

**STRİGOLAKTONUN TUZ STRESİNE
TOLERANSLI VE DUYARLI BUĞDAY
ÇEŞİTLERİNDE ASKORBAT-GLUTATYON
DÖNGÜSÜ ENZİM SİSTEMİNE ETKİSİ**

Ezgi ÖNAY

**Yüksek Lisans Tezi
Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı
Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Sefer DEMİRBAŞ
2019**

T.C.
TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

STRİGOLAKTONUN TUZ STRESİNE TOLERANSLI VE DUYARLI
BUĞDAY ÇEŞİTLERİNDE ASKORBAT-GLUTATYON DÖNGÜSÜ
ENZİM SİSTEMİNE ETKİSİ

Ezgi ÖNAY

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: Dr. Öğr. Üyesi Sefer DEMİRBAŞ

TEKİRDAĞ-2019

Her hakkı saklıdır.

Dr. Öğr. Üyesi Sefer DEMİRBAŞ danışmanlığında, Ezgi ÖNAY tarafından hazırlanan “Strigolaktonun Tuz Stresine Toleranslı ve Duyarlı Buğday Çeşitlerinde Askorbat-Glutatyon Döngüsü Enzim Sistemine Etkisi” isimli bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği/çokluğu ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Doç. Dr. Nurşen ÇÖRDÜK

İmza:

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Alpay BALKAN

İmza:

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Sefer DEMİRBAŞ

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Doç. Dr. Bahar UYMAZ

Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

STRİGOLAKTONUN TUZ STRESİNE TOLERANSLI VE DUYARLI BUĞDAY ÇEŞİTLERİNDE ASKORBAT-GLUTATYON DÖNGÜSÜ ENZİM SİSTEMİNE ETKİSİ

Ezgi ÖNAY

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Sefer DEMİRBAŞ

Tuz stresi, bitkilerin normal metabolik faaliyetleri sonucu oluşan reaktif oksijen türlerinin seviyesini arttırarak hasar meydana getiren, özellikle kültür bitkilerinin verim ve ürün kalitesini sınırlayan çevresel faktörlerden biridir. Strigolaktonların (SL) bitkiler tarafından üretilen sinyal bileşikleri olduğu gibi stres koşulları altında bitkilerin tolerans sistemini uyarabilme potansiyeli olmasından dolayı dışarıdan yapılan uygulamalarla bitki gelişimini olumlu yönde etkilediği bilinmektedir. Bu tez çalışmasında, tuza toleranslı (Tosunbey) ve duyarlı (Sultan-95) buğday çeşitlerinin tohumlarına ekim öncesi yapılan GR24 uygulamasının farklı tuz stresi (0, 200 ve 300 mM NaCl) koşullarında askorbat glutatyon döngüsü enzimlerine (SOD, APX ve GR) ve ilgili genlerin (*FeSOD*, *MnSOD*, *CuZnSOD*, *t-APX*, *cAPXI*, *cAPXII*, *cGR* ve *chlGR*) ifade düzeylerine olan etkisi incelenmiştir. Yapılan çalışmada, GR24 ön uygulaması yapılan Sultan-95 çeşidinin 7. ve 14. gününde gövde uzunluğu, gövde yaş ağırlığı ve gövde kuru ağırlığında azalma; kök uzunluğu, kök yaş ağırlığı ve kök kuru ağırlığında artma meydana geldiği gözlenmiştir. Tosunbey çeşidinde ise 7. günde gövde uzunluğu ve gövde yaş ağırlığında azalma; kök uzunluğu, kök yaş ağırlığı, gövde kuru ağırlığı ve kök kuru ağırlığında artma olduğu gözlenmiştir. Tosunbey çeşidinin 14. gününde ise gövde uzunluğu, kök uzunluğu ve gövde yaş ağırlığında azalma; kök yaş ağırlığı, gövde kuru ağırlığı ve kök kuru ağırlığında artma olduğu belirlenmiştir. Biyokimyasal parametrelerde Sultan-95 çeşidinin 7. gününde toplam protein miktarı ve SOD aktivitesinde azalma; APX ve GR aktivitelerinde artma gözlenmiştir. 14. günde ise SOD ve APX aktivitelerinde azalma; toplam protein miktarında ve GR aktivitesinde artma meydana geldiği gözlenmiştir. Tosunbey çeşidinde ise 7. günde toplam protein miktarında azalma; SOD, APX ve GR aktivitelerinde artış olduğu gözlenmiştir. 14. günde ise toplam protein miktarında ve

SOD aktivitesinde azalma; APX ve GR aktivitelerinde ise artış olduğu gözlenmiştir. Gen ifadelerine bakıldığında Sultan-95 çeşidinde *MnSOD*, *FeSOD*, *CuZnSOD*, *cAPXI*, *cAPXII*, *tAPX*, *cGR* ve *chlGR* gen ifadelerinin verdiği yanıtta azalma meydana geldiği gözlenmiştir. Tosunbey çeşidinde ise *FeSOD*, *cAPXI*, *tAPX* ve *cGR* gen ifadelerinde azalma, *cAPXII*, *chlGR*, *MnSOD* ve *CuZnSOD* gen ifadelerinde artış olduğu gözlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, GR24 ön uygulamasının askorbat glutatyon döngüsü enzim sistemini uyararak buğdayda tuza karşı toleransta teşvik edici bir rolünün olduğu söylenebilir.

Anahtar kelimeler: Strigolakton, tuzluluk, antioksidan savunma sistemi, gen ifadesi, GR24

2019, 79 sayfa

ABSTRACT

MSc. Thesis

EFFECT OF STRIGOLACTONE ON ENZYME SYSTEM OF ASCORBATE- GLUTATHIONE CYCLE IN SALT STRESS TOLERANT AND SENSITIVE WHEAT VARIETIES

Ezgi ÖNAY

Tekirdağ Namık Kemal University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Agricultural Biotechnology

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Sefer DEMİRBAŞ

As a result of normal metabolic activities of plants under salt stress damages by increasing the level of reactive oxygen species and it's especially the yield of cultivated plants and the environmental factors that limit the equality of the product. Strigolactones (SL) are known to affect plant growth positively by external applications due to the potential of adapting plants to the tolerance system under stress conditions as well as signal compounds produced by plants. In this thesis, the effect of GR24 application on the seeds of salt-tolerant (Tosunbey) and sensitive (Sultan-95) wheat varieties on the effects of ascorbate-glutathione cycle enzymes (SOD, APX, GR) and the expression levels of the genes (*FeSOD*, *MnSOD*, *CuZnSOD*, *t-APX*, *cAPXI*, *cAPXII*, *cGR* ve *chlGR*) in different salt stress conditions (0, 200 and 300 mM NaCl) were investigated. In the study, the shoot length, shoot fresh weight and shoot dry weight decreased on the 7th and 14th days of the Sultan-95 varieties in the morphological parameters made in the pre-treated GR24; root length, root fresh weight and root dry weight increase was observed. In Tosunbey variety, the shoot length and shoot fresh weight decrease on day 7; root length, root fresh weight, shoot dry weight and root dry weight were observed to increase. On the 14th day of Tosunbey variety, shoot length, root length and shoot weight decrease; root fresh weight, shoot dry weight and root dry weight was determined to increase. In the biochemical parameters, the total protein amount and SOD activity decreased on the 7th day of the Sultan-95 variety; APX and GR activities were increased. On day 14, reduction in SOD and APX activities; it was observed that total protein content and GR activity increased. In Tosunbey variety, the total amount of protein decreased

on the 7th day; SOD, APX and GR activities were observed to increase. On day 14, total protein content and SOD activity decreased; APX and GR activities increased. When the gene expressions were examined, it was observed that the response of *MnSOD*, *FeSOD*, *CuZnSOD*, *cAPXI*, *cAPXII*, *tAPX*, *cGR* and *chlGR* gene expressions decreased in Sultan-95 variety. In Tosunbey variety, there was a decrease in the expression of *FeSOD*, *cAPXI*, *tAPX* and *cGR* genes, and the increase in *cAPXII*, *chlGR*, *MnSOD* and *CuZnSOD* gene expression. According to the results, it can be said that GR24 pre-treatment has an encouraging role in tolerance against salt in wheat by stimulating the ascorbate-glutathione cycle enzyme system.

Keywords: Strigolactone, salinity, antioxidant defence system, gene expression, GR24

2019, 79 pages

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
İÇİNDEKİLER	v
ÇİZELGE DİZİNİ	vii
ŞEKİL DİZİNİ	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR	x
ÖNSÖZ	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
1. GİRİŞ	1
1.1. Buğday.....	1
1.2. Tuz Stresi.....	2
1.3. Antioksidan Savunma Sistemi.....	3
1.4. Priming Uygulaması	5
1.5. Strigolaktonlar (SL).....	7
1.5.1. Strigolakton biyosentezi	8
1.5.2. Strigolaktonların taşınımı	9
1.5.3. Strigolaktonların algılanması.....	9
1.5.4. Strigolakton sinyal yolağı.....	10
1.5.5. Strigolaktonların bitki gelişimindeki rolleri	10
1.5.6. Strigolaktonların diğer bitki büyüme düzenleyicileriyle etkileşimi	11
1.5.6.1. Strigolakton ve absisik asit	12
1.5.6.2. Strigolakton ve oksin	13
1.5.6.3. Strigolakton ve etilen.....	13
1.5.6.4. Stigolakton ve sitokinin	14
1.5.3.5. Strigolakton ve giberellinler	14
2. KAYNAK ÖZETLERİ	16
3. MATERYAL ve YÖNTEM	23
3.1. Bitkisel Materyal	23
3.2. Bitkilerin Yetiştirilmesi	23
3.2.1. Yüzey sterilizasyonu.....	23
3.2.2. GR24 ön uygulama.....	23
3.2.3. Petri kabı denemesi.....	24
3.2.4. Saksı denemesi	24
3.3. Bitki Analiz Yöntemleri	25

3.3.1. Toplam protein miktarının belirlenmesi	25
3.3.3. Askorbat peroksidaz (APX, E.C. 1.11.1.11) aktivitesinin belirlenmesi.....	26
3.3.4. Glutasyon redüktaz (GR, E.C. 1,6.4.2) aktivitesinin belirlenmesi.....	27
3.3.5. Antioksidan enzimleri kodlayan genlerin ifadelerinin belirlenmesi.....	27
3.3.6. RNA izolasyonu	27
3.3.7. Reverse transkripsiyon (RT) PCR	29
3.3.8. Genlerin PCR’da çoğaltılması	29
3.3.9. Bağlı gen ifade düzeyinin belirlenmesi	30
3.4. İstatistiksel Analiz	31
4. BULGULAR	32
4.1. Petri Denemesine Ait Morfolojik Parametreler.....	32
4.1.1. Çimlenme süresinde meydana gelen değişimler	32
4.1.2. Çimlenme oranında meydana gelen değişimler.....	33
4.1.3. Kök sayısında meydana gelen değişimler	33
4.1.4. Gövde uzunluğunda meydana gelen değişimler	34
4.1.5. Kök uzunluğunda meydana gelen değişimler.....	35
4.1.6. Gövde yaş ağırlığında meydana gelen değişimler.....	36
4.1.7. Kök yaş ağırlığında meydana gelen değişimler.....	36
4.1.8. Gövde kuru ağırlığında meydana gelen değişimler.....	37
4.1.9. Kök kuru ağırlığında meydana gelen değişimler.....	38
4.2. Saksı Denemesine Ait Morfolojik Değişimler	38
4.2.1. Gövde uzunluğunda meydana gelen değişimler.....	38
4.2.2. Kök Uzunluğunda meydana gelen değişimler.....	40
4.2.3. Gövde yaş ağırlığında meydana gelen değişimler.....	41
4.2.4. Kök yaş ağırlığında meydana gelen değişimler.....	42
4.2.5. Gövde kuru ağırlığında meydana gelen değişimler.....	44
4.2.6. Kök kuru ağırlığında meydana gelen değişimler.....	46
4.3. Saksı Denemesine ait Biyokimyasal Parametrelerde Meydana Gelen Değişimler	47
4.3.1. Toplam protein miktarında meydana gelen değişimler	47
4.3.2. SOD aktivitesinde meydana gelen değişimler.....	48
4.3.3. APX aktivitesinde meydana gelen değişimler.....	50
4.3.4. GR aktivitesinde meydana gelen değişimler	51
4. 5. Gen İfadesinde Meydana Gelen Değişimler.....	52
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	58
6. KAYNAKLAR.....	59
ÖZGEÇMİŞ	67

ÇİZELGE DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 3. 1. RT-PCR aşamasında kullanılan sıcaklık ve döngü sayıları	29
Çizelge 3. 2. PCR’da kullanılan karışımlar	29
Çizelge 3. 3. Çalışmada kullanılan genlere ait primer dizileri ve PCR uygulamaları.....	30
Çizelge 3. 4. PCR’da genlerin çoğaltılması	30
Çizelge 4. 1. Petri denemesinde çimlenme süresine ait değişimler (gün).....	32
Çizelge 4. 2. Petri denemesinde çimlenme oranına ait değişimler (%).....	33
Çizelge 4. 3. Petri denemesinde kök sayısında meydana gelen değişimler (adet)	34
Çizelge 4. 4. Petri denemesinde gövde uzunluğunda meydana gelen değişimler (cm)	35
Çizelge 4. 5. Petri denemesinde kök uzunluğunda meydana gelen değişimler (cm)	35
Çizelge 4. 6. Petri denemesinde gövde yaş ağırlığında meydana gelen değişimler (mg)	36
Çizelge 4. 7. Petri denemesinde kök yaş ağırlığı meydana gelen değişimler (mg).....	37
Çizelge 4. 8. Petri denemesinde gövde kuru ağırlığında meydana gelen değişimler (mg)	37
Çizelge 4. 9. Petri denemesinde kök kuru ağırlığında meydana gelen değişimler (mg).....	38
Çizelge 4. 10. Sultan-95 ve Tosunbey buğday çeşitlerinin NaCl uygulaması sonrası 7. (a) ve 14. (b) günlerdeki gövde uzunluklarında meydana gelen değişimler (cm).....	39
Çizelge 4. 11. Sultan-95 ve Tosunbey buğday çeşitlerinin NaCl uygulaması sonrası 7. (a) ve 14. (b) günlerdeki kök uzunluklarında meydana gelen değişimler	41
Çizelge 4. 12. Sultan-95 ve Tosunbey buğday çeşitlerinin NaCl uygulaması sonrası 7. (a) ve 14. (b) günlerdeki gövde yaş ağırlıklarında meydana gelen değişimler	42
Çizelge 4. 13. Sultan-95 ve Tosunbey buğday çeşitlerinin NaCl uygulaması sonrası 7. (a) ve 14. (b) günlerdeki kök yaş ağırlıklarında meydana gelen değişimler	44
Çizelge 4. 14. Sultan-95 ve Tosunbey buğday çeşitlerinin NaCl uygulaması sonrası 7. (a) ve 14. (b) günlerdeki gövde kuru ağırlıklarında meydana gelen değişimlerHata! Yer işareti tanımlanmamış.	
Çizelge 4. 15. Sultan-95 ve Tosunbey buğday çeşitlerinin NaCl uygulaması sonrası 7. (a) ve 14. (b) günlerdeki kök kuru ağırlıklarında meydana gelen değişimler	47

ŞEKİL DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1. 1. Askorbat-Glutatyon döngüsü	4
Şekil 1. 2. Kuru tohumların çimlenme aşamaları	6
Şekil 1. 3. Strigolün kimyasal yapısı (a) ve SL'ların keşfi ve biyolojik işlevlerinin zamansal gösterimi.....	8
Şekil 1. 4. Strigolaktonların biyosentez yolağı	9
Şekil 1. 5. Strigolakton algılanması	10
Şekil 1. 6. Strigolaktonların UPS aracılığıyla protein bozulması.....	10
Şekil 1. 7. Bitki gelişimine SL etkisi.....	11
Şekil 1. 8. SL eksik mutant bitkilerde kök ve sürgün gelişimi.....	11
Şekil 1. 9. Gövde gelişiminde SL ve diğer bitki büyüme düzenleyicileri arasındaki etkileşim	12
Şekil 1. 10. Oksin taşınımında SL'nin işlevi.....	13
Şekil 1. 11. Strigolaktonların bitki gelişiminde diğer büyüme düzenleyicilerle etkileşimi	14
Şekil 3. 1. Saksıya tohum ekim basamakları ve Sultan-95 ve Tosunbey çeşidinin 14. günde KE, SE ve GRE elde edilen görüntüler	25
Şekil 3. 2. Protein standart grafiği	26
Şekil 3. 3. RNA izolasyon prosedürü	28
Şekil 3. 4. RNA izolasyonu ve RNA ölçüm aşamaları	28
Şekil 4. 1. Sultan-95 ve Tosunbey buğday çeşitlerinin NaCl uygulaması sonrası 7. (a) ve 14. (b) günlerdeki toplam protein miktarında meydana gelen değişimler	48
Şekil 4. 2. Sultan-95 ve Tosunbey buğday çeşitlerinin NaCl uygulaması sonrası 7. (a) ve 14. (b) günlerdeki SOD aktivitesinde meydana gelen değişimler.....	49
Şekil 4. 3. Sultan-95 ve Tosunbey buğday çeşitlerinin NaCl uygulaması sonrası 7. (a) ve 14. (b) günlerdeki APX aktivitesinde meydana gelen değişimler.....	51
Şekil 4. 4. Sultan-95 ve Tosunbey buğday çeşitlerinin NaCl uygulaması sonrası 7. (a) ve 14. (b) günlerdeki GR aktivitesinde meydana gelen değişimler	52
Şekil 4. 5. Sultan-95 ve Tosunbey buğday çeşitlerinin <i>MnSOD</i> gen ifadesinde meydana gelen değişimler	53

Şekil 4. 6. Sultan-95 ve Tosunbey buğday çeşitlerinin <i>FeSOD</i> gen ifadesinde meydana gelen değişimler.....	53
Şekil 4. 7. Sultan-95 ve Tosunbey buğday çeşitlerinin <i>CuZnSOD</i> gen ifadesinde meydana gelen değişimler	54
Şekil 4. 8. Sultan-95 ve Tosunbey buğday çeşitlerinin <i>cAPXI</i> gen ifadesinde meydana gelen değişimler.....	54
Şekil 4. 9. Sultan-95 ve Tosunbey buğday çeşitlerinin <i>cAPXII</i> gen ifadesinde meydana gelen değişimler.....	55
Şekil 4. 10. Sultan-95 ve Tosunbey buğday çeşitlerinin <i>tAPX</i> gen ifadesinde meydana gelen değişimler.....	55
Şekil 4. 11. Sultan-95 ve Tosunbey buğday çeşitlerinin <i>cGR</i> gen ifadesinde meydana gelen değişimler.....	56
Şekil 4. 12. Sultan-95 ve Tosunbey buğday çeşitlerinin <i>chlGR</i> gen ifadesinde meydana gelen değişimler.....	57

SİMGELER VE KISALTMALAR

μM	: Mikromolar
$\cdot\text{OH}$: Hidroksil radikali
$^1\text{O}_2$: Tekil oksijen
ABA	: Absisik asit
APX	: Askorbat peroksidaz
AsA	: Askorbik asit
ASH-GSH	: Askorbat glutatyon
BSA	: Bovin serum albümin
Ca	: Kalsiyum
cAPX	: Sitolik askorbat peroksidaz
CAT	: Katalaz
Cd	: Kadmiyum
DHAR	: Dehidroaskorbat redüktaz
dI-H ₂ O	: Deiyonize su
Dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EC	: Elektriksel iletkenlik
EDTA	: Etilen diamin tetraasetik asit
GPx	: Glutatyon peroksidaz
GR	: Glutatyon redüktaz
GRE	: GR24 ön uygulamalı ekim
GR24	: Strigol'ün sentetik analogu
GSH	: İndirgenmiş glutatyon
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
HCl	: Hidroklorik asit
JA	: Jasmonik asit
K	: Potasyum
Kl a	: Klorofil a
Kl b	: Klorofil b
KL	: Karlakton
KE	: Kuru ekim

M	: Molar
MDHAR	: Monodehidroaskorbat redüktaz
Mg	: Magnezyum
NaCl	: Sodyum klorür
Na	: Sodyum
Na-P	: Sodyum fosfat
NBT	: Nitro bluetetrazolium
nm	: Nanometre
POD	: Peroksidaz
O ₂ ⁻	: Süperoksit radikali
OH ⁻	: Hidroksil radikali
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
Prxs	: Peroksiredoksinler
POX	: Peroksidaz
PVPP	: Polivinilpolipirolidon
RNA	: Ribonükleik asit
ROT	: Reaktif oksijen türleri
SA	: Salisilik asit
SE	: Suda ekim
SL	: Strigolakton
Sn	: Saniye
SOD	: Süperoksit dismutaz
U	: Enzim ünitesi
UV	: Ultra viyole
α	: Alfa
β	: Beta

ÖNSÖZ

Tuzluluk bitki gelişimi ve büyümesini üzerinde önemli derecede etki göstermektedir. Strigolaktonun (SL) sentetik formu olan GR24 gibi bazı kimyasalların bitki üzerindeki etkileri araştırılmaktadır.

Bu yüksek lisans tezinde, en önemli bir tahıl olan buğdayın bazı çeşitlerinin tohumlarına ekim öncesi yapılan GR24 uygulamasının farklı tuz koşulları altında askorbat glutasyon döngüsü enzimlerinin üzerine olan etkileri incelenmiştir. Farklı konsantrasyondaki GR24 (0, 20 μ M) ön uygulaması yapılan buğday bitkilerine farklı tuz konsantrasyonları (0, 200, 300 mM) ile uygulama yapılmıştır. 2 hafta sonra gelişen buğday fidelerine tuz uygulaması ve Hoagland besin çözeltisi içinde çözdürülerek haftada bir sulama işlemi gerçekleştirilmiştir. Hasat edildikten sonra buğday fidelerinin morfolojik parametreleri ve toplam protein miktarı, SOD, APX ve GR aktiviteleri ve bu enzimlerin gen ifadelerinde meydana gelen değişimler saptanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, strigolakton ön uygulamasının tuz koşullarına maruz bırakılan toleranslı buğday çeşidinde askorbat-glutasyon döngüsünü uyararak bitki tolerans düzeyinde artışa neden olduğu belirlenmiştir.

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 Dr. Öğr. Üyesi Sefer DEMİRBAŞ'a, bölüm başkanımız sayın Prof. Dr. Sezen ARAT, bölümümüz öğretim üyelerinden Dr. Öğr. Üyesi Sheida DANESHVAR'a ve Doç. Dr. Behiye Banu BİLGİN'e, tez çalışmamda kullandığım Sultan-95 ve Tosunbey çeşitlerine ait buğday tohumlarının temin edilmesinde yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi Alpay BALKAN'a, çalışmalarım esnasında yanımda ve yardımcı olan Elif Saadet ARICAN, Şahsine GÖK ÖZEL, Fatih ÜDER, Damla ANA ve Hasan BULUT'a teşekkür ederim.

Eğitimim boyunca manevi desteğini ve sabrını benden esirgemeyen annem Gültan ÖNAY, babam Müslüm ÖNAY, kardeşlerim Hatice İrem ÖNAY ve Gülçin Özge ÖNAY'a teşekkür ederim.

Haziran 2019

Ezgi ÖNAY

Ziraat Mühendisi

1. GİRİŞ

Bitkinin yaşamı için tohumun çimlenmesi önemli fazlardan biridir. Tohumların çimlenmesinde birbirini takip eden olaylar ise şişme, enzim aktivasyonu, embriyo büyümesinin başlaması, tohum kabuğunun kırılması ve fide çıkışıdır. Çimlenmenin bağlı olduğu koşullar tuzluluk, sıcaklık, ışık, besidoku, nem, patojenlerden kurtulma, tohum kalitesi ve dormansiden kurtulmadır (Yıldız ve ark. 2007).

Bitki büyümesi ve üretkenliği, doğanın zarara uğramasına bağlı olarak çeşitli abiyotik ve biyotik stres faktörleri şeklinde olumsuz etkilenir (Mahajan ve Tutejea 2005). Bitkisel üretimde stres; bitkinin büyüme ve gelişmesini olumsuz yönde etkileyen, verim düşüklüğüne neden olan bir veya birden fazla etkeni bulundurmaktadır (Kuşvuran 2006). Kültür bitkileri parazit bitkiler, böcek, mantar, bakteri, virüs, nemotadlar gibi biyotik ve kuraklık, tuzluluk, radyasyon, yüksek sıcaklık ve don gibi abiyotik stres koşullarına maruz kalırlar (Kalefetoğlu ve Ekmekçi 2005).

1.1. Buğday

Buğday (*Triticum aestivum* L.), Poaceae familyasına ait tüm dünyada yetişen en önemli tahıl bitkisidir (Jamal ve ark. 2019). 2018 yılı TÜİK verilerine göre; buğday ekim alanı 72 milyon dekar, üretimi 20 milyon ton ve ortalama verimi 274 kg/da'dır (Anonim 2019). Günümüzde gıda güvenliği, insanlar için önemli bir kalori ve protein kaynağı olan buğday gibi tahıl üretiminin artmasına bağlıdır (Caverzan ve ark. 2016).

Buğdaylar üretilme şekillerine göre 3 farklı gruba ayrılmaktadırlar. Bunlar makarnalık buğday, bisküvilik buğday ve ekmeklik buğdaydır. Beyaz, sarı, kehribar, kırmızı gibi renklerde olabilen buğdayın tane rengi aslında tohum kabuğuna göre belirlenmektedir. Buğday taneleri uzunca ya da toparlak halde bulunabilmektedir. Bir buğday tanesinin içerisinde su dışında nişasta, protein, selüloz, yağ, enzim ve çeşitli vitaminler yer almaktadır. Bu maddelerin buğday tanesinde bulunma oranı ise yetiştirildiği bölgeye ve yetiştirilme türüne göre değişkenlik göstermektedir. Türkiye'de buğdayın en yoğun yetiştirildiği yer uygun iklimi sebebiyle İç Anadolu Bölgesi'dir. İç Anadolu Bölgesi aynı zamanda Türkiye'nin buğday ambarı şeklinde de tanımlanmaktadır (Anonim 2019).

1.2.Tuz Stresi

Tuz stresi, tarım yapılan arazilerde verimliliğini etkileyen en önemli abiyotik stres faktörlerinden biridir. Yüksek tuz konsantrasyonu, bitkilerde iyon toksisitesine, ozmotik strese ve aktif oksijen türlerinin üretimi ile sonuçlanan hücrel iyonların dengesizliğine neden olur (Madan 2006). Hücrel düzeyde meydana gelen bu dengesizlikler fotosentezi baskılayabildiği gibi metabolik toksisite sonucunda kurumaya, zar düzensizliklerine ve besin alımındaki bozukluklara yol açabilir. Tuz stresi altındaki bu bozukluklar fotosentez ve hücrel solunum dengesini etkileyerek net biyokütle kazancında değişime neden olur (Courtney ve ark. 2016).

Tuzluluk, aynı zamanda bitkilerin coğrafi dağılımını da sınırlayan önemli bir faktördür. Birçok önemli tarımsal ürünün verim ve kalitesinde düşüşe neden olmaktadır. Tarımsal alanlardaki artan tuzlanma, gelecek 25 yıl içinde ekilebilir arazilerin veriminde % 30'a, 21'inci yüzyılın ortalarına kadarki süreçte ise % 50'ye varan bir azalmaya neden olacağı ön görülmektedir. Marjinal toprakların tarımsal üretimde kullanımının artırılması amacıyla, tuza toleranslı bitkilerin geliştirilmesi ve yetiştiriciliği son yıllarda üzerinde önemle durulan bir konu olmuştur. Tuzluluk, bitki büyümesi üzerinde dört ana kısıtlayıcı etkiye sahiptir:

- (I) Su alımında azalmaya neden olarak ozmotik strese,
- (II) Spesifik olmayan stres oksidatif strese,
- (III) İyonik toksisiteye (Xu ve Liu 2011),
- (IV) Temel bitki besin maddelerinin (K, Ca, Mg, P vb.) alımını sınırlamasına ve ürün veriminin kaybına neden olmaktadır (Akhtar ve ark. 2015).

