



T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İKİ BUĞDAY TÜRÜNDE TUZ ve SU BASKINI STRESİNİN BAZI GEN
İFADELERİ ve BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİSİ**

BERNA ÇALICI

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

**HATAY
ARALIK - 2022**



T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İKİ BUĞDAY TÜRÜNDE TUZ ve SU BASKINI STRESİNİN BAZI GEN
İFADELERİ ve BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİSİ**

BERNA ÇALICI
ORCID:0000-0002-5312-1792

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

Danışman
Prof. Dr. NURAY ERGÜN
ORCID: 0000-0001-7725-3602

HATAY
ARALIK - 2022

16/12/2022

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını ve tez üzerinde Yükseköğretim Kurulu tarafından hiçbir değişiklik yapılamayacağı için tezin bilgisayar ekranında görüntülendiğinde asıl nüsha ile aynı olması sorumluluğunun tarafıma ait olduğunu beyan ederim.

İmzası

BERNA ÇALICI

ÖZET

İKİ BUĞDAY TÜRÜNDE TUZ ve SU BASKINI STRESİNİN BAZI GEN İFADELERİ ve BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİSİ

Bu çalışmada, buğday (*Triticum monococcum* L. Siyez, *Triticum aestivum* L. cv., Dağdaş-94) fideleri tuz (NaCl), su baskını ve su baskını ile tuzun etkileşimlerine farklı sürelerde (0,3,24 saat) etkileri incelenmiştir. Buğday fidelerinin sürgün boyu, taze ağırlığı ve kuru ağırlığı, klorofil a (Kl-a), klorofil b (Kl-b), toplam klorofil (Kl a+b) ve klorofil a/b (Kl a/b), antosiyanin miktarları (A), katalaz (KAT), askorbat peroksidaz (APX) ve glutatyon redüktaz (GR) antioksidant enzim aktiviteleri, prolin birikimi, *P5CR* (Prolin 5 Karboksilat Redüktaz) ve *TaSRG* (Salt Response Gene) genlerinin ifadesi araştırılmıştır.

Tuz stresi etkisinde iki buğday türünde sürgün boy, taze ağırlık, Kl-a, Kl-b, Kl a+b, antosiyanin miktarı azalmaktadır. Sürgün kuru ağırlık miktarı Siyez de azalmıştır. Kl a/b Dağdaş-94'te azalırken, Siyez'de artmıştır. *P5CR* gen ifade seviyesinin artışı ile prolin amino asit birikimi arasında paralellik olduğu düşünülmektedir. *TaSRG* gen ifade seviyesinin iki buğday türünde de artışı belirlenmiştir. KAT enzim aktivitesi Siyez türünde azalırken, Dağdaş-94'te artış göstermiştir.

Farklı sürelerde (0, 3, 24 saat) su baskını etkisindeki, buğday türlerinde sürgün taze ağırlık, kuru ağırlık miktarı azalmıştır. Klorofil miktarları *Triticum monococcum* Siyez buğdayında azalırken, *Triticum aestivum* L. cv., Dağdaş-94'te artmıştır. KAT enzim aktivitesi *T. monococcum* L. Siyez de azalma göstermiştir. Prolin amino asit miktarı, *P5CR* gen ifadesi *T. monococcum* L. Siyez de artmıştır. Antosiyanin miktarı *T. monococcum* L. Siyez'de artarken, *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94'te azalmıştır.

Tuz ve su baskınının birlikte etkisinde, *T. monococcum* L. Siyez ve *Triticum aestivum* L. cv., Dağdaş-94 buğdayında sürgün boy, taze ağırlık, kuru ağırlık miktarı azalmıştır. *T. monococcum* L. Siyez buğdayında Kl-a, Kl-b miktarı ve Kl a/b azalma göstermiştir. KAT aktivitesi *T. monococcum* L.'de azalırken, GR ve APX aktivitesi, *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94'te artmıştır. *TaSRG* gen ifadesi *Triticum aestivum* L. cv., Dağdaş-94'te azalmıştır. Antosiyanin miktarı *T. monococcum* L. Siyez 'de artarken, *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94'te azalmıştır.

Sonuç olarak, tuz ve su baskınının neden olduğu osmotik stres etkisinde bitkilerin *P5CR*, *TaSRG* gen ifade seviyelerini ve prolin birikimini arttırarak; oksidatif stresin etkilerine karşı ise, antioksidan savunma sisteminin uyarılması ile tolerans gösterdikleri düşünülmektedir. *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94 türü tuz ve T+SB uygulamalarında *P5CR* gen ifade seviyesini ve prolin birikimi artmıştır. Her iki parametredeki artışın paralel olduğu ve tuza toleransta görev aldığı düşünülmektedir. Ayrıca iki buğday türünde de tuz stresi uygulamasında *TaSRG* ifadesindeki artışın tuza tolerans ile ilişkili olduğu söylenebilir. Ayrıca iki tür birbiriyle kıyaslandığında tuz uygulamasında Dağdaş-94, su baskınında Siyez T+SB streslerinde, osmotik strese Dağdaş-94 daha dayanıklı iken oksidatif strese de Siyez'in daha dayanıklı olduğu gözlenmiştir.

2022, 74 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Triticum*, antioksidan enzim, real time PCR, *TaSRG*, *P5CR*

ABSTRACT

The EFFECT of SALT and FLOOD STRESS on SOME GENE EXPRESSIONS and BIOCHEMICAL PARAMETERS in TWO WHEAT SPECIES

In this study, wheat (*Triticum monococcum* L. (Siyez), *Triticum aestivum* L. cv., (Dağdaş-94) seedlings were exposed to salt (NaCl), waterlogging, and the interaction of waterlogging and salt for different periods (0, 3, and 24 hours).

The study aims to examine the wheat seedlings' shoot length, fresh and dry weight, amounts of chlorophyll a (Kl-a), chlorophyll b (Kl-b), total chlorophyll (Kl a+b), chlorophyll a/b (Kl a/b), and anthocyanin (A), catalase (KAT), ascorbate peroxidase (APX) and glutathione reductase (GR) antioxidant enzyme activities, proline accumulation, and the expression of *P5CR* and *TaSRG* genes.

