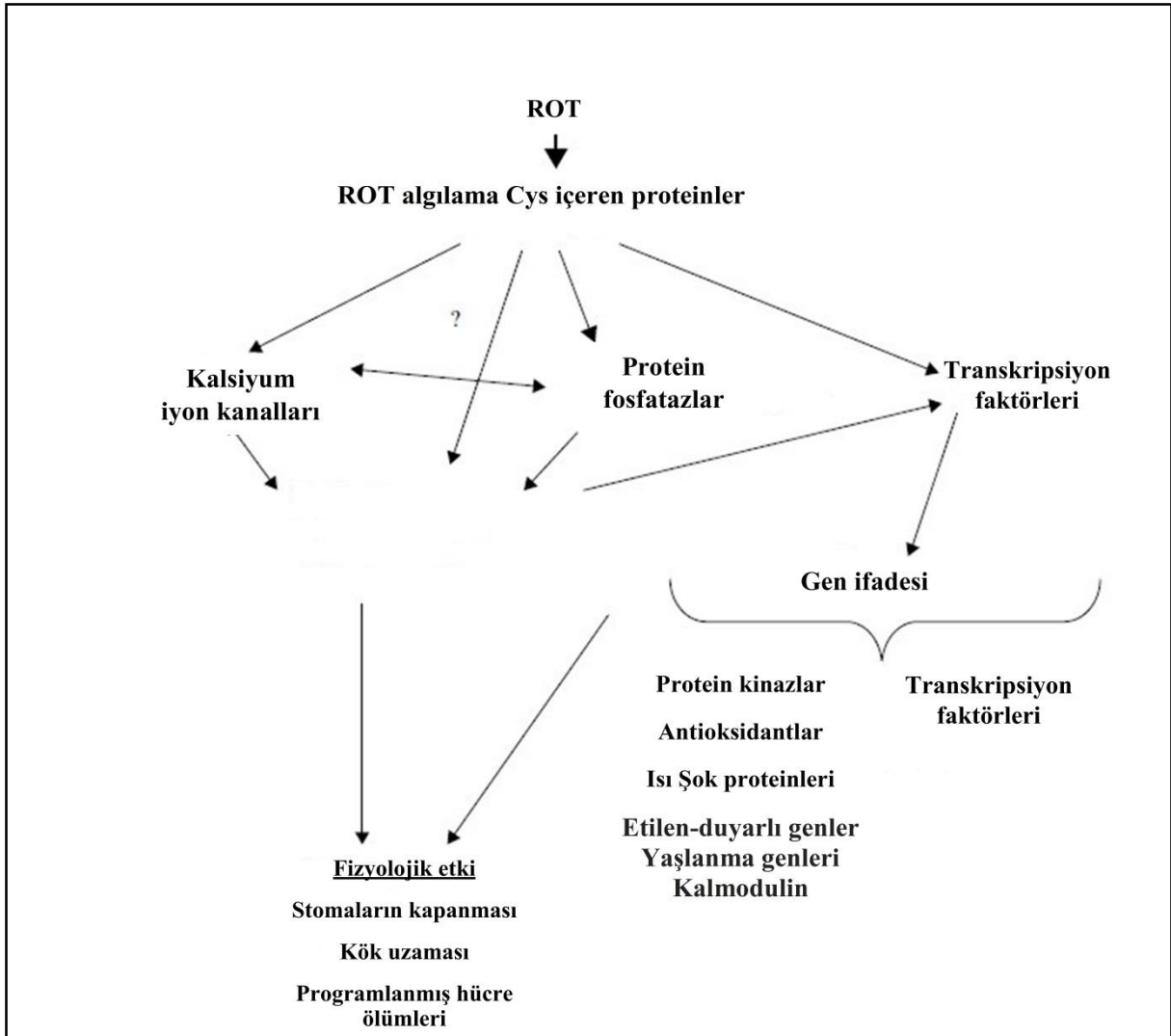
### 1.3. Hidrojen Peroksit ( $H_2O_2$ )

Reaktif oksijen türlerinin bir türü olarak bilinen ve toksik olarak kabul edilen  $H_2O_2$  aynı zamanda stres sinyal iletim yolunda sinyal molekül olarak görev alır (Şekil 1.3) (Foyer ve ark. 1997).  $H_2O_2$ 'in yüksek konsantrasyonları toksik olup programlanmış hücre ölümüne sebep olabilirken toksik olmayan konsantrasyonlarda çeşitli biyotik ve abiyotik stres faktörleri karşısında bitkisel yanıtlarda aracı olan bir sinyal molekül olarak görev alabilir (Grant ve Loake 2000, Caverzan ve ark. 2016).

Hidrojen peroksit, oksijenin enzimatik olarak iki elektron ile indirgenmesiyle ya da süperoksitlerin enzimatik veya enzimatik olmayan dismutasyon tepkimeleri sonucu oluşur. Süperoksitin olduğu yerlerde önemli miktarda  $H_2O_2$ 'de üretilir. Fotosentetik elektron taşıma zinciri  $H_2O_2$ 'nin üretiminden sorumludur.  $H_2O_2$ 'in üretildiği başka bir kaynak

fotorespirasyonla glikolatın oksidasyonunun meydana geldiği peroksizomlardır. Ayrıca, biyokimyasal olarak oksijenin iki elektronlu indirgenmesinin gerçekleştiği solunum işlemleri sırasında ve genellikle flavoproteinlerle gerçekleştirilen reaksiyonlarla da oluşturulur. Diğer taraftan plazma membranı ve ekstrasellular matrisde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin üretildiği diğer önemli kaynaklardır (Ślesak ve ark. 2007).

Hidrojen peroksit, hücre zarı boyunca yayılabilir ve sinyalleme molekülü olarak işlev görebilecekleri veya yok edilebilecekleri diğer bölmelere taşınabilirler. ROT, bitkilerdeki konsantrasyonlarına bağlı olarak hem zararlı hem de faydalı olarak ikili bir rol oynadığı iyi bilinir. Büyüme, hücre döngüsü, gelişim, yaşlanma, programlanmış hücre ölümü, stomal iletkenlik, hormonal sinyalizasyon ve gen ifadesinin düzenlenmesi gibi süreçlerde yer alan sinyal molekülleri olarak ROT'nin rolü çok araştırılmıştır (Caverzan ve ark. 2016).



Şekil 1. 3. ROT'nun sinyal iletimi (Smirnoff 2005)

Hidrojen peroksit, hasar almış hücrelerde bitki tarafından bir dezenfektan olarak da kullanılır. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in bitki biyokimyası ve fizyolojisindeki görevi birçok makalede (Passardi ve ark. 2005, Ślesak ve ark. 2007) tarif edilmiştir.

Bitkilerde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> molekülünün düşük konsantrasyonlu ön muamelesi antioksidan enzim aktivitesini artırır ve bu nedenle ROT'nin zararlı etkileri yatıştırılmış olur (Wahid ve ark. 2007). Son zamanlarda, büyüme ve bitki gelişimini düzenleyen bir sinyal molekülleri olarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in rolü aydınlatılmaya çalışılmaktadır. Ayrıca, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> selüloz bakımından zengin hücre çeperinin farklılaşmada rol gösterilmiştir (Ślesak ve ark. 2007).

#### 1.4. Tritikale

Tritikale (x *Triticosecale* Wittmack), yüksek verim potansiyeline sahip buğday ile çevresel olumsuz koşullara dayanıklılık özelliklerine sahip çavdarın melezlenmesiyle elde edilmiş bir tahıl bitkisidir (Şekil 1.4). Çavdarın yüksek adaptasyon özelliği ile buğdayın verim ve kalitesi birleştirmeyi amaçlayan melezleme çalışmalarının sonucunda elde edilen tritikale, dünyada birçok ülkede geniş alanlarda yetiştirilmektedir. Dünyada toplam tritikale yetiştiriciliğinin %80'ni kışlık, %20'si ise yazlık olarak yapılmaktadır (Kaydan ve Yağmur 2008, Anonim 2016).



**Şekil 1. 4.** Tritikale bitkisinin genel görünümü (Anonim 2016)

1950'li yıllardan günümüze kadar Avrupa, Kuzey Amerika ve Meksika CIMMYT (International Maize and Wheat Improvement Center)'de yoğun araştırma ve ıslah çalışmaları yürütülmektedir. Ancak ilk ticari tritikale genotipleri ancak 1968-69 yıllarında Macaristan ve Kanada'da üreticilere sunulabilmiştir. Ülkemizde ise tritikale konusunda çalışmalar 1970'li yıllardan itibaren başlamıştır. Ege bölgesinin değişik lokasyonlarında ve Diyarbakır yöresinde yürütülen denemelerde, tritikale hatlarının ekmeklik ve makarnalık buğdaylara göre sırasıyla (%5-44) ve (%5-71) daha fazla verim verdiği belirlenmiştir (Duğan 2010).

Marjinal alanların değerlendirilmesinde, öncelikli bitkinin tritikale olduğu ve yeni genotiplerin geliştirilmesiyle ekim alanı ve üretiminde önemli artışların sağlanacağı belirtilmektedir. Günümüzde 3.1 milyon ha alanda tritikale yetiştirilmekte ve 10.2 milyon ton tritikale üretimi yapılmakta olup, ortalama verim 3.300 kg/ha'dır. Önemli üretici ülkeler ise sırasıyla, Polonya, Almanya, Avustralya, Çin ve Fransa'dır. Ülkemizde 35 bin hektarlık ekiliş ve 118 bin tonluk üretim ile son yıllarda ekim alanının arttığı görülmektedir (Atak ve Çiftçi 2005). Tritikale eskiden hayvancılıkta yem kaynağı olarak kullanılırken son yıllarda ise biyoetanol üretimi için hammadde olarak kullanılmaya başlanmıştır (Motzo ve ark. 2015).

Tritikale özellikle buğday tarımına uygun olmayan, toprak derinliği az, çorak ve kışları çok sert geçen bölgelerde buğdaydan daha verimli olabilen bir serin iklim tahılıdır. Yüksek tane ve yeşil ot verimi, hızlı büyüme ve gelişme özelliği ve yüksek orandaki lizin içeriği nedeniyle insan ve hayvan beslenmesinde önemli bir bitkidir. Tritikale, tuzluluk gibi abiyotik stres koşullarının hâkim olduğu alanlara iyi adapte olmuş ve diğer serin iklim tahıllarından daha yüksek verim verebilme özelliğine sahiptir. Tritikale, biyotik stres koşullarından olan yabancı otlar ile mücadelede uzun boylu boğucu bir bitki olduğu için daha avantajlıdır. Tritikale, arpa veya daha düşük verim sağlayan buğday ekimi yerine tercih edilmelidir (Anonim 2016).

Bu tez çalışmasında, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması ile ülkemizde yaygın olarak yetiştirilen 2 tritikale çeşidinin (Tatlıcak-97 ve Mikham-2002) tuz stresi koşullarına olan toleransının artırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla, çimlendirme ve saksı denemesi çalışmalarında ekim öncesi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulamasıyla tritikale fidelerinin tuz stresine maruz kaldığında meydana gelen morfolojik (kök sayısı, kök uzunluğu, gövde uzunluğu, kök yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığı, gövde yaş ağırlığı ve gövde kuru ağırlığı) ve fizyolojik (bağlı su içeriği (BSİ), lipid peroksidasyonu (TBARS) ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarı değişimlerin yanında antioksidan savunma sisteminin öncül enzimi olan SOD aktivitesi ve bu enzimi kodlayan *SOD1.1*, *SOD1.2*, *SOD2* ve *SOD3* genlerinin ifade düzeyindeki değişimler incelenmiştir.



## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Wu ve ark. (1999) yaptıkları çalışmada, buğday bitkisinde kuraklık ve donma stresine karşı toleransta SOD gen ifadesinin etkisi ile ilgili yaptıkları çalışmada, MnSOD ve Cu/ZnSOD genlerinden MnSOD genlerinin kuraklıkla uyarılabilir olduğunu ve rehidrasyon sonrası ifade seviyesinin azaldığını belirlemişlerdir. Buna karşılık, Cu/ZnSOD genlerinin kuraklık sırasında uyarılmadığını ancak rehidrasyon sonrası ifade artış olduğu saptanmıştır. SOD genlerinin ifadesinin hem yazlık hem de kışlık genotiplerde doğal iklimasyon sırasında arttığı belirlenmiştir.

Sairam ve Srivastava (2002) yaptıkları çalışmada, kuraklığa toleransı farklı olan iki buğday genotipi (Kharchia 65-toleranslı ve HD 2687-duyarlı) ile yaptıkları çalışmada, NaCl stresinin her iki genotipte BSİ, klorofil (Kl) miktarı, membran stabilite indeksi (MSİ) ve AA içeriğinin azalmasına, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve TBARS içeriği ile SOD, SOD izozimleri, APX ve GR aktivitelerinde artışa neden olduğu belirlenmiştir. Tuzluluğa toleranslı buğday çeşidinde duyarlı çeşide oranla BSİ, Kl ve MSİ değerlerinde daha az bir azalma olduğu belirlenmiştir. AA içeriğinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve TBARS değerlerinde daha az bir azalma olduğu belirlenmiştir. Kharchia 65, tuza duyarlı HD 2687 göre BSİ, Kl ve MSİ bütün dokularda daha az düşüş göstermiştir. Kharchia 65'in aynı zamanda HD 2687 göre AA'da daha az azalma sergilediği, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve TBARS'da daha az artışın olduğu ve SOD, APX ve GR'de yüksek artış olduğu gözlemlenmiştir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, TBARS ve AA içekleri kloroplastta daha yüksek miktarda bulunmuştur. Kloroplasttaki yüksek SOD, APX ve GR aktivitesini, mitokondrial bölümdeki SOD ve GR ve sitozoldeki APX aktivitesi birbirlerini sıra ile izlemiştir. Mitokondrial bölümdeki en yüksek MnSOD aktivitesine rağmen sitozolik bölümde de gözlemlenmiştir. Cu/ZnSOD ve FeSOD tüm hücrel bölümlerde gözlenmesine rağmen kloroplast bölümündeki aktivitesi daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Toplam Cu/ZnSOD aktivitesi tüm bölümlerde diğerlerinden daha yüksek bildirilmiştir. Duyarlı HD 2687 uzun süreli tuz stresine bağlı olarak SOD izozimlerinin indüklendiğini, APX'in kloroplast ve mitokondrial bölümlerde ve GR ise sitozolde indüklenmediği bildirilmiştir. Tuz stresi altında, yüksek oksidatif stres'in formları olan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve TBARS'ın ve MSİ ve Kl azaldığı bildirilmiştir.

Sairam ve ark. (2002) yaptıkları çalışmada, uzun süreli toprak tuzluğu etkisinde olan, Kharchia 65 (toleranslı) ve KRL 19 (orta toleranslı) buğday genotipleri ile kontrollü koşullarda 2 farklı seviyede tuzluluk (ECe/5.4 and 10.6 dS m<sup>-1</sup>) uygulamışlardır. Tuz uygulamasının her iki genotipde de BSİ, Kl, karotenoidler, MSİ, biyokütle ve tane veriminin

azalmasına ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, TBARS, prolin, GB, çözümlü şekerler, SOD, CAT ve GR aktivitelerinin artmasına neden olduğu belirlenmiştir. Tuzluluk kaynaklı düşüş, BSI, Kl, karotenoid, MSI, biyokütle ve tane verimi KRL 19 çeşidinde daha toleranslı Kharchia 65 çeşidine göre anlamlı derecede yüksek gözlemlenmiştir. Kharchia 65 çeşidinde yüksek SOD, CAT ve GR aktivitesi ile birlikte prolin, çözümlü şekerler, GB, Kl, TBARS ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içerikleri KRL 19 çeşidinde Kharchia 65 göre nispeten daha düşük olduğu belirlenmiştir.

Baek ve Skinner (2003) yaptıkları çalışmada, buğdayın yakın-izogenik hatlarında soğuga uyumu sırasında, mitokondriyal MnSOD, kloroplastik Cu/ZnSOD, FeSOD, CAT, tilakoyide bağlı t-APX, sitosolik GR, GPX, MDAR ve DHAR enzimlerini kodalayan genler ile çalışılmıştır. Bunlardan MnSOD, MDAR, t-APX, DHAR, GPX ve GR ifade düzeyinin arttığı, CAT ifade düzeyinin azaldığı ve FeSOD ve Cu/ZnSOD ifade düzeyinde bir değişim meydana gelmediği saptanmıştır. Bu sonuçlara göre, Vrn1-Fr1 bölgesinin bazı antioksidan enzim genlerinin ifade seviyesini düzenlemede işlevsel olduğu belirlenmiştir. 4 haftalık soğuk alıştırmasından sonra yazlık NIL çeşidine göre kışlık buğday NIL’de t-APX, CAT ve MnSOD ifade düzeyinin belirgin bir şekilde daha yüksek seviyede olduğu belirlenmiştir.