Aşırı derecede yüksek tuz konsantrasyonlarına veya tuzluluk durumuna uzun süre maruz kalan bitkilerin enzim aktivitelerinin baskılanması sonucunda süperoksit, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali gibi reaktif oksijen türlerinin (ROT) aşırı birikmesi, metabolik bozukluklar, klorofil bozulması ve lipit peroksidasyonu ile sonuçlanır (Xu ve Liu 2011).

Toprak tuzluluğu, abiyotik bir tehlike olarak hem halofit hem de glikofit bitkilerin tohumlarında bozukluklara neden olur. Yüksek seviyede tuzluluk çimlenmeyi tamamen kısıtlar, düşük seviyede ise uyku hali (dormansi) durumunu teşvik eder. Ayrıca, bitki su emilimini azaltır ve metabolik aktivitede değişikliklere neden olur, bitki büyüme düzenleyicilerinin dengesini bozar ve tohum rezervlerinin kullanımını azaltır (Ashraf ve ark. 2006).

Tuzluluk, hücresel düzeyde Na^+/K^+ oranını bozmaktadır ve hücrelerde artan Na^+ seviyesi fotosentetik etkinliği azaltarak fotosentez sürecini bozmaktadır. Tuz kaynaklı artan ROT seviyesini dengelemek için bitkilerde, oksidatif strese karşı mücadele etmek için süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve peroksidaz (POD) gibi bir dizi antioksidan enzimin aktivitesinde artış meydana gelir (Zou ve ark. 2015).

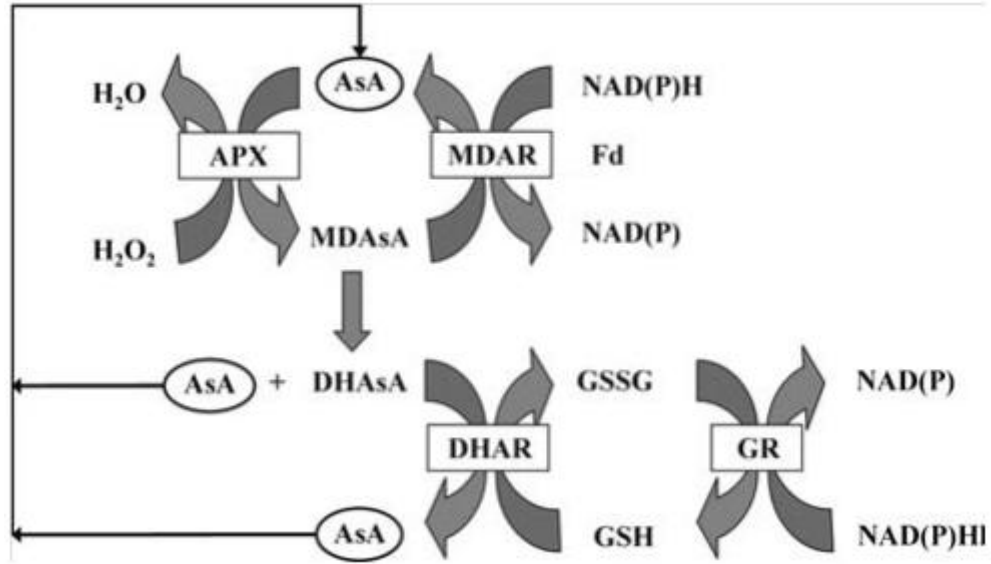
ROT arasında yer alan H_2O_2 bitkilerde, bir sinyal molekülü olarak işlev görmektedir ve çeşitli enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar tarafından bitki hücre ve organellerinde H_2O_2 'in optimum seviyede tutulması gereklidir. Askorbat peroksidaz (APX) ve CAT aşırı H_2O_2 seviyesini azaltan anahtar enzimatik antioksidanlardır. POD, kaynağı H_2O_2 olan aynı zamanda temizleme yeteneğine sahip başka bir enzimatik antioksidandır.

Halofitler, 200 mM'ın üzerindeki NaCl konsantrasyonlarında yaşam döngülerini tamamlayabilen, ya da 5 g/L toplam çözülmüş katı madde içeren sulama suyunda yaşayabilen bitkiler olarak tanımlanabilir. Halofit otlar, birçok bitkiye zarar veren yüksek seviyedeki tuz oranlarına morfolojik, fizyolojik ve moleküler düzeyde dayanacak şekilde evrimsel süreçte uyum kazanmışlardır (Courtney ve ark. 2016).

1.3. Antioksidan Savunma Sistemi

Antioksidan metabolizması, farklı hücresel bölgelerdeki ROT temizleyerek veya parçalayarak bitkinin stres toleransında önemli bir rol oynar. ROT, fotorespirasyon, fotosentez ve solunum gibi hayati işlemlerde üretilen, kısmen indirgenmiş atmosferik oksijen formlarıdır (Esfandiari ve ark. 2007). Olumsuz çevresel koşullar altında ROT üretiminde bir artış gözlenmiştir. ROT protein, karbonhidrat, nükleik asitler (RNA ve DNA) ve lipidlerin kararlı yapılarını bozarak oksidatif hasara neden olan toksik moleküllerdir. ROT' nin verdiği zararı hafifletmek için, bitkiler ROT'u parçalamak veya temizlemek için antioksidan savunma sistemini geliştirmiştir. Bu savunma yolunda, SODs iki molekül süperoksit anyonunu dismute ederek H_2O_2 'e dönüştürür. Oluşan H_2O_2 çeşitli yollarla suya dönüştürülerek zararsız bir hale getirilir. CAT, iki H_2O_2 molekülünün su ve moleküler oksijene ayrışmasını katalize eder. Glutatyon peroksidaz (GPX) serbest H_2O_2 'i suya indirger. Askorbat-glutatyon döngüsü (Şekil 1.1), H_2O_2 'yi ayrıştırmak ve antioksidanların dengesini korumak için etkili bir savunma sistemidir. Bu döngü, APX, monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR), dehidroaskorbat redüktaz (DHAR) ve glutatyon redüktaz (GR) dahil birkaç enzimi içerir. ROT üretimi ve antioksidan enzimlerin aktiviteleri arasındaki denge oksidatif hasarın oluşup oluşmayacağını belirler. ROT ve antioksidan enzimlerin çevresel streslere verdiği tepkiler bitki türüne,

çeşidine, stres yoğunluğuna ve süreye bağlıdır (Luo ve ark. 2012). Çevresel stres, hücrelerde ROT birikmesine neden olur ve bu da bitkilerde ciddi oksidatif hasara yol açarak büyüme ve tane verimini azaltır (Caverzan ve ark. 2016).



Şekil 1. 1. Askorbat-Glutatyon döngüsü (Secenji ve ark. 2010)

ROT' un üretimi ve atılması arasındaki denge, tuzluluk, UV radyasyonu, kuraklık, ağır metaller, aşırı sıcaklıklar, besin eksikliği, hava kirliliği, herbisitler ve patojen saldırıları gibi çeşitli biyotik ve abiyotik stres faktörleri tarafından bozulabilir (Gill ve Tuteja 2010). Tuz stresi bitki metabolizmasında iyon toksisitesine, ozmotik strese ve oksidatif strese neden olur. ROT en yoğun üretim yeri mitokondri ve kloroplastlarda üretilir. Kloroplastlarda, ROT tekil oksijen (1O_2) üretmek için klorofilden eksitasyon enerjisinin doğrudan aktarılmasıyla veya Mehler reaksiyonunda fotosistem I'in 1O_2 indirgenmesiyle üretilir. ROT yüksek oranda reaktif bir moleküldür ve herhangi bir koruyucu mekanizma yoksa lipitlere, proteinlere ve nükleik asitlere zarar vererek normal metabolizmayı ciddi şekilde baskılayabilir (Athar ve ark. 2008).

Enzimatik antioksidanlar arasında SOD, CAT, GPX, guaiacol peroksidaz (POX), peroksiredoksinler (Prxs), APX, MDHAR, dehidroaskorbat gibi askorbat-glutatyon (AsA-GSH) döngüsünün enzimleri, DHAR ve GR yer alır. Enzimatik olmayan bileşenler arasında askorbat (AsA) ve glutatyon (GSH) ile tokoferol, karotenoidler ve fenolik bileşikler bulunur (Caverzan ve ark. 2016).

ROT, düşük konsantrasyonlarda ikinci haberciler olarak fonksiyon gösterebilirler. SOD'lar, süperoksitin oksijen ve hidrojen peroksite dismutasyonunu katalize eden metaloenzimlerin üyeleridir. Protetik metallere dayanarak, SOD'ler dört grupta sınıflandırılabilir: demir SOD (FeSOD), mangan SOD (MnSOD), bakır/çinko SOD (Cu/ZnSOD) ve nikel SOD (NiSOD). Tüm SOD izoformları prokaryotik organizmalarda bulunmasına rağmen, ökaryotlarda yalnızca üç türü bulunur. FeSOD'lar kloroplastlarda, MnSOD'lar mitokondri ve peroksizomlarda ve Cu/ZnSOD'lar ise kloroplast, sitosol ve hücre dışı alanda bulunur. NiSOD'ların oluşumu ilk önce Streptomyces türlerinde ve daha sonra siyanobakterilerde ortaya çıkmıştır. MnSOD'lerin tek bir formda olduğu ve mitokondride ROT'un neden olduğu zararlardan korunmak için tüm bitki genomunda bulunduğu kabul edilir. Bitkideki MnSOD'ler hem peroksizomlarda hem de mitokondrielerde tespit edilmiştir ve buralardaki miktarları birbirleriyle ilişkili değildir. Bitki Cu/ZnSOD'ları, sitosolik ve kloroplast Cu/ZnSOD'ları dışında benzer bir homolog grup içerir. Sitosolik ve kloroplast Cu/ZnSOD'ların gen yapıları çeşitli intron pozisyonları ve sayıları ile diğerlerinden farklıdır. Cu/ZnSOD bakır ve çinko ile aktif bir alana sahip olan dimerik bir enzimdir. Monomerik birimler arasında bir histidin imidazol köprüsü vardır. Bitki MnSOD'ları %70 homoloji göstermektedir. Kloroplastlarda FeSOD, plastid nükleoid ile ilişkili olabilir ve sinyalizasyon veya gen düzenlenmesine katılabilir. MnSODs ve FeSODs, aynı alt birimlere sahip dimerler veya tetramerler içerir. Her bir alt birim iki alandan oluşur: α -helisel N-terminal etki alanı ve karışık bir α/β C-terminal etki alanı (Filiz ve ark. 2014).

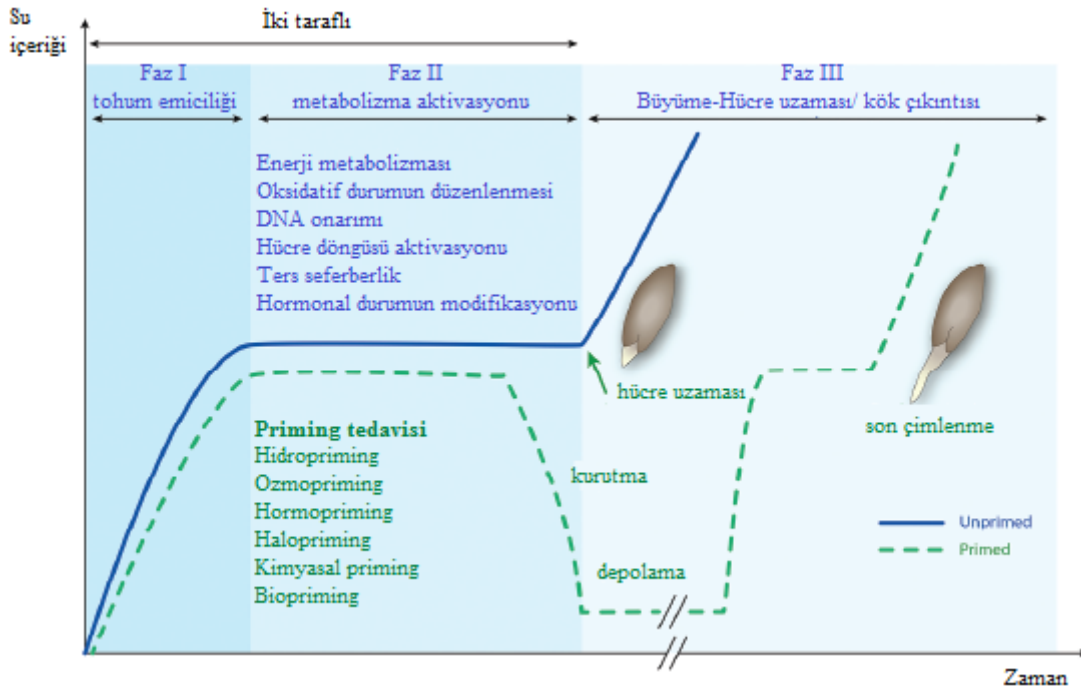
1.4. Priming Uygulaması

Bitki yetiştiriciliğinde önemli hususlardan biri, ekilen tohumun tarlada hızlı bir şekilde çimlenmesi ve iyi bir fide çıkışının sağlanmasıdır. Bu nedenle, yıllık bitkilerde yüksek verim elde etmek için hızlı ve düzgün bir tarla çıkışının sağlanması gereklidir. Buğday, soya fasulyesi, mısır ve ayçiçeği gibi birçok üründe ekim öncesi priming uygulamasının yararlı etkisi görülmüştür. Priming uygulaması, özellikle sebzeler ve küçük tohumlu çimler başta olmak üzere birçok ürünün çimlenmesini ve fide oluşumunu geliştirmek için kullanılmıştır (Sarlach ve ark. 2013).

Priming, doğal ve sentetik bileşiklerin çimlenmeden önce tohumlara işlenmesiyle bitkilerde belirli bir fizyolojik durumun uyarılmasıdır. Bitkilerin savunma tepkilerini daha hızlı veya daha iyi şekilde aktive edebildikleri fizyolojik duruma veya her ikisine de bitkinin primer durumu denir (Jisha ve ark. 2013).

Bitkinin verimini artırmak için uygulanan priming yöntemlerinden su ile ekimi gerçekleştirilen hidropriming (Lutts ve ark. 2016), ozmotik çözeltiler ile ekimi gerçekleştirilen ozmopriming (Jisha ve ark. 2013), bitki büyüme düzenleyicileri (ABA, JA, salisilik asit (SA), strigolaktonlar (SL)) ile ekimi gerçekleştirilen hormopriming (Lutts ve ark. 2016) yöntemleri kullanılmaktadır.

Ortodoks (kuru) tohumların çimlenmesi genellikle, üç ayrı aşamada gerçekleşir (Şekil 1.2). Birinci aşama: apoplastik alanlarda ilk olarak meydana gelen su hareketi ile ilişkili kuru dokuların pasif emilimi ile ilgili tohum hidrasyonu, ikinci aşama: hücre düzeyinde metabolik aktivitelerin ve işlemlerin yeniden oluşturulması ile ilişkili aktivasyon aşaması ve üçüncü aşama: hücre uzaması ile ilişkili ve radikula (kökçük) çıkışına yol açan süreçlerin başlatılmasıdır. Birinci ve üçüncü aşamanın her ikisi de su içeriğinde önemli bir artışa neden olurken, hidrasyon ikinci aşamada sabit kalmaktadır. İkinci aşamanın bitiminden önce, çimlenmenin geri dönüşümlü bir işlem olarak kaldığı genel olarak kabul edilir: tohumlar tekrar kurutulabilir ve depolama sırasında canlı kalabilir ve daha sonra çimlenmeyi uygun koşullar altında yeniden başlatabilir (Lutts ve ark. 2016).



Şekil 1. 2. Kuru tohumların çimlenme aşamaları

Hidropriming, tohumun saf suda ıslatılmasına ve ekimden önce orijinal nem içeriğine gelinceye kadar yeniden kurutulmasına dayanan en basit tohum hazırlama yöntemidir. Bir priming maddesi olarak ek kimyasal madde kullanılmaması, bu yöntemi düşük maliyetli ve

çevre dostu yapar. Hidroprimingın temel dezavantajı, tohumlardan kontrolsüz su alımıdır. Bu, hidropriming sırasında tohumlara serbest su mevcudiyetinin bir sonucudur, böylece su alım hızı sadece tohum dokusundaki suya afiniteye bağlıdır. Dahası, bu teknik eşit olmayan tohumlar hidrasyonuna neden olabilir, bu nedenle tohumlar arasında eşzamanlı ortaya çıkma sonucu eşzamanlı metabolik aktivasyon eksikliğine yol açar. Bu sınırlayıcı faktörler göz önüne alındığında, istenen tohum hidrasyon seviyesini sağlamak ve kök salınımını önlemek için hidroprimingde kullanılan doğru arıtma süresini, sıcaklığını ve su hacmini tanımlamak son derece önemlidir (Lutts ve ark. 2016).

Ozmopriming, havalandırılmış, düşük su potansiyeli olan çözeltilerde tohumların bekletilmesi ile gerçekleştirilir. Ozmopriming süreci, çeşitli pre-germinatif metabolik aktivitelerin kademeli olarak ilerlemesini harekete geçiren tohumların uzun süreli erken imbibisyonu ile ilgilidir (Jisha ve ark. 2013).

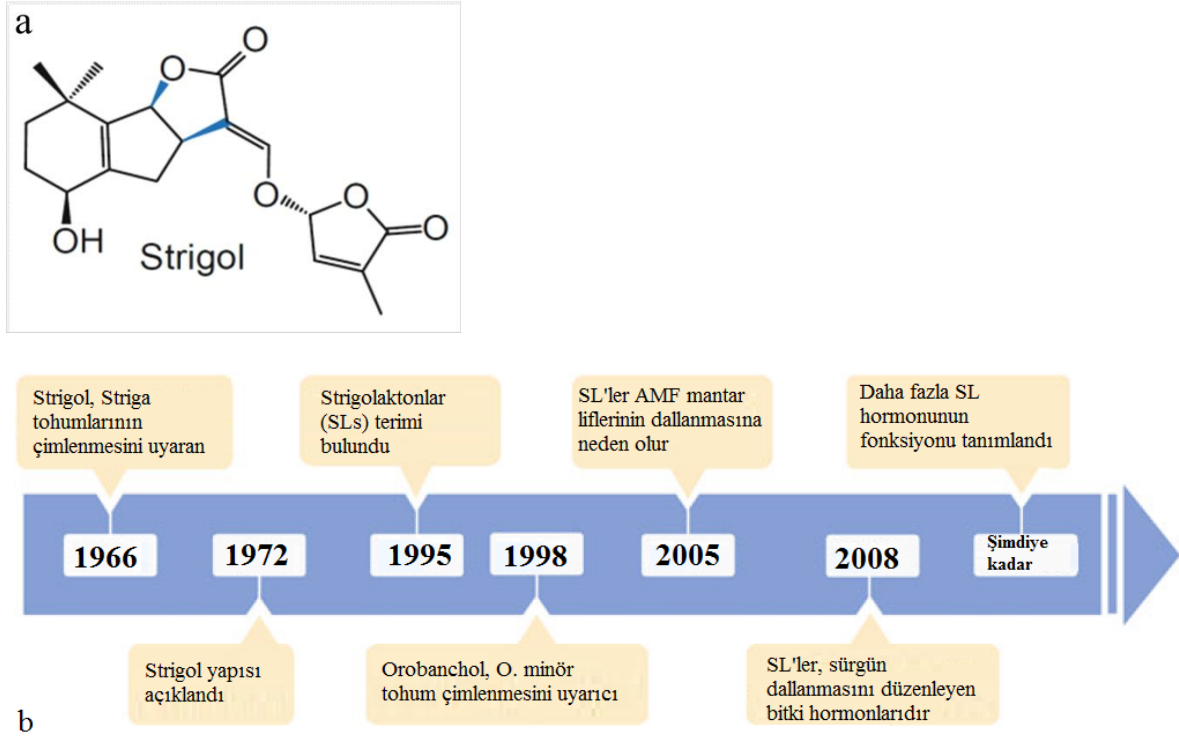
Hormopriming, tohum metabolizması üzerinde doğrudan etkiye sahip olabilen bitki büyüme düzenleyicilerinin kullanıldığı bir yöntemdir. Hormopriming çalışmalarında kullanılan bitki büyüme düzenleyicileri olarak absisik asit (ABA), oksinler, gibberellinler, etilen, poliaminler, salisilik asit (SA) ve strigolaktonlar (SL) kullanılmaktadır (Lutts ve ark. 2016).

1.5. Strigolaktonlar (SL)

Strigolaktonlar bitkiler tarafından üretilen sinyal bileşikleridir. Bu bileşiklerin iki önemli işlevi vardır: birincisi içsel hormon olarak bitki gelişimini kontrol etmek, diğeri ise bitki ve toprak mikroorganizmaları arasındaki simbiyotik ilişkiyi teşvik etmektir. Bazı bitkilerde ise üçüncü işlev gözlenmektedir. Bu işlev parazit bitki tohumlarının kendi konukçuları tarafından SL'ın salgılanmasıyla parazit bitki tohumlarının çimlenmesidir. SL'lar ilk defa, *Striga hermonthica* (cadı otu) parazit bitki tohumlarının çimlendirme çalışmaları sırasında kök salgısı olarak keşfedilmiştir. Cadı otu bitkisinin cins ismi bu bitki büyüme düzenleyicisinin "*strigo*" kısmını, "*lakton*" kısmı ise kimyasal yapısındaki lakton halkasından (Şekil 1.3) gelmektedir (Smith 2014). Bugüne kadar yapılan çalışmalarda keşfedilen strigolakton türevleri Strigol tipi, Orobanchol tipi, Non-canonical ve Karrikins' dır (Jia ve ark. 2019).

Strigolaktonlar son yıllarda yapılan çalışmalarda kök mantarı simbiyozu ve bitki gelişimindeki rolleri ile yeni terpenoid bitki hormonları olarak tanımlanmaktadır (Umehara ve

ark. 2008). Bezelye bitkisinin *rms1* mutanlığı (SL eksik) ile yapılan çalışmada, dışarıdan SL uygulamasıyla *Rhizobium* bakterilerinin baklagil köklerindeki nodül sayısını nodüllerin yapısında herhangi bir değişime neden olmadan arttırdığını saptanmıştır (Foo ve Davies 2011).

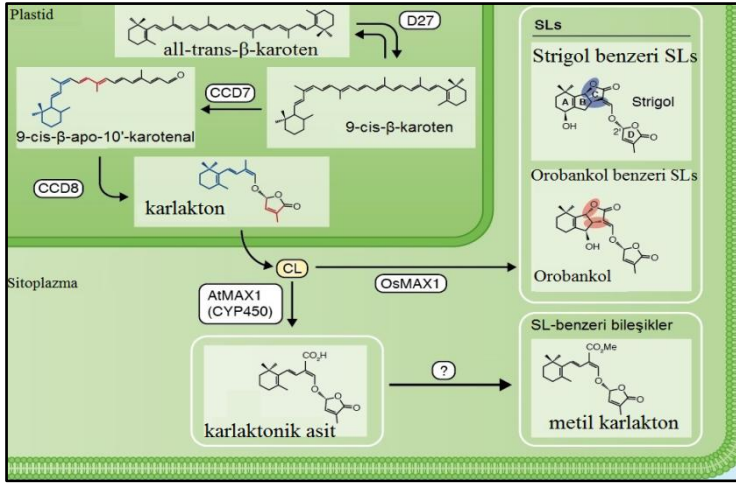


Şekil 1. 3. Strigolün kimyasal yapısı (a) ve SL'ların keşfi ve biyolojik işlevlerinin zamansal gösterimi (Jia ve ark. 2019)

1.5.1. Strigolaktin biyosentezi

SL ve SL benzeri bileşiklerin biyosentezi bitki sitoplazma ve kloroplastlarda gerçekleşir. Tüm SL'ların biyosentezi β -karotenlerden kökenlenir ve sentezin başlangıç yeri plastitlerdir. Bitkide ana sentez yeri kök ve gövdedir. DWARF27 (D27), Karotenoid Cleavage Dioxygenaz7 (CCD7) ve Karotenoid Cleavage Dioxygenaz8 (CCD8) enzimlerinin plastidlerde ardı ardına girdikleri tepkimeler sonucunda karlakton (CL) molekülü sentezlenmiş olur. Sitoplâzmaya taşınan CL, MAX1 enzimiyle strigol ve orobankol gibi moleküllere dönüşebildiği gibi, *Arabidopsis thaliana* bitkisinde karlaktonik asit üzerinden yine bir SL benzeri bir bileşik olan metil karlaktona dönüştürülebilir (Şekil 1.4). Bugüne kadar en az 20 adet doğal olarak sentezlenen SL ve 5 adet SL benzeri bileşik bitki içinde ve kök dışına taşındığı rapor edilmiştir. SL'lerin merkezi ABC olarak nitelendirilen bir trisiklik laktondur. Bu taşıyıcı moleküle enol eter bağı ile bağlanan ve D halkası olarak adlandırılan

α,β -doymamış furaron bağlanmıştır. Bunlar iki tipe ayrılır: strigol ve orobankol (Lopez-Obando ve ark. 2015).



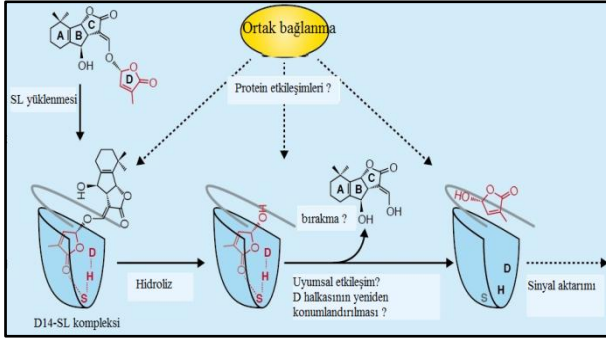
Şekil 1. 4. Strigolaktonların biyosentez yolağı (Lopez-Obando ve ark. 2015)

1.5.2. Strigolaktonların taşınımı

Strigolaktonların sentez yeri kökler olmasına karşın gövdeye ksilem yoluyla taşınırlar (Kohlen ve ark. 2011). Bir başka taşınma yolu ise petunya bitkisinde kök subepidermal hücreleri ve gövde/yaprak iletim sisteminde yer alan Pleiotropik İlaç Direnci1 (Pleiotropic Drug Resistance1, PDR1) hücreSEL SL taşıyıcısı olarak tanımlanır. Bu taşıyıcılar sayesinde gövde dallanması ve kök yapısının oluşum (kök tüyü uzunluğu, primer kök meristemi ve kök sisteminin şekli) süreçlerinde SL'ların önemli bir işleve sahip olduğu gösterilmiştir (Kapulnik ve Koltai 2014, Waldie ve ark. 2014).