Under the influence of salt stress, shoot length, fresh weight, Kl-a, Kl-b, Kl a+b, anthocyanin content decreased in two wheat species. The amount of shoot dry weight decreased in *T. monococcum* L. Siyez. While Kl a/b *T. aestivum* L.cv. Dağdaş-94 decreased in, increased in *Triticum monococcum* L. Siyez. It is thought that there is a parallelism between the increase in *P5CR* gene expression level and the accumulation of proline amino acid. It was determined that the *TaSRG* gene expression level was increased in both wheat species. While KAT enzyme activity decreased in *Triticum monococcum* L., Siyez species, it increased in *Triticum aestivum* L. cv., Dağdaş-94.

The amount of shoot fresh weight and dry weight decreased in wheat species under the effect of flooding at different times (0, 3, 24 hours). Chlorophyll amounts decreased in Siyez wheat, but increased in Dağdaş-94. KAT enzyme activity decreased in. Siyez. Proline amino acid amount and *P5CR* gene expression were increased in Siyez. While the amount of anthocyanin increased in. Siyez, it decreased in Dağdaş-94.

Under the combined effect of salt and flooding, shoot length, fresh weight and dry weight of *T. monococcum* L. Siyez and *Triticum aestivum* L. cv., Dağdaş-94 wheat decreased. In *T. monococcum* L. Siyez wheat, the amount of Kl-a, Kl-b and Kl a/b decreased. While CAT activity decreased in *T. monococcum* L., GR and APX activity increased in *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94. *TaSRG* gene expression was decreased in *Triticum aestivum* L. cv., Dağdaş-94. While the amount of anthocyanin increased in *T. monococcum* L. Siyez, it decreased in *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94.

As a result, by increasing the *P5CR*, *TaSRG* gene expression levels and proline accumulation of plants under the effect of osmotic stress caused by salt and water; It is thought that they tolerate the effects of oxidative stress by stimulating the antioxidant defense system. In *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94 salt and T+SB treatments, *P5CR* gene expression level and proline accumulation increased. It is thought that the increase in both parameters is parallel and plays a role in salt tolerance. In addition, it can be said that the increase in *TaSRG* expression in salt stress application in both wheat species is associated with salt tolerance. In addition, when the two species are compared with each other, Dağdaş-94 is more resistant to osmotic stress, Dağdaş-94 is more resistant to oxidative stress, while Dağdaş-94 is more resistant to T+SB stresses in salt application, Siyez in flooding.

2022, 74 pages

Key Words: *Triticum*, antioxidant enzyme, real-time PCR, *TaSRG*, *P5CR*

TEŞEKKÜR

Mesleki ve akademik hayatımda önemli kararlar almam gerektiğinde yanımda olan ve varlığı ile benim için önemli bir rol model oluşturan gerek doktora tez konumunun belirlenmesinde gerek araştırılması ve yazımı sırasında sahip olduğu bilgi birikimi ve tecrübesi ile çalışmalarına ışık tutan ve yardımını esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Nuray ERGÜN'e sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarında bana daima destek veren Prof. Dr. Birgül ÖZCAN'a ve Prof. Dr. Yaşar ERGÜN'e teşekkür ederim.

Tez konusunun belirlenmesi ve çalışmaların takibinde profesyonel yaklaşımları ve öngörülleri ile doktora çalışmalarımı zenginleştiren ve yardımlarını esirgemeyen Tez İzleme Komitesi üyeleri Prof. Dr. Deniz YILDIZ ve Prof. Dr. Yüksel KELEŞ'e, çalışmalarında desteğini esirgemeyen Sn. Dr. Hasan YILDIZ'a Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim görevlisi Hüseyin DOĞRU'ya ve HMKÜ FBE Müdürlüğüne teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım süresince, tüm laboratuvar çalışmalarında yapmış oldukları katkı ve yardımları nedeniyle Memet Hanifi AKGÜN, Pelin ŞENGÜL TOROMAN'a, Işıl ERGÜN'e çok teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca beni maddi ve manevi olarak destekleyen, güvenen ve daima yanımda olan canım Annem Hatice KULAÇ, değerli babam Memet Ali KULAÇ, kardeşlerim Hanifi KULAÇ, Gülcengül İPEK, Hüseyin KULAÇ' a, sevgili eşim Kemal ÇALICI' ya, biricik çocuklarım Çınar ve Barış ÇALICI 'ya teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	IX
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	7
2.1. Tuz ve Su baskını Stresi ile İlgili Çalışmalar	7
2.2. Prolin ve P5CR ile ilgili çalışmalar	11
2.3. SRG İle İlgili Çalışmalar	13
2.4. Antosiyanin ile İlgili Çalışmalar	13
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	15
3.1. Materyal.....	15
3.2. Yöntem	15
3.2.1. Bitki Yetiştirme Koşulları	15
3.2.2. Bitki Büyüme Ölçümleri	17
3.2.3. Kuru Madde Tayini	17
3.2.4. Pigmentlerin Analizi.....	17
3.2.4.1 Klorofil.....	17
3.2.4.2 Antosiyanin	17
3.2.5. Serbest Prolin Analizi.....	19
3.3. Gen İfadelerinin Tespiti.....	19
3.3.1. RT-PCR Hazırlık Aşamaları.....	19
3.3.2. Total RNA İzolasyonu.....	19
3.3.5. Verilerin Değerlendirilmesi	20
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	22
4.1. Büyüme Parametreleri	22
4.2. Klorofil Miktarı	28
4.2.1. Klorofil a Miktarı	28
4.2.2. Klorofil b Miktarı	30
4.2.3. Toplam Klorofil Miktarı.....	31
4.2.4. Klorofil a/b	33
4.3. Antosiyanin Miktarı.....	35
4.4. Antioksidan Enzim Aktivitesindeki Değişimler.....	37
4.4.1. KAT Enzim Aktivitesindeki Değişimler	37
4.4.2. APX Aktivitesi	38
4.4.3. GR Enzim Aktivitesi	40
4.5. Prolin Birikimi.....	42
4.6. Gen İfadesi.....	44
4.6.1. P5CR Gen ifadesi	44
4.6.2. TaSRG Gen İfadesi	47
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	59
KAYNAKLAR	62
ÖZGEÇMİŞ	70