Wang ve ak. (2004) yaptıkları çalışmada, MnSOD’un aşırı ifadesinin transgenik *Arabidopsis* bitkisinde tuz toleransına olan etkisi incelenmiştir. Transgenik bitkinin MnSOD ifadesinin yabani ekotipine (Col-0) göre iki kat daha fazla olarak rapor edilmiştir. 150 mM NaCl uygulaması yapıldığında yabani ekotip yavaş yavaş kururken transgenik bitkilerin gelişiminin çok iyi olduğu belirlenmiştir. 150 mM NaCl uygulaması yapıldığında transgenik bitkilerde sadece Mn-SOD aktivitesinde artış olmadığı aynı zamanda Cu/ZnSOD, FeSOD, CAT, POX gibi diğer antioksidan enzimlerin de aktivitesinin yabani tipe göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bu enzimlerin artışı MDA içeriğini de düşürdüğü belirlenmiştir. Bu sonuçlar, transgenik bitkilerin tuzluluk toleransının arttığını göstermiştir.

Zhang ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada, buğday bitkisindeki *SOD1.1* ve *SOD1.2* ile ilişkilendirilen ikili Cu/ZnSOD genleri tanımlanmış, klonlanmış ve karakterize edilmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, kuraklık, tuzluluk, düşük ve yüksek sıcaklık koşulları altında *SOD1.1* transkript yoğunluğunda herhangi bir değişim gözlenmemiştir. Ancak, yapraklardaki stres uygulaması sonrası *SOD1.2* transkriptlerinin güçlüce uyarıldığı gözlemlenmiştir. Bitkinin yüksek abiotik stres toleransında SOD enzimini ROT’nin azaltılmasında önemli bir işleve sahip olduğu belirlenmiştir.

He ve ark. (2009) yaptıkları çalışmada, buğday tohumlarına yapılan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasının kuraklık stresi uygulandığında kontrole göre çimlenme oranı %56 daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulamasının su kullanım verimliliği ve prolin düzeyini iyileştirici etkiye neden olduğu, hücre zar stabilitesinin arttığı böylelikle MDA içeriği azaldığı belirtilmiştir. Stres sinyal molekülü olarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> tarafından tohumlarda antioksidan savunma sisteminin uyarılmasıyla fide aşamasında kuraklıkla oluşan oksidatif hasarın giderilmesinde CAT ve APX gibi antioksidan enzimlerin aktivitesini arttırdığı belirlenmiştir.

Kaya ve ark. (2010) yaptıkları çalışmada, Çorbacı, Sera Demre 8 ve Yalova Yağlık biber (*Capsicum annuum* L.) tohumlarına priming (kontrollü nemlendirme, 48 saat, 25°C) uygulaması yaptıklarında sıcaklık stresi (düşük 15°C ve yüksek 35°C) altındaki çimlenme, tohumun şeker, toplam yağ, yağ asitleri içeriği ile enzim aktivitelerinde meydana gelen değişimi incelemiştir. Priming ile çimlenme oranında artış, tohumların toplam yağ oranını azaltmış, yağ oranında azalma, yağ asitleri kompozisyonunda değişim olmadığı, sakkaroz oranını azalmış, glukoz ise çok düşük seviyede bulunmuştur. CAT, APX ve SOD aktivitesinde artış olduğu gözlenmiştir.

Li ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada, dışarıdan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulamasıyla buğday fidelerinin tuz stresi altındaki toleransını arttırabildiğini göstermişlerdir. 2 günlük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulamasının MDA miktarı ve süperoksit radikal üretim hızını düşürüp SOD, POX, CAT ve APX aktivitesini ile GSH ve karotenoidlerin konsantrasyonu arttırarak buğday fidelerinde tuz stres toleransını belirgin şekilde arttırmıştır.

Chen ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada, tuza toleranslı buğday (Cang 6001) çeşidinin tuza duyarlı buğday (Shi 4185) genotiplerinin tuz stresi altındaki fizyolojik değişimleri incelemiştir. SOD aktivitesinin Cang 6001 çeşidinde Shi 4185 çeşidine göre daha yüksek seviye olduğu, sitoplazmik Cu/ZnSOD ve MnSOD transkriptlerinin tuz stresi altında tuza toleranslı genotipte daha yüksek olduğunu belirlemiştir.

Özdemir (2012) yaptığı çalışmada, ekim öncesi kimyasal uygulamalarının kurak koşullarda Altay 2000 ve Kırac 66 ekmeklik buğday genotiplerindeki etkileri üzerine çalışmışlardır. 12 saat süreyle beş farklı çözeltilerde (H<sub>2</sub>O, %0,1 NaCl, %0,5 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, %2 KCl) beklettikleri tohumlar iki örnekleme zamanında (Çıkıştan sonraki 7. ve 14. günler) ele alınmıştır. Çıkıştan sonraki yedi ve ondördüncü günlerde elde edilen bitki materyalleri üzerinde büyüme parametreleri (yaş ağırlık, kuru ağırlık, fide uzunluğu) ve fizyolojik parametreler (BSİ ve MDA) belirlenmiştir. Elde ettikleri sonuçlara göre kurak koşullardaki

MDA ve prolin seviyesi normal koşullardaki yetişen bitkilere kıyasla daha yüksek olduğu saptanmıştır.  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ve  $\text{KCl}$  çözeltilerde bekletilen tohumlardan gelişen bitkilerin kontrole göre daha yüksek yaş ve kuru ağırlık, fide uzunluğu ve düşük MDA seviyesi ile kuraklık koşullara toleranslarının daha iyi olduğu görülmüştür. Genel olarak Altay 2000 çeşidinden gelişen fidelerin Kıraç 66 çeşidinden gelişen fidelerine priming uygulamalarına tepkilerinden daha iyi tepki verdiği bildirilmiştir. Elde edilen bulgulara göre, priming uygulamalarının özellikle mevcut suyun etkin olarak kullanılması gereken, kurak koşullarda çıkış ve ilk gelişme dönemindeki söz konusu stres faktörüne karşı dayanıklılığı artırmada kullanılabilecek alternatif bir yaklaşım olabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

Lu ve ark. (2013), kuraklığa hassas buğday çeşidinde dışarıdan  $\text{H}_2\text{O}_2$  uygulandığında çimlenme oranı, fide gelişimi ve SOD, CAT, GR gibi enzimlerin aktivitesinde artışa neden olduğu kuraklığa dayanıklı genotipte ise kök ve gövde büyümesi POX ve APX gibi enzimlerin aktivitesinde artış olduğunu saptamışlardır.

Kumar ve ark. (2013) yaptıkları çalışmada, SOD'ın kantitatif transkript profillerinin çevresel sıcaklıklardaki günlük değişimler sonucunda yapraklarda sıcaklığa karşı duyarlı (PBW343) ve dayanıklı (HDR77) buğday genotiplerde tozlaşma, süt dolumu ve tohum sertleşme evrelerinde artış olduğu saptanmıştır. Farklı ısı şoku altında HDR77'e dışarıdan yapılan  $\text{H}_2\text{O}_2$  ( $10 \text{ mmol L}^{-1}$ ) uygulaması salisilik asit ( $5 \text{ mmol L}^{-1}$ ) uygulamasıyla karşılaştırıldığında SOD transkript seviyesinde, SOD aktivitesinde, total antioksidan aktivitede ve hücre membran stabilitesinde artış olduğu saptanmıştır. Her iki çeşidin tozlaşma ve tohum sertleşmesi dönemlerinde sıcaklık stresi altında SOD izoenzimlerinden HDR77 çeşidinde 3, PBW343 çeşidinde 2 tanesinin aktivite gösterdiği saptanmıştır. PBW343 çeşidine kıyasla HDR77 çeşidinde sıcaklık tolerans kapasitesinin SOD transkript seviyesinin artmış olduğundan dolayı daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Atar ve Kara (2014) yaptıkları çalışmada, beş farklı toprak nem düzeyinde (tarla kapasitesi, %100:S1, %88:S2, %76:S3, %64:S4 ve %52:solma noktası-S5) ekim öncesi tohum uygulamalarının (hidropriming, 30 ve 60 ppm GA3) çimlenme ve fide gelişimine etkilerinin belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür. Çalışmada Soyer-2002 ekmeçlik buğday ve Çıldır-2002 arpa genotipleri kullanılmıştır. GA3 uygulamalarının etkisi genel olarak her iki çeşitte de ilk çimlenme süresini, yüzde elli çıkış süresini ve ortalama çıkış süresini azaltmış, çimlenme indeksini ise arttırmıştır. 30 ppm GA3 uygulamasında elde edilen ortalama değerler 60 ppm GA3 uygulamasına göre daha yüksek olmuştur. İncelenen parametreler bakımından buğdayda

en iyi sonuçlar S2 ve S3 toprak nem düzeylerinde belirlenirken, arpada S1 nem düzeyinde bulunmuştur.

Cingöz ve ark. (2014) yaptıkları çalışmada, dört farklı *Digitalis* (*D. lamarckii*, *D. davisiana*, *D. cariensis* ve *D. trojana*) kallus kültürlerine H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> etkisi uyguladıklarında CAT ve SOD aktivitesi, toplam fenolik madde ve prolin miktarı ile kardiyotonik glikozid üretimini arttırdığını saptamışlardır.

Ashfaque ve ark. (2014), Hindistan'da, kontrollü koşullarda yetiştirdikleri bir ekmeklik buğday çeşidine çimlenmeden 1 hafta sonra farklı konsantrasyonlarda (0, 50, 100 nM) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve 100 mM NaCl uyguladıkları araştırmalarında, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulamasının 30 günlük buğday fidelerde prolin içeriğini artırarak stres koşullarında korumasını arttırdığını saptamışlardır. Ayrıca, prolin artışının bitkilerin su potansiyeli ve ozmotik potansiyeli de arttırdığı belirlenmiştir. Benzer şekilde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulamasıyla stres altındaki bitkilerde meydana gelen pigment içeriğindeki azalmada iyileşme olduğu saptanmıştır. Bitki büyüme parametrelerinde de hem tuz uygulanan hem de uygulanmayan gruplarda iyileşme olduğu saptanmıştır. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulamasının tuz stresinin etkisini azaldığını, buna karşın prolin içeriğini, N asimilasyonunu, su tutma kapasitesini ve fotosentetik pigmentlerin etkinliğini arttırdığını bildirmişlerdir.

Özkaynak ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada, karpuz bitkisine priming uygulaması defne (*Laurus nobilis* L.), kekik (*Thymbra spicata* L.) ve deniz yosunu (*Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jolis) ekstraktları kullanılarak yapılmıştır. Organik priming uygulaması yapılan tohumlardan elde edilen fideler daha erken ve daha kısa sürede fide gelişimi sağlamışlardır. En iyi sonuçlar kekik ve yosun priming uygulamalarında elde edilmiştir.

Pouya (2015) yaptığı çalışmada, iki tuza toleranslı (ET-84-15 ve ET-86-9) ve iki tuza hassasiyetli (ET-85-17 ve Jouvanilo) tritikale genotipine 200 mM NaCl uygulamasının geç filizlenme ve çiçeklenme dönemindeki etkileri belirlenmiştir. Tuz stresine bağlı olarak tuzluluğa hassas olan tritikale genotiplerinde terleme oranı, stoma iletkenliği ve fotosentez hızında net olarak önemli bir azalma bulunmuştur. APX hariç antioksidan enzimlerden SOD, CAT ve GPOD aktivitelerinde önemli artış olmasına rağmen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve MDA miktarının da yüksek olduğu belirlenmiştir. Tuza toleranslı genotiplerin daha düşük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve MDA seviyesine sahip olduğu, APX hariç antioksidan enzimlerin aktivitelerinin arttığı belirlenmiştir. Antioksidan enzimlerin aktivitesinin çiçeklenme evresinde geç filizlenme evresine göre hem tuz uygulanan hem de kontrol bitkilerinde daha yüksek olduğu bulunmuştur.

Sheoran ve ark. (2015) yaptıkları çalışmada, buğdayda kuraklığa toleransı yüksek olan çeşitlerin duyarlı çeşitlere göre SOD ve POX aktivitesinin daha yüksek, MDA miktarının ise daha düşük olduğunu saptamışlardır. SOD enzimini artışında en fazla katkıyı mitokondriyal MnSOD enzimini kodlayan MnSOD geninin sağladığını rapor etmişlerdir.

Wang ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada, buğdayda bulunan *SOD2* geninin (Cu/ZnSOD geni) NADPH oksidaz aktivitesini uyararak tuza (200 mM NaCl) olan dayanıklılığı hem buğdayda hem de Arabidopsis bitkisinde arttırdığını saptamışlardır.

### **3. MATERYAL ve YÖNTEM**

#### **3.1. Bitkisel Materyal**

Bu tez çalışmasında, bitkisel materyal olarak ülkemizde yaygın olarak yetiştirilen 2 tritikale (x *Triticosecale* Wittmack) çeşidi Tatlıcak-97 ve Mikham-2002 kullanılmıştır. Tatlıcak-97, Bağrı Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından 1997 yılında ıslah edilen, hayvansal yem olarak kullanılabilen aynı zamanda gıda ürünlerinin üretiminde kullanılan, abiyotik stres etmenlerine karşı toleransı buğday ve arpadan daha yüksek olan bir genotiptir. Mikham-2002, Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından 2002 yılında ıslah edilen, hayvansal yem olarak kullanılan, tuz stresine karşı toleransı buğday ve arpadan daha yüksek olan bir genotiptir. Genotiplere ait tohumlar Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Alpaz BALKAN'dan temin edilmiştir.

#### **3.2. Bitkilerin Yetiştirilmesi**

Petri kabı ve saksı denemesi şeklinde yapılan çalışmada bitkiler, Namık Kemal Üniversitesi Tarla Bitkileri Bölümü bitki yetiştirme odasında kontrollü koşullarda yetiştirilmiştir.

##### **3.2.1. Yüzeysel sterilizasyon**

Tritikale tohumları %10'luk Aktijen çözeltisinde 2 dk bekletilerek yüzeysel sterilizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

##### **3.2.2. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması**

250ml'lik erlenmayerlere distile saf su ve farklı derişimde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0, 50, 100 µM) çözeltileri hazırlanarak çimlendirme aşamasına bırakılmadan önce tohumlara uygulanmıştır. Uygulama esnasında tohumlar ilgili çözeltiler içinde 6 saat süreyle karanlık oda koşullarında bekletildikten sonra çimlendirme ortamına bırakılmıştır. Bu uygulamanın ön denemeleri yapılarak karar verilmiştir

##### **3.2.3. Petri kabı denemesi**

Deneme materyalini oluşturan tritikale tohumlarının yüzeysel sterilizasyonu yapılmış ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasına bırakılmış tohumlardan içerisinde saf su (kontrol), 50 mM ve 100 mM NaCl çözeltileriyle nemlendirilmiş filtre kâğıdı içeren ve önceden steril edilmiş 9 cm çaplı Petri kaplarına, her kaba 20 tohum olacak şekilde yerleştirilmiştir (Demirbaş ve ark. 2015). Buharlaşmayı önlemek için Petri kapları streç film ile sarılmıştır. Petri kapları daha sonra bitki yetiştirme dolabına alınarak, 250 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> ışık içeren 16 saat fotoperiyotta,

25±2°C/15±2°C (gündüz/gece) sıcaklıkta, %60±5 nemli ortamda 8 gün süresince çimlenmeye bırakılmıştır. Tohumların kökçükleri 2 mm kadar uzadığında çimlenmiş olarak kabul edilmiştir. Çimlendirme denemesi 3 tekrarlamalı olarak kurulmuştur. Çimlendirme denemesinde belirlenen özellikler aşağıda verilmiştir. Aşağıdaki ölçümler deneme süresi sonunda Petri kaplarından tesadüfi olarak seçilecek 10 bitki üzerinde yapılmıştır.

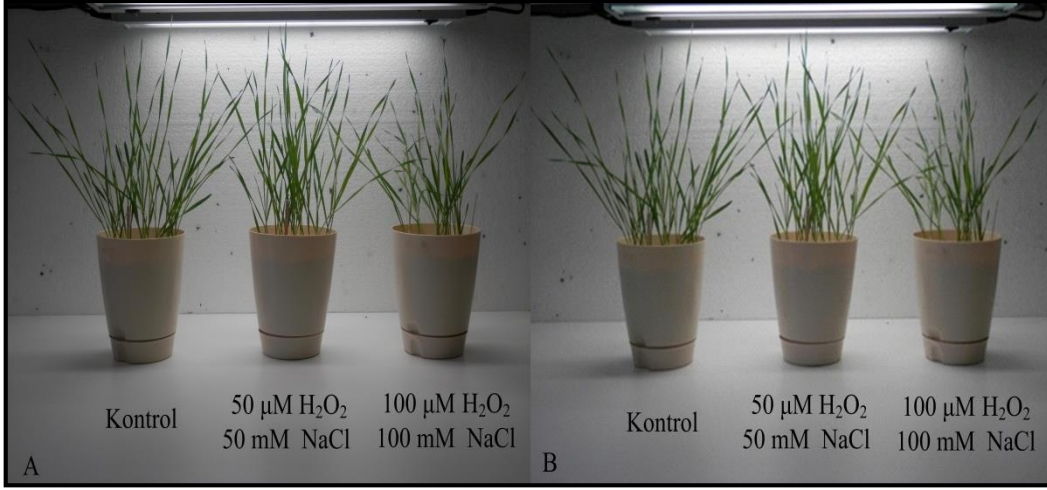
### **3.2.3.1. Morfolojik parametreler**

Kök sayısı bitkilerin kökleri sayıldı, ortalaması alınarak adet olarak belirlenmiştir. Kök uzunluğu, bitkilerin kök tacı ile köklerinin en uç noktası arasındaki mesafe ölçüldü, ortalaması mm olarak belirlenmiştir. Fide uzunluğu, bitkilerin kök tacı ile yapraklarının en uç noktası arasındaki mesafe ölçüldü, ortalaması alınarak mm olarak belirlenmiştir. Kök yaş ağırlığı, bitkilerin kökleri kök tacından kesilerek hassas terazide tartıldı ortalaması alınarak mg olarak belirlenmiştir. Kök kuru ağırlığı, bitkilerin yaş ağırlıkları belirlenen kökleri, 70°C'lik etüvde 48 saat kurutulduktan sonra tartılarak, ortalaması alınarak mg olarak belirlenmiştir. Gövde yaş ağırlığı, kök tacından kesilen bitkilerin gövde kısımları hassas terazide tartılarak, ortalaması alınarak mg olarak belirlenmiş ve en son olarak gövde kuru ağırlığı bitkilerin yaş ağırlıkları belirlenen gövde kısımları 70°C'lik etüvde 48 saat kurutulduktan sonra tartılmış aritmetik ortalaması alınarak mg olarak belirlenmiştir.