1.5.3. Strigolaktonların algılanması

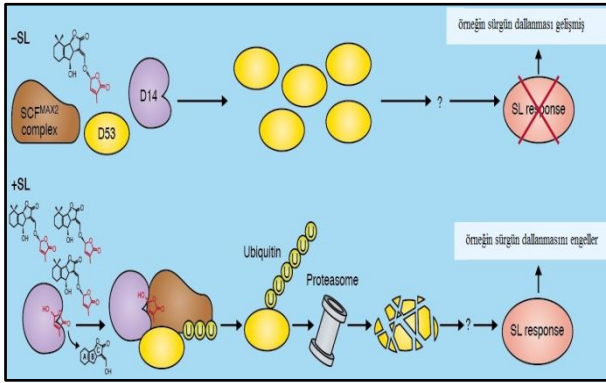
α/β hidrolaz enzim üst ailesinin bir üyesi olan D14, iletim demetine sahip bitkilerde bir SL reseptörü olarak tanımlanmıştır. SL reseptörlerini kodlayan genler, petunya (*DAD2*), çeltik (*D14*) ve Arabidopsis (*AtD14*) dahil olmak üzere birçok iletim demetli karasal bitkilerde tespit edilmiştir. Bu genlerin kodladığı proteinler, enzimatik aktivitesini kaybetmiş bir giberellin reseptörüdür. D14 proteinlerin enzimatik aktivitesine korunmuş bir katalitik üçlü grup (Ser-His-Asp (S-H-D)) aracılık eder ve hidroliz olur. *In vitro* çalışmalarda; SL, ABC halkasının hidrolizden sonra salınır. Ancak, bugüne kadar yapılan çalışmalar D14 tarafından SL algılanma mekanizmasını tam olarak hala aydınlatılabilmemiş değildir (Şekil 1.5) (Lopez-Obando ve ark. 2015).



Şekil 1. 5. Strigolakton algılanması (Lopez-Obando ve ark. 2015)

1.5.4. Strigolakton sinyal yolağı

SL'ların D14 tarafından algılanması ve hidrolizi SCF^{MAX2} kompleksi tarafından D53'ün ubiquitin bağlanmasıyla olan yıkımını kontrol eder. D53, gövde dallanmasının kontrolünde SL sinyalleme sinin baskılayıcısı olarak işlev görür. Aynı zamanda bu molekülün transkripsiyonel ortak baskılayıcılarla etkileşime girdiği düşünülmektedir (Şekil 1.6).



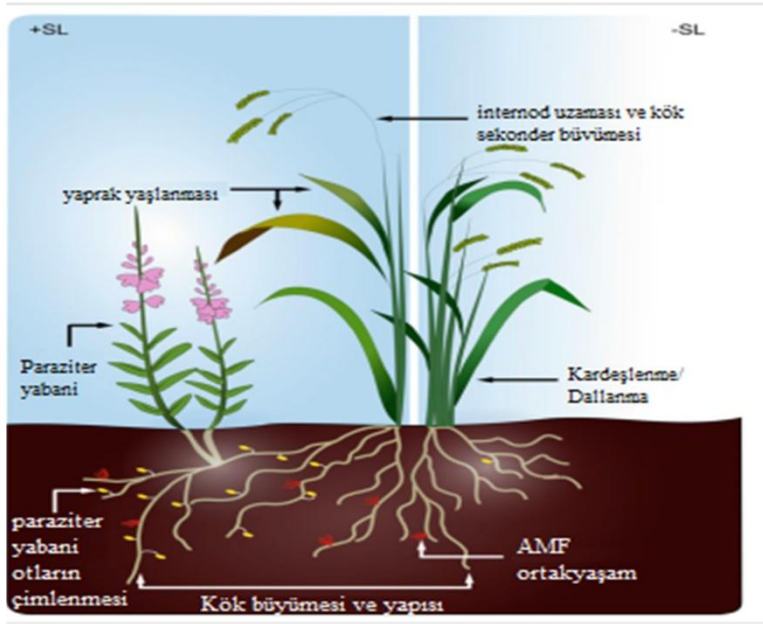
Şekil 1. 6. Strigolaktonların UPS aracılığıyla protein bozulması (Lopez-Obando ve ark. 2015)

1.5.5. Strigolaktonların bitki gelişimindeki rolleri

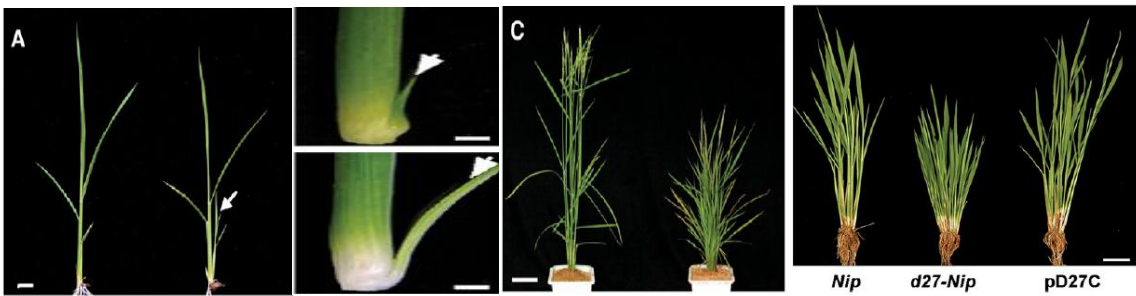
SL ve SL benzeri bileşikler bitki gelişiminin çeşitli yönlerini kontrol eden eski sinyal molekülleri olarak bilinmektedir. Simbiyotik ve parazitik organizmalarda ana kök varlığının sinyalizasyonu için kök çevresinde önemli bir işleve sahiptir ve bu işlev SL'ların abiyotik stres (kuraklık) toleransını da kapsamaktadır. SL uygulamasının kuraklık koşulları altında bitki dayanıklılığını arttırdığı belirtilse de bu yöndeki bilgiler yapılacak yeni çalışmalara açıktır (Kapulnik ve Koltai 2014, Van Ha 2014, Lopez-Obando ve ark. 2015).

Biyotik strese bağlı yanıtlarda SL'lar doğrudan veya dolaylı rolleri diğer hormonlarla olan karşılıklı etkileşimi işaret etmektedir. Bu nedenle, diğer bitki hormonları gibi SL'lar tek başına veya diğer hormonlara bağlı veya çevresel yollar ile etkileşimle bitki büyüme ve

gelişiminin farklı özelliklerini değiştirebilir. SL baskılandığında sürgün dallanması ve dallanma açısında değişim, yaprak kenarında tırtık oluşumu, boğum aralarında uzama, yaprakta ölüm ve sekonder kalınlaşma meydana gelebilir. Çeltik bitkisinde SL sinyali aracılığıyla D53'te meydana gelen bozulma kardeşlenmeyi engellemektedir. Bezelyede *PsBRC1* geni tomurcuktaki sitokinin ve şeker sinyal yollarında ile transkripsiyonel seviyede SL sinyallemesine katılır. Oksin, SL biyosentezindeki gen ifadesini arttırmış, bu artış sitokinin biyosentezini baskılamaktadır (Şekil 1.7) (Lopez-Obando ve ark. 2015; Jia ve ark. 2019).



Şekil 1. 7. Bitki gelişimine SL etkisi (Jia ve ark. 2019)

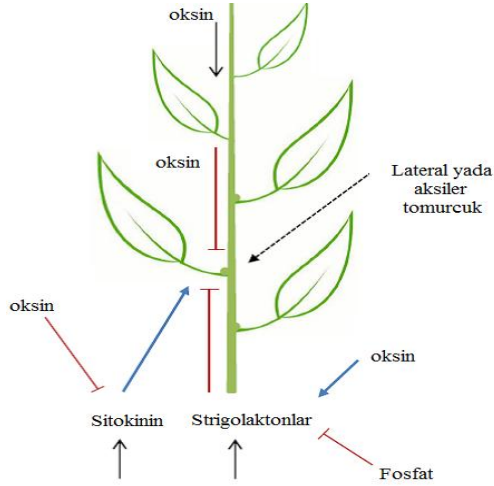


Şekil 1. 8. SL eksik mutant bitkilerde kök ve sürgün gelişimi (Lin ve ark. 2009)

1.5.6. Strigolaktonların diğer bitki büyüme düzenleyicileriyle etkileşimi

Bitkiler belli bir yerde yaşamak zorunda olduklarından dolayı büyüme ve gelişme süreçlerinde değişen çevre koşullarına uyum sağlamak zorundadırlar. Bitki büyüme düzenleyicileri (oksinler, ABA, sitokininler, GB, etilen, brassinostroitler, jasmonik asit (JA), salisilik asit (SA), nitrik asit ve SL) çevresel değişimlere yanıt olarak bitki büyüme ve

gelişmesini düzenlemede önemli bir göreve sahiptirler. Tüm bitki büyüme düzenleticileri yalnız başına hareket etmezler. Birbirleriyle antagonistik veya sinerjistik olarak etkileşerek (Şekil 1.9) birbirlerinin sentezi veya bozunması için sinyal molekülü olarak da işlev görebilirler. Yanal tomurcuk büyümesi sürgün tepesinden aşağı taşınan oksinler tarafından ve kökten yukarı taşınan SL tarafından inhibe edilmektedir. Kökten gövdeye taşınan sitokinin, tomurcuk oluşumunu teşvik etmektedir. Bu farklı sinyaller, ışık ve besin olarak farklı çevresel faktörlere yanıt olarak modüle edilirler (Smith ve ark. 2014).



Şekil 1. 9. Gövde gelişiminde SL ve diğer bitki büyüme düzenleyicileri arasındaki etkileşim (Smith ve ark. 2014)

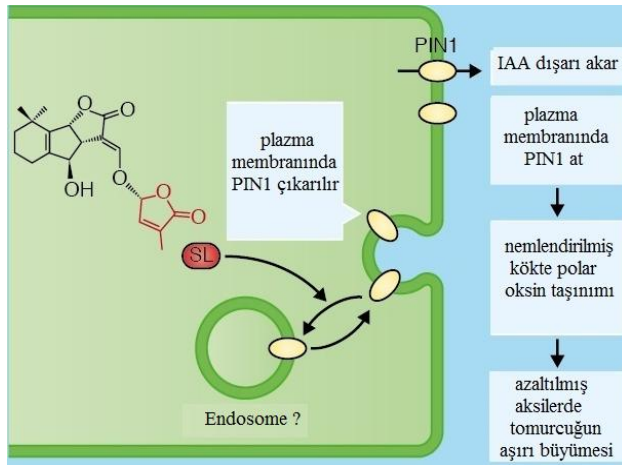
1.5.6.1. Strigolakton ve absisik asit

Absisik asit, tohumun çimlenmesini etkileyen ve tohumun uyku halini devam ettiren hormondur (Topçuoğlu 2008). Strigolaktonların kökenine yönelik açıklamalarda, ABA seviyesinin düşük olduğu mutantlarda ABA'nın SL biyosentezini düzenlediğini göstermektedir. ABA biyosentezin son basamağında meydana getirilen mutasyonla oluşturulan domates *flacca* ve *sitiens* mutantlarıyla yapılan analizlerde de SL seviyesinde güçlü bir azalma olduğu gösterilmiştir. *Arabidopsis* bitkisinde, ısı stresi boyunca ABA büyümede baskılayıcı bir etkiye sahipken SL olumlu şekilde tohum çimlenmesini düzenler. Strigolakton diğer bitki büyüme düzenleyicilerini etkileyerek tohum dormansi/çimlenmesini düzenlediği kanıtlanmıştır (Zhang ve ark. 2013).

Dışarıdan yapılan SL uygulamasının, *Arabidopsis* SL-eksik mutantlarda (max) kuraklık stresinin hasarını azalttığı bildirilmiştir. Kuraklığa duyarlı genotipler, stoma iletkenliğini arttırmış ve ABA'nın teşvik ettiği stoma kapanmasını azaltmıştır (Van Ha ve ark. 2013).

1.5.6.2. Strigolakton ve oksin

Oksinler hücre bölünmesi, hücre büyümesi, hücre ve doku farklılaşması gibi olayları düzenleyen en önemli bitki büyüme düzenleyicileridir (Ünsal Alaben 2008). Fizyolojik düzeyde, farklı çalışmalarda oksin ve SL arasındaki ilişki aydınlatılmıştır. Strigolaktonun oksin ile sinerjistik olarak gövde dallanmasını düzenlediği ortaya atılmıştır. AXR1-TIR1 sinyal yolu aracılığıyla ve biyosentetik gene bağlı AXR1 SL’de oksin tarafından düzenlenir. SL’ların tomurcuk büyümesini inhibe ettiği mekanizmanın nasıl olduğu tam olarak çözülememiştir. Bu yolda, SL’ler tomurcuk büyümesinin bastırmada oksin için ikincil haberci olarak hareket ettikleri varsayılmaktadır. Başka bir çalışmada, SL’lar öncelikli olarak sürgün apikal meristeminden itibaren polar oksin taşınımının kapasitesinde azalma meydana gelmiştir (Zhang ve ark. 2013). SL’lerin polar oksin taşınımını etkileyebilen ve yaprak dallanmasıyla, plazma membrana PIN1 oksin exporter proteinlerin tetiklenmesiyle taşınır. Bu yanıtta, D53’teki bozulmanın meydana gelip gelmediği hala aydınlatılmış değildir (Şekil 1.10) (Lopez-Obando ve ark. 2015).

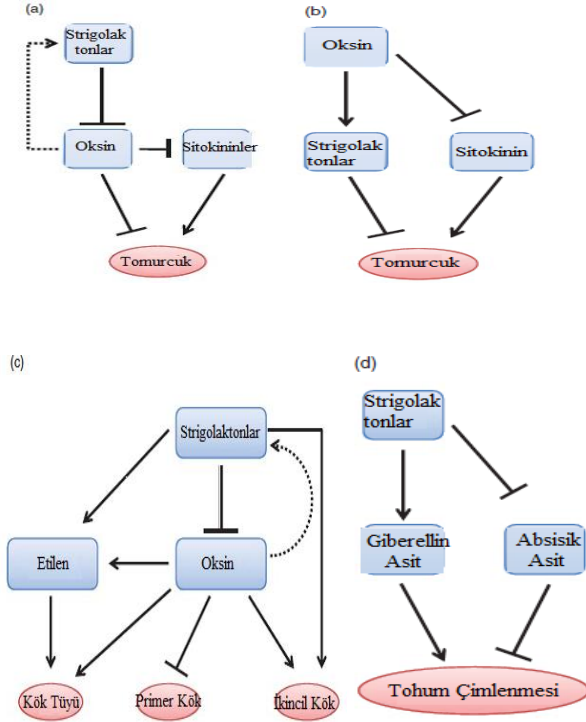


Şekil 1. 10. Oksin taşınımında SL’nin işlevi (Lopez-Obando ve ark. 2015)

1.5.6.3. Strigolakton ve etilen

Etilen, kök tüyünün uzamasını düzenleyen oksin ile sinerjistik olarak etkileşen gaz formundaki bir bitki hormonudur (Ünyayar 2008). Oksin, SL’larla kök tüyü uzamasını düzenleyen etilen ile etkileşim gösterir (Zhan ve ark. 2013). Strigolakton sinyalinde etilen yanıtının kök tüyü için gereksiz olduğu gösterilmiştir. İlginç bir şekilde, tohum çimlenmesine yol açan, *Striga* parazit bitkisi tohumlarının etilen biyosentezi SL tarafından uyarıldığı gösterilmiştir. Bu kanıt kök tüyü uzaması SL’lara etki eden etilen biyosentezini içeren öneriyi desteklemektedir. Genel olarak sonuçlar, SL etilen biyosentezinin bitki büyümesini

etkileyebileceği anlamına geliyor. Ancak, oksin ve etilen arasında kabul edilen çapraz konuşmadaki birleşme bitki gelişiminin SL-aracılığıyla düzenlendiği diğer türleri için geçerli olup olmadığı keşfedilmeyi beklemektedir (Koltai 2011).



Şekil 1. 11. Strigolaktonların bitki gelişiminde diğer büyüme düzenleyicilerle etkileşimi (Zhan ve ark. 2013)

1.5.6.4. Stigolakton ve sitokinin

Sitokininler hücre bölünmesini uyarma, tomurcuk gelişiminde etkili olma, yaprakların geç dökülmesini sağlama gibi olayların gerçekleşmesinde rol oynayan hormondur (Babaoğlu 2008). Sitokininler tomurcuk büyümesini promoter olarak işlev görmektedir. Fizyolojik çalışmalarda, SL'ler tomurcuk büyümesini düzenleyen sitokinin ile antagonist hareket ettikleri görülmektedir. Yabani bezelye bitki tomurcukları ile SL-eksik mutant bitkileri (*rms1*) karşılaştırıldığında, aksiller tomurcuklarda 6-benzilaminopurin (BA, sentetik sitokinin) artan bir şekilde tepki gösterdiği bulunmuştur. Ayrıca, BA kombinasyonu ile GR24'ün ekzojen uygulaması *rms1*'de tomurcuk büyümesine neden olduğu belirtilmiştir (Zhang ve ark. 2013).

1.5.3.5. Strigolakton ve giberellinler

Giberellinler tohum çimlenmesini uyarma, gövde uzamasını sağlama, meyve büyümesini hızlandırma ve çiçek oluşumunu düzenleme görevine sahip bitki büyüme

düzenleyicileridir (Yürekli 2008). Toh ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada (2012), SL'lar *Arabidopsis*'te tohum çimlenmesi düzenleyen GA ile sinerjistik etki göstermiştir. GR24 uygulaması gibberellin-3-oksidad 2 ve GA biyosentezinde anahtar enzim transkripsiyonu artmamaktadır. Bu nedenle, GA içindeki SL etkisi GA biyosentetik yolda veya katabolizma ya da her ikisi ile diğer adımların düzenlenmesi ile olduğu gösterilmektedir (Zhang ve ark. 2013).

Bu tez çalışmasında, tuza toleranslı ve duyarlı buğday çeşitlerinin tuz stresine maruz kalmadan önce tohumlarına sentetik strigolakton (GR24) ön uygulamasının, farklı tuz konsantrasyonlarında bu çeşitlerin fidelerinin morfolojik gelişimine ve bazı antioksidan enzimler (SOD, APX, GR) ve onları kodlayan genlerin (*FeSOD*, *MnSOD*, *CuZnSOD*, *t-APX*, *cAPXI*, *cAPXII*, *cGR* ve *chlGR*) ifade düzeyindeki değişimin askorbat-glutatyon döngüsü enzim sistemine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Baek ve Skinner (2003) yaptığı çalışmada, kışlık ve yazlık buğday çeşitlerinde soğuk koşullara karşı antioksidan enzimlerden mitokondriyal MnSOD, kloroplastik Cu/ZnSOD, FeSOD, CAT, tillakoyide bağlı askorbat peroksidaz (*t-APX*), sitosolik GR, GPX, sitosolik MDHAR ve onları kodlayan genlerin ifade seviyeleri belirlenmiştir. Antioksidan enzimlerden MnSOD, MDAR, *t-APX*, DHAR, GPX ve GR aktivitesinde (soğuk hava koşullarında) artma, CAT azalma ve FeSOD ve Cu/ZnSOD nispeten sabit olduğu gözlenmiştir. Buna göre, 4 hafta soğuk havadan sonra kış buğday NIL bahar buğdayı NIL'a daha yüksek seviyelere göre eksprese edildiği ortaya konmuştur.

Moud ve Maghsoudi (2008) yaptığı çalışmada, buğday çeşitlerinin tuz tolerans seviyelerinde çimlenme ve fide gelişim aşamaları incelenmiştir. Fide solunumu, 48 saat sonra ilk tohum ağırlığı ve fide kuru ağırlığı arasındaki fark olarak ifade edilmiştir. Çeşitler arasında tuz stresi koşullarında koleoptil ve kök büyümesi açısından anlamlı farklılıklar bulunmuştur. Çeşitler arasındaki solunum hızı farkı buğday çeşitlerinde genetik çeşitliliğin bulunduğunu göstermiştir. Tuzluluk seviyesi arttıkça fide solunum hızının azaldığı tespit edilmiştir. Her koşulda koleoptil büyümesi ile solunum arasında anlamlı korelasyon bulunmuştur. Tuz stresi, koleoptil büyümesini kök büyümesine göre daha fazla baskıladığı görülmüştür.

Crawford ve ark. (2010) yaptığı çalışmada, Arabidopsis P450 familyası üyesi MAX1'deki mutantların dallanma fenotipinin, MAX1'in SL sentezinde etkili olduğunu düşündüren strigolakton ilavesi ile tamamen kurtarılabilceğini göstermiştir. SL'lerin dallanmayı kontrol etmek için polar oksin taşınmasını düzenlediği ve ikinci bir dal düzenleyici hormon olan oksinin bazipetal (sürgün ucundan aşağıya doğru) taşınmasını önemli ölçüde azalttığını gözlemlemiştir. Sonuç olarak, iki güncel hipotezi desteklemektedir: Ana gövdeden aşağıya doğru hareket eden oksin, aksiller dalların dışındaki oksin taşınmasını engelleyerek dal gelişimini engellemektedir. Bu şekilde SL'lerin oksin taşınmasını körelterek hareket etmesini engellemekte, bu durum da dallar arasındaki rekabeti arttırmaktadır.

Secenji (2010) yaptığı çalışmada, kuraklığa toleranslı Plainsman V ve kuraklığa duyarlı Cappelle Desprez iki buğday çeşidinin verdiği yanıtları araştırmışlardır. Sulama suyunun azaltılması askorbat metabolizmasında farklılıklara neden olmuştur. Askorbat oksidasyonu ve askorbatı kullanan enzimlerin transkripsiyon seviyeleri değişmiştir. Bağlantılı transkript seviyeleri APX, MDAR, DHAR ve GR izoenzimleri, farklı subselüler organellerde lokalizasyonu öngörüldüğü için iki genotipte farklı transkripsiyonel değişimler

gözlemlenmiştir. Sonuç olarak, askorbat bazlı detoksifikasyon mekanizmalarının daha sağlam transkripsiyonunun, hücrel redoks dengesinin ters yönde yer değiştirmesini önleyebileceğini ifade edilmiştir.

Kapulnik ve ark. (2011) yaptığı çalışmada, SL'ların kök gelişimi üzerindeki etkilerini incelemiştir. SL sentezinde veya sinyallerinde kusurlu mutantların analizi, SL yokluğunun yanal kök oluşumunu arttırdığını göstermiştir. Sentetik SL olan GR24 varlığında yetişen kökler, yabani tip ve SL eksik max3-11 ve max4-1 mutantlarında yanal kök sayılarının azaldığı gözlenmiştir. SL'ların yanal kök oluşumu ve kök tüylerinin uzaması üzerindeki etkisi SL'ların kök gelişiminin düzenlenmede büyüme koşullarına yanıtta rol oynayabileceğini gözlemlemiştir.

Ermiş Kaya (2012) yaptığı çalışmada, buğday (*Triticum aestivum* L. cv. Dağdaş, ES-14) fidelerinde tuz, tuz-spermin (spm) ve tuz-spermidin (spmd) etkileşimleri incelenmiştir. Kök, sürgün boyu ve kök, sürgün kuru ağırlığı, klorofil a (kla), klorofil b (klb), toplam klorofil (kla+b) ve karotenoid miktarı, CAT ve GR antioksidan enzim aktiviteleri ve tuz, tuz+poliamin etkileşimlerinde çalışan MYB73, ERF1 ve SRG genlerinin ifadesi belirlenmiştir. Dağdaş ve ES-14 buğday çeşitlerinde kontrol grubuna kıyasla tuz uygulanan gruplarda tuzluluğun kök ve sürgün gelişimini olumsuz yönde etkilediği gözlenmiştir. Yine tuzluluğun etkisiyle birlikte kla, klb ve toplam klorofil miktarlarında da bir azalma meydana gelmiştir. Pigment miktarlarının sadece tuz uygulanan fidelerde tuz+poliamin uygulanan fidelere göre bir miktar artış gösterdiği belirlenmiştir. CAT ve GR aktivitelerinde ise tuz stresine bağlı olarak kontrole göre artışlar meydana gelmiştir. Dağdaş ve ES-14 fidelerine tuz+poliamin uygulamaları ile tuz uygulaması CAT ve GR enzim aktivitesini arttırmıştır. Gen verilerimiz incelendiğinde ise tuz stresine bağlı olarak kontrole göre tuz uygulamalarında MYB, SRG ve ERF gen miktarlarında artış meydana geldiği görülmüştür. Her iki çeşit ve yapılan uygulamalar göz önüne alındığında buğday fidelerinde en fazla gen ifadesinin MYB en az gen ifadesinin ise SRG olduğu tespit edilmiştir. Tuz+spm ve tuz+spd uygulamaları Dağdaş çeşitinde her 3 genin ifadesini yalnızca tuz uygulamalarına göre arttırmasına rağmen ES-14 çeşitinde gen ifadelerinde bir miktar azalma belirlenmiştir.

Naderi ve ark. (2014) yaptığı çalışmada, SOD, POX, CAT, GR ve APX gibi antioksidan enzimlerin davranışsal tepkileri üzerine ozmotik stresin etkilerini değerlendirmek için laboratuvar koşullarında üç grup buğday genotipi (toleranslı, orta düzeyde ve duyarlı) ve PEG (kontrol, hafif ve şiddetli) ile indüklenen üç ozmotik stres seviyesinin uygulandığı bir

deney tasarlamışlardır. Şiddetli stres, kontrol grubuna göre POX, CAT, GR ve APX aktiviteleri önemli ölçüde arttırdığı saptanmıştır. SOD aktivitesinde kontrol uygulamasına kıyasla hafif stres önemli ölçüde artış gözlenmiştir. En yüksek enzimatik aktivite, hemen hemen tüm izozimler ve enzimler için şiddetli stres koşulları altında toleranslı gruba ait olduğu gözlenmiştir. Antioksidan enzimler arasında, APX aktivitesi şiddetli stres durumunda büyük ölçüde arttığı gözlenmiştir. Buğday fidelerinin hasar derecesi genotip ve ozmotik stresin şiddetine bağlı olduğu görülmüştür.

Qiu ve ark. (2014) yaptığı çalışmada, JA ön uygulaması ile tuz stresinin baskısını hafifletmeye çalışmışlardır. 2 mM JA yaprak uygulaması 3 gün boyunca buğday fidelerine yapılmış, ardından fidelere 150 mM NaCl uygulaması yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, tuz stresinin bitki boyu, kök uzunluğu, sürgün kuru ağırlığı, kök kuru ağırlığı, glutatyon (GSH), klb ve karotenoid (Car) miktarı ile SOD aktivitesini önemli ölçüde azalttığı; POD, CAT, APX, malondialdehit (MDA), H₂O₂ ve O₂^{-*} miktarını arttırdığı belirlenmiştir. Bununla birlikte, JA ön uygulamasının MDA ve H₂O₂ konsantrasyonunu, O₂^{-*} üretim hızını ve SOD, POD, CAT ve APX'in transkript seviyelerini ve aktivitelerini arttırarak tuz stres toleransını önemli ölçüde arttırmıştır. Sonuç olarak JA ön uygulamasının, antioksidan enzimlerin aktivitelerini ve tuz stresi nedeniyle oluşan aşırı ROT seviyesini azaltmak için antioksidanların konsantrasyonunu artırarak tuz stresi hasarından buğday fidelerinin etkili bir şekilde koruyabileceği ve tuzdan etkilenen topraklarda buğday yetiştiriciliği için pratik bir uygulama olduğu savunulmuştur.