EKLER.....	71
------------	----



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Siyez buğdayına ait verilerinin karşılaştırılması.....	49
Çizelge 4.2. Siyez buğdayına ait zaman etkisinin ikili karşılaştırma sonuçları	51
Çizelge 4.3. Siyez buğdayına ait grup etkisinin ikili karşılaştırma sonuçları	52
Çizelge 4.4. Dağdaş-94 buğdayına ait verilerin değerlendirilmesi	53
Çizelge 4.5. Dağdaş buğdayına ait zaman etkisinin ikili karşılaştırma sonuçları	55
Çizelge 4.6. Dağdaş buğdayına ait grup etkisinin ikili karşılaştırma sonuçları	56
Çizelge 4.7. Çalışmamızda kullandığımız abiyotik stres koşullarında ifade olan primerlerin adları, kod adları, dizilimleri ve ürün büyüklükleri	57
Çizelge 4.8. Değişkenler arasındaki ilişki katsayıları	58



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Modern buğdayın Orijini (Chantret ve ark., 2005).....	7
Şekil 2.2. Buğdayda tuzluluk stresine toleransta fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler yaklaşımlar (El Sabagh ve ark., 2021)	10
Şekil 4.1. Tuz, su baskını ve tuz+ su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (<i>Triticum monococcum</i> L. Siyez fidelerinin ortalama sürgün boyunda değişimler (mm bitki ⁻¹).....	23
Şekil 4.2. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (<i>Triticum aestivum</i> L. cv, Dağdaş-94) fidelerinin ortalama sürgün boyunda değişimler (mm bitki ⁻¹).....	23
Şekil 4.3. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (<i>Triticum monococcum</i> L. Siyez) fidelerinin ortalama sürgün taze ağırlığındaki değişimler (mg bitki ⁻¹).....	24
Şekil 4.4. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (<i>Triticum aestivum</i> L. cv., Dağdaş-94) fidelerinin ortalama sürgün taze ağırlığındaki değişimler (mg bitki ⁻¹).....	25
Şekil 4.5. Tuz, su baskını, tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (<i>Triticum monococcum</i> L. Siyez) fidelerinin ortalama sürgün kuru ağırlığındaki değişimler (mg bitki ⁻¹).....	26
Şekil 4.6. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (<i>Triticum aestivum</i> L. cv., Dağdaş-94) fidelerinin ortalama sürgün kuru ağırlığındaki değişimler (mg bitki ⁻¹).....	26
Şekil 4.7. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (<i>Triticum monococcum</i> L. Siyez) fidelerinin ortalama sürgün Kl- a miktarındaki değişimler (µg g ⁻¹ T.A).	29
Şekil 4.8. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (<i>Triticum aestivum</i> L. cv., Dağdaş-94) fidelerinin ortalama sürgün Kl-a miktarındaki değişimler (µg g ⁻¹ TA).	29
Şekil 4.9. Tuz , su baskını ve tuz+ su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (<i>Triticum monococcum</i> L., Siyez) fidelerinin ortalama sürgün Kl-b miktarındaki değişimler (µg g ⁻¹ TA).....	30
Şekil 4.10. Tuz ve su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (<i>Triticum aestivum</i> L. cv., Dağdaş-94) fidelerinin ortalama Kl- b miktarındaki değişimler (µg g ⁻¹ TA).	31
Şekil 4.11. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (<i>Triticum monococcum</i> L. Siyez) fidelerinin ortalama sürgün Kl a+b miktarındaki değişimler (µg g ⁻¹ TA).	32
Şekil 4.12. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (<i>Triticum aestivum</i> L. cv., Dağdaş-94) fidelerinin ortalama Kl a+b miktarındaki değişimler (µg g ⁻¹ TA).....	32
Şekil 4.13. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (<i>Triticum monococcum</i> L. Siyez) fidelerinin ortalama sürgün Kl a/b oranındaki değişimler	33
Şekil 4.14. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (<i>Triticum aestivum</i> L. cv., Dağdaş-94 fidelerinin ortalama Kl a/b oranındaki değişimler	34

Şekil 4.15. Tuz, su baskını ve tuz+ su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (<i>Triticum monococcum</i> L., Siyez) fidelerinin ortalama antosiyanin miktarındaki değişimler.....	35
Şekil 4.16. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (<i>Triticum aestivum</i> L., Dağdaş-94) fidelerinin ortalama antosiyanin miktarındaki değişimler.....	36
Şekil 4.17. Tuz ve su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (<i>Triticum monococcum</i> L. Siyez) fidelerinin ortalama KAT aktivitesindeki değişimler ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g. TA}$).....	37
Şekil 4.18. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (<i>Triticum aestivum</i> L. cv., Dağdaş-94) fidelerinin ortalama KAT aktivitesindeki değişimler ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g. TA}$).....	38
Şekil 4.19. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (<i>Triticum monococcum</i> L., Siyez) fidelerinin ortalama APX aktivitesindeki değişimler ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g. TA}$).....	39
Şekil 4.20. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (<i>Triticum aestivum</i> L. cv., Dağdaş-94) fidelerinin ortalama APX aktivitesindeki değişimler ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g. TA}$).....	39
Şekil 4.21. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (<i>Triticum monococcum</i> L., Siyez) fidelerinin ortalama GR aktivitesindeki değişimler ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g. TA}$).....	40
Şekil 4.22. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (<i>Triticum aestivum</i> L. cv., Dağdaş-94) fidelerinin ortalama GR aktivitesindeki değişimler ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g. TA}$).....	41
Şekil 4.23. Tuz, su baskını ve tuz+ su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (<i>Triticum monococcum</i> L. Siyez) fidelerinin ortalama serbest prolin miktarındaki değişimler ($\mu\text{mol g}^{-1}\text{TA}$).....	43
Şekil 4.24. Tuz, su baskını ve tuz+ su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (<i>Triticum aestivum</i> L. cv., Dağdaş-94) fidelerinin ortalama serbest prolin miktarındaki değişimler ($\mu\text{mol g}^{-1}\text{TA}$).....	44
Şekil 4.25. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (<i>Triticum monococcum</i> L. Siyez) fidelerinin ortalama P5CR gen ifadesindeki değişimler.....	45
Şekil 4.26. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (<i>Triticum aestivum</i> L. Dağdaş-94) fidelerinin ortalama P5CR ifadesindeki değişimler.....	45
Şekil 4.27. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (<i>Triticum monococcum</i> L. Siyez) fidelerinin ortalama TaSRG gen ifadesindeki değişimler.....	48
Şekil 4.28. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (<i>Triticum aestivum</i> L. cv., Dağdaş-94) fidelerinin ortalama TaSRG gen ifadesindeki değişimler.....	48