### **3.2.4. Saksı denemesi**

Bu denemede, farklı H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasına bırakılan tohumlar yıkanmış ince perlit içeren saksılara (13 cm; 1.5 L) ekilmiştir. Tohumlar ana parselleri, farklı yoğunluktaki (0-kontrol (saf su), 50, 100 mM) NaCl solüsyonları alt parselleri oluşturacak şekilde tesadüf parsellerinde bölünmüş parseller deneme desenine göre 3 tekrarlı olarak kurulmuştur. Deneme materyalini oluşturan tritikale tohumları Petri denemesinde olduğu gibi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasına bırakıldıktan sonra içerisinde perlit bulunan plastik saksılara, her saksıya 20 tohum olacak şekilde ekilmiştir. Saksılar daha sonra 250 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> ışık altında 16 saat fotoperiyot, 25±2°C/15±2°C (gündüz/gece) sıcaklık ve %60±5 nem içeren kontrollü bitki yetiştirme ortamına alınmıştır. Saksılar, tohumlar çimlenip fideler 2 yapraklı döneme gelene kadar (4 hafta) %50 Hoagland besin çözeltisiyle sulanmıştır. İki yapraklı döneme gelen fidelerde tuz stresi yaratmak için Hoagland çözeltisine farklı yoğunluktaki (0-kontrol, 50, 100 mM) NaCl solüsyonları ilave edilerek sulama yapılmıştır.





**Şekil 3. 1.** Tatlıcak-97 (A) ve Mikham-2002 (B) tritikale genotiplerinin 14. gün hasat öncesi görüntüsü

### 3.2.4.1. Morfolojik parametreler

Tuz uygulamasını izleyen 0., 7. ve 14. günlerde saksılardan tesadüfi olarak alınan 5 bitki örneğinde petri kabı denemesi 3.2.3.1. numaralı başlıkta belirtildiği şekilde morfolojik parametreler belirlenmiştir. Örnekleme günlerine karar verilirken ön denemeler yapılarak karar verilmiştir (Demirbaş ve ark. 2015).

3 yapraklı döneme gelen tritikalelerden 0, 50 ve 100 mM NaCl etkisinin belirlendiği gruplardan 0., 7. ve 14. günlerinde biyokimyasal parametreler ve gen ifadesi çalışmaları için 0,5 g yaprak örnekleme yapıp -30°C analizlerin yapılacağı güne kadar saklanmıştır.

### 3.3. Bitki Analiz Yöntemleri

#### 3.3.1. Yaprak bağıl su içeriğinin (BSİ) belirlenmesi

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve tuz uygulaması yapılmış 0.,7, ve 14. günlerinde bitkilerin tam olarak gelişmiş en son çıkan yaprakları alındı, tartılarak taze (yaş) ağırlıkları (YA) (mg) olarak belirlenmiştir. Daha sonra bu yapraklar petri kaplarında distile su ile tamamen ıslatılmış filtre kâğıdı arasında 3 saat bekletilerek turgor haline getirilmiştir. Turgor haline gelmiş yapraklar, üzerlerindeki su birikintisini uzaklaştırmak için hızlıca kâğıt havlu ile silinerek, tekrar tartılarak turgor ağırlıkları (TA) (mg) olarak saptanmıştır. Daha sonra bu yapraklar 70°C’de 48 saat kurutularak, kuru ağırlıkları (KA) bulunmuştur. Yaprakların BSİ aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Smart ve Bingham, 1974).

$$\text{BSİ (\%)}: [\text{YA} - \text{KA}] / [\text{TA} - \text{KA}] \times 100$$

### 3.3.2. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarının belirlenmesi

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarı, Bernt ve Bergmeyer (1974) metoduna göre belirlenmiştir. Sıvı azotla işleme alınan bitki örnekleri (0,3 g), 1 ml 100 mM Na-P tamponu (pH: 6,8) ile homojenize edilmiştir. Özüt, 25200 rcf'de 20 dk 4°C'de santrifüj edildikten sonra 0,5 ml supernatant 2,5 ml peroksit reaktifi ile karıştırılıp ve 30°C'de 10 dk inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda 0,5 ml 1 M perklorik asit eklenerek reaksiyon durdurulmuştur. Spektrofotometrede 436 nm'de okuma yapılarak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> standart eğrisine göre yaprakların H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarı saptanmıştır.

### 3.3.3. Lipit peroksidasyonu analizi

Analiz sırasında lipit peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit (MDA) seviyesinin ölçülmesi ile lipit peroksidasyonu derecesi belirlenmiştir (Madhava Rao ve Sresty 2000). Bitki örneği (0,5 g), %0,1'lik trikloroasetik asit (TCA) çözeltisi ile homojenize edilmiştir. Özütler 11200 rcf'de 5 dk 4°C'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra üst faza TCA ve TBA (tiobarbitürik asit) içeren reaksiyon karışımı eklenmiştir. Örnekler daha sonra 95°C'de 30 dk. sıcak su banyosunda bekletilip ardından buz banyosuna konulmuştur. Örnekler soğuk şokunun ardından 11200 rcf'de 15 dk. santrifüjlenmiştir. Oluşan üst fazın 532 nm ve 600 nm'deki absorbans değerleri alınıp ve MDA derişimi, ekstinksiyon katsayısından ( $\epsilon=155 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) yararlanılarak ( $\mu\text{mol g yaş ağırlık m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) hesaplanmıştır.

### 3.3.4. Toplam protein miktarının belirlenmesi

Bitki örneklerinin toplam protein içeriği Bradford (1976) yöntemine göre saptanmıştır. Bitki örneği (0,5 g) 1 mM EDTA.Na<sub>2</sub> ve %2 (w/v) polivinilpolipirolidon (PVPP) içeren 1 ml 50 mM sodyum fosfat tamponunda (pH 7,8) homojenize edilmiştir. Özütler +4°C'de 18928 rcf'de 30 dk santrifüj edildikten sonra üst faz enzim ve protein analizleri sırasında kullanılmıştır.

Bu yöntemde protein standart grafiğinin hazırlanması sırasında Bovine Serum Albumin (BSA) kullanılmıştır. Hazırlanan örnekler spektrofotometrede 595 nm dalga boyunda köre karşı okunup ve örneklere ait toplam protein miktarı, standart grafik üzerinden hesaplanmıştır. Elde edilen protein değerleri, SOD aktivitesinin hesaplanması sırasında kullanılmıştır.

### 3.3.5. Süperoksit dismutaz (SOD; EC 1.15.1.1) aktivitesinin belirlenmesi

SOD aktivitesi, Beauchamp ve Fridovich (1971) ve Giannipolities ve Ries (1977)'e göre belirlenmiştir. 0,5 mg bitki yaprağı 1 mM EDTA.Na<sub>2</sub> içeren sodyum fosfat (Na-P) tamponu (pH 7,8) ile soğuk ortamda homojenize edilmiştir. Homojenizasyon sonrasında özüt

+4°C'de 17949 rcf'de santrifüj edilmiştir. Örneklerin toplam protein içerikleri belirlendikten sonra farklı konsantrasyonlardaki süpernatant, 50 mM Na-P tamponu (pH 7,8), 0,1 M L-Metiyonin, 1 mM Nitro BlueTetrazolium (NBT), 0,1 mM EDTA.Na<sub>2</sub> ve 0,2 mM riboflavin içeren reaksiyon karışımı ile 300 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> 25°C'de 10 dk süresince ışık ortamında reaksiyona bırakılmıştır. Reaksiyon sonunda meydana gelen renk değişimi 560 nm dalga boyundaki ölçüm ile saptanmıştır. Spesifik enzim aktivitesi, enzim ünitesi mg protein<sup>-1</sup> olarak belirlenmiştir. Spektrofotometrik okumalar sırasında Mecasys Optizen Pop cihazı kullanılmıştır.

### 3.3.6. Gen ifade düzeyindeki değişimlerin belirlenmesi

SOD aktivitesi Cu/ZnSOD, MnSOD ve FeSOD genlerinin birleşimi olan gen ailesi tarafından kontrol edilmektedir (Kukreja ve ark. 2005). Aşağıda belirtilen protokoller uygulanarak *SOD1.1* (Cu/ZnSOD), *SOD1.2*, *SOD2* (MnSOD) ve *SOD3* (FeSOD) genlerinin bağıl ifade düzeylerindeki değişimler belirlenmiştir.

#### 3.3.6.1. RNA izolasyonu ve toplam RNA miktarının hesaplanması

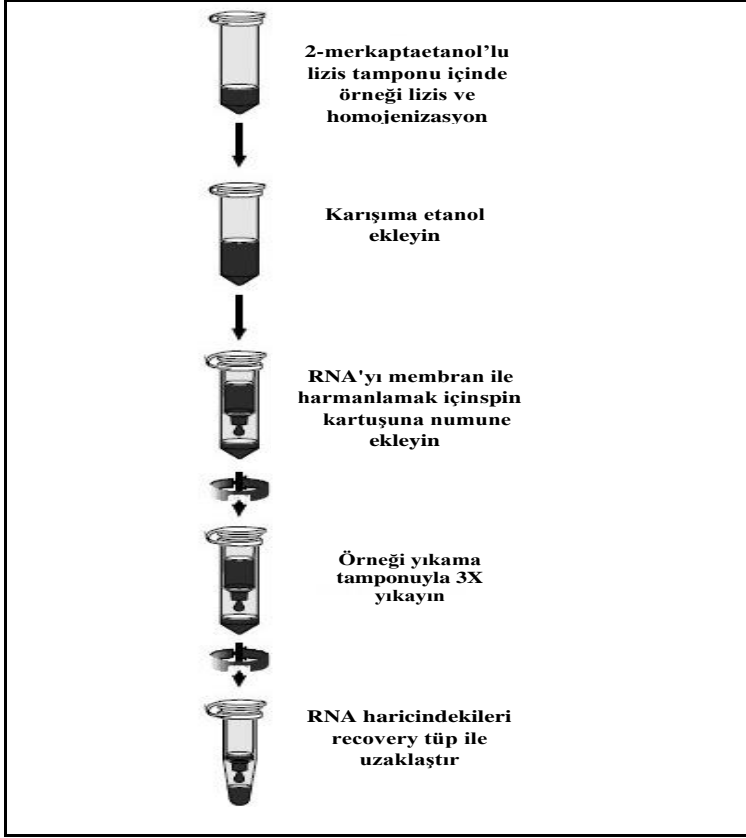
Tritikale bitki yapraklarından toplam RNA izolasyonu için Thermo Fisher Scientific firmasının *PureLink® RNA Mini Kit*'i kullanılmıştır. İzolasyon yöntemi firmanın önerdiği protokole uygun olarak gerçekleştirilmiştir. İzolasyon sırasında 100 mg taze bitki örneği sıvı azot içinde homojenizasyon çubukları yardımıyla parçalanmıştır. İzolasyon sonrasında elde edilen RNA, ependorf tüplerinde -30°C'de saklanmıştır (Şekil 3.2).

İzole edilen toplam RNA miktarının tayini için spektrofotometrede O.D.<sub>260nm</sub>'de okuma yapılmıştır. Okumada her örnek, 20 µl RNA özütünün 480 µl RNase-free H<sub>2</sub>O ile sulandırılmasıyla yapılmıştır. Okuma sonunda elde edilen absorbans değerleri aşağıda belirtilen formülde yerine konularak RNA içeriği saptanmıştır. RNA içeriği çizelge 3.1 ve çizelge 3.2'de sunulmaktadır.

$$C (\mu\text{g/ml}) = \text{O.D.}_{260\text{nm}} \times 40 \times \text{sulandırma faktörü}$$

$$C (\mu\text{g/ml}) = \text{O.D.}_{260\text{nm}} \times 40 \times (500/20) = \text{O.D.}_{260\text{nm}} \times 1000$$

$$C (\mu\text{g}/\mu\text{l}) = \text{O.D.}_{260\text{nm}}$$



Şekil 3. 2. RNA izolasyon aşamaları

Çizelge 3. 1. Tatlıcak-97 çeşidine ait yapraklardan izole edilen toplam RNA miktarları ( $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ )

Tatlıcak-97	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	NaCl	0. gün	7. gün	14. gün	
	0	0	0	0,136	0,086	0,141
		50	0	0,136	0,087	0,280
		100	0	0,136	0,174	0,239
	50	0	0	0,258	0,093	0,183
		50	0	0,258	0,327	0,166
		100	0	0,258	0,091	0,161
	100	0	0	0,209	0,083	0,119
		50	0	0,209	0,045	0,118
		100	0	0,209	0,214	0,103

**Çizelge 3. 2.** Mikham-2002 çeşidine ait yapraklardan izole edilen toplam RNA miktarları (µg/µl)

Mikham-2002	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	NaCl	0. gün	7. gün	14. gün	
	0	0		0,185	0,167	0,116
		50		0,185	0,107	0,176
		100		0,185	0,065	0,156
	50	0		0,130	0,147	0,154
		50		0,130	0,183	0,038
		100		0,130	0,429	0,036
	100	0		0,197	0,275	0,052
		50		0,197	0,155	0,261
		100		0,197	0,102	0,079

### 3.3.6.2. Reverse transkripsiyon (RT) PCR

Bitki yapraklarında izole edilen RNA, RNase free H<sub>2</sub>O ile seyreltilmiştir. Her örnekten cDNA sentezi için 2 µl (40 ng) RNA kalıbı kullanılmıştır. RT-PCR işlemi sırasında “*High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit*” Applied Biosystems (AB) kullanılmıştır. RT-PCR aşamasında kullanılan kimyasallar çizelge 3.3’de sunulmaktadır. PCR, Applied Biosystem® Veriti® Thermal Cycler cihazı kullanılarak çizelge 3.4 sunulan aşamalar ile yapılmıştır.

**Çizelge 3. 3.** RT-PCR aşamasında her bir örnek için gerekli olan maddeler ve hazırlama sırası

Aşama	Kullanılan Madde	Miktar
1	RNA kalıbı	2 µl
2	10x RT Buffer	2 µl
3	25x mM AB dNTP (100mM)	0,8 µl
4	10x RT Random Primer	2 µl
5	Nuclease-free H <sub>2</sub> O	4,2 µl
6	MultiScribe	1 µl

**Çizelge 3. 4.** RT-PCR aşamasında kullanılan sıcaklık ve döngü sayıları

	1. Aşama	2. Aşama	3. Aşama	4. Aşama
Sıcaklık	25 °C	37 °C	85 °C	4 °C
Zaman	10dk	120dk	5dk	∞
Döngü	1	1	1	1

### 3.3.6.3. Genlerin PCR'da çoğaltılması

PCR sırasında HIMedia Laboratories firmasına ait 10X *Hibuffer S* kiti kullanılmıştır. Çoğaltılmak istenen gen, 2 µl cDNA (40 ng), 10X tampon (MgCl<sub>2</sub> içinde) ilgili genin primerleri (Çizelge 3.6), H<sub>2</sub>O, dNTPs, Taq polimeraz ile hazırlanarak karışım (Çizelge 3.5) içersinde PCR' da çoğaltılmıştır. PCR, Applied Biosystem® Veriti® Thermal Cycler cihazı çizelge 3.7'de sunulan aşamalar kullanılarak yapılmıştır.