Yediyıldız (2015) yaptığı çalışmada, strese duyarlı (Atay) ve strese dirençli (Bayraktar) buğday çeşitlerinde tuz stresinin oluşturduğu antioksidan enzimlerin aktivitelerinin etkileri incelenmiştir. Tohumlar üç gün boyunca çimlenmeye bırakılmıştır. Çimlenmenin ardından 3 gün süreyle 1 mM trehaloz (Tre) uygulaması yapılmış ve ardından 5 gün boyunca tuz (200 mM NaCl) stresi uygulanmıştır. MDA miktarı, prolin miktarı ve antioksidan enzimlerden SOD, CAT, APX, GR ve glutatyon-s-transferaz (GST) aktiviteleri ölçülmüştür. Her iki çeşitte de tuz stresi antioksidan enzimlerin, prolinin ve MDA'nın seviyelerini artırdığı görülmüştür. Stresle birlikte dışarıdan Tre uygulaması antioksidan enzimlerin, prolinin ve MDA'nın seviyelerinde çeşitli şekillerde azalmalara neden olduğu belirlenmiştir. Kontrole göre antioksidan enzimlerden CAT, GST ve SOD seviyelerinde duyarlı ve dirençli çeşitler arasında farklı değerlerin oluştuğu tespit edilmiştir. Tre'nin bitkide biriktirilerek ozmotik düzenleyici olarak görev aldığını, strese ve oksijen radikallerine karşı korumayı sağladığı görülmüştür.

Demirbaş ve ark. (2015) soya fidelerine yaptıkları GR24 ön uygulamasıyla bir haftalık tuz stresi sonrasında bitkilerin MDA seviyesi, bağıl su içeriği (BSİ), stoma iletkenliği ve spesifik yaprak alanında (SLA) meydana gelen değişimleri belirlemiştir. Tuz stresinin MDA seviyesini arttırırken BSİ ve stoma iletkenliğini baskıladığı, SLA değerinde değişime neden olmadığı belirlenmiştir. 10 µM GR24 ön uygulamasının tuz stresinin oluşturduğu hasarı azaltarak fidelerde iyileşmeye neden olduğu saptanmıştır.

Şereflioğlu ve Dinler (2015) yaptıkları çalışmada, iki haftalık soya fasulyesi (*Glycine max* L.) yapraklarına 1 gün ara ile 3 kez (2,5 mM) ön alfa-tokoferol uygulaması yapılmış ve daha sonra 3 gün süre ile (200 mM) NaCl konsantrasyonuna maruz bırakılmıştır. Uygulama yapılan örneklerde MDA, H₂O₂, kalsiyum (Ca⁺⁺) ve fosfor (P) iyon miktarları ile antioksidan enzimler olan SOD, APX, GST, POX enzim ve izoenzim aktivitelerinin yanında içsel oksin (IAA) düzeyi tespit edilmiştir. Soya köklerine uygulanan tuz stresi SOD, APX ve GST enzim aktivitelerini azalttığı, POX aktivitesi artırdığı gözlenmiştir. Tuz stresi altında yapılan alfa-tokoferol uygulaması ise yalnız tuz stresi uygulamasına göre SOD enzim aktivitesini azaltmış; POX ve GST aktivitelerinde artışa neden olmuş ve APX aktivitesini değiştirmemiştir. Bu sonuç, dışarıdan uygulanan alfa-tokoferolün köklerde H₂O₂ ve MDA miktarlarını azalttığı dikkate alındığında, tuz stresinin oluşturduğu oksidatif hasarı hem bazı antioksidan enzimlerin görevlerini üstlenerek hem de uyarıcı etki yaparak iyileştirdiğini ortaya koymuştur. Ayrıca, tuz stresi altında yapraklara yapılan alfa-tokoferol uygulamasının köklerde içsel IAA düzeylerini uarması, Ca⁺⁺ ve P iyonlarının miktarlarını arttırması, yapraklardan köklere iletilmek üzere sinyal görevi üstlendiğini belirlemiştir.

Önay ve ark. (2016) buğday tohumlarına 15 dk süreli uyguladıkları 20 µM GR24'ün tuz stresinin çimlenme oranı ve süresi üzerinde yarattığı baskıyı ortadan kaldırdığını saptamıştır. 60 dk 20 µM GR24 uygulamasının ise kök gelişimi üzerine pozitif yönde etki ettiğini saptamışlardır.

Shahbaz ve Kausar (2016) yaptığı çalışmada, tuzlu koşullar altında buğday tohumuna yapılan SL (GR24) ön uygulamasının rolünü araştırmak amacıyla iki buğday çeşidine (S-24 ve PARI-73) ait tohumlara dört farklı konsantrasyonda GR24 (su (0); 0,001; 0,01 ve 0.1 mg L⁻¹) 16 saat süre ile uygulanmıştır. Tuz uygulaması Hoagland besin çözeltisi ile birlikte iki farklı konsantrasyonda (kontrol ve 150 mM NaCl) gerçekleştirilmiştir. GR24 ön uygulamasının fidelerin yaş ve kuru ağırlık ile kök uzunluğu üzerinde önemli bir etki göstermediği belirlenmiştir. Her iki buğday çeşidinin net CO₂ asimilasyon miktarı GR24

uygulamasına bağlı olarak artmıştır. Tuz uygulaması, kök Na konsantrasyonunu önemli lde artışına, gövde ve köklerde K iyonlarının ise azalmasına neden olmuştur. Genel olarak, S-24 eşidi büyüme parametreleri ve fotosentetik verim temelinde GR24 n uygulamasına daha iyi performans göstermiştir.

Küçükkarakaş (2017) yaptığı çalışmada, tohumlara ekim öncesi yapılan H₂O₂ n uygulamasının (0, 50, 100 µM), Mikham-2002 ve Tatlıcak-97 genotiplerinin tuz stresi koşullarına olan tolerans seviyesini arttırmayı amaçlanmıştır. Petri kabı denemesinde H₂O₂ n uygulamasının çimlenme dönemindeki etkisi, saksı denemesinde ise ekim ncesi H₂O₂ n 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 TBARS, BSİ ve H₂O₂ 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 µM H₂O₂ n uygulamasının bu baskıyı ortadan kaldırdığı gözlemlenmiştir. Tatlıcak-97 eşidinin Mikham-2002 çeşidine göre H₂O₂ n uygulamasına daha iyi bir yanıt oluşturduğu saptanmıştır. Tatlıcak-97 eşidinin tuz stresi koşullarına karşı Mikham-2002 çeşidine oranla Petri kabı ve saksı denemesi sonuçlarına göre daha toleranslı olduğu saptanmıştır.

Tüfekçi ve ark. (2017) yaptığı çalışmada, tohumluk laboratuvarında ekim öncesi farklı uygulamalarının bazı ekmeklik buğday çeşitlerinin çimlenme özellikleri ile fide gelişimi üzerine etkilerini araştırılmıştır. Çalışmada tohumlara yapılan uygulamalarda, GA₃, KCl, PEG, KH₂PO₄ ve ALBİT kullanılmıştır. Çalışmada, Kate A-1, Hanlı, Pamukova 97, Tahirova 2000, Averio, Gnen, Pehlivan, Adelaide ve Golia ekmeklik buğday eşitleri kullanılmıştır. Araştırma sonucuna bakıldığında tohum n uygulamalarının çimlenme hızı, çimlenme gücü ve kök sayısı özellikleri üzerine istatistiksel olarak farklı etkide bulunmadıkları, fide boyu ve kök uzunluğu bakımından ise farklı etkilerde buldukları tespit edilmiştir. En uzun fide boyu 8,85 cm ile KCl uygulamasından, en yüksek kök uzunluğu ise sırasıyla 11,06 cm ve 11,04 cm ile ALBİT ve KCl uygulamasından elde edilmiştir.

Demirbaş ve Balkan (2018) yaptıkları çalışmada, tritikale tohumlarına hidrojen peroksit (H₂O₂) n uygulaması (0, 50 ve 100 µM) yaparak çeşitli tuz konsantrasyonlarda (0, 50 ve 100 mM NaCl) fide gelişim dönemindeki morfolojik ve fizyolojik değişimler

saptanmıştır. Bu amaçla, ülkemizde yaygın olarak yetiştirilen 4 tritikale çeşidi (Karma-2000, Presto-2000, Tatlıcak-97 ve Mikham-2002) materyal olarak kullanılmış; iki yapraklı döneme gelen fidelerde tuz stresi uygulamasını izleyen 0. ve 14. günlerdeki bitki büyüme değerleri, klorofil içeriği (SPAD), stoma sayısı (adet), stoma eni (μ) ve boyu (μ) ile yaprak su kayıp oranı (%) incelenmiştir. Yapılan gözlem ve ölçümler sonucunda, tuz stresindeki artışın tüm morfolojik parametreleri baskıladığı belirlenerek; 50 μ M'lık H_2O_2 ön uygulamasının, erken fide gelişimi dönemindeki tuz stresinin baskılayıcı yöndeki etkisini azaltabileceği sonucuna varılmıştır. İncelenen morfolojik parametreler yönünden Tatlıcak-97 ve Presto-2000 çeşitleri öne çıkmış; denemeye alınan çeşitlerde stoma sayısı dışında kalan fizyolojik özellikler bakımından farklı tepkiler alınmıştır. Sonuç olarak, toprak tuzluluğuna orta düzeyde toleranslı olan tritikale tohumlarına yapılan H_2O_2 ön uygulamasının, incelenen morfolojik ve fizyolojik parametrelerde iyileşmeye ve tuzlu ortam koşullarına olan toleransın artışına katkı yaptığı söylenebilir.

Gök Özel (2018) yaptığı çalışmada, kum zambağı bitkisine yüksek tuzlu ortam şartlarına maruz kalmadan önce yapılan strigolakton (SL) uygulamasıyla tuzluluğa karşı olan tolerans seviyesinin artırılmasında antioksidan enzimlerin işlevinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Strigolaktonun sentetik formu olan GR24 farklı konsantrasyonlarda (0, 10, 20 μ M) 28 günlük fidelere (1 ml/fide) spreyleme ile uygulanmıştır. GR24 uygulamasından 1 hafta sonra (35 günlük fidelere) tuz uygulaması 0, 150, 300 mM NaCl Hoagland besin çözeltisi içinde çözdürülerek yapılmıştır. Tuz stresi uygulamasından 10 gün sonra hasat edilen kum zambağı fidelerinin morfolojisi, CAT, POX ve SOD aktivitesi ve bu enzimlerin izoenzim seviyeleri, H_2O_2 ve TBARS içeriklerinde meydana gelen değişimler saptanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, GR24 ön uygulamasının kum zambağı bitkilerinin tuzlu ortam şartlarında antioksidan savunma sistemini uyararak tolerans seviyesini arttırabilme potansiyeli olduğu saptanmıştır.

Panuccia ve ark. (2018) yaptığı çalışmada, hidro-priming ve bio-priming (*Rosmarinus officinalis* L. ve *Artemisia* yaprak ekstraktlarının) uygulamalarının 100 mM NaCl stresi altında mısır tohumlarının çimlenme ve fide gelişimi üzerine etkileri araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, hem hidro hem de biyo-priming uygulamalarının mısır tohumlarında çimlenme yüzdesini ve çimlenme endekslerini arttırdığı gösterilmiştir. *Rosmarinus* ekstraktlarının antioksidan sistemin güçlendirilmesinde ve tuz stresi koşulunda daha yüksek bir fotosentetik verimin sürdürülmesinde etkili olduğu bulunmuştur.

Kırkışla (2018) yaptığı çalışmada, duman solüsyonunun hem normal hem de tuz stresi altında yetiştirilen buğday tohumlarının üzerine etkileri araştırılmıştır. Buğday tohumları tuz, duman solüsyonu ve tuz + duman solüsyonu içeren ortamlarda 7 gün süresince imlendirmeye alınmıştır. Fidelerin H₂O₂, MDA, prolin, kl a, kl b, Car miktarı ve antioksidan enzim (SOD, CAT, POD ve APX) aktiviteleri belirlenmiştir. Duman solüsyonunun tuz stresinin azalttığı çimlenme ve fide gelişiminde iyileştirici etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Tuz stresiyle prolin, H₂O₂ ve MDA değerleri artmış, uygulanan duman solüsyonu ile prolin değerı kök dokusunda, H₂O₂ sürgün ve kök dokusunda, MDA miktarı ise yalnız sürgün dokusunda azalma göstermiştir. Ayrıca, uygulanan tuz stresiyle klorofil içerikleri ve karetenoid miktarları azalırken duman solüsyonu uygulamalarında kısmen artmıştır. Tuz stresi uygulanan buğday bitkisinde SOD ve CAT enzim aktiviteleri azalırken, POD ve APX aktivitesi artmıştır. Bununla beraber, duman solüsyonu uygulaması SOD ve CAT enzim aktivitesini arttırmış, POD ve APX enzim aktivitelerini genelde azaltmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, duman solüsyonu uygulamasının buğday bitkisinde tuz stresiyle oluşan hasarı kısmen azalttığı ifade edilmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Bitkisel Materyal

Yapılan bu tez çalışmasında, Sultan-95 (duyarlı) ve Tosunbey (dayanıklı) ekmeklik buğday çeşitleri bitkisel materyal olarak kullanılmıştır.

Sultan-95, Eskişehir Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından 1995 yılında tescil edilmiş ekmeklik buğday çeşididir. Başak tipi beyaz ve kılçıklıdır. Tane görünümü beyaz ve yumuşaktır. Geççi ve kışlık özelliktedir. Sulama ve gübrelemeye tepkisi çok iyidir. Yatmaya dayanıklı, kardeşlenme kapasitesi ve sap verimi yüksektir (Anonim 2018).

Tosunbey, 2004 yılında Ankara Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü tarafından tescil edilmiş ekmeklik buğday çeşididir. Kılçıklı, beyaz başaklı ve beyaz tanelidir. Başaktaki tane sayısı oldukça yüksek, sağlam saplı ve orta boyludur. Soğuğa, kurağa ve yatmaya dayanıklı, gübreye tepkisi iyi olan bir çeşittir (Anonim 2018).

3.2. Bitkilerin Yetiştirilmesi

Çimlendirme denemesine ait olan bitki yetiştirme işlemleri Petri kaplarında (9 cm çaplı), saksı denemesine ait olan bitki yetiştirme çalışmaları ise 13 cm derinlikli 1,5 L hacimli saksılarda Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü Bitki Yetiştirme Odasında $250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ışık içeren 16 saat fotoperiyotta, $25\pm 2^\circ\text{C}/15\pm 2^\circ\text{C}$ (gündüz/gece) sıcaklıkta, % 60 ± 5 nemli ortam koşullarında gerçekleştirilmiştir.

3.2.1. Yüzey sterilizasyonu

Tohumların yüzeysel sterilizasyonu için aktijen çözeltisi kullanılmıştır. Tohumlar %10'luk aktijen içinde 2 dk bekletilmiştir. Ardından iki defa steril saf suda 3'er dk bekletilip ardından süzgeç yardımıyla süzülerek yüzeysel sterilizasyon işlemi tamamlanmıştır.

3.2.2. GR24 ön uygulama

Tosunbey ve Sultan-95 buğday çeşitleri ile yapılan ön çalışma sonuçlarına göre ön uygulama işlemi için $20 \mu\text{M}$ GR24'ün 60 dk süreyle uygulanmasına karar verilmiştir (Önay ve ark. 2016). Tohumlara 0 (saf su) ve $20 \mu\text{M}$ GR24 60 dk süre ile uygulandıktan sonra ekimi gerçekleştirilmiştir.

3.2.3. Petri kabı denemesi

Yüzeysel sterilizasyon işlemi ve GR24 ön uygulaması yapılan tohumların, 0-200-300 mM NaCl çözeltisi ile nemlendirilen Petri kaplarına ekimi yapılmıştır. Her Petri kabına 20'şer tohum konulmuştur. Petri kabı denemesi, çeşitler ana parselleri, tuz konsantrasyonları alt parselleri ve GR24 ön uygulaması da alt-alt parselleri oluşturacak şekilde bölünen bölünmüş parseller deneme desenine göre 3 tekrarlamalı olarak yürütülmüştür.

Tohumların kökçükleri 2 mm uzunluğuna ulaştığında tohumlar çimlenmiş olarak kabul edilmiştir. Ortalama çimlenme süresi (gün) Ellis ve Roberts (1980)'e göre; " $OCS = \frac{\sum(fx)}{\sum f}$ " formülü ile belirlenmiştir. Formülde; "f" sayım günündeki çimlenen tohum sayısını, "x" sayım yapılan gün sayısını ifade etmektedir. Çimlenme oranı (%) sekiz gün sonunda Petri kaplarında çimlenen tohumlar sayılmış ve çimlenme oranları belirlenmiştir. Morfolojik parametreler için her Petri kabından tesadüfi olarak 5 fide seçimi yapılmıştır. Fidelerin kök sayısı, gövde ve kök uzunluğu, gövde yaş ve kuru ağırlığı, kök yaş ve kuru ağırlıkları belirlenmiştir. Kök sayısı, bitkilerin kökleri sayılarak ortalamaları alınmış ve adet olarak belirlenmiştir. Fidelerin kök ve gövde uzunluğu, bitkilerin kök tacı ve en uzun yaprakların arasında kalan kısmı cetvel yardımı ile ölçülerek mm olarak belirlenmiştir. Kök ve gövde yaş ağırlığı, bitkilerin kökleri kök tacından kesilmesinin ardından hassas terazide tartılarak mg olarak belirlenmiştir. Yaş ağırlıkları alınan bitkiler etüvde 70°C' de 48 saat kurutulduktan sonra hassas terazide tartılmış, ortalamaları alınarak kök ve gövde kuru ağırlıkları mg olarak belirlenmiştir.

3.2.4. Saksı denemesi

Saksı denemesinde; tohumlara tuz stresi (0, 200, 300 mM NaCl) altında kuru ekim (KE), suda ekim (SE), GR24 ön uygulamalı ekim (GRE) (0, 20µM GR24) konsantrasyonlardaki ön denemeler gerçekleştirilmiştir. Tohumlar, yıkanmış perlit bulunan saksılara, her saksıya 20 tohum olacak şekilde ekilmiştir Bitkiler tam kontrollü bitki büyütme odasında yetismeye alınmıştır. Fideler 2 yapraklı döneme gelene kadar %50 Hoagland besin çözeltisi ile haftada bir kez sulanmıştır. 2 yapraklı döneme gelen fideler, farklı konsantrasyonlardaki tuz (0, 200, 300 mM NaCl) içeren %100'lük Hoagland besin çözeltisi ile 150 ml/saksı olacak şekilde haftada bir kez sulanmıştır. Saksı denemesi, çeşitler ana parselleri, tuz konsantrasyonları alt parselleri ve GR24 ön uygulaması da alt-alt parselleri oluşturacak şekilde bölünen bölünmüş parseller deneme desenine göre 3 tekrarlamalı olarak yürütülmüştür. Fidelerin morfolojik parametreleri için her saksıdan tesadüf olarak 5 bitki

alınmıştır. Fidelerin gövde ve kök uzunlukları, gövde yaş ve kuru ağırlıkları, kök yaş ve kuru ağırlıkları Petri denemesinde açıklandığı gibi belirlenmiştir.

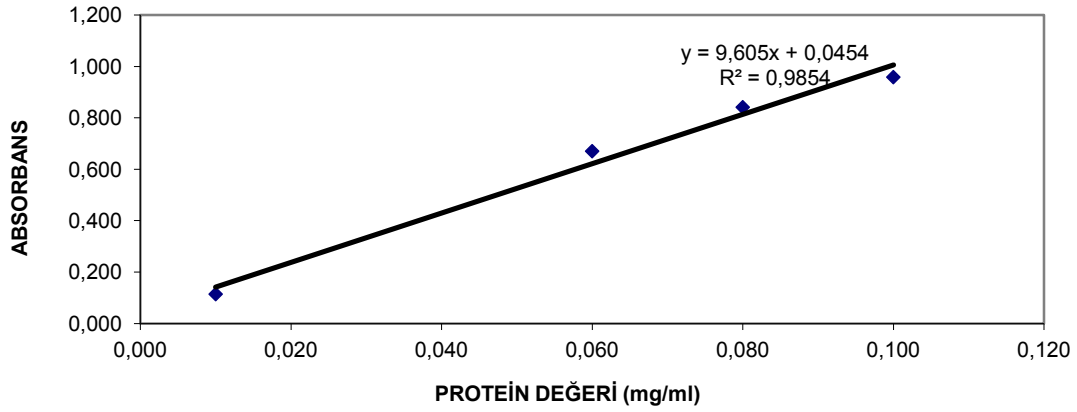


Şekil 3. 1. Saksıya tohum ekim basamakları ve Sultan-95 ve Tosunbey çeşidinin 14. günde KE, SE ve GRE elde edilen görüntüler

3.3. Bitki Analiz Yöntemleri

3.3.1. Toplam protein miktarının belirlenmesi

Toplam protein miktarı Bradford (1976)'a göre belirlenmiştir. 0,5 g bitki örneği 1 mM EDTA.Na₂ ve % 2 polivinilpolipirrolidon (PVPP) içeren 1 ml 50 mM sodyum fosfat (Na-P) tamponunda (pH 7,8) homojenize edilmiştir. Elde edilen özütler +4°C' de 14000 rpm' de 30 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj edilen özütlerin süpernatant kısmı toplam protein miktarının belirlenmesi sırasında kullanılmıştır. Hazırlanan örnekler spektrofotometrede okunmak için küvetlere aktarma işlemleri yapılmıştır. Okutma işlemi 595 nm dalga boyunda yapılmıştır. Bitki örneklerinin protein içeriğinin belirlenmesi sırasında Bovine Serum Albumin (BSA) kullanılarak protein standart grafiği (Şekil 3.1) oluşturularak grafik üzerinden hesaplamalar yapılmıştır. Spektrometrik ölçümler Mecasys Optizen POP UV-VIS marka cihaz ile yapılmıştır. Belirlenen protein miktarı (mg doku⁻¹) enzim aktivitelerinin hesaplaması sırasında kullanılmıştır.



Şekil 3. 2. Protein standart grafiği

3.3.2. Süperoksit dismutaz (SOD, E.C. 1.15.1.1) aktivitesinin belirlenmesi

SOD enzim aktivitesi, Beauchamp ve Fridovich (1971) ve Giannipolities ve Ries (1977)'e göre belirlenmiştir. 0,5 g bitki örneği, 1mM EDTANa₂.2H₂O içeren 50 mM Sodyum Fosfat tamponu (Na-P pH: 7,8) ile homojenizasyon yapılmıştır. Homojenizasyon işlemi bittikten sonra +4°C'de 13000 rpm 30 dk santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Analiz sırasında kullanılan reaksiyon karışımında 50 mM Sodyum Fosfat tamponu (50 mM Na-P), 1 mM NBT, 0,2 mM Riboflavin, 0.1 M L-Metiyonin ve 0,01 M EDTA.Na₂ bulunmaktadır. Farklı konsantrasyonlardaki süpernatant ve reaksiyon karışımı 300 µmol m⁻² s⁻¹ ışıklı 25°C' de 10 dk süresince gerçekleştirilen reaksiyon sonucunda renk değişimi meydana gelmektedir. Bu değişimler Mecasys Optizen Pop spektrofotometre cihazında 560 nm dalga boyunda ölçülmesiyle belirlenmiştir. Spesifik enzim aktivitesi, enzim ünitesi mg protein⁻¹ g yaş ağırlık⁻¹ olarak belirlenmiştir.

3.3.3. Askorbat peroksidaz (APX, E.C. 1.11.1.11) aktivitesinin belirlenmesi

APX enziminin aktivitesi, Nakano ve Asada (1981)' in yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. 0,5 g bitki örneği; 2 mM ASC, 1mM EDTANa₂.2H₂O içeren 50 mM Na-P tamponu ile homojenizasyon yapılmıştır. Kullanılan reaksiyon karışımında 50 mM Na-P tamponu (pH: 7,0), 5 mM Askorbat çözeltisi, 1 mM EDTA.Na₂ ve H₂O₂ çözeltisi bulunmaktadır. Süpernatant ve reaksiyon karışımı 1,5 dk boyunca spektrofotometre cihazında 290 nm'de ölçümü izlenmiştir. Mecasys Optizen Pop spektrofotometre cihazı kullanılmıştır. Spesifik enzim aktivitesi, enzim ünitesi mg protein⁻¹ yaş ağırlık⁻¹ olarak belirlenmiştir.

3.3.4. Glutasyon redüktaz (GR, E.C. 1,6.4.2) aktivitesinin belirlenmesi

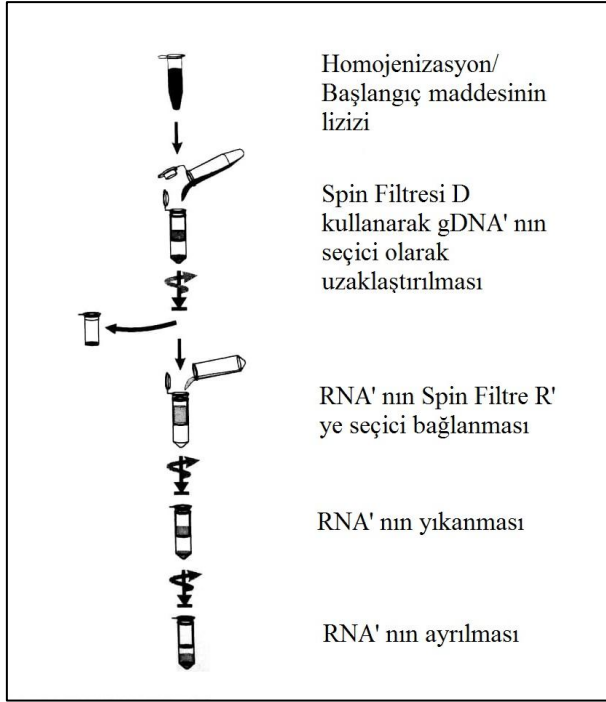
GR enziminin aktivitesi, Foyer ve Halliwell (1976)'in yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. 0,5 g bitki örneği kullanılmıştır. Kullanılan reaksiyon karışımında 25 mM Na-P tamponu (pH: 7,8), GSSG tamponu ve NADPNa₄ tamponu bulunmaktadır. Süpernatant ve reaksiyon karışımı 1,5 dk boyunca spektrofotometre cihazında 340 nm'de ölçümü izlenmiştir. Mecasys Optizen Pop spektrofotometre cihazı kullanılmıştır. 1 enzim ünitesi, dakikada okside olan glutasyon ($\mu\text{mol ml}^{-1}$) miktarıdır. Spesifik enzim aktivitesi, enzim ünitesi mg protein⁻¹ yaş ağırlık⁻¹ olarak belirlenmiştir.