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

SİMGELER

°C	: Derece Santigrat
cm	: Santimetre
µg	: mikrogram
mg	: miligram
g	: gram
mM	: milimolar
mL	: mililitre
µmol	: mikromol
min	: Dakika
µl	: mikrolitre
rpm	: rotation per minute (dakikadaki dönme sayısı)

KISALTMALAR

H ₂ O	:Su
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
O ²⁻	: Süperoksit anyonu
FAD	:Flavin Adenin Dinükleotit
NADPH	: Nükleotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat Oksidaz
TFs	: Transkripsiyon Faktörleri
PSI	: Fotosistem 1
Kl-a	: Klorofil a
Kl-b	: Klorofil b
Kl a+b	: Toplam klorofil
Kl a/b	: Klorofil a/b
ROT	: Reaktif Oksijen Türü
ABA	: Absisik asit
PEG	: Poli Etilen Glikol
AVİ	: Antosiyanoplast
NaCl	: Tuz
KAT	: Katalaz
APX	: Askorbat Peroksidaz
GR	: Glutasyon Redüktaz

CdNA	: Komplementer deoksiribonükleik asit
A	: Antosiyanin
TaSRG	: <i>Triticum aestivum</i> L. Dağdaş-94 Salt Response Gene
RT-PCR	: Real Time Polimeraz Chain Reaction
P5CR	: Prolin 5 Karboksi Redüktaz



1. GİRİŞ

Dünyada üretimi yapılan buğdayların atası, *T. monococcum* L., Siyez buğdayıdır. Türkiye’de Batı Karadeniz Bölgesinde Kastamonu ilinin İhsangazi ilçesinde tarımı yapılmaktadır. Yerinde tarım buğdayın diğer habitatlarla da ilişkisini korumaktadır. Yağ içeriği hekzaploid buğday çeşitlerinden daha yüksektir (Özberk ve ark., 2016).

Kültürel açıdan ve besin değeri yönünden önemli bir yere sahip olan Siyez (*Triticum monococcum* L., Siyez) önceleri doğadan toplanırken (Yabani Siyez, *Triticum boeoticum* L.) doğal seçimle insanların ürettiği *Triticum monococcum* L., (Siyez) formuna dönüşmüştür. *T. monococcum* L., (Siyez), *T. boeoticum* L., (yabani Siyez)’a göre daha iri taneli ve başakları kırılga değildir (Özberk ve ark., 2016).

Diploid, $2n=14$ kromozom yapısına sahip *Triticum monococcum* L., (Siyez) buğdayı özellikle çimlenme döneminde soğuk stresine (Aslan ve ark., 2016), düşük kuraklık stresine (Baloğlu, 2014; Turfan, 2018) toleranslıdır. Bu özellikleri yönünden değişen iklim şartlarına bağlı olarak ortaya çıkabilecek gıda sorununun önüne geçilmesine katkı sağlayacak buğday çeşitlerindendir (Ertop ve Atasoy, 2019).

Buğday genotiplerinde yapılan çalışmalar toleraslı buğday genotiplerinin hassas genotiplere göre stres altında daha düşük reaktif oksijen türleri biriktirdiğini göstermektedir (Sairam ve ark., 2005).

Dünya topraklarının yaklaşık olarak %7’si tuz stresinden olumsuz olarak etkilenmektedir. Bitkiler tuz stresinin bu olumsuz etkilerini tolere etmek için yapraklarındaki sodyumu düşük, potasyumu ise yüksek tutmaya çalışmaktadırlar. Modern hekzaploid buğday ve bu hekzaploid buğdayın donörü diploid buğdaylar arasında potasyum sodyum oranına bağlı olarak tuzluluk toleransının iyi olduğu bilinmektedir (Trethowan ve van Ginkel, 2009).

Tuz stresi tarımda sınırlayıcı etkileri olan en önemli çevresel streslerdendir. Toprak tuzluluğuna maruz kalan tarım arazilerinde yetişen bitkilerin ürün verimliliği, büyüme, gelişmesi ve vejetatif dönemleri de dahil olmak üzere olumsuz yönde etkilenmektedir (Saeediazar ve ark., 2014; Moukhtari ve ark., 2020; Kaur ve ark., 2018; Kaya ve Ashraf, 2020). Buna Kl a ve b içeriklerinde ve fotosistem II’nin verimliliğindeki önemli düşüşler neden olmaktadır (Hasanuzzaman ve ark., 2019; Kaya ve Ashraf, 2020). Yüksek tuz stresi altında prolin miktarı artmaktadır (Wang ve ark., 2007), dıştan prolin uygulaması ile fotosentez hızı, tane verimi, biyokütle, tohum çimlenmesinde artış sağlanmaktadır

(Munns ve Tester, 2008; Tavakolli ve ark., 2016, Moukhtari ve ark., 2020).

Tuzluluk stresi bitki hücrelerinde ROT'ların artmasına bağlı olarak ikincil bir stres olan oksidatif stresi meydana getirip (Dudziak ve ark., 2019; Hasanuzzaman ve ark., 2020 a; Hasanuzzaman ve ark., 2020 b) karbonhidrat, yağ, protein, nükleik asit metabolizmalarını bozarak lipid peroksidasyonuna neden olmaktadır. Tuz stresinde meydana gelen artış, bitkinin çimlenme aşamasında yeterli miktarda suyu alamamasına neden olarak (Munns, 2002) çimlenmeyi olumsuz yönde etkilemektedir (Kunt ve Taş, 2019). Toprakta artan tuz seviyesine bağlı olarak bitki hücrelerinde Na⁺ iyonunun aşırı birikmesi (Wang ve ark., 2009, Tavakolli ve ark., 2016) proteinlerin çökmesine, bitki hormonlarının dengelerinin bozulmasına ve membran geçirgenliğinde olumsuzluk ile toksik bir etki oluşturmaktadır (Munns, 2002; Kadioğlu, 2011; Ashraf ve ark., 2018).

Antosiyaninler bitkiler alemindeki tüm bitki dokularında bulunan suda çözünen bir pigmenttir. Soğuk, sıcak, su gibi abiyotik streslerin etkisinde indüklenerek bitkiyi stresin etkilerinden korumaktadır (Chalker-Scott, 1999).