Çizelge 3. 5. PCR' da kullanılan karışımlar

	Tampon 10X	dNTPs (10 mM)	Forward (F) Primer (6 pm/µL)	Reverse (R) Primer (6 pm/µL)	Taq DNA Polimeraz (5µ/ml)	H <sub>2</sub> O
Miktar (µL)	1,25	0,25	0,50	0,50	0,05	7,95

Çizelge 3. 6. Çalışmada kullanılan genlere ait primer dizileri ve PCR uygulamaları

Gen	Primer Dizisi	Bağlanma sıcaklığı	Döngü	Kaynak
<i>Actin</i>	F 5'- CTA TCC TTC GTT TGG ACC TT -3' R 5'- AGC GAG CTT CTC CTT TAT GT -3'	55	40	Li ve ark. (2013)
<i>TaSOD1.1</i>	F 5'-CACCTCCACCACCAACCCCAAAAAG-3' R 5'-AATGGCGTCGTTACAAGTATGACTG-3'	56	36	Zhang ve ark. (2008)
<i>TaSOD1.2</i>	F 5'- CTTCCGCTTCCGACGACAGCCATG -3' R 5'- ACCAGAGATGGAAACCAGCGACTA-3'	56	34	Zhang ve ark. (2008)
<i>SOD2</i>	F 5'- AGT TGG ACG GAT GGT ACT GA -3' R 5'- AAG ACG GTG CCT TTG GGT -3'	55	36	Li ve ark. (2013)
<i>SOD3</i>	F 5'-CACACACCAAACCACACTATCCA -3' R 5'-TGTCTACTCGGACAAATCATGC -3'	58	40	Kumar ve ark. (2013)

Çizelge 3. 7. PCR'da genlerin çoğaltılması

Aşama	<i>Actin</i>	<i>SOD1.1</i>	<i>SOD1.2</i>	<i>SOD2</i>	<i>SOD3</i>
Ön denatürasyon	95°C 2dk	94°C 1dk	94°C 1dk	95°C 2dk	94°C 4dk
Denatürasyon	95°C 30sn	94°C 30sn	94°C 30sn	95°C 30sn	93°C 45sn
Primerlerin bağlanması	55°C 30sn	56°C 30sn	56°C 30sn	55°C 30sn	58°C 30sn
Uzama safhası	72°C 45sn	72°C 1dk	72°C 1dk	72°C 30sn	72°C 1dk
Döngü sayısı	40	36	34	36	40
Son uzama safhası	72°C 6dk	72°C 10dk	72°C 10dk	72°C 30sn	72°C 10dk

#### **3.3.6.4. Bağıl gen ifade düzeyinin belirlenmesi**

Jel, 1,5 g agarozun 100 ml 1X TBE tamponunda 120°C’ de eritildikten sonra 1,8 µl RedSafe Nükleik Asit çözeltisi ilave edilerek hazırlanmıştır. PCR’da çoğaltılan gen ürünü her örnek için, içinde “bromfenolblue” bulunan yükleme tamponuyla birlikte 12,5 µl olacak şekilde %1,5’ lik agaroz jele yüklenerek ve elektroforez işlemi, 100 volt elektrik akımında 40 dk sürede gerçekleştirilmiştir.

UV görüntüleme (Gel Imaging System Vilber Lourmat Quantum ST5) sisteminde fotoğrafı çekilen jelin üzerinde meydana gelen bant ışık yoğunluğu (Maximum Optic Density: Max. O.D.), Gel-Pro v3.0 bilgisayar programı yardımıyla saptanarak ilgili genin bağıl gen ifadesi, referans genin bant ışık yoğunluğuna oranlanarak hesaplanmıştır.

#### **3.4. İstatistiksel Analiz**

Deneme deseni iki bağımsız seri şeklinde kurulmuş olup örneklemeler her seriden kendi içinde üçer tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler tesadüf parsellerinde bölünmüş parseller deneme desenine göre tek yönlü varyans analizi (One Way Anova) ile incelenmiştir. Ortalamalar arasındaki farkların istatistiksel anlamda önemlilikleri Tukey-Kramer Testi ile karşılaştırılmıştır.  $P < 0,05$  olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Ortalama değerler kendi içinde değerlendirilmiş, sonuçlar ortalama±standart hata şeklinde tablo ve grafiklerde verilmiştir. Tablo ve grafiklerde bulunan farklı harfler arasında istatistiksel olarak önemli fark vardır. Tüm istatistiksel analizler için SPSS programı (standart sürüm 18) kullanılmıştır.

## 4. BULGULAR

Ekim öncesi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasına bırakılmış tritikale tohumlarının Petri kabında ve saksıda yapılan yetiştirilmeleri sırasında uygulanan tuz stresine karşı vermiş olduğu morfolojik, fizyolojik, bazı biyokimyasal değişimler ile antioksidan savunma sisteminin öncül enzimi olan SOD enziminin işlevine ait değişimler aşağıda sunulmaktadır.

### 4.1. Çimlendirme denemesi

#### 4.1.1 Morfolojik parametreler

Tritikale tohumlarına uygulanan 0, 50, 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasının 0, 50, 100 mM NaCl içeren koşullarda çimlenme ve erken fide gelişimine olan etkilerini belirlemek amacıyla Petri kaplarında yürütülen Tatlıcak-97 ve Mikham-2002 genotiplerine ait sonuçlar Çizelge 4.1, Çizelge 4.2 ve Çizelge 4.3’de yer almaktadır.

**Çizelge 4. 1.** Tatlıcak-97 ve Mikham-2002 genotiplerinin çimlendirme denemesinde çimlenme süresi (gün) ve çimlenme oranına (%) ait değişimler

	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (µM)	NaCl (mM)	Çimlenme Süresi (gün)	Çimlenme oranı (%)
Tatlıcak-97	0	0	2,58±0,2 ab	88,33±5,8 ab
		50	2,60±0,2 ab	80,00±5,0 ab
		100	2,38±0,3 ab	83,33±10,0 ab
	50	0	1,94±0,5 b	88,33±7,6 ab
		50	2,00±0,1 ab	95,00±5,0 b
		100	1,98±0,1 ab	71,67±7,6 a
	100	0	2,39±0,3 ab	83,33±5,8 ab
		50	2,03±0,3 ab	90,00±5,0 ab
		100	2,07±0,4 ab	83,33±10 ab
Mikham-2002	0	0	1,78±0,2 a	96,67±2,9 b
		50	1,96±0,1 ab	93,33±7,7 b
		100	1,97±0,1 ab	91,67±7,7 ab
	50	0	1,95±0,1 ab	90,00±5,0 ab
		50	2,17±0,1 ab	91,67±7,7 ab
		100	2,30±0,2 ab	85,00±10 ab
	100	0	2,09±0,4 ab	88,33±2,9 ab
		50	2,15±0,2 ab	88,33±2,9 b
		100	2,27±0,3 ab	88,33±5,8 a

Tatlıcak-97 fidelerine yapılan 50 ve 100 mM NaCl uygulamasının ortalama çimlenme süresi sırasıyla %0,8 ve %7,8 azaldığı belirlenmiştir. Mikham-2002 genotipinde ise çimlenme



süresi sırasıyla %10,1 ve %10,7 arttığı gözlemlenmiştir. 50 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin çimlenme süresi sırasıyla %3,1 ve %2,1 artışa neden olduğu; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %11,3 ve %17,9 artışa neden olduğu saptanmıştır. 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin çimlenme süresi sırasıyla %15,1 ve %13,4 azalışa; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %2,9 ve %8,6 artışa neden olmuştur. Tohumlara yapılan 50 µM ve 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasının tuzlu ortam şartlarında kontrole göre çimlenme süresi Tatlıcak-97 çeşidinde sırasıyla %21,7 ve %14,2 azaldığı, Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %12,4 ve %14 arttığı gözlemlenmiştir (Çizelge 4.1).

Tatlıcak-97 fidelerine yapılan 50 ve 100 mM NaCl uygulamasının ortalama çimlenme oranı sırasıyla %9,4 ve %5,7 azaldığı belirlenmiştir. Mikham-2002 genotipinde ise çimlenme oranı sırasıyla %3,4 ve %5,2 azaldığı saptanmıştır. 50 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin çimlenme oranında sırasıyla %7,6 ve %18,9 azalmaya neden olduğu; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %1,9 ve %5,6 azalmaya neden olduğu gözlemlenmiştir. 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin çimlenme oranında sırasıyla %8,0 artışa ve değişim olmadığı; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla değişime neden olmamıştır. Tohumlara yapılan 50 µM ve 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasının tuzlu ortam şartlarında kontrole göre çimlenme oranı Tatlıcak-97 çeşidinde sırasıyla %1,3 ve %2,0 arttırdığı, Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %5,3 ve %5,9 azaldığı saptanmıştır (Çizelge 4.1).

**Çizelge 4. 2.** Tatlıcak-97 ve Mikham-2002 genotiplerinin çimlendirme denemesinde kök parametrelerine ait değişimler

	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (µM)	NaCl (mM)	KS (Adet)	KU (cm)	Kök YA (mg)	Kök KA (mg)
Tatlıcak-97	0	0	5,77±0,7 b	10,08±2,9 d-g	63,50±20,0 a-d	9,88±2,9 ab
		50	5,55±0,3 ab	9,34±2,9 b-f	67±15,4 ab	10,77±2,0 ab
		100	5,88±0,7 b	6,65±1,3 a	62,75±17,7 a	8±2,9 a
	50	0	6,11±0,9 b	10,41±1,4 b-g	62,14±23,5 bc	10±4,2 b
		50	5,66±0,5 ab	9,84±2,5 b-g	64±23,9 b-e	9,22±2,7 b
		100	5,55±0,5 ab	6,71±3,2 bc	59,57±26,4 bc	8,11±3,7 ab
	100	0	5,66±0,3 ab	6,55±1,4 ab	44,77±16,8 ab	8,22±1,8 ab
		50	5,55±0,5 ab	8,68±1,3 b-f	51,22±13,8 ab	7,66±2,2 ab
		100	5,55±0,5 ab	8,26±0,9 b-f	58,22±9,1 abc	8,55±0,8 ab
Mikham-2002	0	0	5,22±0,7 ab	12,58±1,9 g	77,71±16,8 b-f	8,22±1,9 ab
		50	5,55±0,7 ab	11,05±2,5 efg	70,57±23,9 def	11±1,9 b
		100	6,11±0,7 b	7,35±2,7 bcd	68,33±20,3 b-f	9,11±1,5 ab
	50	0	5,33±0,5 ab	11,28±3,1 fg	70,50±51,3 c-f	7,77±2,6 b
		50	5,33±0,5 ab	9±2,0 efg	52,88±23,7 f	8,77±2,1 b
		100	4,66±0,9 a	3,81±2,2 efg	24,77±40,9 ef	5,11±3,5 b
	100	0	5,22±0,3 ab	11,61±1,7 d-g	91,77±27,1 bc	11,55±3,1 b
		50	5,77±1,0 b	10,23±1,72c-g	116,13±10,39 a-f	9,29±1,83 ab
		100	5,44±0,73 ab	7,84±0,89 bc	102,38±17,78 bc	9,66±1,58 ab

KS: Kök Sayısı, KU: Kök Uzunluğu, Kök YA: Kök Yaş Ağırlığı, Kök KA: Kök Kuru Ağırlığı

Tatlıcak-97 fidelerine yapılan 50 ve 100 mM NaCl uygulamasının ortalama KS sırasıyla %3,8 azaldığı ve %1,9 arttırdığı belirlenmiştir. Mikham-2002 genotipinde ise KS sırasıyla %6,4 ve %17 arttığı saptanmıştır. 50 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin KS'ında sırasıyla %7,3 ve %9,1 azalmaya neden olduğu; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %0,5 ve %12,5 azalmaya neden olduğu gözlemlenmiştir. 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin KS'ında sırasıyla %2,0 ve %2,0 azalmaya; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %10,6 ve %4,3 artışa neden olmuştur. Tohumlara yapılan 50 µM ve 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasının tuzlu ortam şartlarında kontrole göre KS Tatlıcak-97 çeşidinde sırasıyla %0,6 arttırdığı ve %2,6 azaldığı, Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %9,2 ve %2,6 azaldığı gözlemlenmiştir (Çizelge 4.2).

Tatlıcak-97 fidelerine yapılan 50 ve 100 mM NaCl uygulamasının ortalama KU sırasıyla %7,3 ve %34,0 azaldığı belirlenmiştir. Mikham-2002 genotipinde ise KU sırasıyla %12,2 ve %41,6 azaldığı saptanmıştır. 50 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin KU'unda sırasıyla %5,5 ve %35,5 azalmaya neden olduğu;

Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %20,2 ve %72,4 azalmaya neden olduğu saptanmıştır. 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin KU sırasıyla %32,3 ve %26,1 artışa; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %11,4 ve %32,4 azalmaya neden olmuştur. Tohumlara yapılan 50 µM ve 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasının tuzlu ortam şartlarında kontrole göre KU Tatlıcak-97 çeşidinde sırasıyla %3,5 arttırdığı ve %9,8 azaldığı, Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %24,5 ve %4,2 azaldığı gözlemlenmiştir (Çizelge 4.2).

Tatlıcak-97 fidelerine yapılan 50 ve 100 mM NaCl uygulamasının ortalama kök YA sırasıyla %6,4 arttırdığı ve %1,2 azaldığı belirlenmiştir. Mikham-2002 genotipinde ise kök YA sırasıyla %9,2 ve %12,1 azaldığı saptanmıştır. 50 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin kök YA'ında sırasıyla %3 artışa, %4,1 azalmaya neden olduğu; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %25,0 ve %64,9 azalmaya neden olduğu gözlemlenmiştir. 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin kök YA'ında sırasıyla %8,3 ve %21,6 artışa; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %26,5 ve %11,5 artışa neden olmuştur. Tohumlara yapılan 50 µM ve 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasının tuzlu ortam şartlarında kontrole göre kök YA Tatlıcak-97 çeşidinde sırasıyla %4,2 ve %18,5 azaldığı, Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %31,6 azaldığı ve %43,2 arttığı gözlemlenmiştir (Çizelge 4.2).

Tatlıcak-97 fidelerine yapılan 50 ve 100 mM NaCl uygulamasının ortalama kök KA sırasıyla %4,8 arttığı ve %23,8 azaldığı belirlenmiştir. Mikham-2002 genotipinde ise kök KA sırasıyla %9,4 arttığı ve %1,6 azaldığı saptanmıştır. 50 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin kök KA'ında sırasıyla %15,3 ve %24,7 azalmaya neden olduğu; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %0,7 ve %41,3 azalmaya neden olduğu gözlemlenmiştir. 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin kök KA'ında sırasıyla %1,8 ve %3,6 azalmaya; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %19,6 ve %16,3 azalmaya neden olmuştur. Tohumlara yapılan 50 µM ve 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasının tuzlu ortam şartlarında kontrole göre kök KA Tatlıcak-97 çeşidinde sırasıyla %6,4 ve %11,4 azaldığı, Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %29,7 azaldığı ve %8,4 arttığı saptanmıştır (Çizelge 4.2).

**Çizelge 4. 3.** Tatlıcak-97 ve Mikham-2002 genotiplerinin çimlendirme denemesinde gövde parametrelerine ait değişimler

	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (µM)	NaCl (mM)	GU (cm)	Gövde YA (mg)	Gövde KA (mg)
Tatlıcak-97	0	0	9,47±0,8 def	96,22±22,9 d-h	14±3,4 bcd
		50	9,61±1,1 def	92,88±20,9 b-f	12,55±3,2 bcd
		100	6,97±1,4 a	58,55±27,8 a	8,55±3,6 a
	50	0	9,52±1,4 c-f	100,77±23,3 e-h	13,88±3,5 d
		50	9,61±1,1 c-f	100,77±22,3 d-g	12,11±2,9 cd
		100	6,82±2,0 b	61,33±29,5 b	9,88±3,8 ab
	100	0	9,03±0,6 cbd	94±7,3 c-g	13,11±2,0 cd
		50	9,64±1,1 c-f	98,44±9,8 b-f	14,11±1,5 d
		100	9,15±0,7 cde	75±9,8 b-e	11,55±1,3 bcd
Mikham-2002	0	0	10,38±1,0 def	93,44±22,2 e-h	10,33±2,3 bcd
		50	11,03±1,0 ef	109,33±24,0 fgh	13,66±3,7 cd
		100	6,9±1,0 b	62,22±17,2 bc	9,77±2,7 abc
	50	0	10,51±1,1 f	96,88±19,1 h	13,22±2,4 d
		50	10,17±1,8 def	92,88±23,7 gh	12,22±2,8 cd
		100	2,78±0,8 bc	29,66±26,5 bcd	5,88±3,0 bcd
	100	0	11,16±0,9 c-f	119,55±11,0 e-h	14,22±1,6 d
		50	10,14±0,5 c-f	108,55±3,1 fgh	13,44±1,1 bcd
		100	8,14±0,8 b	69,44±10,3 abc	10,77±1,3 abc

GU: Gövde Uzunluğu, Gövde YA: Gövde Yaş Ağırlığı, Gövde KA: Gövde Kuru Ağırlığı

Tatlıcak-97 fidelerine yapılan 50 ve 100 mM NaCl uygulamasının ortalama GU sırasıyla %3,5 ve %27,8 azaldığı belirlenmiştir. Mikham-2002 genotipinde ise GU sırasıyla %4 arttığı ve %35,0 azaldığı saptanmıştır. 50 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin GU'unda sırasıyla %1,0 ve %29,8 azalmaya neden olduğu; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %3,2 ve %73,5 azalmaya neden olduğu gözlemlenmiştir. 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin GU'unda sırasıyla %3,7 ve %3,7 azalmaya; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %9,1 ve %27,0 azalmaya neden olmuştur. Tohumlara yapılan 50 µM ve 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasının tuzlu ortam şartlarında kontrole göre GU Tatlıcak-97 çeşidinde sırasıyla %0,7 ve %6,4 arttırdığı, Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %17,8 azaldığı ve %3,2 arttırdığı gözlemlenmiştir. (Çizelge 4.3).