3.3.5. Antioksidan enzimleri kodlayan genlerin ifadelerinin belirlenmesi

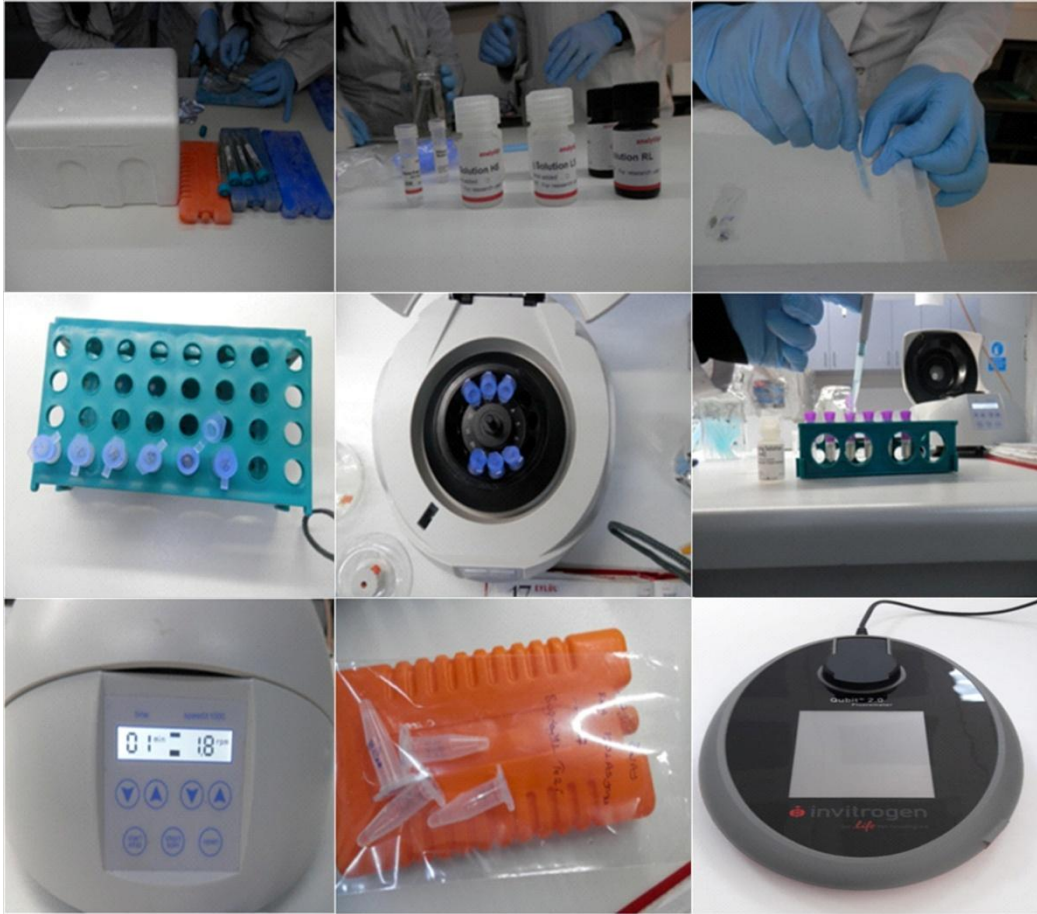
SOD, APX ve GR enzimlerinin ifadeleri kantitatif PCR yöntemiyle saptanmıştır. Gruplar arasındaki değişimler, internal kontrol geni olarak Actin geni kullanılarak relatif kantitasyon yöntemiyle tespit edilmiştir. İlk olarak bitki dokularından toplam RNA izolasyonları gerçekleştirildi, RNA'lardan komplementer DNA (cDNA) sentezlenerek, komplementer DNA'lardan PCR ile gen ifadeleri saptanmıştır. SOD enzimini kodlayan *Cu/Zn-SOD*, *Fe-SOD* ve *Mn-SOD* (Wang ve ark. 2014), APX enzimini kodlayan *cAPXI*, *cAPXII*, *tAPX* (Seçenji ve ark. 2010) ve GR enzimini kodlayan *cGR* ve *chlGR* (Seçenji ve ark. 2010) ile *actin* (Wang ve ark. 2014) genlerinin ifade seviyeleri belirlenmiştir.

3.3.6. RNA izolasyonu ve RNA miktarının hesaplanması

Sultan-95 ve Tosunbey bitki yapraklarından alınan örnekler RNA izolasyonu için İnnuSPEED Tissue RNA Kit'i kullanılmıştır. RNA izolasyonu, kittede yer alan protokole uygun gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.3). İzolasyon için 20 mg örnek kullanılmıştır. Eppendorf tüpü içine alınan bitki örnekleri sıvı azot içinde homojenizasyon çubukları yardımı ile parçalanmıştır. İzolasyon sonrasında elde edilen RNA'lar, eppendorf tüplerinde -20°C'de saklanmıştır.



Şekil 3. 3. RNA izolasyon prosedürü



Şekil 3. 4. RNA izolasyonu ve RNA ölçüm aşamaları

Bitki yapraklarından izole edilen toplam RNA miktarı Qubit® 2.0 Fluorometer (Invitrogen) (Şekil 3.4) aracılığı ile belirlenmiştir. Grafik oluşumu için 200 µl total hacimde standart hazırlanarak Qubit cihazında okutulmuştur. Örnek başına 1 µl boya ve 199 µl tampon karıştırılarak okuma sırasında kullanılmak üzere hazır edilmiştir. Okuma sırasında tüplere 198 µl tampon-boya karışımı ve 2 µl RNA konulup karışım 2 dk bekletildikten sonra Qubit cihazında okuma yapılmıştır. Elde edilen örneklerin absorbans değeri ve sabit RNA miktarının (10 µl) çarpımı, en küçük absorbans değerine oranı ile toplam RNA miktarı hesaplanmıştır.

3.3.7. Reverse transkripsiyon (RT) PCR

İzole edilen RNA'lar RNase free H₂O ile seyreltilmiştir. cDNA sentezi için her örnekten 2 µl RNA (10 µg/µl) kalıbı kullanılmıştır. RT-PCR işleminde 'High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kiti' kullanılmıştır. RT-PCR işleminde 2 µl RNA kalıbı, 2 µl 10xRT Buffer, 0,8 µl 25xmM AB dNTP(100 mM), 2 µl 10xRT Random Primer, 4,2 µl Nuclease-free H₂O, 1 µl Multiscribe kimyasalları kullanılmıştır. Applied Biosystem® Veriti® Thermal Cycler cihazı ile tablodaki sıcaklık ve döngü aşamaları kullanılarak yapılmıştır.

Çizelge 3. 1. RT-PCR aşamasında kullanılan sıcaklık ve döngü sayıları

Sıcaklık	25 °C	37 °C	85 °C	4 °C
Zaman	10dk	120 dk	5 dk	∞
Döngü	1	1	1	1

3.3.8. 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 (MgCl₂ içinde) ilgili genin primerleri, H₂O, dNTPs, Taq polimeraz ile hazırlanan karışım içerisinde PCR'da çoğaltılmıştır. PCR, Applied Biosystem® Veriti® Thermal Cycler cihazı Çizelge 3.2 kullanılan aşamalarla yapılmıştır.

Çizelge 3. 2. PCR'da kullanılan karışımlar

	Tampon 10X	dNTPs (10 mM)	Forward (F) Primer (6pm/ µL)	Reverse (R) Primer (6pm/ µL)	Taq DNA Polimeraz (5µ/ml)	H ₂ O
Miktar (µL)	0,625	0,125	0,25	0,25	0,025	3,975

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

Gen	Primer Dizisi	Bağlanma Sıcaklığı	Döngü	Kaynak
<i>TaActin</i>	F5'-CTA TCC TTC GTT TGG ACC TT-3' R5'-AGC GAG CTT CTC CTT TAT GT-3'	55	37	Li ve ark. (2013)
<i>Cu/Zn-SOD</i>	F5'-TGGGAGAGCGTTTGTGTTTC-3' R5'-GTCTTCCACCAGCATTTC-3'	95	40	Wang ve ark. (2014)
<i>Mn-SOD</i>	F5'-CGGACTACCTGACCAACATCT-3' R5'-AACTCAAGAGCGAGCCAAGT-3'	60	35	
<i>Fe-SOD</i>	F5'-CCTACTGGATGAGACGGAGAG-3' R5'-GGACGAGGACAACGACGAA-3'	54	30	
<i>cGR</i>	F5'-ATCCTTGGTGGTTCTGGTGT-3' R5'-CTTGGTCGTGTGCCTTTG-3'	60	36	Secenji ve ark. (2010)
<i>chlGR</i>	F5'-TTGGGCTGTTGGAGATGTTA-3' R5'-CTCTGGTTTGGTCGGTTCAT-3'	60	45	
<i>cAPX I</i>	F5'-CCTTCTTCAGTTGCCGACC-3' R5'-TCAGCAAAGAACGCATCCTC-3'	60	30	
<i>cAPX II</i>	F5'-AGGAGAGGTCTGGCTTTGAG-3' R5'-GTCAGCAGGGTTTTGTCATT-3'	56	35	
<i>tAPX</i>	F5'-GCCGAAGCCCATGCTAAACT-3' R5'-ATCACTCGCTGGTGTGGAT-3'	58	32	

Çizelge 3. 4. PCR'da genlerin çoğaltılması

Gen	Ön denatürasyon	Denatürasyon	Primerlerin bağlanması	Uzama safhası	Döngü sayısı	Son uzama safhası
<i>Actin</i>	95°C 2dk	95°C 30 sn	55°C 30 sn	72 °C 45sn	37	72°C 6dk
<i>Cu/ZnSOD</i>	95°C 30 sn	95°C 5sn	56°C 30 sn	72°C 1dk	36	72°C 1dk
<i>MnSOD</i>	95°C 10dk	95°C 15sn	60°C 1dk	72°C 1dk	35	72°C 1dk
<i>FeSOD</i>	95°C 10dk	95°C 15 sn	54°C 1dk	72°C 1dk	30	72°C 1dk
<i>cGR</i>	95°C 10dk	95°C 15 sn	60°C 1dk	72°C 1dk	36	72°C 1dk
<i>chlGR</i>	95°C 10dk	95°C 15 sn	60°C 1dk	72°C 1dk	45	72°C 1dk
<i>cAPXI</i>	95°C 10dk	95°C 15 sn	60°C 1dk	72°C 1dk	30	72°C 1dk
<i>cAPXII</i>	95°C 10dk	95°C 15 sn	56°C 1dk	72°C 1dk	35	72°C 1dk
<i>tAPX</i>	95°C 10dk	95°C 15 sn	58°C 1dk	72°C 1dk	32	72°C 1dk

3.3.9. Bağlı gen ifade düzeyinin belirlenmesi

PCR' da çoğaltılan gen ürünü her örnek için, içinde "bromfenolblue" bulunan yükleme tamponuyla birlikte 7 µl olacak şekilde %1.5' lik agaroz jele yüklenmiş ve elektroforez işlemi, 100 volt elektrik akımında 30 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 saptanmış ve ilgili genin bağlı gen ifadesi, referans genin (*actin*) bant ışık yoğunluğuna oranlanarak hesaplanmıştır.

3.4. İstatistiksel Analiz

Bu tez çalışmasında elde edilen morfolojik ve biyokimyasal verilerde bölünen bölünmüş parseller deneme desenine göre SPSS 18 istatistik paket programında tek yönlü varyans analizi (ONE-WAY ANOVA) yapılmıştır. Ortalamalar arasındaki farkların istatistiki anlamda önemlilikleri $P \leq 0.05$ düzeyinde Tukey testi ile belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar ortalama \pm standart hataları içerecek şekilde grafiklerde gösterilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Petri Denemesine Ait Morfolojik Parametreler

Tosunbey ve Sultan-95 çeşitlerinin çimlenme ve erken fide gelişimini incelemek için Petri kaplarında 0, 20 µM GR24 ön uygulama ve 0, 200, 300 mM NaCl içeren koşullarda uygulama yapılmıştır.

4.1.1. Çimlenme süresinde meydana gelen değişimler

SE grubunda yapılan 200 ve 300 mM tuz uygulamasında Sultan-95 çeşidinin çimlenme süresi sırasıyla % 1,14 azalma ve % 40,12 artış; Tosunbey çeşidinde ise % 53,23 ve % 118,88 artış meydana gelmiştir.

GRE grubunda yapılan 200 ve 300 mM tuz uygulamasında Sultan-95 çeşidinin çimlenme süresi sırasıyla % 30,55 ve % 90,89 artış; Tosunbey çeşidinde ise %53,40 ve %106,55 artış gözlenmiştir.

Bu çalışmada, yapılan tuz uygulamasının Sultan-95 çeşidinde çimlenme süresi SE ve GRE grubunda sırasıyla %19,49 ve %60,72 artış; Tosunbey çeşidinde çimlenme süresi ise %86,06 ve %79,97 artış olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4. 1. Petri denemesinde çimlenme süresine ait değişimler (gün)

Çeşit	Çimlenme Süresi (gün)			Çeşit ortalaması
	Tuz konsantrasyonu (mM NaCl)	0 µM GR24	20 µM GR24	
Tosunbey	0	1,32a	1,48ab	2,17
	200	2,02a-d	2,27b-e	
	300	2,88d-g	3,06e-g	
Sultan-95	0	2,38c-f	1,69abc	2,53
	200	2,35b-f	2,21a-e	
	300	3,33g	3,23fg	
Tuz konsantrasyonu ortalaması		GR24 ortalaması		
0	1,72a	0	2,38	
200	2,21a	20	2,32	
300	3,13b			

Sonuçlar ortalama ± std hata şeklinde verilmiştir. Sonuçların yanındaki harfler (a-g) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

4.1.2. Çimlenme oranında meydana gelen değişimler

SE grubunda yapılan 200 ve 300 mM tuz uygulamasında Sultan-95 çeşidinin çimlenme oranında sırasıyla %14,29 ve %54,76 azalma; Tosunbey çeşidinde ise %3,33 ve %6,67 azalma meydana gelmiştir.

GRE grubunda yapılan 200 ve 300 mM tuz uygulamasında Sultan-95 çeşidinin çimlenme oranı sırasıyla %47,17 ve %66,04 azalma; Tosunbey çeşidinde ise %1,72 artış ve %18,97 azalma gözlenmiştir.

Bu çalışmada, yapılan tuz uygulamasının Sultan-95 çeşidinde çimlenme oranı SE ve GRE grubunda sırasıyla %34,52 ve %56,60 azalma; Tosunbey çeşidinde çimlenme oranı ise %5 ve %8,62 azalma olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4. 2. Petri denemesinde çimlenme oranına ait değişimler (%)

Çeşit	Çimlenme Oranı (%)			Çeşit ortalaması
	Tuz konsantrasyonu (mM NaCl)	0 µM GR24	20 µM GR24	
Tosunbey	0	100,00d	96,67d	93,89
	200	96,67d	98,33d	
	300	93,33cd	78,33a	
Sultan-95	0	70,00bcd	88,33cd	54,44
	200	60,00abc	46,67ab	
	300	31,67a	30,00a	
Tuz konsantrasyonu ortalaması		GR24 ortalaması		
0	88,75a	0	75,28	
200	75,42a	20	73,06	
300	58,33a			

Sonuçlar ortalama \pm std hata şeklinde verilmiştir. Sonuçların yanındaki harfler (a-d) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

4.1.3. Kök sayısında meydana gelen değişimler

SE grubunda yapılan 200 ve 300 mM tuz uygulamasında Sultan-95 çeşidinin kök sayıları sırasıyla %4,35 ve %28,65 azalma; Tosunbey çeşidinde ise %23,26 artış ve %18,60 azalma meydana gelmiştir.

GRE grubunda yapılan 200 ve 300 mM tuz uygulamasında Sultan-95 çeşidinin kök sayıları sırasıyla %4,44 artış ve %4,44 azalma; Tosunbey çeşidinde ise %33,33 artış ve %26,67 azalma gözlenmiştir.

Bu çalışmada, yapılan tuz uygulamasının Sultan-95 çeşidinde kök sayıları SE ve GRE grubunda sırasıyla %16,30 azalma ve %0 değişiklik olmadığı; Tosunbey çeşidinde kök sayıları ise %2,33 ve %3,33 artış olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4. 3. Petri denemesinde kök sayısında meydana gelen değişimler (adet)

Çeşit	Kök Sayısı (adet)			Çeşit ortalaması
	Tuz konsantrasyonu (mM NaCl)	0 µM GR24	20 µM GR24	
Tosunbey	0	4,78bc	5,00cd	4,98
	200	5,89de	6,67e	
	300	3,89a	3,67a	
Sultan-95	0	5,11cd	5,00cd	4,78
	200	4,89bcd	5,22cd	
	300	3,67a	4,78bc	
Tuz konsantrasyonu ortalaması		GR24 ortalaması		
0	4,97ab	0	4,70	
200	5,67b	20	5,06	
300	4,00a			

Sonuçlar ortalama \pm std hata şeklinde verilmiştir. Sonuçların yanındaki harfler (a-e) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

4.1.4. Gövde uzunluğunda meydana gelen değişimler

SE grubunda yapılan 200 ve 300 mM tuz uygulamasında Sultan-95 gövde uzunlukları sırasıyla %14,01 ve %94,90 azalma; Tosunbey çeşidinde ise %59,29 ve %100 azalma meydana gelmiştir.

GRE grubunda yapılan 200 ve 300 mM tuz uygulamasında Sultan-95 çeşidinin gövde uzunlukları sırasıyla %51,83 ve %89,69 azalma; Tosunbey çeşidinde ise %66,73 ve %99,10 azalma saptanmıştır.

Bu çalışmada, yapılan tuz uygulamasının Sultan-95 çeşidinde gövde uzunlukları SE ve GR24 grubunda sırasıyla %54,46 ve %70,76 azalma; Tosunbey çeşidinde gövde uzunlukları ise %79,65 ve %82,91 azalma olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4. 4. Petri denemesinde gövde uzunluğunda meydana gelen değişimler (cm)

Çeşit	Gövde Uzunluğu (cm)			Çeşit ortalaması
	Tuz konsantrasyonu (mM NaCl)	0 µM GR24	20 µM GR24	
Tosunbey	0	11,60e	12,32e	5,48
	200	4,72b	4,10b	
	300	0,00a	0,11a	
Sultan-95	0	8,72d	11,53e	5,82
	200	7,50cd	5,56bc	
	300	0,44a	1,19a	
Tuz konsantrasyonu ortalaması		GR24 ortalaması		
0	11,04c	0	5,50	
200	5,47b	20	5,80	
300	0,44a			

Sonuçlar ortalama \pm std hata şeklinde verilmiştir. Sonuçların yanındaki harfler (a-e) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

4.1.5. Kök uzunluğunda meydana gelen değişimler

SE grubunda yapılan 200 ve 300 mM tuz uygulamasında Sultan-95 kök uzunlukları sırasıyla %42,86 ve %84,78 azalma; Tosunbey çeşidinde ise %84,15 ve %92,07 azalma gözlenmiştir.

GRE grubunda yapılan 200 ve 300 mM tuz uygulamasında Sultan-95 çeşidinin kök uzunlukları sırasıyla %75,00 ve %89,77 azalma; Tosunbey çeşidinde ise %84,16 ve %92,04 azalma meydana gelmiştir.

Bu çalışmada, yapılan tuz uygulamasının Sultan-95 çeşidinde kök uzunlukları SE ve GR24 grubunda sırasıyla %63,82 ve %82,39 azalma; Tosunbey çeşidinde kök uzunlukları ise %88,11 ve %88,10 azalma saptanmıştır (Çizelge 4.5).

Çizelge 4. 5. Petri denemesinde kök uzunluğunda meydana gelen değişimler (cm)

Çeşit	Kök Uzunluğu (cm)			Çeşit ortalaması
	Tuz konsantrasyonu (mM NaCl)	0 µM GR24	20 µM GR24	
Tosunbey	0	13,18d	12,98d	5,40
	200	2,09a	2,06a	
	300	1,04a	1,03a	
Sultan-95	0	8,32c	9,78c	4,59
	200	4,76b	2,44ab	
	300	1,27a	1,00a	
Tuz konsantrasyonu ortalaması		GR24 ortalaması		
0	11,06b	0	5,11	
200	2,84a	20	4,88	
300	1,09a			

Sonuçlar ortalama \pm std hata şeklinde verilmiştir. Sonuçların yanındaki harfler (a-d) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

4.1.6. Gövde yaş ağırlığında meydana gelen değişimler

SE grubunda yapılan 200 ve 300 mM tuz uygulamasında Sultan-95 gövde yaş ağırlıkları sırasıyla %24,68 ve %93,51 azalma; Tosunbey çeşidinde ise %58,20 ve %100 azalma gözlenmiştir.

GRE grubunda yapılan 200 ve 300 mM tuz uygulamasında Sultan-95 çeşidinin gövde yaş ağırlıkları sırasıyla %57,40 ve %84,69 azalma; Tosunbey çeşidinde ise %65,72 ve %98,97 azalma meydana gelmiştir.

Bu çalışmada, yapılan tuz uygulamasının Sultan-95 çeşidinde gövde yaş ağırlıkları SE ve GR24 grubunda sırasıyla %59,09 ve %71,05 azalma; Tosunbey çeşidinde gövde yaş ağırlıkları ise %79,10 ve %82,34 azalma saptanmıştır (Çizelge 4.6).

Çizelge 4. 6. Petri denemesinde gövde yaş ağırlığında meydana gelen değişimler (mg)

Çeşit	Gövde Yaş Ağırlığı Uzunluğu (mg)			Çeşit ortalaması
	Tuz konsantrasyonu (mM NaCl)	0 µM GR24	20 µM GR24	
Tosunbey	0	81,33e	85,89e	38,59
	200	34,00bc	29,44bc	
	300	0,00a	0,89a	
Sultan-95	0	59,89d	87,11e	41,07
	200	45,11cd	37,11c	
	300	3,89a	13,33ab	
Tuz konsantrasyonu ortalaması		GR24 ortalaması		
0	78,56c	0	37,37	
200	36,42b	20	42,30	
300	4,53a			

Sonuçlar ortalama \pm std hata şeklinde verilmiştir. Sonuçların yanındaki harfler (a-e) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

4.1.7. Kök yaş ağırlığında meydana gelen değişimler

SE grubunda yapılan 200 ve 300 mM tuz uygulamasında Sultan-95 çeşidinin kök yaş ağırlıkları sırasıyla %36,87 ve %82,09 azalma; Tosunbey çeşidinde ise %60,89 ve %87,71 azalma meydana gelmiştir.

GRE grubunda yapılan 200 ve 300 mM tuz uygulamasında Sultan-95 çeşidinin kök yaş ağırlıkları sırasıyla %51,42 ve %76,55 azalma; Tosunbey çeşidinde ise %62,19 ve %85,05 azalma gözlenmiştir.

Bu çalışmada, yapılan tuz uygulamasının Sultan-95 çeşidinde kök yaş ağırlıkları SE ve GR24 grubunda sırasıyla %59,48 ve %63,99 azalma; Tosunbey çeşidinde kök yaş ağırlığı ise %74,30 ve %73,62 azalma olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.7).

Çizelge 4. 7. Petri denemesinde kök yaş ağırlığı meydana gelen değişimler (mg)

Çeşit	Kök Yaş Ağırlığı (mg)			
	Tuz konsantrasyonu (mM NaCl)	0 µM GR24	20 µM GR24	Çeşit ortalaması
Tosunbey	0	79,56de	88,44e	42,59
	200	31,11bc	33,44c	
	300	9,78a	13,22a	
Sultan-95	0	63,89d	66,33d	38,30
	200	40,33c	32,22bc	
	300	11,44a	15,56ab	
Tuz konsantrasyonu ortalaması		GR24 ortalaması		
0	74,56c	0	39,35	
200	34,28b	20	41,54	
300	12,5a			

Sonuçlar ortalama \pm std hata şeklinde verilmiştir. Sonuçların yanındaki harfler (a-e) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

4.1.8. Gövde kuru ağırlığında meydana gelen değişimler

SE grubunda yapılan 200 ve 300 mM tuz uygulamasında Sultan-95 gövde kuru ağırlıkları sırasıyla %13,07 ve %100 azalma; Tosunbey çeşidinde ise %39,98 ve %100 azalma gözlenmiştir.

GRE grubunda yapılan 200 ve 300 mM tuz uygulamasında Sultan-95 çeşidinin gövde kuru ağırlıkları sırasıyla %29,95 ve %100 azalma; Tosunbey çeşidinde ise %51,61 ve %100 azalma meydana gelmiştir.

Bu çalışmada, yapılan tuz uygulamasının Sultan-95 çeşidinde gövde kuru ağırlıkları ise SE ve GR24 grubunda sırasıyla %56,54 ve %64,98 azalma; Tosunbey çeşidinde kök sayıları ise %69,99 ve %75,80 azalma saptanmıştır (Çizelge 4.8).

Çizelge 4. 8. Petri denemesinde gövde kuru ağırlığında meydana gelen değişimler (mg)

Çeşit	Gövde Kuru Ağırlığı Uzunluğu (mg)			
	Tuz konsantrasyonu (mM NaCl)	0 µM GR24	20 µM GR24	Çeşit ortalaması
Tosunbey	0	10,48e	11,07e	5,53
	200	6,29bc	5,36b	
	300	0,00a	0,00a	
Sultan-95	0	7,99cd	9,76de	5,25
	200	6,94bc	6,83bc	
	300	0,00a	0,00a	
Tuz konsantrasyonu ortalaması		GR24 ortalaması		
0	9,82c	0	5,28	
200	6,36b	20	5,50	
300	0,00a			

Sonuçlar ortalama \pm std hata şeklinde verilmiştir. Sonuçların yanındaki harfler (a-e) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

4.1.9. Kök kuru ağırlığında meydana gelen değişimler

SE grubunda yapılan 200 ve 300 mM tuz uygulamasında Sultan-95 kök kuru ağırlıkları sırasıyla %31,09 ve %100 azalma; Tosunbey çeşidinde ise %63,42 ve %100 azalma gözlenmiştir.

GRE grubunda yapılan 200 ve 300 mM tuz uygulamasında Sultan-95 çeşidinin kök kuru ağırlıkları sırasıyla %46,70 ve %100 azalma; Tosunbey çeşidinde ise %53,22 ve %100 azalma meydana gelmiştir.

Bu çalışmada, yapılan tuz uygulamasının Sultan-95 çeşidinde kök kuru ağırlıkları SE ve GR24 grubunda sırasıyla %65,55 ve %73,35 azalma; Tosunbey çeşidinde kök kuru ağırlıkları ise %81,71 ve %76,61 azalma saptanmıştır (Çizelge 4.9).

Çizelge 4. 9. Petri denemesinde kök kuru ağırlığında meydana gelen değişimler (mg)

Çeşit	Kök Kuru Ağırlığı Uzunluğu (mg)			Çeşit ortalaması
	Tuz konsantrasyonu (mM NaCl)	0 µM GR24	20 µM GR24	
Tosunbey	0	10,51d	10,36d	4,93
	200	3,84b	4,84b	
	300	0,00a	0,00a	
Sultan-95	0	6,61c	7,76c	3,84
	200	4,56b	4,13b	
	300	0,00a	0,00a	
Tuz konsantrasyonu ortalaması		GR24 ortalaması		
0	8,81c	0	4,25	
200	4,34b	20	4,51	
300	0,00a			

Sonuçlar ortalama \pm std hata şeklinde verilmiştir. Sonuçların yanındaki harfler (a-d) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

4.2. Saksı Denemesine Ait Morfolojik Değişimler

4.2.1. Gövde uzunluğunda meydana gelen değişimler

KE grubunda 200 ve 300 mM NaCl uygulamasından 7 gün sonra Sultan-95 çeşidinin gövde uzunlukları sırasıyla %17,41 ve %9,07 azalma; Tosunbey çeşidinde ise aynı tuz uygulamasına maruz bırakılan fidelerin gövde uzunlukları %7,97 ve %1,39 azalma meydana gelmiştir. SE grubunda tuz uygulaması yapıldığı gövde uzunlukları sırasıyla Sultan-95 çeşidinde %2,97 ve %0,98 artış, Tosunbey çeşidinde ise %9,85 ve %10,19 azalma olduğu belirlenmiştir. GRE grubunda gövde uzunlukları Sultan-95 çeşidinde %5,86 ve %3,62 azalma, Tosunbey çeşidinde ise %6,36 ve %0,39 azalma meydana gelmiştir (Çizelge 4.10a).

KE grubunda 200 ve 300 mM NaCl uygulamasından 14 gün sonra Sultan-95 çeşidinin gövde uzunlukları sırasıyla %7,13 ve %5,70 azalma; Tosunbey çeşidinde ise aynı tuz uygulamasına maruz bırakılan fidelerin gövde uzunlukları %4,31 artış ve %3,26 azalma meydana gelmiştir. SE grubunda tuz uygulaması yapıldığı gövde uzunlukları sırasıyla Sultan-95 çeşidinde %3,91 ve %16,60 azalma, Tosunbey çeşidinde %0,72 ve %7,97 artış meydana gelmiştir. GRE grubunda gövde uzunlukları Sultan-95 çeşidinde %7,26 ve %13,86 azalma, Tosunbey çeşidinde ise %2,11 artış ve %2,35 azalma meydana geldiği belirlenmiştir (Çizelge 4.10b).