Antosiyaninler, sekonder metabolitler içinde pigmentasyon formundaki flavanoidlerin en büyük grubunu oluşturmaktadır. Çiçekli bitkilerin renklenmesinde, tozlaşmada, UV ışınlarından kaynaklanan zararlardan, abiyotik ve biyotik streslere (Yılmaz ve Doğru, 2014) karşı bitkiyi korumada görev almaktadır (Holton ve Cornish, 1995, Keleş, 2015; Kadioğlu, 2016; Taiz ve ark., 2019). Antosiyaninler vakuolde biriken pigmentlerdir ve antosiyanoplast (AVİ) olarak adlandırılmaktadır (Markham ve ark., 2000).

Bitkiler tuzluluk, su baskını, sıcaklık, soğuk gibi stresler ve bu streslerin kombine haliyle karşı karşıya kalırlar, bu da büyüme ve verimi olumsuz yönden etkiler. Bitkiler stresin etkileri ile başa çıkmak için makro moleküllerin ve iyonların homeostasisi, koruyucu moleküllerin sentezi (ozmolitler; pinitol, mannitol vs), reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumu ve detoksifikasyonu olmak üzere çeşitli cevap mekanizmaları geliştirmişlerdir (Kasuga ve ark., 1999; Sairam ve ark., 2004; Tester ve ark., 2005; Büyük ve ark., 2012).

Su baskını, yağmurla sulanan bölgelerde bitkinin kalite verimini olumsuz olarak etkileyen abiyotik bir strestir (Gill ve ark., 2019). Değişen iklim şartlarının etkisi sonucu aralıklarla yağması beklenen yağmurun ani şekilde ve uzun süreli olması, yanlış sulama tekniklerinin kullanılması, arazi yapısı, toprak içeriği gibi nedenlerde su baskını stresi

meydana gelmektedir (Özseven ve Gençtan, 2018). Ani yağışların etkisiyle normalde hava ile dolu olan toprak porları oksijenin düşük bir çözünürlüğe sahip olmasından ötürü su ile dolmaktadır. Toprak porlarındaki hava ile dolu gözenek sayısı azaldıkça oksijen eksikliği başlamaktadır (Barret ve Shabala, 2013; Gill ve ark., 2019). Bu da bitki dokularında oksijen eksikliği ile birlikte ROT birikimine neden olmaktadır. Bitki de normal koşullarda ROT üretimi ile antioksidan savunma sistemi arasında bir denge bulunmaktadır. Stres koşullarının etkisi ile bu denge bozulmakta buna bağlı olarak ROT'lar nükleik asitlere, proteinlere, zar bütünlüğüne ve fotosentetik mekanizmaya zarar vermektedir (Gill ve ark., 2019; Hasanuzzaman ve ark., 2019; 2020a; 2020b).

Bitki, kök bölgesinde azalan oksijen ile birlikte enerji açığını oksijensiz solunumla gidermeye çalışmaktadır ve hızlı bir şekilde kök bölgesinde anaerobik proteinleri biriktirmektedir (Irfan ve ark., 2010). Bitki hücrelerinde azalan suya bağlı olarak turgor basıncının azalması ile birlikte hücrelerde biriken absisik asit (ABA) stomaların kapanmasına neden olarak fotosentez hızını azaltmaktadır (Özer ve ark., 1997). Bitki köklerinin etrafında biriken fazla su, anaerobik bir ortam oluşturarak enerji azalmasına, kök ölümlerine, fotosentez hızında ve bitkinin büyüme, gelişmesinde, sürgün biyokütlesinde azalmaya neden olmaktadır (Özer ve ark., 1997; Barrett ve Shabala, 2013).

Bitki su baskını stresi koşullarına adapte olmak için çözünebilir şeker miktarını, fermentasyon enzimlerini arttırarak, antioksidan savunma sistemini aktif şekilde kullanarak (Yavaş ve ark., 2011), aerenkima, adventif kök gibi yapılar oluşturarak ayrıca etilen hormonu ile oksijen eksikliğine karşı tepki vererek adapte olmaktadır (Sairam ve ark., 2008).

Dört polipeptid zincirinden oluşan katalaz enziminin her zinciri 500'den fazla aminoasit uzunluğundadır. Enzimin dört porfirin (demir) grubu H_2O_2 ile tepkimeye girerek, H_2O_2 'yi H_2O ve O_2 'ye parçalamaktadır. Böylece bitkiyi ROT'ların zararlı etkilerinden korumaktadır. Bitkilerde peroksizomlarda bulunmaktadır (Adwas ve ark., 2019; Doğru, 2019; Taiz ve ark., 2019).

Katalaz enzimi nerdeyse tüm canlılarda bulunmaktadır. Bitkileri abiyotik ve biyotik stresler sonucu artan oksidatif stresin etkilerinden korumada görev almaktadır. Bitkinin büyüme, gelişme, verim ve hayatta kalma sürecinde önemli rolü olan antioksidan enzimlerden biridir (Ghorbel ve ark., 2022; Zheng ve ark., 2022).

Glutasyon redüktaz (GR) antioksidan enzimi, oksitlenmiş glutasyon peroksidaz (GSSG)'ın indirgeyici ajan olarak kullanılmasıyla H_2O_2 'yi H_2O ve indirgenmiş glutatyon (GSH) dönüştürmektedir. Böylece bitkiyi abiyotik, biyotik stres sonucu oluşan ROT'ların etkilerinden korumaktadır (Adwas, 2019; Doğru, 2019; Taiz ve ark., 2019). Askorbat- glutasyon döngüsünde görev alan GR en yoğun kloroplastlarda bulunmakla birlikte, mitokondri ve sitoplazmada da bulunmaktadır (Doğru, 2019). GR, protez grubu olarak iki FAD molekülü içeren NADPH ile indirgenebilen termostabil bir flavoproteindir (Adwas, 2019).

Askorbat peroksidaz (APX), kloroplastlar, peroksizomlar, mitokondri, apoplast ve sitozolde bulunmaktadır. Bitkilerde askorbik asidi kullanarak H_2O_2 'yi parçalayan APX, ROT'ların detoksifikasyonunda aktivitesini artırarak görev alan bir enzimdir (Dikkaya ve Ergün, 2014; Doğru, 2019; Taiz ve ark., 2019).