Tatlıcak-97 fidelerine yapılan 50 ve 100 mM NaCl uygulamasının ortalama gövde YA sırasıyla %9,6 ve %42,4 azaldığı belirlenmiştir. Mikham-2002 genotipinde ise gövde YA sırasıyla %6,0 arttırdığı ve %36,5 azaldığı saptanmıştır. 50 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin gövde YA'ında sırasıyla %4,4 artışa, %39,1

azalmaya neden olduğu; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %13,2 ve %68,9 azalmaya neden olduğu saptanmıştır. 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin gövde YA'ında sırasıyla %2,8 ve %14,4 azalmaya; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %5,7 ve %41,9 azalmaya neden olmuştur. Tohumlara yapılan 50 µM ve 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasının tuzlu ortam şartlarında kontrole göre gövde YA Tatlıcak-97 çeşidinde sırasıyla %6,1 arttığı ve %1,7 azaldığı, Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %21,4 azaldığı ve %14,3 arttığı saptanmıştır (Çizelge 4.3).

Tatlıcak-97 fidelerine yapılan 50 ve 100 mM NaCl uygulamasının ortalama gövde KA sırasıyla %10,1 ve %39,5 azaldığı belirlenmiştir. Mikham-2002 genotipinde ise gövde KA sırasıyla %15,2 arttığı ve %13,4 azaldığı saptanmıştır. 50 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin gövde KA'ında sırasıyla %12,9 ve %31,8 azalmaya neden olduğu; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %0,8 ve %51,4 azalmaya neden olduğu saptanmıştır. 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin gövde KA'ında sırasıyla %6,8 artışa ve %11,9 azalmaya; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %5,5 ve %24,2 azalmaya neden olmuştur. Tohumlara yapılan 50 µM ve 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasının tuzlu ortam şartlarında kontrole göre gövde KA Tatlıcak-97 çeşidinde sırasıyla %0,6 azaldığı ve %3,8 arttırdığı, Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %11,2 azaldığı ve %12,9 arttığı saptanmıştır (Çizelge 4.3).

## **4.2. Saksı Denemesi**

### **4.2.1 Morfolojik parametreler**

Tritikale tohumlarına uygulanan 0, 50, 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması sonrası ekim sonrası fideler 2 yapraklı seviyeye ulaştığında 0, 50, 100 mM NaCl uygulamasının 0, 7 ve 14 günlük etkisinin büyüme parametreleri (Çizelge 4.4, Çizelge 4.5), BSI (Şekil 4.1), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarı (Şekil 4.2), TBARS seviyesi (Şekil 4.3), SOD aktivitesi (Şekil 4.4), *SOD3* (Şekil 4.5, Şekil 4.6) ve *SOD1.1* (Şekil 4.7, Şekil 4.8) genlerinin bağıl ifade seviyesine ait sonuçlar aşağıda yer almaktadır.

**Çizelge 4. 4.** Tatlıcak-97 ve Mikham-2002 genotiplerinin saksı denemesinde kök parametrelerine ait değişimler

	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (µM)	NaCl (mM)	KU (cm)			KYA (mg)			KKA (mg)		
			0. gün	7. gün	14. gün	0. gün	7. gün	14. gün	0. gün	7. gün	14. gün
Tatlıcak-97	0	0	20,38 ±4,0ab	24,12±4 ,2 abc	25,68±3,1 abc	132,2±4 5,5ab	244,6±9 6a-d	445,2±1 11,7a-d	15,6±3, 2a	21,60±8 ,4 ab	47,8±7, 8ab
		50		26,32±3 ,8 abc	25,70±6,0 abc		217,015 ±7,7a	341,8±2 01,5a-d		25,40±1 09ab	36,6±2 0,4ab
		100		26,44±6 ,5 abc	20,94±5,9 abc		418,8±1 04,7a-d	450,4±1 75,4a-d		44,40±3 ,2 a	42,8±1 2,6ab
	50	0	19,78 ±4,0abc	26,68±5 ,3 c	20,80±6,b c	122±55, 5abc	292,4±1 19,2a-d	234,4±1 00,9a-d	17±6,2 ab	26,40±9 ,4 ab	35,2±1 5ab
		50		27,68±4 ,1 abc	26,48±6,0 abc		420,4±1 77,8a-d	476,8±1 12,4bcd		37,60±1 5,5 ab	50,2±1 7,6ab
		100		26,02±3 ,9 bc	25,56±4,7 abc		317,8±1 13,8a-d	478,8±2 60,4d		34,80±7 ,2 ab	50,0±2 1,9b
	100	0	21,18 ±4,0abc	25,80±3 ,0 c	23,00±7,3 a	117±81, 3a-d	429,2±2 39,3cd	393,0±1 76,9ab	17,2±8, 9 ab	33,80±1 4,7 ab	43,8±1 5,8ab
		50		22,34±6 ,7 abc	21,58±4,8 abc		176,0±9 9,3ab	319,0±1 33bcd		20,60±8 ,7 ab	37,0±1 0,9ab
		100		27,66±6 ,8 bc	19,64±1,8 abc		328,4±1 51ab	217,4±1 08a-d		37,80±1 0,6 ab	26,0±8, 6ab
Mikham-2002	0	0	18,46 ±3,5a	21,25±3 ,6 a	25,33±2,3 a	69,8±47 a	118,40± 50ab	213,60± 85,8ab	13±5,1a	20,20±4 ,9 abc	25,20± 7,6bc
		50		22,06±5 ,9 a	18,10±5,5 a		24,80±1 2,3ab	102,60± 45,6ab		15,60±6 ,5 ab	15,20± 3,7ab
		100		21,44±3 ,6 a	22,14±3,2 a		114,60± 81,8ab	168,40± 39,4ab		12,20±2 ,3 a	18,60± 2,7abc
	50	0	19,73 ±5,0a	26,22±4 ,3 a	24,38±5,5 a	85,8±34 ,5a	126,20± 60,6ab	246,60± 80ab	16,4 ±4,1a	20,40±6 ,3 abc	32,60± 5,6abc
		50		22,02±1 ,7 a	23,04±3,8 a		102,80± 53ab	280,40± 26b		21,20±2 ,1 abc	28,60± 18,7c
		100		25,60±4 ,2 a	25,14±5,2 a		242,20± 73ab	347,20± 23b		23,80±7 ,3 abc	36,00± 18,4c
	100	0	20,16 ±3,3a	28,38±5 ,5 a	16,22±4,1 a	112,2±4 6,a	336,20± 128,6ab	75,80±3 5,63ab	18±6a	31,40±8 abc	17,80± 6,5abc
		50		23,90±2 ,8 a	22,70±3,5 a		76,40±4 5,8ab	287,80± 18ab		19,80±3 ab	37,40± 18abc
		100		25,96±3 ,0 a	22,20±4,2 a		78,00±6 0,8ab	202,00± 16ab		25,40±9 ,2 abc	31,60± 20,3abc

KU: Kök Uzunluğu, KYA: Kök Yaş Ağırlığı, KKA: Kök Kuru Ağırlığı

Tatlıcak-97 fidelerine yapılan 50 ve 100 mM NaCl uygulamasının ortalama KU sırasıyla %1,4 arttığı ve %8,6 azaldığı belirlenmiştir. Mikham-2002 genotipinde ise KU sırasıyla %6,4 ve %8,6 azaldığı gözlemlenmiştir. 50 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin KU'unda sırasıyla %0,8 ve %0,3 artışa neden olduğu; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %12,8 ve %5,1 azalmaya neden olduğu saptanmıştır. 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin KU'unda sırasıyla %7,5 ve %8,6 azalmaya; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %4,9 ve %5,5 artışa neden olmuştur. Tohumlara yapılan 50 µM ve 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasının tuzlu ortam şartlarında kontrole göre KU'unda Tatlıcak-97 çeşidinde sırasıyla %0,4 ve %6,4 azaldığı, Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %13,1 ve %8,5 arttırdığı saptanmıştır.

Mikham-2002 tohumlarına yapılan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulaması tuz stresinin 0-14 gün arasında KU'unda artışa neden olurken H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulanmayan bitkilerde ise azalmaya neden olduğu saptanmıştır. Tatlıcak-97 genotopinin KU'undaki değişimlerin aynı ortam şartlarında Mikham-2002 genotipine göre pozitif bir şekilde etki ettiği gözlemlenmiştir (Çizelge 4.4).

Tatlıcak-97 fidelerine yapılan 50 ve 100 mM NaCl uygulamasının ortalama kök YA sırasıyla %19,9 azaldığı ve %8,8 arttırdığı belirlenmiştir. Mikham-2002 genotipinde ise kök YA sırasıyla %52,1 ve %34,3 azaldığı tespit edilmiştir. 50 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin kök YA'ında sırasıyla %38,3 ve %36,8 artışa neden olduğu; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %1,5 ve %34,9 artışa neden olduğu saptanmıştır. 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin kök YA'ında sırasıyla %32,7 ve %35,8 azalmaya; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %21,8 ve %32,1 azalmaya neden olmuştur. Tohumlara yapılan 50 µM ve 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasının tuzlu ortam şartlarında kontrole göre kök YA Tatlıcak-97 çeşidinde sırasıyla %13,4 ve %0,8 arttırdığı, Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %103,9 ve %70,0 arttırdığı saptanmıştır. Mikham-2002 tohumlarına yapılan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulaması tuz stresinin 0-14 gün arasında kök YA'ında artışa neden olurken H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulanmayan bitkilerde ise azalmaya neden olduğu saptanmıştır. Tatlıcak-97 genotopinin kök YA'ındaki değişimlerin aynı ortam şartlarında Mikham-2002 genotipine göre daha pozitif bir etki ettiği gözlemlenmiştir (Çizelge 4.4).

Tatlıcak-97 fidelerine yapılan 50 ve 100 mM NaCl uygulamasının ortalama kök KA sırasıyla %27,7 azaldığı ve %6,2 arttırdığı tespit edilmiştir. Mikham-2002 genotipinde ise kök KA sırasıyla %22,1 ve %26,9 azaldığı saptanmıştır. 50 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin kök KA'ında sırasıyla %27,1 ve %18,3 artışa neden olduğu; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %13,6 azalmaya ve %9,6 artışa neden olduğu saptanmıştır. 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin kök KA'ında sırasıyla %27 ve %28 azalmaya; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %2,9 ve %2,1 azalmaya neden olmuştur. Tohumlara yapılan 50 µM ve 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasının tuzlu ortam şartlarında kontrole göre kök KA Tatlıcak-97 çeşidinde sırasıyla %20,5 ve %9,7 arttırdığı, Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %26,6 ve %24,8 arttırdığı saptanmıştır. Mikham-2002 tohumlarına yapılan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulaması tuz stresinin 0-14 gün arasında kök KA'ında artışa neden olurken H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulanmayan bitkilerde ise azalmaya neden olduğu saptanmıştır. Tatlıcak-97 genotopinin kök KA'ındaki değişimlerin aynı ortam

şartlarında Mikham-2002 genotipine göre daha az bir pozitif değişim olduğu gözlemlenmiştir (Çizelge 4.4).

**Çizelge 4. 5.** Tatlıcak-97 ve Mikham-2002 genotiplerinin saksı denemesinde gövde parametrelerine ait değişimler

	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (µM)	NaCl (mM)	GU (cm)			GYA (mg)			GKA (mg)		
			0. gün	7. gün	14. gün	0. gün	7. gün	14. gün	0. gün	7. gün	14. gün
Tatlıcak-97	0	0		37,52 ±2,1ab	35,58 ±1,3b	364,4± 82,2 ab	505,8 ±159,5a -e	724,4 ±88,6a-e	39,2 ±8,4a	50,8 ±20,5a-d	93,8± 16a-d
		50	28,46 ±2,6ab	34,96 ±2,5ab	36,10 ±3,5ab		392,6±1 97abc	619,2 ±195,5b-e		59,4 ±26,5 abc	83,4± 27,9a -d
		100		34,32 ±1,1 ab	33,62 ±3,3ab		523,2±1 28,4a-d	642,8±165 ,4cde		70,6±13, 1 abc	88,0± 23,1a -d
	50	0		34,72±3,6 ab	35,32±2ab	324,4± 109 ab	475,8±1 40,7a-d	531,2±148 ,7e	36±1 1,5ab	57,6±18, 4 a-d	75,0± 23,3d
		50	27,98 ±3,3 ab	35,96±5,7 ab	36,12±2ab		658,8 ±254,3a -d	687,2±132 ,5b-e		84,8±30, 3 abc	94,4± 19,9a -d
		100		33,52±2,5 ab	33,52±3,8 ab		467,80± 92,1a-d	596,4±115 ,2de		71,6±15, 1 a-d	96,2± 20,4a -d
	100	0		34,06±4,7 ab	36,72±1,2 ab	323±1 50 a	585,2±2 61,7a-d	671,8±194 ,2a-d	36±1 5,4ab	73,6±29, 4 bcd	106,0 ±25,3 bcd
		50	26,8 ±3,5a	35,30±4,8 ab	37,08±4,4 ab		368,40± 146,6ab c	690,8±255 ,5a-e		53,6±19, 3 abc	99,0± 29,8 cd
		100		33,78±1,9 ab	32,88±1,7 ab		414,20± 96,4abc	464,6±101 ,7a-d		64,6±11, 6 a-d	67,8± 10,3 cd
Mikham-2002	0	0		35,62±4,3 d	39,00±3,5 cd	373,8± 136,6 ab	559,2±1 24,0ab	609,4±114 ,8b	39±1 2,2ab	67,20±1 2,7abc	68,80 ±11,1 de
		50	34,1 ±2,2ab c	33,10±3,1 bcd	37,90±2,8 d		382,8±1 47,8ab	633,0±210 ,1ab		54,20±1 5,5a-d	54,20 ±28,2 a-d
		100		37,02±2,9 bcd	37,34±1,4 a-d		463,2±5 6,6ab	655,4±70, 3ab		53,00±9, 5 a-d	72,80 ±10,2 de
	50	0		33,50±1,8 bcd	36,70±5 bcd	365 ±95,6 a	483,4±1 02,9ab	783,4±191 ,9ab	43±9 ,9 a	63,40±1 3,4a-d	96,60 ±24,2 de
		50	32,2 ±5,5 ab	34,02±1,9 cd	38,44±3,4 d		393,8±7 9,9ab	618,4±163 ,7ab		53,40±8, 3 cde	79,80 ±19,9 de
		100		33,14±4,3 a-d	34,80±2,7 a-d		491,4±7 9,5ab	672,2±111 ab		63,00±1 1,8a-d	88,00 ±14,2 de
	100	0		36,36±3,1 a-d	36,54±3,1 d	334,4 ±80a	481,0±1 36,3ab	502,8±88, 5ab	44,2 ±11, 8 a	75,40±2 23a-d	75,00 ±11,5 e
		50	31,08 ±4,9a	34,44±1,9 bcd	34,84±4,2 d		384,4±9 5,9ab	588,2±96, 5ab		54,20±1 0 abc	89,25 ±11,5 de
		100		31,96±1,8 a-d	34,44±2 a-d		459,4± 102ab	453,4± 105,7ab		65,4±11 1 a-d	86,2± 17,2 a-d

GU: Gövde Uzunluğu, GYA: Gövde Yaş Ağırlığı, GKA: Gövde Kuru Ağırlığı



Tatlıcak-97 fidelerine yapılan 50 ve 100 mM NaCl uygulamasının ortalama GU sırasıyla %2,0 ve %5,9 azaldığı tespit edilmiştir. Mikham-2002 genotipinde ise GU sırasıyla %4,0 ve %1,4 azaldığı saptanmıştır. 50 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin GU'unda sırasıyla %0,2 artışa, %3,1 azalmaya neden olduğu; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %2,2 artışa ve %2,2 azalmaya neden olduğu saptanmıştır. 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin GU'unda sırasıyla %1,6 ve %4,2 azalışa; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %3,5 ve %5,5 azalmaya neden olmuştur. Tohumlara yapılan 50 µM ve 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasının tuzlu ortam şartlarında kontrole göre GU Tatlıcak-97 çeşidinde sırasıyla %1,8 ve %1,8 azaldığı, Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %5,2 ve %6,6 azaldığı saptanmıştır. Mikham-2002 tohumlarına yapılan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulaması tuz stresinin 0-14 gün arasında GU'unda azalışa neden olurken H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulanmayan bitkilerde ise azalmaya neden olduğu saptanmıştır. Tatlıcak-97 genotipinin GU'undaki değişimlerin aynı ortam şartlarında Mikham-2002 genotipine göre daha az bir etkisi olduğu gözlemlenmiştir (Çizelge 4.5).