Bu çalışmada, yapılan tuz uygulamasının Sultan-95 çeşidinin gövde uzunlukları KE, SE ve GRE grubunda 7. günde sırasıyla %13,24 azalma, %1,89 artış ve %4,74 azalma ve 14. günde sırasıyla %6,42, %10,26 ve %10,56 azalma meydana geldiği belirlenmiştir. Tosunbey çeşidinde gövde uzunlukları KE, SE ve GRE grubunda 7. günde sırasıyla %4,68, %10,02 ve %3,38 azalma; 14. günde ise gövde uzunluklarının KE, SE ve GRE grubunda sırasıyla %0,52 ve %4,34 artış ve %0,12 azalma olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.10).

Çizelge 4. 10. Sultan-95 ve Tosunbey buğday çeşitlerinin NaCl uygulaması sonrası 7. (a) ve 14. (b) günlerdeki gövde uzunluklarında meydana gelen değişimler (cm)

7.gün (a)		Gövde Uzunluğu (cm)				Çeşit ortalaması
Çeşit	Tuz konsantrasyonu (mM NaCl)	Kuru Ekim	0 µM GR24	20 µM GR24		
Tosunbey	0	25,10a-e	25,9a-g	25,46a-g	24,46	
	200	23,10a	23,35a	23,84a		
	300	24,75a-d	23,26a	25,36a-f		
Sultan-95	0	28,55a-ı	24,38ab	27,64a-ı	25,83	
	200	23,58a	25,06a-e	26,02a-g		
	300	25,96a-g	24,62abc	26,64a-h		
Tuz konsantrasyonu ortalaması		GR24 ortalaması				
0	26,17a		KE	25,17a		
200	24,16a		0	24,43a		
300	25,10a		20	25,83a		

14.gün (b)		Gövde Uzunluğu (cm)				Çeşit ortalaması
Çeşit	Tuz konsantrasyonu (mM NaCl)	Kuru Ekim	0 µM GR24	20 µM GR24		
Tosunbey	0	30,08b-j	30,62c-j	32,3h-k	31,32	
	200	31,375f-k	30,84d-j	32,98ı-k		
	300	29,1a-i	33,06ı-k	31,54g-k		
Sultan-95	0	35,06ijk	37,34k	36,08jk	33,96	
	200	32,56h-k	35,88jk	33,46ı-k		
	300	33,06ı-k	31,14e-j	31,08e-j		
Tuz konsantrasyonu ortalaması		GR24 ortalaması				
0	33,58b		KE	31,87b		
200	32,85b		0	33,15b		
300	31,50b		20	32,91b		

Sonuçlar ortalama \pm std hata şeklinde verilmiştir. Sonuçların yanındaki harfler (a-k) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

4.2.2. Kök uzunluğunda meydana gelen değişimler

KE grubunda 200 ve 300 mM NaCl uygulamasından 7 gün sonra Sultan-95 çeşidinin kök uzunlukları sırasıyla %17,47 ve %20,00 artış; Tosunbey çeşidinde ise aynı tuz uygulamasına maruz bırakılan fidelerin kök uzunlukları %3,91 artış ve %6,64 azalma meydana gelmiştir. SE grubunda tuz uygulaması yapıldığı kök uzunlukları sırasıyla Sultan-95 çeşidinde %26,40 azalma ve %17,33 artış, Tosunbey çeşidinde %19,76 ve %20,72 artış meydana gelmiştir. GRE grubunda kök uzunlukları Sultan-95 çeşidinde 3,49 artış ve %2,89 azalma, Tosunbey çeşidinde ise %4,34 azalma ve %12,23 artış meydana geldiği belirlenmiştir (Çizelge 4.11a).

KE grubunda 200 ve 300 mM NaCl uygulamasından 14 gün sonra Sultan-95 çeşidinin kök uzunlukları sırasıyla %40,04 ve %34,05 artış; Tosunbey çeşidinde ise aynı tuz uygulamasına maruz bırakılan fidelerin kök uzunlukları %31,70 ve %3,63 artış meydana gelmiştir. SE grubunda tuz uygulaması yapıldığı kök uzunlukları sırasıyla Sultan-95 çeşidinde %28,38 ve %14,02 artış, Tosunbey çeşidinde %38,84 ve %61,00 artış meydana gelmiştir. GRE grubunda kök uzunlukları Sultan-95 çeşidinde %10,98 artış ve %6,43 azalma, Tosunbey çeşidinde ise %31,27 ve %14,88 azalma meydana geldiği belirlenmiştir (Çizelge 4.11b).

Bu çalışmada, yapılan tuz uygulamasının Sultan-95 çeşidinin kök uzunluklarının KE, SE ve GRE grubunda 7. günde sırasıyla %18,74 artış, %4,53 azalma ve %0,30 artış ve 14. günde sırasıyla %37,05, %21,20 ve %2,27 artış olduğu belirlenmiştir. Tosunbey çeşidinde kök uzunlukları KE, SE ve GRE grubunda 7. günde sırasıyla %1,36 azalma, %20,24 ve %3,95 artış; 14. günde ise kök uzunluklarının KE, SE ve GRE grubunda sırasıyla %17,67 ve %49,92 artış, %23,08 azalma olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.11).

Çizelge 4. 11. Sultan-95 ve Tosunbey buğday çeşitlerinin NaCl uygulaması sonrası 7. (a) ve 14. (b) günlerdeki kök uzunluklarında meydana gelen değişimler

7.gün (a)		Kök Uzunluğu (cm)			
Çeşit	Tuz konsantrasyonu (mM NaCl)	Kuru Ekim	0 µM GR24	20 µM GR24	Çeşit ortalaması
Tosunbey	0	16,20c-h	12,43a-e	14,06a-f	24,46
	200	16,83d-h	14,88a-g	13,45a-f	
	300	15,18a-g	15,00a-g	15,78b-h	
Sultan-95	0	9,5a	13,13a-e	12,23a-d	25,83
	200	11,16abc	9,66a	12,66a-e	
	300	11,4a-d	15,40b-h	11,88a-d	
Tuz konsantrasyonu ortalaması		GR24 ortalaması			
0	12,92a	KE	13,37a		
200	13,11a	0	13,42a		
300	14,10a	20	13,34a		

14.gün (b)		Kök Uzunluğu (cm)			
Çeşit	Tuz konsantrasyonu (mM NaCl)	Kuru Ekim	0 µM GR24	20 µM GR24	Çeşit ortalaması
Tosunbey	0	14,32a-g	12,95a-e	19,83gh	16,68
	200	18,86fgh	17,98e-h	13,63a-f	
	300	14,84a-g	20,85h	16,88d-h	
Sultan-95	0	11,18abc	11,7a-d	10,88abc	12,78
	200	15,65b-h	15,02a-g	12,08a-d	
	300	14,98a-g	13,34a-f	10,18ab	
Tuz konsantrasyonu ortalaması		GR24 ortalaması			
0	13,48a	KE	14,97a		
200	15,54a	0	15,31a		
300	15,18a	20	13,91a		

Sonuçlar ortalama \pm std hata şeklinde verilmiştir. Sonuçların yanındaki harfler (a-h) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

4.2.3. Gövde yaş ağırlığında meydana gelen değişimler

KE grubunda 200 ve 300 mM NaCl uygulamasından 7 gün sonra Sultan-95 çeşidinin gövde yaş ağırlıkları sırasıyla %20,65 ve %5,63 azalma; Tosunbey çeşidinde ise aynı tuz uygulamasına maruz bırakılan fidelerin gövde yaş ağırlıkları %11,52 ve %15,48 azalma meydana gelmiştir. SE grubunda tuz uygulaması yapıldığı gövde yaş ağırlıkları sırasıyla Sultan-95 çeşidinde %2,29 azalma ve %7,34 artış, Tosunbey çeşidinde %7,24 ve %7,24 azalma meydana gelmiştir. GRE grubunda gövde yaş ağırlıkları Sultan-95 çeşidinde %4,14 ve %7,86 azalma, Tosunbey çeşidinde ise %4,73 ve %0,82 azalma meydana geldiği belirlenmiştir (Çizelge 4.12a).

KE grubunda 200 ve 300 mM NaCl uygulamasından 14 gün sonra Sultan-95 çeşidinin gövde yaş ağırlıkları sırasıyla %20,80 ve %20,87 azalma; Tosunbey çeşidinde ise aynı tuz uygulamasına maruz bırakılan fidelerin gövde yaş ağırlıkları %19,29 ve %25,74 azalma

meydana gelmiştir. SE grubunda tuz uygulaması yapıldığı gövde yaş ağırlıkları sırasıyla Sultan-95 çeşidinde %17,02 ve %27,97 azalma, Tosunbey çeşidinde %24,13 ve %27,09 artış meydana gelmiştir. GRE grubunda gövde yaş ağırlıkları Sultan-95 çeşidinde %23,00 ve %33,00 azalma, Tosunbey çeşidinde ise %9,18 ve %15,38 azalma meydana geldiği belirlenmiştir (Çizelge 4.12b).

Bu çalışmada, yapılan tuz uygulamasının Sultan-95 çeşidinin gövde yaş ağırlıkları KE, SE ve GRE grubunda 7. günde sırasıyla %13,14 azalma, %2,52 artış ve %6,00 azalma ve 14. günde sırasıyla %20,83, %22,50 ve %28,00 azalma olduğu belirlenmiştir. Tosunbey çeşidinde gövde yaş ağırlıkları KE, SE ve GRE grubunda 7. günde sırasıyla %13,50, %7,24 ve %2,77 azalma; 14. günde ise gövde yaş ağırlıkları KE, SE ve GRE grubunda sırasıyla %22,52 azalma, %25,61 artış ve %12,28 azalma olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.12).

Çizelge 4. 12. Sultan-95 ve Tosunbey buğday çeşitlerinin NaCl uygulaması sonrası 7. (a) ve 14. (b) günlerdeki gövde yaş ağırlıklarında meydana gelen değişimler

7.gün (a)		Gövde Yaş Ağırlığı (mg)			
Çeşit	Tuz konsantrasyonu (mM NaCl)	Kuru Ekim	0 µM GR24	20 µM GR24	Çeşit ortalaması
Tosunbey	0	170,67b-g	150,50a-e	153,25a-e	149,65
	200	151,00a-e	139,60abc	146,00a-d	
	300	144,25a-d	139,60abc	152,00a-e	
Sultan-95	0	146,50a-d	130,80abc	145,00a-d	135,29
	200	116,25a	127,80ab	139,00abc	
	300	138,25abc	140,40abc	133,60abc	
Tuz konsantrasyonu ortalaması		GR24 ortalaması			
0	149,45ab	KE	144,49ab		
200	136,61a	0	138,12a		
300	141,35a	20	144,81ab		

14.gün (b)		Gövde Yaş Ağırlığı (mg)			
Çeşit	Tuz konsantrasyonu (mM NaCl)	Kuru Ekim	0 µM GR24	20 µM GR24	Çeşit ortalaması
Tosunbey	0	212,5fgh	172,00b-g	215,8fgh	193,37
	200	171,5b-g	213,5fgh	196,00d-h	
	300	157,8a-e	218,6fgh	182,6c-h	
Sultan-95	0	201,25e-h	233,8h	222,4gh	184,31
	200	159,4a-e	194,00d-h	171,25b-g	
	300	159,25a-e	168,4a-f	149,00a-e	
Tuz konsantrasyonu ortalaması		GR24 ortalaması			
0	209,63e	KE	176,95bc		
200	184,28cd	0	200,05c		
300	172,61bc	20	189,51c		

Sonuçlar ortalama \pm std hata şeklinde verilmiştir. Sonuçların yanındaki harfler (a-h) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

4.2.4. Kök yaş ağırlığında meydana gelen değişimler

KE grubunda 200 ve 300 mM NaCl uygulamasından 7 gün sonra Sultan-95 çeşidinin kök yaş ağırlığı sırasıyla %24,95 ve %1,4 azalma; Tosunbey çeşidinde ise aynı tuz uygulamasına maruz bırakılan fidelerin kök yaş ağırlığı sırasıyla %24,22 ve %28,55 artış meydana gelmiştir. SE grubunda tuz uygulaması yapıldığı kök yaş ağırlığı sırasıyla Sultan-95 çeşidinde %23,69 azalma ve %15,38 artış, Tosunbey çeşidinde %2,87 ve %14,04 artış meydana gelmiştir. GRE grubunda kök yaş ağırlığı Sultan-95 çeşidinde %69,89 ve %80,46 artış, Tosunbey çeşidinde ise %5,09 ve %0,82 artış meydana geldiği belirlenmiştir (Çizelge 4.13a).

KE grubunda 200 ve 300 mM NaCl uygulamasından 14 gün sonra Sultan-95 çeşidinin kök yaş ağırlığı sırasıyla %58,68 ve %53,73 artış; Tosunbey çeşidinde ise aynı tuz uygulamasına maruz bırakılan fidelerin kök yaş ağırlığı %88,52 ve %75,71 artış meydana gelmiştir. SE grubunda tuz uygulaması yapıldığı kök yaş ağırlığı sırasıyla Sultan-95 çeşidinde %22,69 ve %17,28 artış, Tosunbey çeşidinde %20,20 artış ve %13,56 azalma meydana gelmiştir. GRE grubunda kök yaş ağırlığı Sultan-95 çeşidinde %39,70 ve %32,53 artış, Tosunbey çeşidinde ise %19,84 ve %45,06 artış meydana geldiği belirlenmiştir (Çizelge 4.13b).

Bu çalışmada, yapılan tuz uygulamasının Sultan-95 çeşidinin kök yaş ağırlıkları KE, SE ve GRE grubunda 7. günde sırasıyla %13,19 ve %4,15 azalma ve %75,18 artış ve 14. günde sırasıyla %56,20, %19,98 ve %36,11 artış olduğu belirlenmiştir. Tosunbey çeşidinde kök yaş ağırlıkları KE, SE ve GRE grubunda 7. günde sırasıyla %26,38, %8,45 ve %2,96 artış; 14. günde ise kök yaş ağırlıkları KE, SE ve GRE grubunda sırasıyla %82,11, %3,32 ve %32,45 artış olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.13. Sultan-95 ve Tosunbey buğday çeşitlerinin NaCl uygulaması sonrası 7. (a) ve 14. (b) günlerdeki kök yaş ağırlıklarında meydana gelen

7.gün (a)		Kök Yaş Ağırlığı (mg)			
Çeşit	Tuz konsantrasyonu (mM NaCl)	Kuru Ekim	0 µM GR24	20 µM GR24	Çeşit ortalaması
Tosunbey	0	111,5b-f	111,5b-f	129,6b-f	131,46
	200	138,5d-h	138,5b-f	136,2c-h	
	300	143,33d-h	143,33d-h	130,67b-f	
Sultan-95	0	110,33b-f	113,75b-f	56,8a	98,83
	200	82,8ab	86,8abc	96,5a-d	
	300	108,75b-f	131,25b-f	102,5a-e	
Tuz konsantrasyonu ortalaması		GR24 ortalaması			
0	105,58a	KE	115,87a		
200	113,22a	0	120,86a		
300	126,64a	20	108,71a		

14.gün (b)		Kök Yaş Ağırlığı (mg)			
Çeşit	Tuz konsantrasyonu (mM NaCl)	Kuru Ekim	0 µM GR24	20 µM GR24	Çeşit ortalaması
Tosunbey	0	82,75ab	152,25e-h	128,5b-f	146,66
	200	156,00fgh	183,00gh	154,00fgh	
	300	145,4d-h	131,6b-f	186,4h	
Sultan-95	0	81,8ab	108,00b-f	82,75ab	112,50
	200	129,8b-f	132,5b-g	115,6b-f	
	300	125,75b-f	126,67b-f	109,67b-f	
Tuz konsantrasyonu ortalaması		GR24 ortalaması			
0	106,01a	KE	120,25a		
200	145,15a	0	139,00a		
300	137,58a	20	129,49a		

Sonuçlar ortalama ± std hata şeklinde verilmiştir. Sonuçların yanındaki harfler (a-h) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

4.2.5. Gövde kuru ağırlığında meydana gelen değişimler

KE grubunda 200 ve 300 mM NaCl uygulamasından 7 gün sonra Sultan-95 çeşidinin gövde kuru ağırlığı sırasıyla %13,96 azalma ve %0 değişme sabit; Tosunbey çeşidinde ise aynı tuz uygulamasına maruz bırakılan fidelerin gövde kuru ağırlığı sırasıyla %6,78 ve %8,02 artış meydana geldiği gözlenmiştir. SE grubunda tuz uygulaması yapıldığı gövde kuru ağırlığı sırasıyla Sultan-95 çeşidinde %15,15 ve %5,30 azalma, Tosunbey çeşidinde %10,17 ve %4,10 azalma meydana gelmiştir. GRE grubunda gövde kuru ağırlığı Sultan-95 çeşidinde %0,11 artış ve %1,93 azalma, Tosunbey çeşidinde ise %3,92 azalma ve %6,33 artış meydana geldiği belirlenmiştir (Çizelge 4.14a).

KE grubunda 200 ve 300 mM NaCl uygulamasından 14 gün sonra Sultan-95 çeşidinin gövde kuru ağırlığı sırasıyla %2,18 ve %4,95 artış; Tosunbey çeşidinde ise aynı tuz uygulamasına maruz bırakılan fidelerin gövde kuru ağırlığı %9,25 ve %11,38 azalma

meydana gelmiştir. SE grubunda tuz uygulaması yapıldığı gövde kuru ağırlığı sırasıyla Sultan-95 çeşidinde %2,98 ve %13,99 azalma, Tosunbey çeşidinde %3,88 ve %8,40 artış meydana gelmiştir. GRE grubunda gövde kuru ağırlığı Sultan-95 çeşidinde %8,64 ve %18,65 azalma, Tosunbey çeşidinde ise %8,89 ve %2,81 artış meydana geldiği belirlenmiştir (Çizelge 4.14b).

Bu çalışmada, yapılan tuz uygulamasının Sultan-95 çeşidinin gövde kuru ağırlığı KE, SE ve GRE grubunda 7. günde sırasıyla %6,98, %10,23, %0,91 azalma ve 14. günde sırasıyla %3,56 artış, %8,49 ve %13,64 azalma olduğu belirlenmiştir. Tosunbey çeşidinde gövde kuru ağırlığı KE, SE ve GRE grubunda 7. günde sırasıyla %7,40 artış, %7,14 azalma ve %1,20 artış; 14. günde ise kök yaş ağırlıkları KE, SE ve GRE grubunda sırasıyla %10,31 azalma, %6,14 ve %5,85 artış olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.14. Sultan-95 ve Tosunbey buğday çeşitlerinin NaCl uygulaması sonrası 7. (a) ve 14. (b) günlerdeki gövde kuru ağırlıklarında meydana gelen değişimler

7.gün (a)		Gövde Kuru Ağırlığı (mg)			
Çeşit	Tuz konsantrasyonu (mM NaCl)	Kuru Ekim	0 µM GR24	20 µM GR24	Çeşit ortalaması
Tosunbey	0	19,46a-f	21,44a-i	19,92a-g	20,31
	200	20,78a-ı	19,26a-f	19,14a-e	
	300	21,02a-ı	20,56a-h	21,18a-ı	
Sultan-95	0	17,875abc	19,80a-f	18,70a-d	18,03
	200	15,38a	16,80ab	18,72a-d	
	300	17,88abc	18,75a-d	18,34abc	
Tuz konsantrasyonu ortalaması		GR24 ortalaması			
0	19,53a	KE	18,73a		
200	18,35a	0	19,44a		
300	19,62a	20	19,33a		

14.gün (b)		Gövde Kuru Ağırlığı (mg)			
Çeşit	Tuz konsantrasyonu (mM NaCl)	Kuru Ekim	0 µM GR24	20 µM GR24	Çeşit ortalaması
Tosunbey	0	29,45j	26,55e-j	26,65f-j	27,58
	200	26,73f-j	27,58h-j	29,02j	
	300	26,10d-j	28,78ij	27,40h-j	
Sultan-95	0	23,44b-j	28,16ij	27,56h-j	25,21
	200	23,95b-j	27,32g-j	25,18c-j	
	300	24,60c-j	24,22b-j	22,42a-j	
Tuz konsantrasyonu ortalaması		GR24 ortalaması			
0	26,97b	KE	25,71b		
200	26,63b	0	27,10b		
300	25,59b	20	26,37b		

Sonuçlar ortalama ± std hata şeklinde verilmiştir. Sonuçların yanındaki harfler (a-j) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

4.2.6. Kök kuru ağırlığında meydana gelen değişimler

KE grubunda 200 ve 300 mM NaCl uygulamasından 7 gün sonra Sultan-95 çeşidinin kök kuru ağırlığı sırasıyla %9,77 ve %25,96 artış; Tosunbey çeşidinde ise aynı tuz uygulamasına maruz bırakılan fidelerin kök kuru ağırlıkları sırasıyla %6,73 artış ve %1,87 azalma olduğu belirlenmiştir. SE grubunda tuz uygulaması yapıldığı kök kuru ağırlıkları sırasıyla Sultan-95 çeşidinde %4,48 azalma ve %13,11 artış, Tosunbey çeşidinde %11,93 ve %15,91 artış meydana gelmiştir. GRE grubunda kök kuru ağırlığı Sultan-95 çeşidinde %5,56 ve %7,22 artış, Tosunbey çeşidinde ise %4,79 ve %5,94 artış meydana geldiği belirlenmiştir (Çizelge 4.15a).

KE grubunda 200 ve 300 mM NaCl uygulamasından 14 gün sonra Sultan-95 çeşidinin kök kuru ağırlığı sırasıyla %24,42 ve %22,05 artış; Tosunbey çeşidinde ise aynı tuz uygulamasına maruz bırakılan fidelerin kök kuru ağırlığı %36,17 ve %28,86 artış meydana gelmiştir. SE grubunda tuz uygulaması yapıldığı kök kuru ağırlığı sırasıyla Sultan-95 çeşidinde %26,33 ve %33,00 artış, Tosunbey çeşidinde %1,60 artış ve %20,55 azalma olduğu belirlenmiştir. GRE grubunda kök kuru ağırlığı Sultan-95 çeşidinde %15,63 ve %4,61 artış, Tosunbey çeşidinde ise %17,31 ve %26,39 artış meydana geldiği belirlenmiştir (Çizelge 4.15b).

Bu çalışmada, yapılan tuz uygulamasının Sultan-95 çeşidinin kök kuru ağırlığı KE, SE ve GRE grubunda 7. günde sırasıyla %17,87, %4,32, %6,39 artış ve 14. günde sırasıyla %23,23, %29,76 ve %10,12 artış olduğu belirlenmiştir. Tosunbey çeşidinde kök kuru ağırlığı KE, SE ve GRE grubunda 7. günde sırasıyla %2,43, %13,92 ve %5,36 artış; 14. günde ise kök kuru ağırlıkları KE, SE ve GRE grubunda sırasıyla %32,52 artış, %9,47 azalma ve %21,85 artış olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.15).

Çizelge 4.14. Sultan-95 ve Tosunbey buğday çeşitlerinin NaCl uygulaması sonrası 7. (a) ve 14. (b) günlerdeki kök kuru ağırlıklarında meydana gelen değişimler

7.gün		Kök Kuru Ağırlığı (mg)			
Çeşit	Tuz konsantrasyonu (mM NaCl)	Kuru Ekim	0 µM GR24	20 µM GR24	Çeşit ortalaması
Tosunbey	0	10,70a-g	10,56a-f	10,44a-e	11,08
	200	11,42b-h	11,82b-ı	10,94a-g	
	300	10,50a-f	12,24c-j	11,06a-g	
Sultan-95	0	7,78a	9,15abc	9,00abc	9,17
	200	8,54ab	8,74ab	9,50a-d	
	300	9,80a-d	10,35a-e	9,65a-d	
Tuz konsantrasyonu ortalaması		GR24 ortalaması			
0	9,61a	KE	9,79a		
200	10,16ab	0	10,48ab		
300	10,60ab	20	10,10a		

14.gün		Kök Kuru Ağırlığı (mg)			
Çeşit	Tuz konsantrasyonu (mM NaCl)	Kuru Ekim	0 µM GR24	20 µM GR24	Çeşit ortalaması
Tosunbey	0	10,74a-g	15,28ij	11,9b-i	13,67
	200	14,63h-j	15,525j	13,96g-j	
	300	13,84f-j	12,14e-j	15,04iij	
Sultan-95	0	9,28abc	10,18a-e	9,98a-d	11,19
	200	11,54b-h	12,86d-j	11,54b-h	
	300	11,32b-h	13,56e-j	10,44a-e	
Tuz konsantrasyonu ortalaması		GR24 ortalaması			
0	11,23abc	KE	11,89ab		
200	13,34c	0	13,26b		
300	12,72bc	20	12,14ab		

Sonuçlar ortalama \pm std hata şeklinde verilmiştir. Sonuçların yanındaki harfler (a-j) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

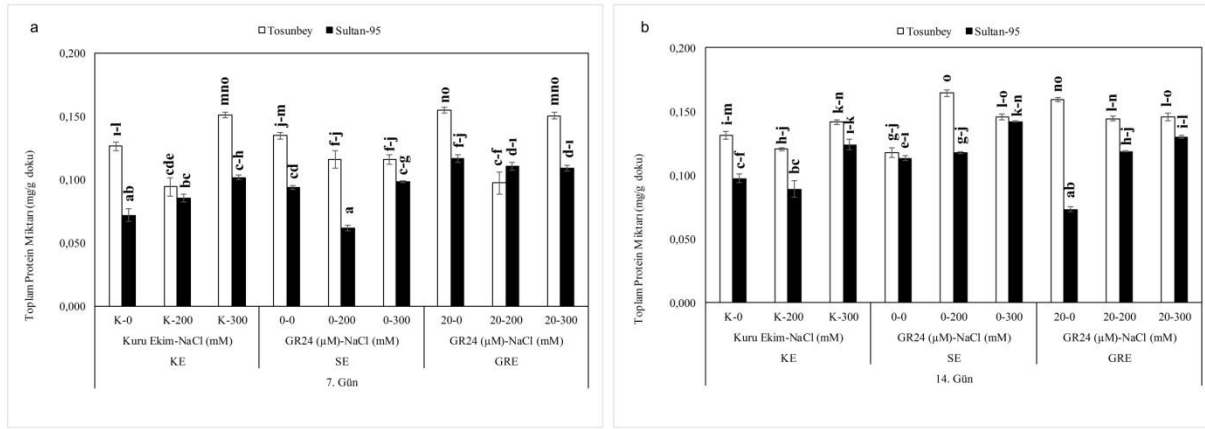
4.3. Saksı Denemesine ait Biyokimyasal Parametrelerde Meydana Gelen Değişimler

4.3.1. Toplam protein miktarında meydana gelen değişimler

KE grubunda 200 ve 300 mM NaCl uygulamasından 7 gün sonra Sultan-95 çeşidinin toplam protein miktarında sırasıyla %18,33 ve %41,47 artış; Tosunbey çeşidinde ise aynı tuz uygulamasına maruz bırakılan fidelerin toplam protein miktarında sırasıyla %25,37 azalma ve %19,39 artış meydana gelmiştir. SE grubunda tuz uygulaması yapıldığı toplam protein miktarında sırasıyla Sultan-95 çeşidinde %34,23 azalma ve %4,90 artış, Tosunbey çeşidinde %14,14 ve %14,02 azalma meydana gelmiştir. GRE grubunda toplam protein miktarında Sultan-95 çeşidinde %5,04 ve %6,54 azalma, Tosunbey çeşidinde ise %37,39 ve %3,00 azalma meydana geldiği belirlenmiştir (Şekil 4.1a).