Bitkiler tuzluluk, su baskını, sıcaklık, soğuk gibi stresler ve bu streslerin kombine haliyle karşı karşıya kalırlar, bu da büyüme ve verimi olumsuz yönden etkiler. Bitkiler stresin etkileri ile başa çıkmak için makro moleküllerin ve iyonların homeostasisi, koruyucu moleküllerin sentezi (ozmolitler; pinitol, mannitol vs), reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumu ve detoksifikasyonu olmak üzere çeşitli cevap mekanizmaları geliştirmişlerdir (Kasuga ve ark., 1999; Sairam ve ark., 2004; Tester ve ark., 2005; Büyük ve ark., 2012; Kumar ve ark., 2018). Bu koruyucu moleküllerden biri olan prolin aminoasidinin biyosentezi sitozolde, yıkımı mitokondride gerçekleşmektedir (Nanjo ve ark., 1999b; Lebreton ve ark., 2020). Prolin normal koşullar altında düşük konsantrasyonlarda bulunur, ancak stres altında üretimi artmaktadır (Ergün ve Öncel, 2012; Keleş ve Öncel, 2014, Nadeem ve ark., 2020). Bu maddelerin artan biyosentezi ve birikimi stresin iyileşme aşamasında önemli işleve sahip olmaktadır. Prolin seviyesinin korunması bitkiler için hayati öneme sahip olmaktadır (Nanjo ve ark., 1999b; Lebreton ve ark., 2020).

Prolin ozmoregülatör olarak ozmotoleransta görev almasının yanı sıra bitki hücre duvarının yapısındaki proteinlerin temel bileşeni olarak morfogenezde de görev almaktadır (Nanjo ve ark., 1999a).

Bitkilerin çevreyi algılamaları ve sinyalleme ağlarını nasıl düzenlediğini anlamak gerekmektedir. Stresin algılanması ve bitkinin bu strese yanıtı sinyal iletim yolları aracılığıyla gerçekleşmektedir (Garg ve Kumari, 2016).

Prolin biyosentezinde *P5CR* ve *P5CS* enzimleri, (Li ve ark., 2015; Tavakolli ve ark., 2016; Koenigshofer ve Loeppert, 2019; Lebreton ve ark., 2020, Yoshiba vd., 1997) prolin katabolizmasında ise PDH enzimi görev almaktadır (Mattioni ve ark., 1997; Mani ve ark., 2002; Tavakolli ve ark., 2016).

P5CR, prolin biyosentezinin anahtar enzimlerinden biridir. Osmotik stres altında cevap olarak ifadesi artan *P5CR* (Li ve ark., 2015; Tavakolli ve ark., 2016; Kumar ve ark., 2018; Koenigshofer ve Loeppert, 2019; Lebreton ve ark., 2020) prolin birikimini düzenleyerek dehidrasyon etkisinden hücreleri koruyabilmektedir (Blum, 2016). Tuz stresi altında aktivitesi önemli derecede artan *P5CR*, prolin birikiminin artmasını sağlamaktadır (Szoke ve ark., 1992; Yoshiba ve ark., 1997; Kaur ve ark., 2018). Strese karşı prolin birikimi sağlayarak görev alan *P5CR* enzimi toleranslı türler geliştirmek için kullanılarak transgenik bitkiler elde edilebilmektedir (Ma ve ark., 2008).

Bitkilerde çeşitli abiyotik streslere karşı tolerans sağlamada transkripsiyon faktörlerinin düzenlenmesi önemli bir göreve sahip olmaktadır. Transkripsiyonel düzenleyici bir gen olan *TaSRG* gen ifadesi tuz, düşük sıcaklık, ABA, PEG, su stresi gibi abiyotik stresler altında artış göstermektedir (Maestri ve ark., 2002; Tong ve ark., 2007; Saeediazar ve ark., 2014).

Literatürde tuz ve su baskını streslerinde gen ifadesi açısından sınırlı sayıda araştırma olduğundan, bu tez çalışmasında buğday (*Triticum aestivum* L. cv., Dağdaş-94, *Triticum monococcum* L., Siyez) fidelerinde tuz (200mM NaCl), su baskını (3 saat, 24 saat) ve tuz + su baskını uygulamaları altında sürgün kısımlarının boy, taze ve kuru ağırlığı ile ilgili parametreler ve Kl-a, Kl-b, Kl a+b miktarı ve Kl a/b oranı, antosiyanin, serbest prolin miktarı, KAT, APX, GR antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesine bağlı biyokimyasal parametreler ve *TaSRG*, *P5CR* transkripsiyon faktörlerinin moleküler, biyolojik yöntemlerle incelenmesi amaçlanmıştır.

Bununla birlikte, modern buğday (*Triticum aestivum* L., Dağdaş-94) ve atasal buğday (*Triticum monococcum* L., Siyez) türlerinin belirtilen parametreler açısından stres tepkisi incelenmiştir. Türlerin tuz, su baskını, tuz+su baskını uygulamalarının etkisinde meydana gelen osmotik ve oksidatif strese verdikleri cevaplar karşılaştırılarak farklılıkların belirlenmesi ayrıca, türlerin oluşan bu streslere toleranslı olup olmadığını belirlemek amacıyla bu çalışma yapılmıştır.

Biyokimyasal çalışmalar, enzim (KAT, GR, APX), serbest prolin aminoasidi,

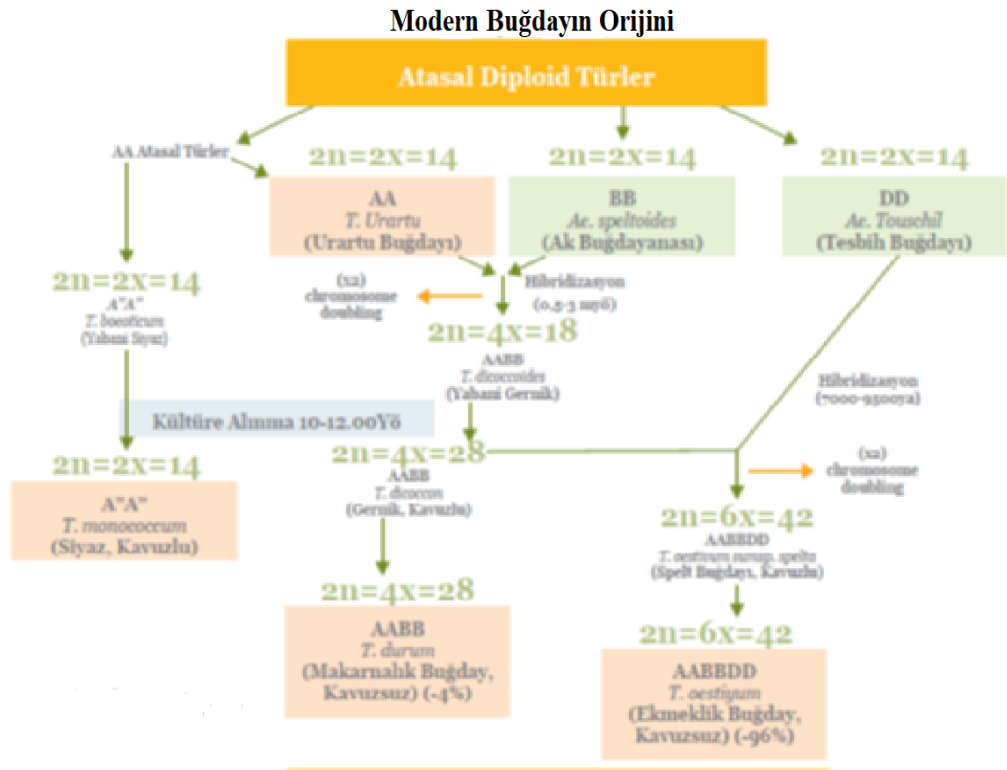
antosiyenin ve klorofil miktarı için spektrofotometrik yöntem, çalışan transkripsiyon faktörleri (*TaSRG*, *P5CR*) için ise RT-PCR yöntemi kullanılmıştır.