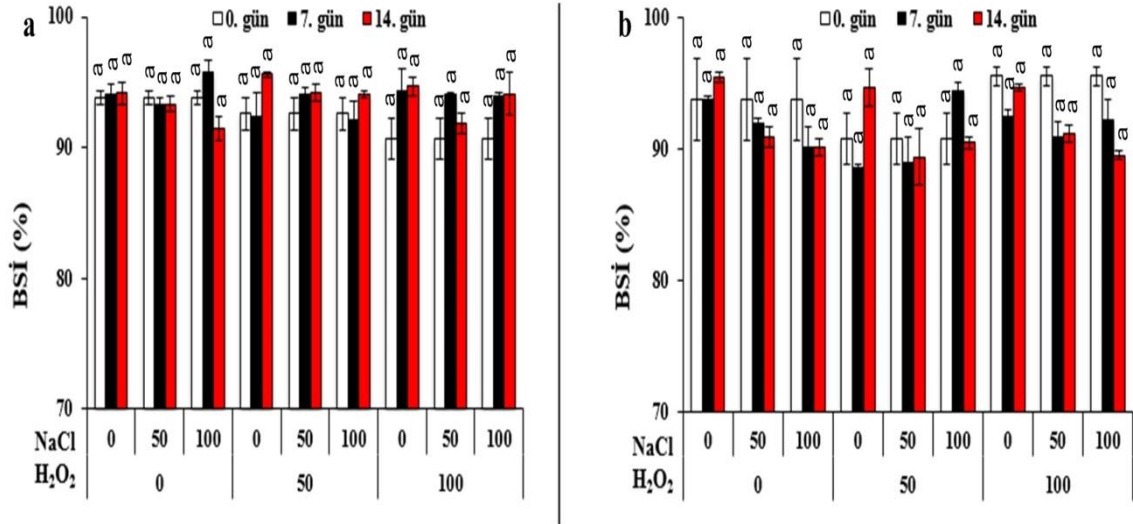
Tatlıcak-97 fidelerine yapılan 50 ve 100 mM NaCl uygulamasının ortalama gövde YA sırasıyla %11,7 ve %6,8 azaldığı belirlenmiştir. Mikham-2002 genotipinde ise gövde YA sırasıyla %10,5 ve %5,9 azaldığı saptanmıştır. 50 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin gövde YA'ında sırasıyla %9,2 artışa, %2,8 azalmaya neden olduğu; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %18,9 ve %9,5 azalmaya neden olduğu saptanmıştır. 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin gövde YA'ında sırasıyla %25,8 ve %33,4 azalmaya; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %1,8 ve %10,1 azalmaya neden olmuştur. Tohumlara yapılan 50 µM ve 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasının tuzlu ortam şartlarında kontrole göre gövde YA Tatlıcak-97 çeşidinde sırasıyla %4,0 ve %8,5 azaldığı, Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %0,6 ve %10,7 azaldığı saptanmıştır. Mikham-2002 tohumlarına yapılan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulaması tuz stresinin 0-14 gün arasında gövde YA'ında azalışa neden olurken H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulanmayan bitkilerde ise azalmaya neden olduğu saptanmıştır. Tatlıcak-97 genotipinin gövde YA'ındaki değişimlerin aynı ortam şartlarında Mikham-2002 genotipine göre daha fazla etkilendiği saptanmıştır (Çizelge 4.5).

Tatlıcak-97 fidelerine yapılan 50 ve 100 mM NaCl uygulamasının ortalama gövde KA sırasıyla %11,3 azaldığı ve %1,8 arttırdığı tespit edilmiştir. Mikham-2002 genotipinde ise gövde KA sırasıyla %10,0 ve %8,1 azaldığı saptanmıştır. 50 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin gövde KA'ında sırasıyla %20,8 ve %11,0

artışa neden olduğu; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %9,4 ve %7,8 azalmaya neden olduğu saptanmıştır. 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin gövde KA'ında sırasıyla %18,5 ve %35,6 azalmaya; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %3,2 ve %5,2 azalmaya neden olmuştur. Tohumlara yapılan 50 µM ve 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasının tuzlu ortam şartlarında kontrole göre gövde KA Tatlıcak-97 çeşidinde sırasıyla %19,0 ve %15,4 arttırdığı, Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %14,3 ve %21,7 arttırdığı saptanmıştır. Mikham-2002 tohumlarına yapılan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulaması tuz stresinin 0-14 gün arasında gövde KA'ında artışa neden olurken H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulanmayan bitkilerde ise azalmaya neden olduğu saptanmıştır. Tatlıcak-97 genotopinin gövde KA'ındaki değişimlerin aynı ortam şartlarında Mikham-2002 genotipine göre benzer bir şekilde olduğu gözlemlenmiştir (Çizelge 4.5).

#### **4.2.2 Yaprak bağıl su içeriği (BSİ)**

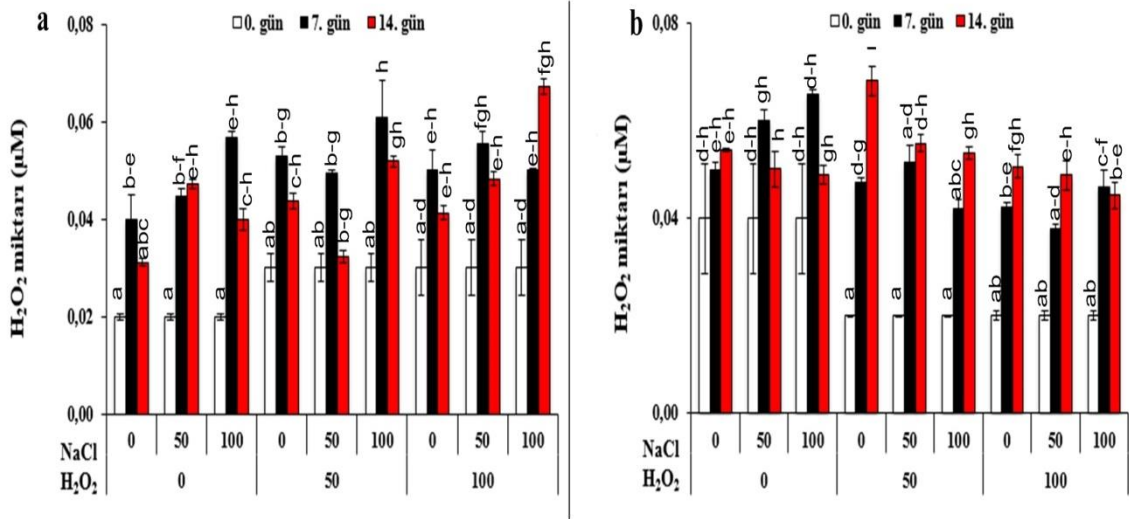
Tatlıcak-97 fidelerine yapılan 50 ve 100 mM NaCl uygulamasının ortalama BSİ sırasıyla %0,5 ve %0,3 azaldığı belirlenmiştir. Mikham-2002 genotipinde ise BSİ sırasıyla %2,2 ve %3,2 azaldığı saptanmıştır. 50 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin BSİ'inde sırasıyla %0,1 artışa, %0,7 azalmaya neden olduğu; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %1,8 azalmaya ve %0,6 artışa neden olduğu saptanmıştır. 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin BSİ'inde sırasıyla %1,1 ve %0,3 azalmaya; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %1,8 ve %1,9 azalmaya neden olmuştur. Tohumlara yapılan 50 µM ve 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasının tuzlu ortam şartlarında kontrole göre BSİ Tatlıcak-97 çeşidinde sırasıyla %0,4 ve %1 azaldığı, Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %1,8 ve %0,5 azaldığı saptanmıştır. Mikham-2002 tohumlarına yapılan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulaması tuz stresinin 0-14 gün arasında BSİ'inde azalmaya neden olurken H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulanmayan bitkilerde aynı durum olduğu saptanmıştır. Tatlıcak-97 genotopinin BSİ'indeki değişimlerin aynı ortam şartlarında Mikham-2002 genotipinde aynı durum olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.1).



**Şekil 4. 1.** Tatlıcak-97 (a) ve Mikham-2002 (b) tohumlarına yapılan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulaması sonrası NaCl stresi koşullarında 0., 7. ve 14. günlerdeki yaprak BSİ değerinde meydana gelen değişimler

#### 4.2.3. Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) miktarı

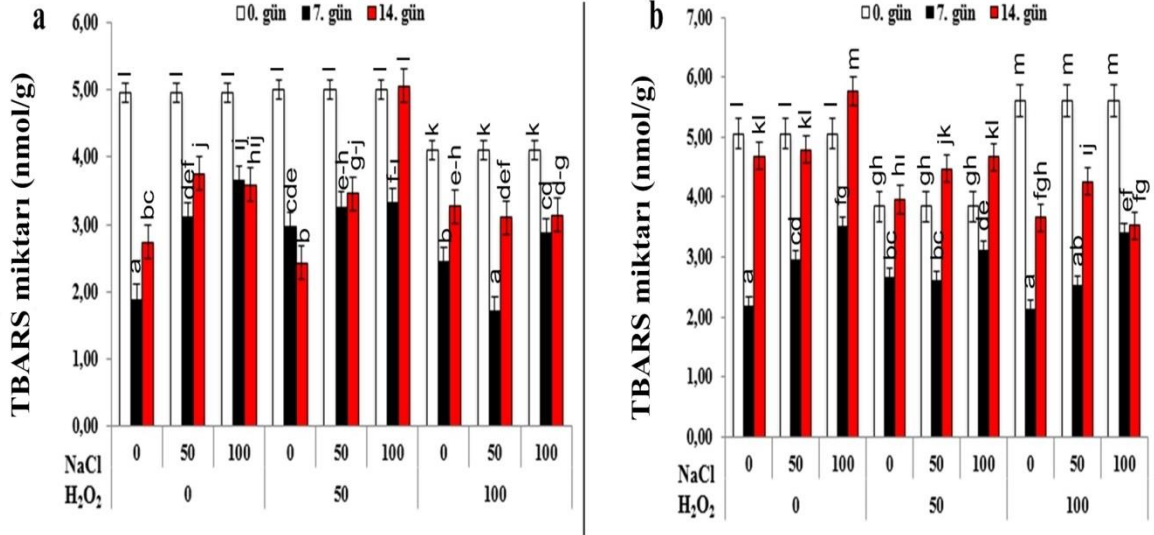
Tatlıcak-97 fidelerine yapılan 50 ve 100 mM NaCl uygulamasının ortalama H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarını sırasıyla %22,8 ve %28,1 arttırdığı belirlenmiştir. Mikham-2002 genotipinde ise H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarı sırasıyla %4,3 ve %7,3 azaldığı saptanmıştır. 50 μM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarında sırasıyla %11,6 azalmaya, %12,6 artışa neden olduğu; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %6,5 ve %14,8 azalmaya neden olduğu saptanmıştır. 100 μM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarında sırasıyla %10,2 ve %21,4 artışa; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %5,5 ve %1,6 azalmaya neden olmuştur. Tohumlara yapılan 50 μM ve 100 μM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasının tuzlu ortam şartlarında kontrole göre H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarını Tatlıcak-97 çeşidinde sırasıyla %19,1 ve %25,7 arttırdığı, Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %15,8 ve %26,3 azaldığı saptanmıştır. Mikham-2002 tohumlarına yapılan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulaması tuz stresinin 0-14 gün arasında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarında artışa neden olurken H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulanmayan bitkilerde ise azalmaya neden olduğu saptanmıştır. Tatlıcak-97 genotipinin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarındaki değişimlerin aynı ortam şartlarında Mikham-2002 genotipine göre zıt bir şekilde olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.2).



**Şekil 4. 2.** Tatlıcak-97 (a) ve Mikham-2002 (b) tohumlarına yapılan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulaması sonrası NaCl stresi koşullarında 0., 7. ve 14. günlerdeki yaprak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarında meydana gelen değişimler

#### 4.2.4. Lipit peroksidasyonu (TBARS) miktarı

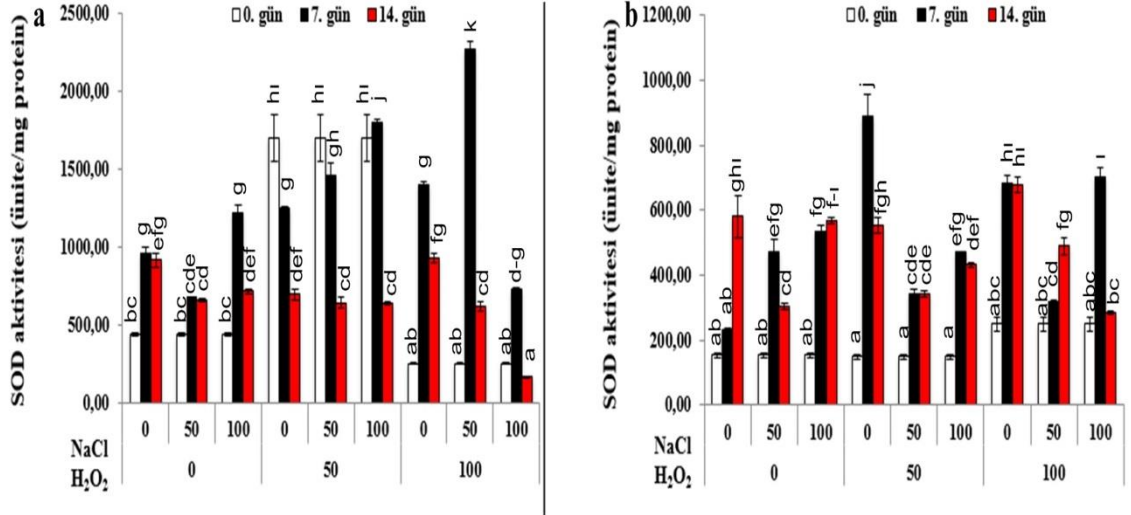
Tatlıcak-97 fidelerine yapılan 50 ve 100 mM NaCl uygulamasının ortalama TBARS miktarını sırasıyla %23,4 ve %27,5 arttırdığı belirlenmiştir. Mikham-2002 genotipinde ise TBARS miktarı sırasıyla %7,4 ve %20,2 arttığı saptanmıştır. 50 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin TBARS miktarında sırasıyla %12,9 ve %28,8 artışa neden olduğu; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %4,5 ve %11,1 artışa neden olduğu saptanmıştır. 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin TBARS miktarında sırasıyla %9,2 azalışa ve %3 artışa; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %8,7 ve %9,9 artışa neden olmuştur. Tohumlara yapılan 50 µM ve 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasının tuzlu ortam şartlarında kontrole göre TBARS miktarını Tatlıcak-97 çeşidinde sırasıyla %5,6 arttığı ve %14,2 azaldığı, Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %15,6 ve %7,1 azaldığı saptanmıştır. Mikham-2002 tohumlarına yapılan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulaması tuz stresinin 0-14 gün arasında TBARS miktarında azalışa neden olurken H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulanmayan bitkilerde ise artışa neden olduğu saptanmıştır (Şekil 4.3).



**Şekil 4. 3.** Tatlıcak-97 (a) ve Mikham-2002 (b) tohumlarına yapılan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulaması sonrası NaCl stresi koşullarında 0., 7. ve 14. günlerdeki yaprak TBARS miktarında meydana gelen değişimler

#### 4.2.5. SOD aktivitesi

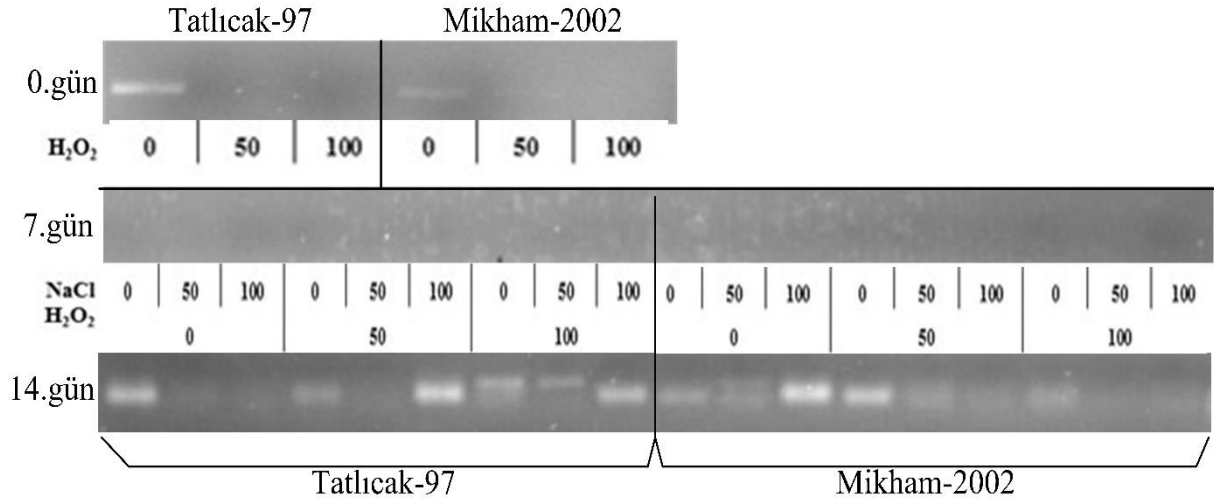
Tatlıcak-97 fidelerine yapılan 50 ve 100 mM NaCl uygulamasının ortalama SOD aktivitesi sırasıyla %23,1 azaldığı ve %2,8 arttırdığı belirlenmiştir. Mikham-2002 genotipinde ise SOD aktivitesi sırasıyla %3,9 azaldığı ve %29,8 arttığı saptanmıştır. 50 μM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin SOD aktivitesi'nde sırasıyla %4,2 ve %13,3 artışa neden olduğu; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %47,6 ve %34,0 azalmaya neden olduğu saptanmıştır. 100 μM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin SOD aktivitesi'nde sırasıyla %21,8 artışa, %55,6 azalışa; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %34,3 ve %23,1 azalmaya neden olmuştur. Tohumlara yapılan 50 μM ve 100 μM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasının tuzlu ortam şartlarında kontrole göre SOD aktivitesi'nde miktarını Tatlıcak-97 çeşidinde sırasıyla %79,3 ve %6,3 arttırdığı, Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %10,3 ve %23,8 arttırdığı saptanmıştır. Mikham-2002 tohumlarına yapılan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulaması tuz stresinin 0-14 gün arasında SOD aktivitesi'nde artışa neden olurken H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulanmayan bitkilerde ise azalmaya neden olduğu saptanmıştır. Tatlıcak-97 genotopinin SOD aktivitesindeki değişimlerin aynı ortam şartlarında Mikham-2002 genotipine göre daha fazla bir artışa neden olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.4).