KE grubunda 200 ve 300 mM NaCl uygulamasından 14 gün sonra Sultan-95 çeşidinin toplam protein miktarında sırasıyla %8,65 azalma ve %27,09 artış; Tosunbey çeşidinde ise aynı tuz uygulamasına maruz bırakılan fidelerin toplam protein miktarında %8,23 azalma ve %7,70 artış meydana gelmiştir. SE grubunda tuz uygulaması yapıldığı toplam protein miktarında sırasıyla Sultan-95 çeşidinde %3,84 ve %25,43 artış, Tosunbey çeşidinde %39,76 ve %23,70 artış meydana gelmiştir. GRE grubunda toplam protein miktarında Sultan-95 çeşidinde %62,62 ve %78,24 artış, Tosunbey çeşidinde ise %9,27 ve %8,46 azalma meydana geldiği belirlenmiştir (Şekil 4.1b).

Bu çalışmada, yapılan tuz uygulamasının Sultan-95 çeşidinin toplam protein miktarında KE, SE ve GRE grubunda 7. günde (sırasıyla %30,15 artış, %14,60 ve %5,79 azalma) baskılanmaya ve 14. günde (sırasıyla %9,22, %14,64, %70,13 artış) artışa neden olduğu belirlenmiştir. Tosunbey çeşidinde toplam protein miktarında KE, SE ve GRE grubunda 7. günde (%2,99, %14,08 ve %20,19 azalma) baskılanmaya neden olduğu belirlenmiştir. 14. günde ise KE grubunda toplam protein miktarında %0,26 azalma, SE %31,77 artış ve GRE grubunda ise %8,87 azalma olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Sultan-95 ve Tosunbey buğday çeşitlerinin NaCl uygulaması sonrası 7. (a) ve 14. (b) günlerdeki toplam protein miktarında meydana gelen değişimler

Sonuçlar ortalama \pm std hata şeklinde verilmiştir. Sonuçların yanındaki harfler (a-o) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

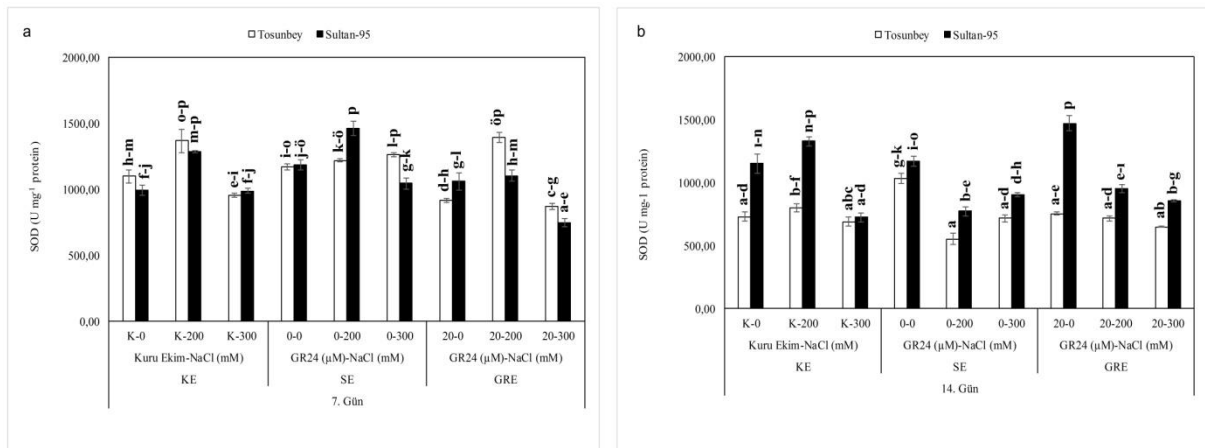
4.3.2. SOD aktivitesinde meydana gelen değişimler

KE grubunda 200 ve 300 mM NaCl uygulamasından 7 gün sonra Sultan-95 çeşidinin SOD aktivitesinde sırasıyla %29,48 artış ve %0,46 azalma; Tosunbey çeşidinde ise aynı tuz uygulamasına maruz bırakılan fidelerin SOD aktivitesinde %24,50 artış ve %12,84 azalma

meydana gelmiştir. SE grubunda tuz uygulaması yapıldığı SOD aktivitesinde sırasıyla Sultan-95 çeşidinde %23,53 artış ve %11,67 azalma, Tosunbey çeşidinde %4,16 ve %7,78 artış meydana gelmiştir. GRE grubunda SOD aktivitesinde Sultan-95 çeşidinde %3,38 artış ve %29,63 azalma, Tosunbey çeşidinde ise %52,16 artış ve %4,71 azalma meydana geldiği belirlenmiştir (Şekil 4.2a).

KE grubunda 200 ve 300 mM NaCl uygulamasından 14 gün sonra Sultan-95 çeşidinin SOD aktivitesinde sırasıyla %15,35 artış ve %0,46 azalma; Tosunbey çeşidinde ise aynı tuz uygulamasına maruz bırakılan fidelerin SOD aktivitesinde %9,56 artış ve %5,59 azalma meydana gelmiştir. SE grubunda tuz uygulaması yapıldığı SOD aktivitesinde sırasıyla Sultan-95 çeşidinde %34,04 ve %22,64 azalma, Tosunbey çeşidinde %46,74 ve %30,81 azalma meydana gelmiştir. GRE grubunda SOD aktivitesinde Sultan-95 çeşidinde %35,27 ve %41,75 azalma, Tosunbey çeşidinde ise %5,11 ve %13,94 azalma meydana geldiği belirlenmiştir (Şekil 4.2b).

Bu çalışmada, yapılan tuz uygulamasının Sultan-95 çeşidinin SOD aktivitesinde KE, SE ve GRE grubunda 7. günde (sırasıyla %14,51, %5,93 artış, %12,90 azalma) ve 14. günde (sırasıyla %10,93, %28,34, %38,51 azalma) baskılanmaya neden olduğu belirlenmiştir. Tosunbey çeşidinde SOD aktivitesinde 7. günde KE grubunda %5,83, SE grubunda %5,97 ve GRE grubunda %23,73 artış olduğu belirlenmiştir. 14. günde ise KE grubunda SOD aktivitesinde %1,98 artışa, SE %38,77 ve GRE grubunda ise %9,52 baskılanmaya neden olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Sultan-95 ve Tosunbey buğday çeşitlerinin NaCl uygulaması sonrası 7. (a) ve 14. (b) günlerdeki SOD aktivitesinde meydana gelen değişimler

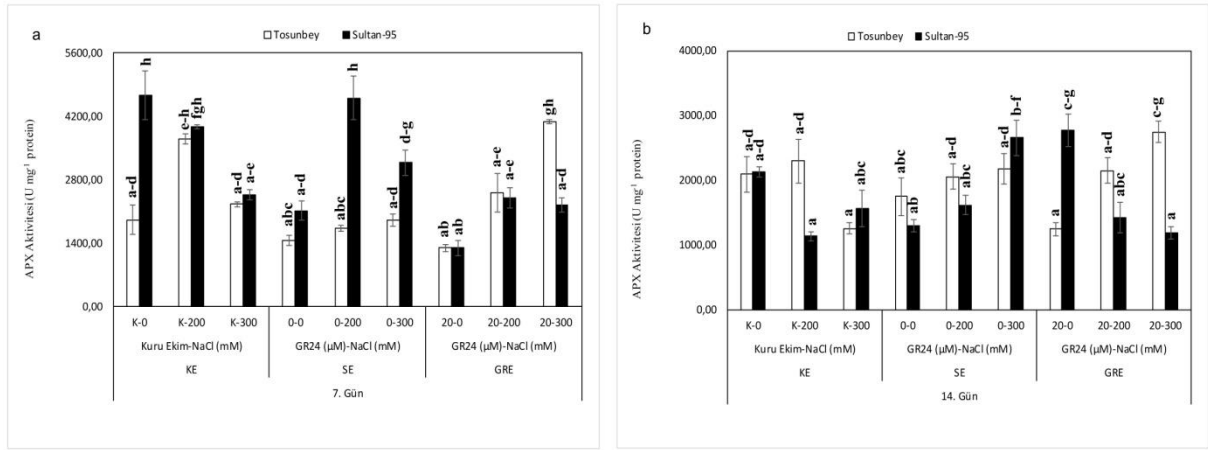
Sonuçlar ortalama \pm std hata şeklinde verilmiştir. Sonuçların yanındaki harfler (a-p) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

4.3.3. APX aktivitesinde meydana gelen değişimler

KE grubunda 200 ve 300 mM NaCl uygulamasından 7 gün sonra Sultan-95 çeşidinin APX aktivitesinde sırasıyla %15,04 ve %47,01 azalma; Tosunbey çeşidinde ise aynı tuz uygulamasına maruz bırakılan fidelerin APX aktivitesinde %93,37 ve %17,98 artış meydana gelmiştir. SE grubunda tuz uygulaması yapıldığı APX aktivitesinde sırasıyla Sultan-95 çeşidinde %117,24 ve %50,03 artış, Tosunbey çeşidinde %17,98 ve %30,34 artış meydana gelmiştir. GRE grubunda APX aktivitesinde Sultan-95 çeşidinde %85,63 ve %73,64 artış, Tosunbey çeşidinde ise %92,69 ve %213,04 artış meydana geldiği belirlenmiştir (Şekil 4.3a).

KE grubunda 200 ve 300 mM NaCl uygulamasından 14 gün sonra Sultan-95 çeşidinin APX aktivitesinde sırasıyla %46,55 ve %26,29 azalma; Tosunbey çeşidinde ise aynı tuz uygulamasına maruz bırakılan fidelerin APX aktivitesinde %9,83 artış ve %39,83 azalma meydana gelmiştir. SE grubunda tuz uygulaması yapıldığı APX aktivitesinde sırasıyla Sultan-95 çeşidinde %24,23 ve %104,32 artış, Tosunbey çeşidinde %17,61 ve %24,34 artış meydana gelmiştir. GRE grubunda APX aktivitesinde Sultan-95 çeşidinde %48,58 ve %57,06 azalma, Tosunbey çeşidinde ise %72,25 ve %119,89 artış meydana geldiği belirlenmiştir (Şekil 4.3b).

Bu çalışmada, yapılan tuz uygulamasının Sultan-95 çeşidinin APX aktivitesinde KE, SE ve GRE grubunda 7. günde (sırasıyla %31,03 azalma, %83,63 artış, %79,63 artış) artışa ve 14. günde (sırasıyla %36,42 azalma, %64,28 artış ve %52,82 azalma) baskılanmaya neden olduğu belirlenmiştir. Tosunbey çeşidinde APX aktivitesinde 7. Günde KE, SE ve GRE gruplarında (%55,68, %24,16 %152,8) artış olduğu belirlenmiştir. 14. günde ise KE grubunda APX aktivitesinde %15,00 azalma, SE ve GRE grubunda ise %20,98 ve %96,12 artışa neden olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Sultan-95 ve Tosunbey buğday çeşitlerinin NaCl uygulaması sonrası 7. (a) ve 14. (b) günlerdeki APX aktivitesinde meydana gelen değişimler

Sonuçlar ortalama \pm std hata şeklinde verilmiştir. Sonuçların yanındaki harfler (a-h) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

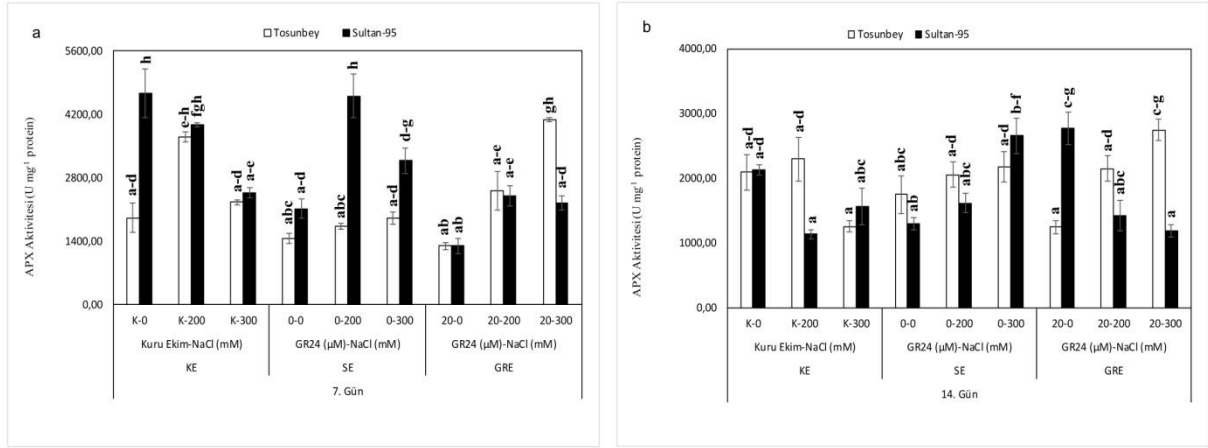
4.3.4. GR aktivitesinde meydana gelen değişimler

KE grubunda 200 ve 300 mM NaCl uygulamasından 7 gün sonra Sultan-95 çeşidinin GR aktivitesinde sırasıyla %12,21 ve %2,79 azalma; Tosunbey çeşidinde ise aynı tuz uygulamasına maruz bırakılan fidelerin GR aktivitesinde %75,38 ve %12,30 artış meydana gelmiştir. SE grubunda tuz uygulaması yapıldığı GR aktivitesinde sırasıyla Sultan-95 çeşidinde %157,42 ve %103,27 artış, Tosunbey çeşidinde %27,30 ve %44,83 artış meydana gelmiştir. GRE grubunda GR aktivitesinde Sultan-95 çeşidinde %94,20 ve %30,07 artış, Tosunbey çeşidinde ise %102,67 ve %74,07 artış meydana geldiği belirlenmiştir (Şekil 4.4a).

KE grubunda 200 ve 300 mM NaCl uygulamasından 14 gün sonra Sultan-95 çeşidinin GR aktivitesinde sırasıyla %6,75 artış ve %24,69 azalma; Tosunbey çeşidinde ise aynı tuz uygulamasına maruz bırakılan fidelerin GR aktivitesinde %22,31 ve %36,62 artış meydana gelmiştir. SE grubunda tuz uygulaması yapıldığı GR aktivitesinde sırasıyla Sultan-95 çeşidinde %19,83 ve %28,29 azalma, Tosunbey çeşidinde %8,55 azalma ve %11,06 artış meydana gelmiştir. GRE grubunda GR aktivitesinde Sultan-95 çeşidinde %5,08 ve %13,28 artış, Tosunbey çeşidinde ise %31,53 ve %33,55 artış meydana geldiği belirlenmiştir (Şekil 4.4b).

Bu çalışmada, yapılan tuz uygulamasının Sultan-95 çeşidinin GR aktivitesinde KE, SE ve GRE grubunda 7. günde sırasıyla %7,50 azalma, %130,34 ve %62,14 artış ve 14. günde sırasıyla %8,97 ve %24,06 azalma, %9,18 artışa neden olduğu belirlenmiştir. Tosunbey

çeşidinde GR aktivitesinde KE, SE ve GRE grubunda 7. günde sırasıyla %43,84, %36,07 ve %88,37 artışa; 14. günde ise GR aktivitesinde KE, SE ve GRE grubunda sırasıyla %29,47, %1,26 ve %32,54 artışa neden olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.4).



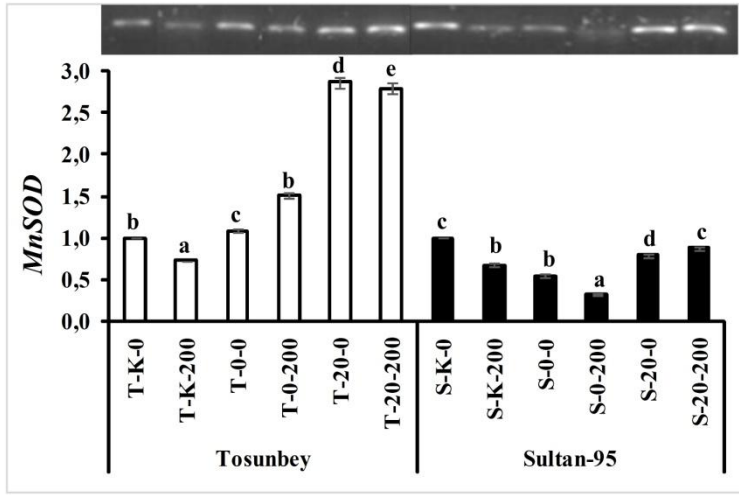
Şekil 4.4. Sultan-95 ve Tosunbey buğday çeşitlerinin NaCl uygulaması sonrası 7. (a) ve 14. (b) günlerdeki GR aktivitesinde meydana gelen değişimler

Sonuçlar ortalama \pm std hata şeklinde verilmiştir. Sonuçların yanındaki harfler (a-n) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

4. 5. Gen İfadesinde Meydana Gelen Değişimler

Morfolojik ve biyokimyasal parametreler değerlendirildiğinde, 7. gün 300 mM NaCl uygulaması ile 14. gün sonuçları gen ifadesi çalışmalarında değerlendirme dışı bırakılmış ve 7. gün K-0, K-200, 0-0, 0-200, 20-0 ve 20-200 grupları gen ifadesi çalışması için seçilmiştir.

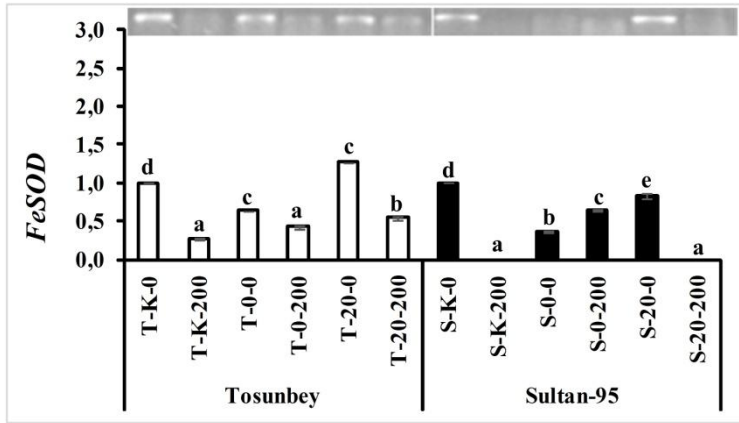
Sultan-95 çeşidinde K-0 grubuna göre *MnSOD* ifadesinin K-200, 0-0, 0-200, 20-0 ve 20-200 gruplarında sırasıyla %32,61; 44,98; 67,68; 20,97 ve 11,75 oranında azaldığı belirlenmiştir. Tosunbey çeşidinde ise gen ifadesinin K-200 hariç 0-0, 0-200, 20-0 ve 20-200 gruplarında sırasıyla %8,68; 51,20; 186,73 ve 179,48 oranında arttığı belirlenmiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Sultan-95 ve Tosunbey buğday çeşitlerinin *MnSOD* gen ifadesinde meydana gelen değişimler

Sonuçlar ortalama \pm std hata şeklinde verilmiştir. Sonuçların yanındaki harfler (a-e) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

Sultan-95 çeşidinde K-0 grubuna göre *FeSOD* ifadesinin K-200, 0-0, 0-200, 20-0 ve 20-200 gruplarında sırasıyla %100; 63,75; 36,03; 16,77 ve 100 oranında azaldığı saptanmıştır. Tosunbey çeşidinde ise gen ifadesinin 20-0 hariç K-200, 0-0, 0-200 ve 20-200 gruplarında sırasıyla %73,10; 36,35; 57,25 ve 45,84 oranında azaldığı saptanmıştır (Şekil 4.6).

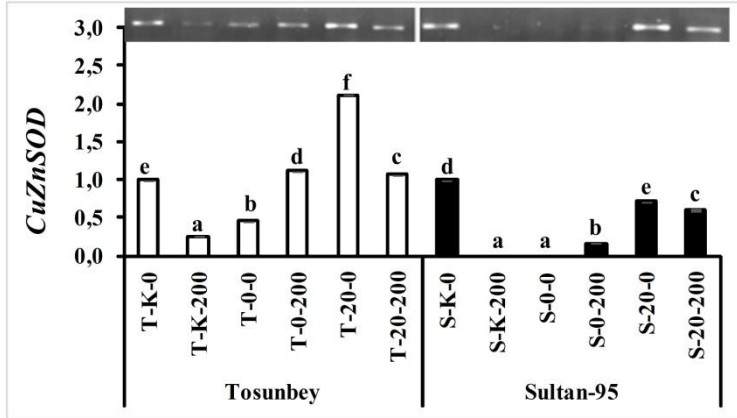


Şekil 4.6. Sultan-95 ve Tosunbey buğday çeşitlerinin *FeSOD* gen ifadesinde meydana gelen değişimler

Sonuçlar ortalama \pm std hata şeklinde verilmiştir. Sonuçların yanındaki harfler (a-e) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

Sultan-95 çeşidinde K-0 grubuna göre *CuZnSOD* ifadesinin K-200, 0-0, 0-200, 20-0 ve 20-200 gruplarında sırasıyla %100; 100; 84,30; 28,22 ve 3971 oranında azaldığı gözlemlenmiştir. Tosunbey çeşidinde ise gen ifadesinin K-200 ve 0-0 gruplarında sırasıyla

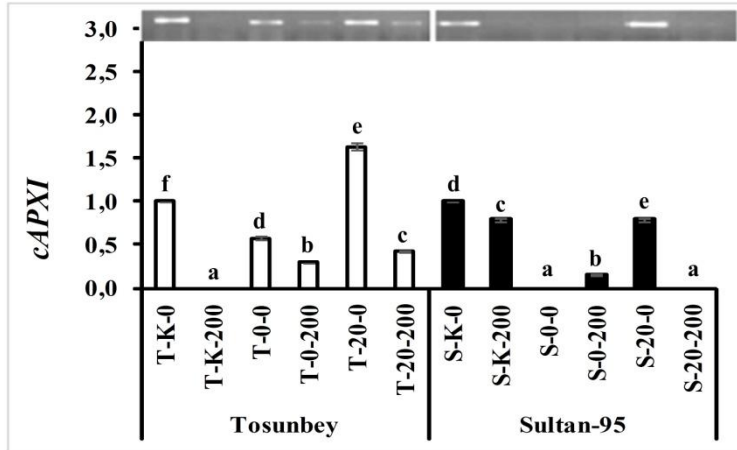
%74,24 ve 55,11 oranında azaldığı; 0-200, 20-0 ve 20-200 gruplarında ise %11,23; 111,42 ve 6,56 oranında arttığı gözlenmiştir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Sultan-95 ve Tosunbey buğday çeşitlerinin *CuZnSOD* gen ifadesinde meydana gelen değişimler

Sonuçlar ortalama \pm std hata şeklinde verilmiştir. Sonuçların yanındaki harfler (a-e) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

Sultan-95 çeşidinde K-0 grubuna göre *cAPXI* ifadesinin K-200,0-0, 0-200, 20-0 ve 20-200 gruplarında sırasıyla %20,14; 100; 84,17; 20,39 ve 100 oranında azaldığı belirlenmiştir. Tosunbey çeşidinde ise gen ifadesinin 20-0 hariç K-200, 0-0, 0-200 ve 20-200 gruplarında sırasıyla %100; 41,87; 70,74 ve 57,21 oranında azalma olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.8).

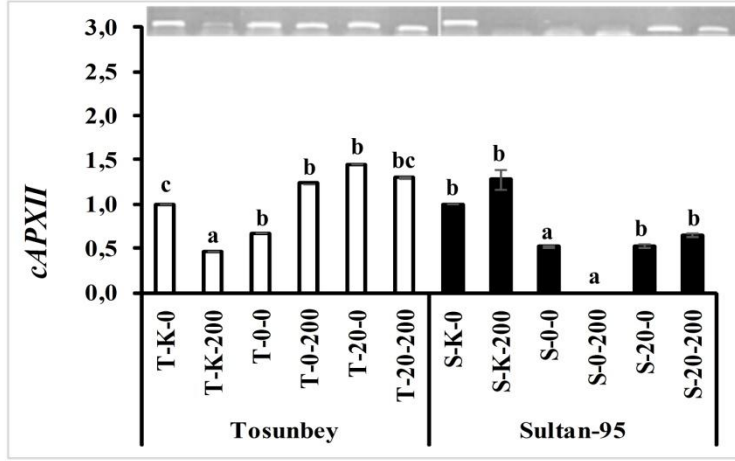


Şekil 4.8. Sultan-95 ve Tosunbey buğday çeşitlerinin *cAPXI* gen ifadesinde meydana gelen değişimler

Sonuçlar ortalama \pm std hata şeklinde verilmiştir. Sonuçların yanındaki harfler (a-e) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

Sultan-95 çeşidinde K-0 grubuna göre *cAPXII* ifadesinin K-200 hariç, 0-0, 0-200, 20-0 ve 20-200 gruplarında sırasıyla %48,55; 100; 46,89 ve 34,73 oranında azalma olduğu gözlenmiştir.