2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Tuz ve Su baskını Stresi ile İlgili Çalışmalar

Öncel ve Keleş (2002c) *Triticum aestivum* L. cv. (Seri-82) ve *Triticum durum* Desf. cv. (Ç.1252) türlerinde 200mM NaCl uygulamasının Kl-a, Kl-b, Kl a+b, prolin, çözünür karbonhidrat miktarındaki etkilerini incelemişlerdir. Türler arasında tuzluluk stresine verilen tepkiler açısından farklılıklar belirlenmiştir. Kl-a, b, a+b tüm çeşitlerde azalmıştır. Seri-82 ve Ç-1252 Kl-a miktarında diğer çeşitlere göre daha az kayıp yaşamıştır. *Triticum aestivum* L. çeşitleri daha fazla prolin biriktirmiştir. Çözünür karbonhidrat Seri-82 ve Ç.1252 çeşitlerinde artmıştır. Sonuç olarak Seri-82 ve Ç1252 çeşitlerinin tuz stresine daha toleranslı olduğu belirlenmiştir.



Şekil 2.1. Modern buğdayın Orijini (Chantret ve ark., 2005)

Sairam ve ark. (2005) toleranslı ve hassas buğday genotiplerinde yaptıkları çalışmada uzun süreli NaCl (100mM ve 200 mM) tuzluluğunun etkilerini incelemişlerdir. Tuz stresine maruz kalan bitki hücrelerinde bağlı su içeriği, klorofil içeriği, membran

stabilite indeksi ve askorbik asit içeriği azalırken, H₂O₂, süperoksit dismutaz (SOD), APX ve GR aktivitesinin arttığını saptamışlardır.

Wang ve ark. (2007) tarafından buğday fidelerinde yapılan çalışmaya göre 150mM ve 300 mM tuz stresine 5 gün boyunca maruz bırakılmışlardır. Tuz stresini uygulamasının 5. gününden sonra yapılan analizlerde bitki biyokütlesinin, klorofil içeriğinin, çözünür protein seviyesinin önemli ölçüde azaldığını bildirmişlerdir. Prolin ve arjinin amino asitleri 150mM NaCl 'de etkileyici bir artış göstermemiştir. 300 mM NaCl' de hem prolin hem de arjinin serbest amino asitleri önemli ölçüde artmıştır. 150mM NaCl ve 300 mM NaCl konsantrasyonlarında *P5CR* aktivitesi artarken *P5CS* aktivitesi 150 mM NaCl' de kontrole göre değişmezken, 300mM NaCl konsantrasyonunda *P5CS* aktivitesi azalmıştır. Prolin öncüsü glutamat hem düşük hem de yüksek tuzluluk konsantrasyonlarında önemli miktarda artış göstermiştir.

Küresel ısınma, artan nüfus, tarım arazilerinin azalması beslenme sıkıntılarını da beraberinde getirmektedir. Bitkilerin tek ve kombine haldeki strese cevap mekanizmaları belirlenip gen aktarımı, gen susturma, çoklu strese cevap genleri veya ROT artışına bağlı genler belirlenerek verimi arttırmaya yönelik tekniklerle toleranslı türlerin geliştirilmesi ile stresin olumsuz etkileri ortadan kaldırılabilir.

Baloglu ve ark. (2014) *Triticum aestivum* L.cv. (Yüreğir-89), *Triticum turgidum* cv. (Kızıltan-91) ve *Triticum monococcum* L. (Siyez) türlerinde tuzluluk (250 mM) ve kuraklık (%20 polietilen glikol 6000) stres şartları altında *TaWLIP19*, *TaMBF1*, *TaWRKY10*, *TaMYB33* ve *TaNAC69* genlerinin ifade analizleri incelenmiştir. Stres uygulanmış ve uygulanmamış bitkiler aynı koşullarda yetiştirilip 0, 3, 12 ve 24. saatlerde örnekler alınmıştır. 0. saat kontrol olarak kullanılmıştır. Sonuç olarak bütün *Triticum* türlerinde tuzluluk stresinde Siyezdeki *TaMYB33* hariç diğer genlerin ifade seviyesi artmıştır. Bu tür tescilli buğday çeşitleri ve ata buğdaylarındaki TFs' lerin (Transkripsiyon faktörleri) rollerinin anlaşılması önemlidir. Böylece moleküler çalışmalarda hassas çeşitlerinde kuraklık ve tuzluluk toleransının saptanmasında belirlenen TFs' ler kullanılabilir.

Gill ve ark. (2019), arpada su ve tuz stresini altında ROT üretimiyle ilişkili QTL' nin pozisyonları belirlenerek gelecekteki ıslah programlarında kullanmayı amaçlamışlardır. Bu iki stres uygulamasının yapıldığı çalışmada QTL' nin kromozom 2H üzerinde aynı bölgede tutarlı bir şekilde tanımlanması, spesifik bir ortak toleransa yanıt veren genin

varlığını ifade ettiğini belirtmişlerdir. Ayrıca yapılan su baskını uygulaması çalışmalarında H_2O_2 'nin hassas türlerde toleranslı türlere göre daha yüksek konsantrasyonlarda olduğunu bildirmişlerdir. Bunun için su baskınına farklı toleranstaki 6 arpa çeşidi (*Hordeum vulgare* L.) kullanmışlardır. Tuz stresi için 0,5 mM KCl+0,1 mM $CaCl_2$, pH 5.6 bazik solüsyon hazırlamışlardır. 48 saat hipoksiden sonra ROT içeriğini ölçmenin, su baskınına toleranslı arpa genotiplerinin seçimi için hızlı ve güvenli bir yaklaşım olabileceğini belirtmişlerdir.