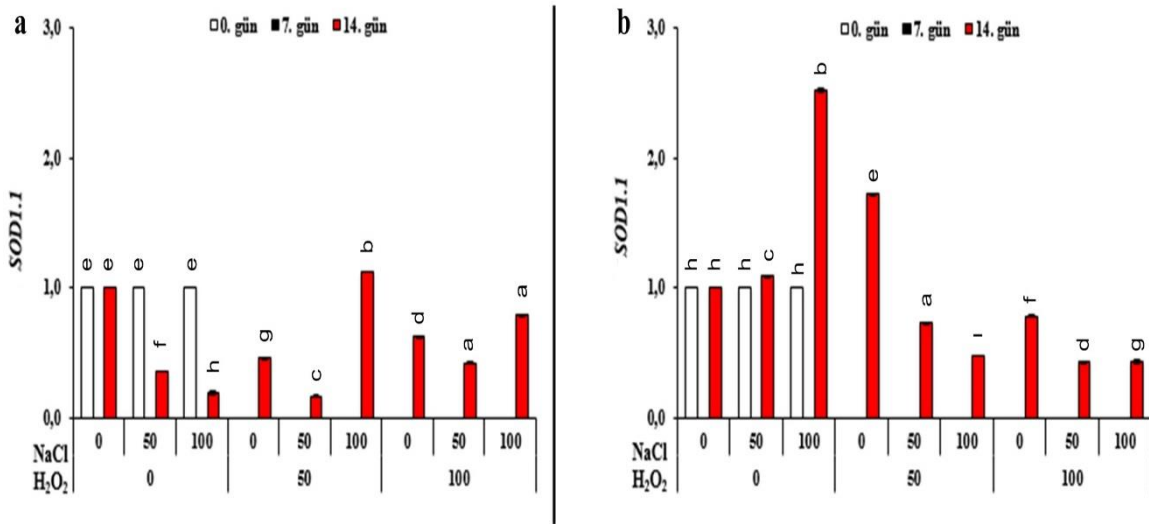
**Şekil 4.4.** Tatlıcak-97 (a) ve Mikham-2002 (b) tohumlarına yapılan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulaması sonrası NaCl stresi koşullarında 0., 7. ve 14. günlerdeki yaprak SOD aktivitesinde meydana gelen değişimler

#### 4.2.6. Gen ifadesinde meydana gelen değişimler

Tatlıcak-97 fidelerine yapılan 50 ve 100 mM NaCl uygulamasıyla ortalama *SOD1.1* gen ifadesinin sırasıyla %32,4 ve %40,6 azaldığı belirlenmiştir. Mikham-2002 genotipinde ise *SOD1.1* gen ifadesi sırasıyla %4,2 ve %75,7 arttığı saptanmıştır. 50 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulamasının Tatlıcak-97 fidelerinin *SOD1.1* gen ifade seviyesinde sırasıyla %64,6 ve %143,4; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %57,7 ve %72,4 azalmaya neden olduğu saptanmıştır. 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması yapılmış 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin *SOD1.1* gen ifadesi sırasıyla %32,4 azaldığı ve %27,6 arttığı; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %45,8 ve %45,1 azaldığı belirlenmiştir. Tohumlara yapılan 50 µM ve 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasının tuzlu ortam şartlarında kontrole göre *SOD1.1* gen ifadesi Tatlıcak-97 fidelerinde sırasıyla %61,7 ve %59,7 azaldığı, Mikham-2002 fidelerinde ise sırasıyla %61,6 ve %78,5 azaldığı saptanmıştır. Mikham-2002 tohumlarına yapılan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulaması tuz stresinin 0-14 gün arasında *SOD1.1* gen ifadesinde artışa neden olurken H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulanmayan bitkilerde ise azalmaya neden olduğu saptanmıştır. Tatlıcak-97 genotopinin *SOD1.1* gen ifadesinde meydana gelen değişimlerin aynı ortam şartlarında Mikham-2002 genotipine göre zıt bir şekilde olduğu saptanmıştır. Bu tez çalışmasında *SOD1.1* geninin tuz uygulamasından 7 gün sonra ifade olmadığı da saptanmıştır (Şekil 4.5, Şekil 4.6).



**Şekil 4. 5.** Tatlıcak-97 ve Mikham-2002 genotiplerinin *SOD1.1* genine ait UV ışık altındaki jel görüntüsü

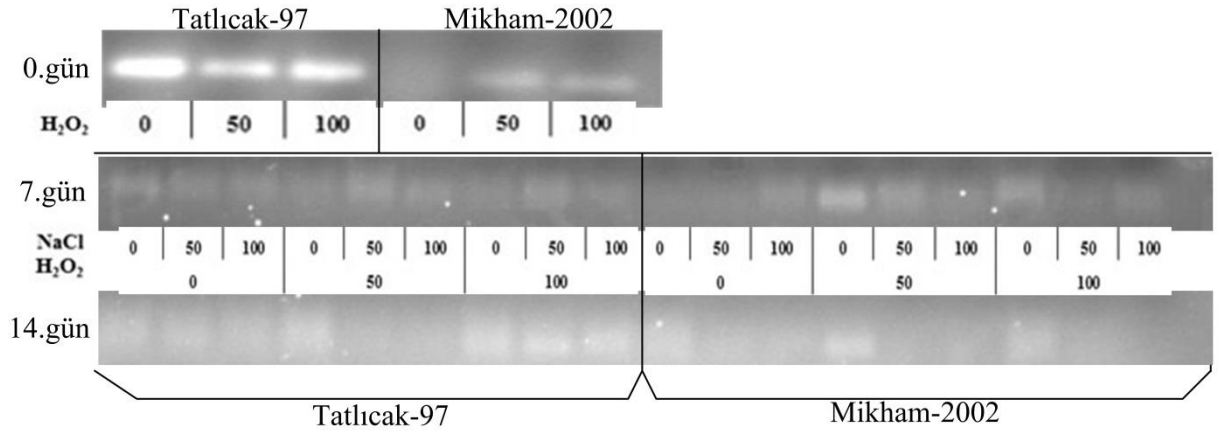


**Şekil 4. 6.** Tatlıcak-97 (a) ve Mikham-2002 (b) tohumlarına yapılan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulaması sonrası NaCl stresi koşullarında 0., 7. ve 14. günlerdeki *SOD1.1* geninin ifadesinde meydana gelen değişimler

Gen ifadesi değişimi için yapılan çalışmalar sonucunda *SOD1.2* ve *SOD2* genlerinin ifade düzeylerini belirlemek için primer (Çizelge 3.6) ve PCR işlemlerinin (Çizelge 3.7) gerçekleştirilmesine karşın ilgili genlerin ifade olmadığı saptanmıştır. Bunun sebebi olarak *SOD1.1* ve *SOD3* genlerinin aksine buğday bitkisine uygun seçilen primer dizilerinin *SOD1.2* ve *SOD2* genlerinin PCR'da çoğaltılması için uygun olmamasından kaynaklanmış olabilir.

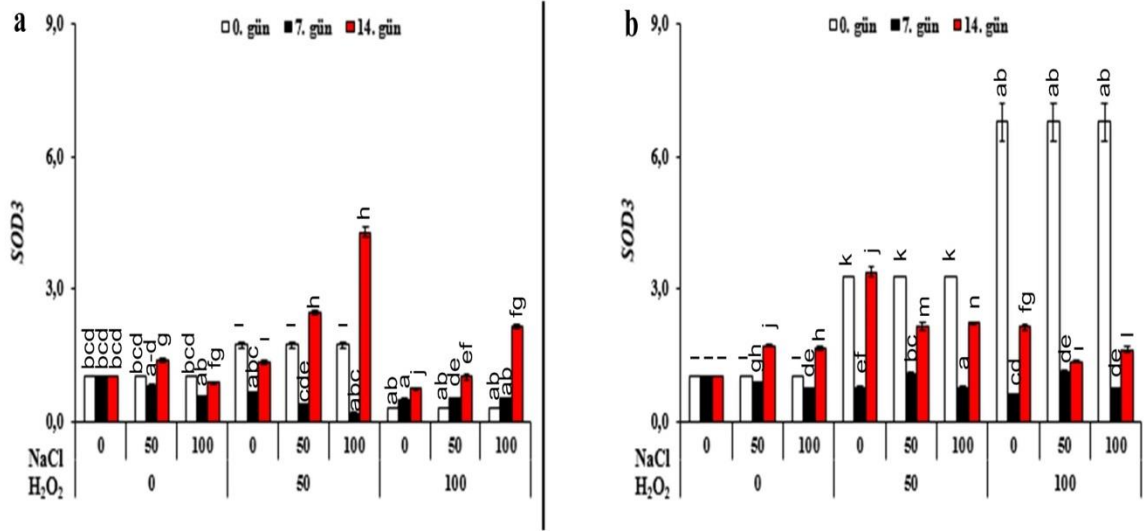
Tatlıcak-97 fidelerine yapılan 50 ve 100 mM NaCl uygulamasının ortalama *SOD3* gen ifadesinde sırasıyla %6,7 artışa ve %19,5 azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. Mikham-

2002 genotipinde ise *SOD3* gen ifadesi sırasıyla %19,7 ve %12,7 arttığı saptanmıştır. 50  $\mu\text{M}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin *SOD3* gen ifadesinde sırasıyla %24,1 ve %67,8 artışa neden olduğu; Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %12,4 ve %15,5 azalmaya neden olduğu saptanmıştır. 100  $\mu\text{M}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  ön uygulaması 50 ve 100 mM NaCl uygulanan Tatlıcak-97 fidelerinin *SOD3* gen ifadesinde sırasıyla %21,5 ve %95,6 artışa, Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %3,2 ve %4,0 azalmaya neden olmuştur. Tohumlara yapılan 50  $\mu\text{M}$  ve 100  $\mu\text{M}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  ön uygulamasının tuzlu ortam şartlarında kontrole göre *SOD3* gen ifadesi Tatlıcak-97 çeşidinde sırasıyla %68,0 arttığı ve %26,6 azaldığı, Mikham-2002 genotipinde ise sırasıyla %102,2 ve %179,4 arttığı saptanmıştır. Mikham-2002 tohumlarına yapılan  $\text{H}_2\text{O}_2$  uygulaması tuz stresinin 0-14 gün arasında *SOD3* gen ifadesinde artışa neden olurken  $\text{H}_2\text{O}_2$  uygulanmayan bitkilerde ise azalmaya neden olduğu saptanmıştır. Tatlıcak-97 genotipinin *SOD3* gen ifadesindeki değişimlerin aynı ortam şartlarında Mikham-2002 genotipine göre zıt bir şekilde olduğu saptanmıştır (Şekil 4.7, Şekil 4.8).



**Şekil 4. 7.** Tatlıcak-97 ve Mikham-2002 genotiplerinin *SOD3* genine ait UV ışık altındaki jel görüntüsü





**Şekil 4. 8.** Tatlıcak-97 (a) ve Mikham-2002 (b) tohumlarına yapılan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulaması sonrası NaCl stresi koşullarında 0., 7. ve 14. günlerdeki *SOD3* geninin ifadesinde meydana gelen değişimler

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Tohumların ekim öncesi kimyasal bileşiklerle muamele edilmesi transkripsiyon faktörlerinin üretilmesini teşvik etmekte ve iyileştirici fizyolojik yanıtların oluşmasına neden olmaktadır. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> gibi kimyasalların tuzluluk gibi stres koşulları öncesi bitkilere uygulanması bitki tolerans düzeyinde artışa neden olmaktadır. Antioksidan savunma sisteminin öncül enzimi olan SOD, içsel H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşumuna ve bitki tolerans düzeyinin artmasına katkı sağlayan önemli bir enzimdir.

Petri kabında her iki çeşit ile yürütülen çimlenme denemesinde, ortam NaCl konsantrasyonunun artması kök ve gövde uzunluğu, gövde yaş ve kuru ağırlığı hariç ortalama çimlenme süresinin, çimlenme oranı, kök sayısı, gövde uzunluğu, kök yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığı, gövde yaş ağırlığı ve kuru ağırlığı özellikleri üzerine önemli bir baskı yaratmadığı tespit edilmiştir. 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasının 100 mM NaCl ortamında her iki çeşidin de gövde uzunluğu, gövde yaş ve kuru ağırlığı üzerinde yarattığı baskılayıcı etkiyi ortadan kaldırdığı saptanmıştır. Tatlıcak-97 çeşidinin Mikham-2002 çeşidine göre H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasına daha iyi yanıt oluşturduğu saptanmıştır. Bu tez çalışmasında, 100 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasının çimlenme ve erken fide gelişme döneminde tuz stresinin baskılayıcı etkisini azaltabileceği sonucuna varılmıştır. Benzer şekilde, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (He ve ark. 2009, Lu ve ark. 2013), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ve KCl çözeltilerde (Özdemir 2012) bekletilen buğday tohumlarından gelişen bitkilerin kuraklık koşullarına toleranslarının daha iyi olduğu saptamışlardır. Ekmeklik buğday ve arpa tohumlarına GA3 ön uygulamalarının (Atar ve Kara 2014) çimlenmede iyileşmeye neden olduğunu belirlemişlerdir. Tohumların ekiminden önce H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile muamele edilmesinin tuz stresi altında istenilen çimlenme ve fide gelişimini sağlamada buğday (Wahid ve ark. 2007), pamuk (Santhy ve ark. 2014), mısır (Gondim ve ark. 2010) ve çeltik (Uchida ve ark. 2002) bitkilerinde etkili olduğu belirlenmiştir.

Erken gelişme döneminde yapılan tuz uygulamasının Tatlıcak-97 ve Mikham-2002 fidelerinin BSİ değerinin azalmasına neden olurken TBARS ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarında artışa neden olduğu saptanmıştır. Tuzun yaratmış olduğu oksidatif hasarın nedeni olarak, Mikham-2002 genotipinin aksine Tatlıcak-97 fidelerinin SOD aktivitesinde ve *SOD1.1* ve *SOD3* genlerinin ifadesinde meydana gelen baskılanmanın neden olduğu söylenebilir. Tuz uygulanmayan fidelerde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasının her iki genotipin BSİ değeri üzerine anlamlı bir etkisinin olmadığı, Tatlıcak-97 fidelerinin TBARS miktarındaki artışın kaynağı olarak SOD aktivitesi ve *SOD1.1* geninin ifadesindeki baskının neden olduğu söylenebilir. Mikham-2002 fidelerinin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulamasıyla TBARS miktarını kontrole göre düşük seviyede tuttuğu bunun nedeni

olarak SOD aktivitesinde ve *SOD1.1* ve *SOD3* genlerinin ifadesinde meydana gelen artış gösterilebilir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ön uygulaması yapılmış tuz stresine maruz bırakılan her iki genotipe ait fidelerinin BSİ değerinde anlamlı bir değişim meydana gelmezken, TBARS ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarında artış meydana gelmiş, *SOD1.1* genin ifadesinde artış olmasına karşın SOD aktivitesinde azalma olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde, buğday (Sairam ve ark. 2002, Sairam ve Srivastava 2002, Li ve ark. 2007, Li ve ark. 2010, Wahid ve ark. 2007, He ve ark. 2009, Liu ve ark. 2012, Lu ve ark. 2013), çeltik (Uchida ve ark. 2002) ve tritikale (Baykal 2006, Pouya 2015) fidelerine dışarıdan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulanmasının kuraklık ve tuzlu ortam şartlarında antioksidan savunma sistemini uyardığı birçok çalışmada bildirilmiştir. Chen ve ark. (2011), sitoplazmik Cu/ZnSOD ve MnSOD transkriptlerinin tuz stresi altında tuza toleranslı buğday çeşitte daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Bu tez çalışmasında ise Cu/ZnSOD izozimini kodlayan *SOD1.1* ile FeSOD izozimini kodlayan *SOD3* geninin tuza olan toleransta tritikale bitkisinde etkili olduğu ancak MnSOD izozimini kodlayan *SOD2* geninin ise ifade olmadığı belirlenmiştir. Kuraklığa toleransta Sheoran ve ark. (2015) buğdayda SOD enziminin artışında mitokondriyal MnSOD enzimini kodlayan *MnSOD* geninin etkili olduğunu rapor etmişlerdir. Wang ve ark. (2016), buğdayda Cu/ZnSOD geni tuza olan dayanıklılığı arttırdığını saptamışlardır.