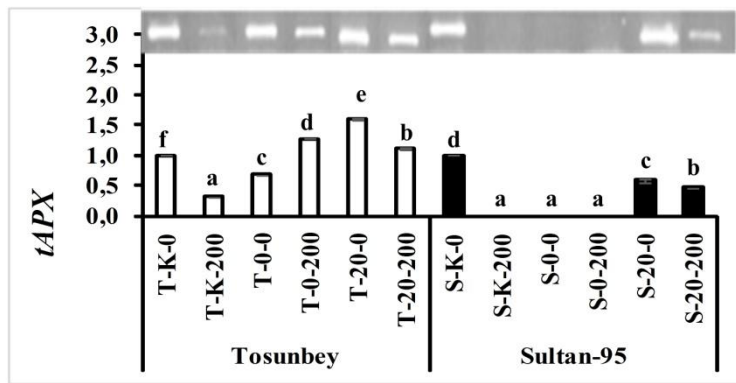
Tosunbey çeşidinde ise gen ifadesinin K-200 ve 0-0, gruplarında sırasıyla %53,20 ve 32,64 oranında azaldığı, 0-200, 20-0 ve 20-200 gruplarında ise %23,36; 45,54 ve 30,04 oranında artış olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. Sultan-95 ve Tosunbey buğday çeşitlerinin *cAPXII* gen ifadesinde meydana gelen değişimler

Sonuçlar ortalama ± std hata şeklinde verilmiştir. Sonuçların yanındaki harfler (a-c) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

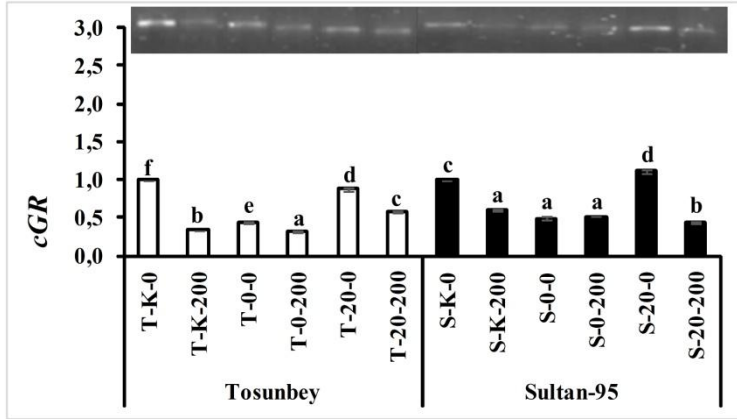
Sultan-95 çeşidinde K-0 grubuna göre *tAPX* ifadesinde K-200, 0-0, 0-200, 20-0 ve 20-200 gruplarında sırasıyla %100; 100; 100; 41,87 ve 53,88 oranında azalma olduğu saptanmıştır. Tosunbey çeşidinde ise gen ifadesinin K-200 ve 0-0 gruplarında sırasıyla %69,10 ve 30,10 oranında azaldığı; 0-200, 20-0 ve 20-200 gruplarında ise sırasıyla 27,70; 59,26 ve 11,34 oranında arttığı saptanmıştır (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. Sultan-95 ve Tosunbey buğday çeşitlerinin *tAPX* gen ifadesinde meydana gelen değişimler

Sonuçlar ortalama ± std hata şeklinde verilmiştir. Sonuçların yanındaki harfler (a-e) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

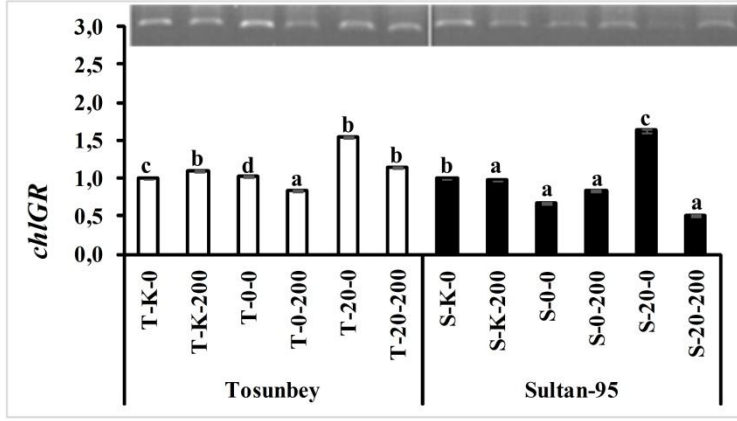
Sultan-95 çeşidinde K-0 grubuna göre *cGR* ifadesinde 20-0 hariç K-200, 0-0, 0-200 ve 20-200 gruplarında sırasıyla %40,03; 50,57; 48,99 ve 55,90 oranında azalma olduğu belirlenmiştir. Tosunbey çeşidinde ise gen ifadesinde K-200, 0-0, 0-200, 20-0 ve 20-200 gruplarında sırasıyla %65,95; 55,69; 67,72; 12,31 ve 43,07 oranında azalma olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Sultan-95 ve Tosunbey buğday çeşitlerinin *cGR* gen ifadesinde meydana gelen değişimler

Sonuçlar ortalama \pm std hata şeklinde verilmiştir. Sonuçların yanındaki harfler (a-f) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

Sultan-95 çeşidinde K-0 grubuna göre *chlGR* ifadesinde 20-0 hariç K-200, 0-0, 0-200 ve 20-200 gruplarında sırasıyla %2,49; 32,28; 15,93 ve 49,67 oranında azalma olduğu gözlenmiştir. Tosunbey çeşidinde ise gen ifadesinde 0-200 hariç K-200, 0-0, 20-0 ve 20-200 gruplarında sırasıyla %8,97; 2,50; 55,15 ve 14,18 oranında artış olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. Sultan-95 ve Tosunbey buğday çeşitlerinin *chlGR* gen ifadesinde meydana gelen değişimler

Sonuçlar ortalama \pm std hata şeklinde verilmiştir. Sonuçların yanındaki harfler (a-d) ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ifade etmektedir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez çalışmasında, ekim öncesi GR24 ön uygulaması yapılan Tosunbey ve Sultan-95 buğday çeşitlerinin tuz stresine karşı vermiş olduğu yanıtlar Askorbat-Glutatyon döngüsü temelinde belirlenmeye çalışılmıştır.

Petri denemesine ait morfolojik parametreler incelendiğinde yapılan tuz uygulamasının Sultan-95 ve Tosunbey çeşitlerinde çimlenme süresinin SE ve GRE gruplarında arttığı belirlenmiştir. Sultan-95 ve Tosunbey çeşitlerinde kök ve gövde uzunlukları, kök ve gövde yaş ağırlıkları, kök ve gövde kuru ağırlıkları ve çimlenme oranı SE ve GRE gruplarında baskılanma olduğu gözlenmiştir. Kök sayılarına bakıldığında yapılan tuz uygulamasının Sultan-95 çeşidinde SE grubunda azaldığı, GRE grubunda değişiklik olmadığı; Tosunbey çeşidinde artış olduğu belirlenmiştir. Suda bekletme veya strigolakton ön uygulamasının dayanıklı çeşidin kök sayısı hariç tüm değerlerde tuz uygulamasına karşı iyileştirici bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Bu sonuçlar buğdayda Önay ve ark. (2016)'nın yaptığı çalışma ve tritikalede Küçükkarakaş (2017)'in çalışmasıyla benzerlik göstermektedir.

Saksı denemesine ait morfolojik parametreler incelendiğinde, duyarlı çeşidinin tuz uygulamasının 7. gününde KE ve GRE grubunda gövde uzunluğu ve yaş ağırlığı değerlerinin baskılanmasına karşın SE grubunda arttığı; 14. günde ise tüm gruplarda baskılanma meydana geldiği belirlenmiştir. Gövde uzunluğunda meydana gelen değişimlere zıt olarak kök uzunluğunda 7. günde KE ve GRE grubunda artış, SE grubunda baskılanma olduğu, 14. günde ise tüm gruplarda artış olduğu gözlenmiştir. Kök yaş ağırlığının KE ve SE grubunda 7. günde baskılandığı, GRE grubunda arttığı, 14. günde ise tüm gruplarda artış olduğu gözlenmiştir. Gövde kuru ağırlığı değerinin tüm uygulama gruplarında baskılanmasına karşın kök kuru ağırlığında artış meydana gelmiştir. Dayanıklı çeşidin tuz uygulamasının 7. gününde gövde uzunluğunun tüm gruplarda baskılandığı, 14. günde ise KE ve SE grubunda artış ve GRE grubunda baskılanma olduğu belirlenmiştir. Kök uzunluğunun 7. günde KE grubunda baskılandığı, SE ve GRE grubunda arttığı; 14. günde KE ve SE grubunda artış, GRE grubunda ise baskılanma meydana geldiği gözlenmiştir. SL uygulamasının kök gelişiminde etkili olduğu Kapulnik ve ark. (2011)'nin yaptığı çalışmada da ortaya konulmuştur. Gövde yaş ağırlığı değerinin tüm gruplarda 7. günde baskılandığı ve 14. günde KE ve GRE gruplarında baskılandığı, SE grubunda ise arttığı belirlenmiştir. Kök yaş ağırlığı değerinde tüm gruplarda 7. ve 14. günde artış olduğu belirlenmiştir. Gövde kuru ağırlığının 7. günde KE

ve GRE grubunda arttığı, SE grubunda baskılandığı, 14. günde ise KE grubunda baskılanma, SE ve GRE grubunda ise artış olduğu gözlenmiştir. Kök kuru ağırlığının tüm gruplarda 7. günde arttığı, 14. günde ise KE ve GRE grubunda arttığı, SE grubunda ise baskılandığı belirlenmiştir. Bu tez çalışmasındaki GR24 ön uygulamasının tuz stresi koşullarına karşı bitkilerin büyümesini iyileştirici etkiye sahip olduğu ile ilgili sonuçlar, soya (Demirbaş ve ark. 2015) ve buğdayda (Shahbaz ve Kausar 2016) GR24 ön uygulaması ve tritikalde ise H₂O₂ ön uygulaması (Demirbaş ve Balkan 2018) sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

Askorbat glutasyon döngüsü incelendiğinde duyarlı çeşide yapılan tuz uygulamasının kısa süreli olarak toplam protein miktarında tüm gruplarda azalmaya neden olmasına karşın uzun vadede bu azalmanın ortadan kalktığı belirlenmiştir. Kısa ve uzun süreli tuz stresi koşullarına karşı yapılan tüm ön uygulamaların SOD aktivitesini arttıracak nitelikte olmadığı belirlenmiştir. Gen ifadelerinde meydana gelen değişimler incelendiğinde, duyarlı çeşitte kısa süreli tuz uygulamasında *MnSOD*, *FeSOD* ve *CuZnSOD* genlerinin ifadesinde baskılanma, dayanıklı çeşitte ise *MnSOD* ifadesinde artış ile *FeSOD* ifadesinde meydana gelen azalma ise dikkat çekicidir. *CuZnSOD* ifadesi ise yalnızca strigolakton ön uygulaması nedeniyle 200 mM NaCl uygulamasında artış göstermiştir. Baek ve Skinner (2003) ise soğuk koşullar altında mitokondriyal *MnSOD* seviyesinin arttığı belirlemiştir.

SOD'ın verdiği yanıtlardan farklı olarak APX aktivitesinin kısa sürede tüm uygulamalardan olumlu yönde etkilenmesine karşın GR aktivitesinin yalnızca strigolakton uygulamasından etkilenecek artış gösterdiği belirlenmiştir. Dayanıklı çeşide yapılan tuz uygulamasının kısa ve uzun süreli olarak toplam protein miktarında (14. gün SE grubu hariç) baskılanmaya neden olmuştur. SOD aktivitesinin kısa süreli olarak tüm gruplarda arttığı, uzun süreli tuz stresinde ise aktivitedeki artışın KE grubunda olduğu belirlenmiştir. APX aktivitesinin artmasına su ve strigolakton ön uygulamalarının hem kısa hem uzun vadede neden olduğu belirlenmiştir. *cAPXI*, *tAPX*, *cGR* ve *chlGR* genlerinin ifade düzeylerinde duyarlı çeşitte azalma meydana geldiği saptanmıştır. Buna karşın dayanıklı çeşitte strigolakton ön uygulamasının *cGR* geni hariç diğer *cAPXI*, *tAPX* ve *chlGR* genlerin ifadesinde artışa neden olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde, Naderi ve ark. (2014) da NaCl gibi ozmotik stresin APX aktivitesini aşırı seviyede arttırdığı belirlemiştir. Tuz uygulamasının dayanıklı çeşitte GR aktivitesinde artışa neden olmasına karşın su ve strigolakton ön uygulamalarının tuz stresi koşullarında her iki çeşitte de aktivite artışına neden olduğu belirlenmiştir. Bu tez çalışmasında strigolakton ön uygulamasının, tuz stresi uygulamasından önce antioksidan savunma sistemini uyardığı belirlenmiştir. Bu sonuç, buğdayda trehaloz

(Yediyıldız 2015) ve JA ön uygulaması (Qiu ve ark. 2014), soya fasulyesinde alfa-tokoferol ön uygulamasının (Şereflioğlu ve Dinler 2015), tritikalede H₂O₂ ön uygulamasının (Küçükkarakaş 2017) kum zambağında GR24 ön uygulamasının (Gök Özel 2018) tuz stresine karşı antioksidan savunma sistemini uyararak iyileştirici etkiye sahip olduğu çalışmalara benzerlik göstermektedir.

Sonuç olarak, tuza toleranslı ve duyarlı buğday çeşitlerinin tuz stresine maruz kalmadan önce tohumlara yapılan 20 µM GR24 ön uygulaması buğday bitkilerinin yüksek tuz konsantrasyonlarında askorbat glutatyon döngüsü enzim sistemini uyararak buğday bitkisinde tuza karşı toleransta teşvik edici bir rolü olduğu bu tez çalışmasıyla ortaya konmuştur. Bu tez çalışması aynı zamanda daha sonra yapılacak olan GR24 ön uygulama çalışmaları için bilgi birikimine önemli katkılar sağlamıştır.

KAYNAKLAR

- Anonim (2019a).
<https://arastirma.tarimorman.gov.tr/gktaem/Belgeler/Tescilli%20%C3%87e%C5%9Fitlerimiz/Sulu%20%C3%87e%C5%9Fitler/sultan95.pdf>.(Erişim tarihi: 17/02/2019).
- Anonim (2019b).
<https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tarlabitkileri/Sayfalar/Detay.aspx?SayfaId=41>.
(17.02.2019).
- Anonim (2019c). <https://bilgihanem.com/bugday-nedir/>?. (17.02.2019).
- Anonim (2019d). http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001. (26.03.2019).
- Akhtar S S, Andersen M N, Liu F (2015). Residual Effects of Biochar on Improving Growth, Physiology and Yield of Wheat Under Salt Stress. *Agricultural Water Management* 158, 61–68.
- Ashraf M, Iqbal M, Jamil A, Shafiq-Ur-Rehman (2006). Does Seed Priming Induce Changes in the Levels of Some Endogenous Plant Hormones in Hexaploid Wheat Plants Under Salt Stress? *Journal Of Integrative Plant Biology* 48 (2): 181-189.
- Athar H-R, Khan A, Ashraf M (2008) Exogenously Applied Ascorbic Acid Alleviates Salt-Induced Oxidative Stress in Wheat. *Environmental and Experimental Botany* 63(1–3), 224–231.
- Babaoğlu M (2008). Sitokininler: Hücre Bölünmesini Düzenleyiciler. *Bitki Fizyolojisi*, Ed: Türkan İ., Palme yayıncılık, Ankara, 493-518.
- Beak K-H, Skinner D Z (2003). Alteration of Antioxidant Enzyme Gene Expression During Cold Avvlimation of Near-İsogenic Wheat Lines. *Plant Science* 165, 6, 1221-1227.
- Beauchamp C, Fridovich I (1971). Superoxide Dismutase: Improved Assay and Applicable to Acrylamid Gels. *Anal Biochem* 44: 276-287.
- Bradford MM (1976). A Rapid and Sensitive Method for the Quantition of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry* 72 248-254.
- Caverzan A, Casassola A, Brammer S P (2016). Antioxidant Responses of Wheat Plants Under Stress. *Genetics and Molecular Biology* 39(1), 1–6.
- Crawford S, Shinohara N, Sieberer T, Williamson L, George G, Hepworth J, Müller D, Domagalska A M, Leyser O (2010). Strigolactones Enhance Competition Between

- Shoot Branches by Dampening Auxin Transport. *Development* 137, 2905-2913
doi:10.1242/dev.051987.
- Courtney J A, Xu J, Xu Y (2016). Responses of Growth, Antioxidants and Gene Expression in Smooth Cordgrass (*Spartina Alterniflora*) to Various Levels of Salinity. *Plant Physiology and Biochemistry* 99, 162-170.
- Demirbaş S, Dinler B S, Öney E (2015). Soya Bitkisinde GR24 Ön Uygulamasının Tuz Stresinin Oluşturduğu Hasarı İyileştirmedeki Rolü. 1. Ulusal Bitki Fizyolojisi Sempozyumu, s 78. Atatürk Üniversitesi Erzurum.
- Demirbaş S, Balkan A (2018). Tuz Stresi Koşullarında Bazı Triticale Çeşitlerinin Hidrojen Peroksit (H₂O₂) Ön Uygulamasına Tepkileri. *Tekirdağ Ziraat Fakóltesi Dergisi*, 15 (2): 5-13.
- Ellis, R.H., Roberts, E.H., Towards A Rational Basis for Testing Seed Quality. In: *Seed Production* (ed: P.D. Hebblethwaite), Butterworths, London, 1980, 605-635.
- Ermif Kaya D (2012). Buğday (*Triticum aestivum* L.) Fidelerinde Tuz-Poliamin Etkileşimlerinde Çalışan Genlerin İfadesi ve Antioksidan Enzim Aktivitesi. Yüksek Lisans Tezi. Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Hatay.
- Esfandiari E, Shekarı F, Esfandiari M, Shekarı F (2007). The Effect of Salt Stress on Antioxidant Enzymes' Activity and Lipid Peroxidation on the Wheat Seedling. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 35(1), 48–56.
- Filiz, E., Koc, I., Ozyigit, I.I. (2014) Comparative Analysis and Modeling of Superoxide Dismutases (SODs) in *Brachypodium Distachyon* L. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 173(5), 1183–1196.
- Foo E, Davies NW (2011). Strigolactones Promote Nodulation in Pea. *Planta*, 234:1073-1081.
- Foyer C H, Halliwell B (1976). Presence of Glutathione and Glutathione Reductase in Chloroplasts: A Proposed Role in Ascorbic Acid Metabolism. *Planta*, 133: 21-25.
- Giannopolities N, Ries SK (1977). Superoxide Dismutase Occurrence in Higher Plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 59: 309-314.
- Gill S S, Tuteja N (2010). Reactive Oxygen Species and Antioxidant Machinery in Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants. *Plant Physiology and Biochemistry*. Elsevier Masson SAS, 48(12). 909–930.

- Gök Özel Ş (2018). Strigolakton Uygulamasıyla Tuz Stresine Karşı Kum Zambağı Bitkisinin Toleransının Arttırılmasında Antioksidan Enzimlerin İşlevi. Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Jamal A, Younas W, Fawad M (2019). Performance of Wheat (*Triticum aestivum* L.) as Influenced by Application of Single Super Phosphate Alone and In Combination with Different Organic Fertilizers in Calcareous Soil of Swabi, Pakistan. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 22(1): 14-18.
- Jia K-P, Li C, Bouwmeester J H, Al-Babili S (2019). Strigolactone Biosynthesis and Signal Transduction. Strigolactones - Biology and Applications pp 1-45.
- Jisha KC, Vijayakumari K, Puthur JT (2013). Seed Priming for Abiotic Stress Tolerance: An Overview. Acta Physiol Plant, 35: 1381–1396.
- Kalefetoğlu T, Ekmekçi Y (2005). The Effects of Drought on Plants and Tolerance Mechanisim (review). G.Ü. Fen Bilimleri Dergisi, 18(4): 723-740.
- Kapulnik Y, Delaux P-M, Resnick N, Mayzlish-Gati E, Wininger S, Bhattacharya C, Sejalon-Delmas N, Combier J-P, Becard G, Belausov E, Beeckman T, Dor E, Hershenvorn J, Koltai H (2011). Strigolactones Affect Lateral Root Formation and Root-Hair Elongation in Arabidopsis. Planta, 233:209–216.
- Kapulnik Y, Koltai H (2014). Strigolactone İnvolveiment in Root Development, Response to Abiotic Stress and İnteractions With the Biotic Soil Environment. Plant Physiology, 166:560–569.
- Kırkışla M (2018). Bitki Kökenli Duman Solüsyonunun Tuz Stresi Altındaki Buğday (*Triticum Aestivum* L.) Bitkisinde Çimlenme ve Fide Gelişimi Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Muğla.
- Kohlen W, Charnikhova T, Liu Q, Bours R, Domagalska MA, Beguerie S, Verstappen F, Leyser O, Bouwmeester H, Ruyter-Spira C (2011). Strigolactones Are Transported Through the Xylem and Play a Key Role in Shoot Architectural Response to Phosphate Deficiency in Nonarbuscular Mycorrhizal Host *Arabidopsis*. Plant Physiol, 155: 974–987.
- Koltai H (2011). Strigolactones Are Regulators of Root Development. New Phytologist, 190, 545-549.
- Küçükkarakaş S (2017). Bazı Triticale (\times *Triticosecale*) Genotiplerinde Hidrojen Peroksit Ön Uygulamasıyla Tuz Stresinin Meydana Getirdiği Oksidatif Hasarın Giderilmesinde

Süperoksit Dismutaz Enziminin İşlevi. Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.

- 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.
- Lin H, Wang R, Qian Q, Yan M, Meng X, Fu Z, Yan C, Jiang B, Su Z, Li J, Wang Y (2009). DWARF27, an Iron-Containing Protein Required for the Biosynthesis of Strigolactones. Regulates Rice Tiller Bud Outgrowth, *The Plant Cell*, 21: 1512–1525.
- Lopez-Obando M, Ligerot Y, Bonhomme S, Boyer F, Rameau C (2015). Strigolactone Biosynthesis and Signaling in Plant Development. *The Company of Biologists*, 142, 3615-3619.
- Luo N, Yu X, Liu J, Jiang Y (2012). Nucleotide Diversity and Linkage Disequilibrium in Antioxidant Genes of *Brachypodium Distachyon*. *Plant Science*, 197, 122–129.
- Lutts S, Benincasa P, Wojtyla L, Kubala S, Pace R, Lechowska K, Quinet M, Garnczarska M (2016). Seed Priming: New Comprehensive Approaches for an Old Empirical Technique. In Araujo S, Balestrazzi A (Eds). *New Challenges in Seed Biology – Basic and Translation Research Driving Seed Technology*. IntechOpen, Rijeka, Croatia pp 1-46.
- Madan S, Mandhanía S, Sawhney V (2006). Antioxidant Defense Mechanism Under Salt Stress in Wheat Seedlings. *Biologia Plantarum*, 50 (2): 227-231.
- Maghsoudi Moud A, Maghsoudi K (2008). Salt Stress Effects on Respiration and Growth of Germinated Seeds of Different Wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivars. *World Journal of Agricultural Sciences* 4 (3): 351-358, 2008 ISSN 1817-3047.
- Mahajan S, Tuteja N (2005). Cold, Salinity and Drought Stresses: An Overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 444 139–158.
- Naderi R, Valizadeh M, Toorchi M, Shakiba M R (2014). Antioxidant Enzyme Changes in Response to Osmotic Stress in Wheat (*Triticum Aestivum* L.) Seedling. *Acta Biologica Szegediensis*, 58(2):95-101.
- Nakano Y, Asada K (1981). Hydrogen Peroxide Is Scavenged by Ascorbate-Specific Peroxidase in Spinach Chloroplasts. *Plant Cell Physiol*, 22 (3): 867-880.
- Önay E, Gök Ş (2016). GR24 Ön Uygulamasının Tuz Stresi Altındaki Buğday Tohumlarına Etkisi. II. Ulusal Bitki Fizyolojisi Sempozyumu, s123. Mersin Üniversitesi, Mersin.

- Panuccia M R, Chaabani S, Roula R, Muscolo A (2018). Bio-Priming Mitigates Detrimental Effects of Salinity on Maize Improving Antioxidant Defense and Preserving Photosynthetic Efficiency. *Plant Physiology and Biochemistry*. 132, 65-474.
- Qiu Z, Guo J, Zhu A, Zhang M (2014). Exogenous Jasmonic Acid Can Enhance Tolerance of Wheat Seedlings to Salt Stress. 104, 202-208.
- Sarlack R S, Sharma A, Bains N S (2013). Seed Priming in Wheat : Effect on Seed Germination, Yield Parameters and Grain Yield. *Progressive Research*, 8 (1) : 109-112.
- Shahbaz M, Kausar F (2016). Influence of Strigolactone (GR24) as a Seed Treatment on Growth, Gas Exchange and Chlorophyll Fluorescence of Wheat under Saline Conditions. *International Journal Of Agriculture & Biology*, issn Print: 1560–8530; issn Online: 1814–9596 16–599/2017/19–2–321–327 DOI: 10.17957/IJAB/15.0283.
- Secenji M, Hideg E, Bebes A, Gyorgyey J (2010). Transcriptional Differences in Gene Families of the Ascorbate–Glutathione Cycle in Wheat During Mild Water Deficit. *Plant Cell Rep*. 29: 37–50.
- Smith SM (2014). Q&A: What Are Strigolactones and Why Are They Important to Plants and Soil Microbes? *BMC Biology*, 12 19.
- Şereflioğlu S, Seçkin Dinler B (2015). Tuz Stresi Altındaki Soya (*Glycine max* L.) Yapraklarına Uygulanan Alfa-Tokoferolün Köklerde Oluşturduğu Etkilerin İncelenmesi. 1. Ulusal Bitki Fizyolojisi Sempozyumu, s 77. Atatürk Üniversitesi Erzurum.
- Tüfekçi Ş, Yerlikaya D Ü, Polat Kurt P Ö, Yağdı K (2017). Ekim Öncesi Tohuma Uygulanan Bazı Kimyasalların Ekmeklik Buğday (*Triticum aestivum* var. *aestivum* L.) Çeşitlerinin Çimlenme Özellikleri ve Fide Gelişimine Etkileri. *U. Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 32, 1, 79-87.
- Umehara M, Hanada A, Yoshida S, Akiyama K, Arite T, Takeda-Kamiya N, Magome H, Kamiya Y, Shirasu K, Yoneyama K, Kyojuka J, Yamaguchi S (2008). Inhibition of Shoot Branching by New Terpenoid Plant Hormones. *Nature* 455.7210.
- Ünsal Alaban N (2008). Oksin: Büyüme Hormonu. *Bitki Fizyolojisi*, Ed: Türkan İ., Palme yayıncılık, Ankara, 460-423.
- Ünyayar S (2008). Etilen: Gaz Formundaki Hormon. *Bitki Fizyolojisi*, Ed: Türkan İ., Palme yayıncılık, Ankara, 519-538.

- Topçuoğlu F (2008). Absisik Asit: Tohum Olgunlaşması ve Anti Stres Sinyali. Bitki Fizyolojisi, Ed: Türkan İ., Palme yayıncılık, Ankara, 539-558.
- Van Ha C, Leyva-González A, Osakabed Y, Trana TU, Nishiyama R, Watanabea Y, Tanakae M, Sekie M, Yamaguchif S, Dong NV, Yamaguchi-Shiozakig K, Shinozakid K, Herrera-Estrellac L (2014). Positive Regulatory Role of Strigolactone in Plant Responses to Drought and Salt Stress. *Plant Biology*, 111 2 851–856.
- Waldie T, Mcculloch H, Leyser O (2014). Strigolactones and the Control of Plant Development: Lessons From Shoot Branching. *The Plant Journal*, 79, 607–622.
- Wang C, Wen D, Sun A, Han X, Zhang J, Wang Z, Yin Y (2014). Differential Activity and Expression of Antioxidant Enzymes and Alteration in Osmolyte Accumulation Under High Temperature Stress in Wheat Seedlings. *Journal of Cereal Science*, 60: 653e659.
- Yediöldiz AG (2015). Tuz Stresine Maruz Bırakılan Buğday Fidelerinde Trehaloz Uygulamasının Antioksidan Sistem Üzerine Etkisinin İncelenmesi. 1. Ulusal Bitki Fizyolojisi Sempozyumu, s 37. Atatürk Üniversitesi Erzurum.
- Yıldız M, Kasap E, Konuk M (2007). Tuzluluk, Sıcaklık ve Işığın Tohum Çimlenmesi Üzerine Etkileri. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 7(1) 225-243.
- Yürekli F (2008). Giberellinler: Bitkilerde Uzamayı Düzenleyicileri. Bitki Fizyolojisi, Ed: Türkan İ., Palme yayıncılık, Ankara, 461-492.
- Xu J, Liu X (2011). Enhanced Antioxidative Responses Of A Salt-Resistant Wheat Cultivar Facilitate Its Adaptation to Salt Stres. *African Journal of Biotechnology*, 10(74), 16887-16896.
- Zhang Y, Haider I, Ruyter-Spira C, Bouwmeester J H (2013). Strigolactone Biosynthesis and Biology. *Molecular Microbial Ecology of the Rhizosphere*, 1, DOI: 10.1002/9781118297674, 355-371.
- Zou P, Li K, Liu S, Xing R, Qin Y, Yu H, Zhou M, Li P (2015). Effect of Chitooligosaccharides With Different Degrees of Acetylationon Wheat Seedlings Under Salt Stress. *Carbohydrate Polymers*, 126, 62–69.

ÖZGEÇMİŞ

Ezgi ÖNAY 08.01.1989 tarihinde Elazığ' da doğdu. Zonguldak' ın Devrek ilçesinde İstiklal İlköğretim okulunda ilköğrenimini tamamladı. 2006 yılında Zonguldak Devrek Düz Lisede öğrenimini tamamlayıp 2009 yılında Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümünü kazandı. 2015 yılında lisans eğitimini bitirdi ve aynı yıl Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı. 2016 yılında pedagojik formasyon aldı ve 2018 yılından beri Özel Silivri Tarımsal Üretim Araştırma Merkezi Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesinde öğretmen olarak çalışmaktadır.