Tritikale tohumlarına yapılan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulamasının SOD aktivitesini arttırdığı belirlenmiştir. Bununla birlikte, antioksidan savunma sisteminde yer alan diğer enzimlerinde yapılan bu uygulamaya nasıl etkilendiği yeni bir araştırma konusudur. Bu tez çalışmasından yola çıkarak, tuzluluk gibi diğer abiyotik stres koşullarına tritikale bitkisinin vermiş olduğu yanıtlar yeni çalışmalara kaynaklık edebilir. Ayrıca, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dışında diğer sinyal moleküllerini uygulanarak stres tolerans seviyesinin artırılması ile ilgili çalışmalar yapılabilir.

## 6. KAYNAKLAR

- Anonim (2016). Triticale. Elsoms Seeds Ltd, <http://www.elsoms.com/agricultural-seed/triticale> (erişim tarihi, 18.12.2016).
- Apel K, Hirt H, (2004). Reactive Oxygen Species: Metabolism, Oxidative Stress and Signal Transduction. Annual Rev. of Plant Biol. 55: 373-99.
- Atak M, Çiftçi CY (2005). Triticale (*xTriticosecale* Wittmack)'de Farklı Ekim Sıklıklarının Verim ve Bazı Verim Ögelerine Etkileri. Tarım Bilimleri Dergisi, 11: 98-103.
- Atar B, Kara B (2014). Buğday ve Arpada Farklı Toprak Nem Düzeylerinde Bazı Ekim Öncesi Tohum Uygulamalarının Etkinliği. Tarım Bilimleri Dergisi, 21: 93-99.
- Attia H, Karray N, Lachaa, M (2009). Light Interacts With Salt Stress in Regulating Superoxide Dismutase Gene Expression in *Arabidopsis*. Plant Sci, 177: 161–7.
- Ashfaq F, Iqbal M, Khan R, Khan NA (2014). Exogenously Applied H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Promotes Proline Accumulation, Water Relations, Photosynthetic Efficiency and Growth of Wheat (*Triticum aestivum* L.) Under Salt Stress, Annual Research & Review in Biology, 4(1): 105-120.
- Baek KH, Skinner DZ, (2003). Alteration of Antioxidant Enzyme Gene Expression During Cold Acclimation of Near-Isogenic Wheat Lines. Plant Science 165: 1221–1227.
- Baykal F (2006). Tuz Stresinin Triticale ve Bazı Secale Taksonlarında Süperoksit Dismutaz (SOD; EC 1.15.1.1) ve Peroksidaz (POD; EC 1.11.1.7) Aktiviteleri Üzerine Etkilerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.
- Beauchamp C, Fridovich I (1971). Superoxide Dismutase: Improved Assay and Applicable to Acrylamid Gels. Anal. Biochem., 44, 276-287.
- Beauchamp C, Fridovich I (1986). Biological Effects of the Superoxide Radical. Archives of Biochemistry and Biophysics. 247(1): 1–11.
- Bernt E, Bergmeyer HU (1974). Inorganic peroxides. In: Bergmeyer HU. (Ed.) Methods of Enzymatic Analysis. Academic Press, 2246–2248.
- Bradford MM (1976). A Rapid And Sensitive Method for The Quantition of Microgram Quantities of Protein Utilizing The Principle of Protein-Dye Binding. Anal. Biochem., 72: 248-254.
- Caverzan A, Cassassola A, Brammer S (2016). Antioxidant Responses of Wheat Plants Under Stress. Genetics and Molecular Biology. 39: 1-6.
- Chen L, Yin H, Xu J, Liu X (2011). Enhanced Antioxidative Responses of a Salt-Resistant Wheat Cultivar Facilitate its Adaptation to Salt Stress. African Journal of Biotechnology, 10(74): 16887-16896.

- Cingöz G, Verma S, Gurel E (2014). Hydrogen Peroxide-Induced Antioxidant Activities and Cardiotoxic Glycoside Accumulation in Callus Cultures of Endemic *Digitalis* Species. *Plant Physiology and Biochemistry*, 82: 89-94.
- Demirbaş S (2011). *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. Bitkisinde *Phelipanche ramosa* (L.) Pomel Parazitinin ve Tuz Stresinin Neden Olduğu Fizyolojik, Biyokimyasal ve Gen İfadesi Düzeyindeki Değişimlerin Araştırılması. Doktora Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.
- Demirbaş S, Balkan A, Üder F, Ahsenil GP (2015). Hidrojen Peroksit Ön Uygulamasının Tuz Stresi Koşullarında Tritikalenin Erken Gelişme Dönemindeki Etkisi. 1. Ulusal Bitki Fizyolojisi Sempozyumu, 1, 79, Atatürk Üniversitesi Erzurum.
- Dorotea L, Hendrik A, Giulietta S, José T, Roger NF (2003). Purification and Characterization of A New Cationic Peroxidase From Fresh Flowers of *Cynara scolymus* L. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 94(3): 243-254.
- Dölarıslan M, Gül E (2012). Toprak Bitki İlişkileri Açısından Tuzluluk. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 5(2): 56-59.
- Duğan S (2010). Tritikalenin Farklı Toprak Koşullarına Uyum Yeteneğinin Belirlenmesi ve Diğer Serin İklim Tahılları İle Verim Ve Kalite Yönünden Karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Foyer C, Lopez H, Dat J, Scott I (1997). Hydrogen Peroxide and Glutathione Associated Mechanisms of Acclimatory Stress Tolerance and Signalling, *Physiol. Plant.*, 100: 241-254.
- Galvani A (2007). The Challenge of The Food Sufficiency Through Salt Tolerant. *Crops. Rev. Environ. Sci. Biotechnol*, 6: 3-16.
- Giannopolities N, Ries SK (1977). Superoxide Dismutase Occurance in Higher Plants. *Plant Physiol.*, 59: 309-314.
- Gondim FA, Gomes-Filh E, Lacerda CF, Prisco JT, Neto ADA, Marques EC (2010). Pretreatment with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in Maize Seeds: Effects on Germination and Seedling Acclimation to Salt Stres, *Brazilian Society of Plant Physiology*, 22 (2): 103-112.
- Grant J, Loake G (2000). Role of Reactive Oxygen Intermediates and Cognate Redox Signaling in Disease Resistance, *Plant Physiol.*, 124: 21-29.
- Harinasut P, Poonsopa D, Roengmongkol K, Charoensataporn R (2003). Salinity Effects on Antioxidant Enzymes in Mulberry Cultivar. *Sci Asia*, 29: 109-13.
- He L, Gao Z, Li R (2009). Pretreatment of Seed with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Enhances Drought Tolerance of Wheat (*Triticum aestivum* L.) Seedlings. *African Journal of Biotechnology*, 8 (22): 6151-6157.
- Impa SM, Nadaradjan S, Jagadish SVK (2012). Abiotic Stress Responses in Plants: Metabolism, Productivity and Sustainability. Ahmad P. Prasad MNV ens.: 131-147.

- Kanbur H (2016). Benzoik Asidinin Soğuk Stresine Maruz Bırakılan Farklı Buğdaylar (*Triticum aestivum* L.) Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. Doktora Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Kaya G, Demir İ, Tekin A, Yaşsar F, Demir K (2010). Priming Uygulamasının Biber Tohumlarının Stres Sıcaklıklarında Çimlenme, Yağ Asitleri, Seker Kapsamı ve Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi. Tarım Bilimleri Dergisi, 16: 9-16.
- Kaydan D, Yağmur M (2008). Bazı Triticale (x *Triticosecale* Wittmack) Çeşitlerinde Farklı Ekim Sıklıklarının Tane Verimi ve Verim Öğeleri Üzerine Etkileri. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi 14(2): 175-182.
- Koç E, Üstün AS (2008). Patojenlere Karşı Bitkilerde Savunma ve Antioksidanlar. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 24(1-2): 82-100.
- Kukreja S, Nandval AS, Kumar N, Sharma SK, Unvi V (2005). Plant Water Status, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Scavenging Enzymes, Ethylene Evolution and Membrane Integrity of *Cicer arietinum* Roots as Affected by Salinity. Biol Plant, 49: 305-8.
- Kumar RR, Sharma SK, Goswami S, Singh K, Gadpayle KA (2013). Transcript Profiling and Biochemical Characterization of Mitochondrial Superoxide Dismutase (mtSOD) in Wheat (*Triticum aestivum*) Under Different Exogenous Stresses. Australian Journal of Crop Science, 7(3): 414-424.
- Leisinger U, Rüfenacht K, Fischer B, Pesaro M, Spengler A, Zehnder A (2001). The Glutathione Peroxidase Homologous Gene From *Chlamydomonas Reinhardtii* Is Transcriptionally Up-Regulated by Singlet Oxygen. Plant Mol Biol, 46: 395-408.
- Li J, Qui Z, Zhang X, Whang L (2011). Exogenous Hydrogen Peroxide Can Enhance Tolerance of Wheat Seedlings to Salt Stress. Acta Physiol Plant, 33: 835-842.
- Li CH, Wang TZ, Li Y, Zheng YH, Jiang GM (2013). Flixweed Is More Competitive than Winter Wheat under Ozone Pollution: Evidences from Membrane Lipid Peroxidation, Antioxidant Enzymes and Biomass. Plos One 8(3): 60-109.
- Liu Y, Wan Q, Wu R, Wang X, Wang H, Wang Z, Shi C, Bi Y (2012). Role Of Hydrogen Peroxide in Regulating Glucose-6-phosphate Dehydrogenase Activity Under Salt Stress, Biol.Plant, 56: 313-320.
- Lu J, Li XN, Yang YL, Jia LY, You J, Wang WR (2013). Effect of Hydrogen Peroxide on Seedling Growth and Antioxidants in Two Wheat Cultivars, Biologia Plantarum, 57 (3): 487-494.
- Madhava Rao KV, Stresty TVS (2000). Antioksidative Parameters in The Seedlings of Pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millspaugh) in Response to Zn and Ni Stresses. Plant science, 157: 113-128.
- Mahajan S, Tuteja N (2005). Cold, Salinity and Drought Stresses: An Overview. Archives of Biochemistry and Biophysics, 444: 139-158.

- Matsumura T, Tabayashi N, Kamagata Y, Souma C, Saruyama H (2002). Wheat Catalase Expressed in Transgenic Rice Can Improve Tolerance Against Low Temperature Stress. *Physiol Plant*, 116(3): 317-37.
- Motzo R, Pruneddu G, Viridis A, Giunta F (2015). Triticale vs Durum Wheat: A Performance Comparison in a Mediterranean Environment. *Field Crops Research*, 180: 63–71.
- Özdemir E, (2012). Ekmeklik Buğday (*Triticum aestivum* L.)’ da Priming Uygulamalarının Fizyolojik Parametreler Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Özen ÇH, Onay A (2013). Bitki Fizyolojisi. Nobel Yayınları. 2. Basım.Yayın No:553, 17: 275-293.
- Özkaynak E, Yüksel P, Yüksel H, Orhan Y (2015). Karpuzda (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai) organik priming uygulamaları. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 30(2):149-155.
- Passardi F, Cosio C, Penel C, Dunand C (2005). Peroxidases Have More Functions Than a Swiss Army Knife. *Plant Cell Report*, 24(5): 255-265.
- Pouya AK (2015). Changes in Activities of Antioxidant Enzymes and Photosynthetic Attributes in Triticale (*Triticosecale* Wittmack) Genotypes in Response to Long-Term Salt Stress at Two Distinct Growth Stages. *Acta Physiol Plant*, 37:72.
- Rizhsky L, Davletova S, Liang H, Mittler R (2004) The Zinc-Finger Protein Zat12 is Required for Cytosolic Ascorbate Peroxidase 1 Expression During Oxidative Stress in Arabidopsis. *The Journal of Biological Chemistry*, 279: 11736–11743.
- Sairam RK, Srivastava GC (2002). Changes In Antioxidant Activity In Sub-Cellular Fractions of Tolerant and Susceptible Wheat Genotypes In Response to Long Term Salt Stress. *Plant Science* 162: 897-904.
- Sairam RK, Rao KV, Srivastava GC (2002). Differential Response of Wheat Genotypes to Long Term Salinity Stress in Relation to Oxidative Stress, Antioxidant Activity and Osmolyte Concentration. *Plant Science*, 163: 1037-1046.
- Santhy V, Meshram M, Wakde R, Vijaya Kumari PR (2014). Hydrogen Peroxide Pre-Treatment for Seed Enhancement in Cotton (*Gossypium hirsutum* L.), *African Journal of Agricultural Research*, 9 (25): 1982-1989.
- Sharma P, Jha AB, Dubey RS, Pessarakli M (2012). Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants Under Stressful Conditions. *Journal of Botany*.
- Sheoran S, Thakur V, Narwal S, Turan R, Mamrutha HM, Singh V, Tiwari V, Sharma I (2015). Differential Activity and Expression Profile of Antioxidant Enzymes and Physiological Changes in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Under Drought. *Appl Biochem Biotechnol*, 177: 1282–1298.

- Slesak I, Libik M, Karpinska B, Karpinski S, Miszalski Z (2007). The role of hydrogen peroxide in regulation of plant metabolism and cellular signalling in response to environmental stresses. *Acta Biochimica Polonica.*, 54(1): 39–50.
- Smart RE, Bingham GE, 1974. Rapid Estimates of Relative Water Content. *Plant Physiol.*, 53(2): 258–260.
- Smirnoff N (2005). Ascorbate, Tocopherol and Carotenoids: Metabolism, Pathway Engineering and Functions. Oxford: Blackwell Publishing Ltd, 7: 184-212.
- Soydam AS, Büyük İ, Aras S (2013). Relationships Among Lipid Peroxidation, Enzyme Activity and Gene Expression Profiles of Superoxide Dismutase (SOD) In *Lycopersicum esculentum* L. Exposed To Cold Stress. *Genetics and Molecular Research*, 12(3): 3220-3229.
- Türkan İ (2008). Bitki Fizyolojisi; Stres Fizyolojisi. Palme Yayıncılık, 591-621.
- Wahid A, Perveena M, Gelania S, Basrab S (2007). Pretreatment of Seed with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Improves Salt Tolerance of Wheat Seedling by Alleviation of Oxidative Damage and Expression of Stres Proteins. *J. Plant Physiol*, 164: 283-294.
- Wang Y, Ying Y, Chen J, Wang X (2004). Transgenic *Arabidopsis* Overexpressing Mn-SOD Enhanced Salt Tolerance. *Plant Science*, 167: 671-677.
- Wang M, Zhao X, Xiao Z, Yin X, Xing T (2016). A Wheat Superoxide Dismutase Gene *TaSOD2* Enhances Salt Resistance Through Modulating Redox Homeostasis By Promoting NADPH Oxidase Activity. *Plant Mol Biol*, 91: 115–130.
- Wu G, Wilen RW, Robertson AJ, Gusta LV (1999). Isolation, Chromosomal Localization, and Differential Expression of Mitochondrial Manganese Superoxide Dismutase and Chloroplastic Copper/Zinc Superoxide Dismutase Genes in Wheat. *Plant Physiology*, 120: 513–520.
- Yaşar F, Ellialtıoğlu Ş, Özpay T, Uzal Ö (2008). Tuz Stresinin Karpuzda (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Mansf.) Antioksidatif Enzim (SOD, CAT, APX ve GR) Aktivitesi Üzerine Etkisi. *Yüzüncü yıl üniversitesi, Ziraat fakültesi, Tarım bilimleri dergisi*, 18 (1): 61-65.
- Yıldız M, Terzi H, Akçalı N (2014). Tuz Stresi Altındaki Bitkilerin Metabolik Yollarındaki Proteom Değişimleri. *BEÜ Fen Bilimleri Dergisi*, 3(1): 81-93.
- Yılmaz E, Tuna AL, Bürün B (2011). Bitkilerin Tuz Stresi Etkilerine Karşı Geliştirdikleri Tolerans Stratejileri. *C.B.Ü. Fen Bilimleri Dergisi*, 7 (1): 47–66.
- Zhang H, Guo C, Li C, Xiao K (2008). Cloning, Characterization and Expression Analysis of Two Superoxide Dismutase (SOD) Genes in Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Front. Agric. China*, 2(2): 141–149.



## ÖZGEÇMİŞ

Edirne'nin Keşan ilçesinde 15.08.1991 yılında ailenin 2. çocuğu olarak doğan Sezer KÜÇÜKKARAKAŞ, ilk ve ortaöğretimini burada tamamlamıştır. 2009 yılında Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma bölümünde başlayan KÜÇÜKKARAKAŞ, 2013 yılında mezun olmuştur. 2014 yılında Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı. İş deneyimi olarak Türkiye İstatistik Kurumu ve çeşitli özel kuruluşlarda çalışmıştır. Yurt dışı deneyimide bulunan KÜÇÜKKARAKAŞ, European School of English- (12/08/2012-12/10/2012) Malta'da İngilizce eğitimi almıştır. 2010 yılında Türk Mühendis ve Mimar Odaları Birliği, Ziraat Mühendisleri Odasına üye olmuştur ve üyeliğine hale devam etmektedir.