Turfan ve ark., (2019), *Triticum monococcum* L., Siyez buğday fideleri üzerinde yaptıkları çalışmada, tuz (75 mM, 150 mM, 225mM NaCl), ağır metal, kireç, %50 kuraklık ve kirlilik stresleri uyguladıkları buğday fidelerinde antioksidan enzim aktiviteleri (APX, KAT, SOD), fotosentetik pigment, prolin, malondialdehit, H_2O_2 , toplam çözünür protein üzerine etkilerini araştırmışlardır.

Tuzluluk stresi altında bağıl su içeriği toleranslı türlerde duyarlı türlere göre daha yüksek ölçülmüştür. Elektrolit sızıntısı olarak söz edilen membran stabilite indeksi toleranslı türlerde duyarlı türlere göre daha az düşüş göstermiştir. K^{+} içeriği tuz stresi altında duyarlı türlerde toleranslı türlere göre daha yüksek bir azalma göstermektedir. Askorbik asit içeriğini toleranslı türlerde duyarlılara göre daha yüksek seviyelerde ölçmüşlerdir.

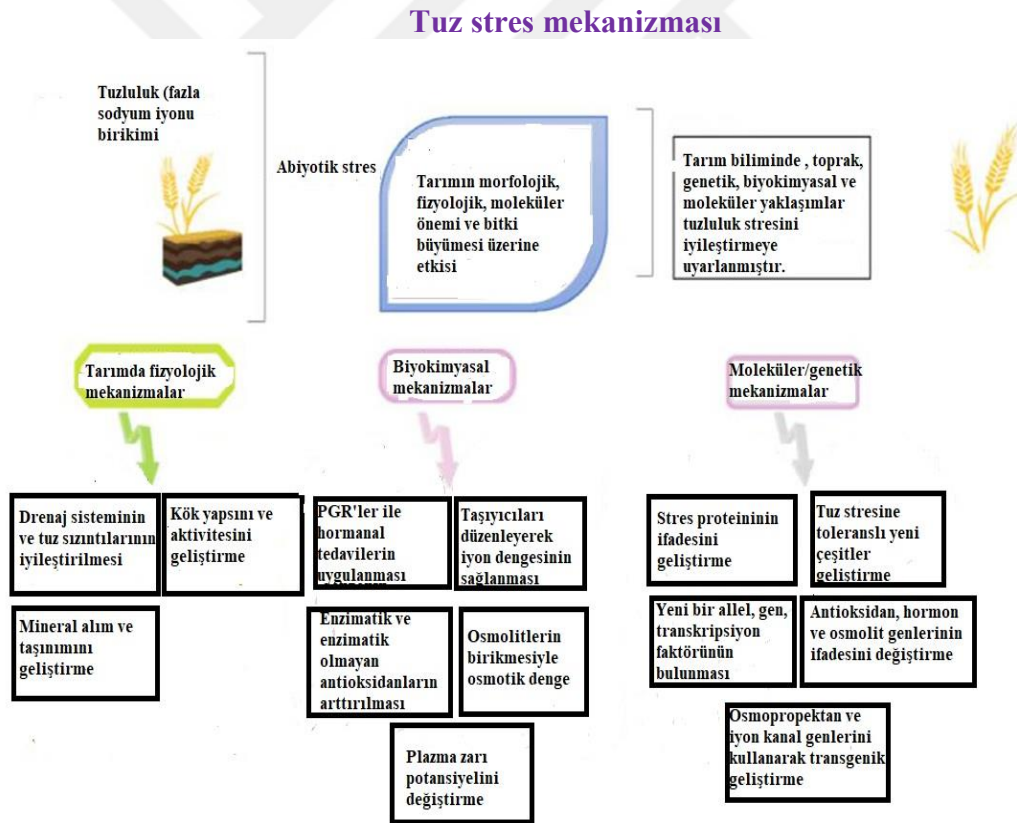
Asıf ve ark., (2020), buğday fidelerinin tuz ve ağır metal streslerine karşı dirençlerini belirlemek amacıyla 0,5 mM ve 1 mM NaCl ile 0,5 mM, 1 mM $CuSO_4$ ve bu streslerin kombine şekillerini uygulayarak buğdayın yaprak uzunluğu ve genişliği, yaprak sapı, kök uzunluğu, yaprak taze ve kuru ağırlığı kök-sürgün uzunluğu gibi büyüme parametrelerine bakılarak streslerin zararlı etkilerini belirlemişlerdir. Sonuç olarak, tuz ve ağır metal uygulamalarında özellikle tuz ve ağır metalin kombine uygulamalarında büyüme parametrelerine zararlı etkileri belirlemişlerdir.

Kaya ve Ashraf (2020), mısır (*Zea mays*) fidelerinde yaptıkları çalışmada 5 hafta boyunca 100mM NaCl ile muamele etmişlerdir. Tuzluluk stresi altında bitki büyümesinde (kök ve sürgün taze ağırlığı ve kuru ağırlığı), PSII maksimum verimi, K^{+} , Cl^{-} , yaprak suyu potansiyeli, bağıl su içeriği, mineral element miktarı, askorbat ve glutatyon azalırken, peroksidaz gibi anahtar antioksidan enzimlerin aktivitesi, Na^{+} içeriği, endojen H_2S ve L-sistein aktivitesinin önemli miktarda arttığı belirlenmiştir.

Wu ve ark., (2020), buğday fideleri 1. ve 3. saatlerde 1,500 μmol (foton) $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$

yüksek ışık stresine, 0,3 M NaCl stresine ve buğday kökleri (PEG)-6000 içeren hoagland çözeltisine batırılarak osmotik strese maruz bırakılmıştır. Üç çevresel stresin tamamında buğday yapraklarında prolin ve çözünür şeker içeriği önemli ölçüde artmıştır. O_2^- ve H_2O_2 birikimi yüksek düzeyde belirlenmiştir.

Gue ve ark., (2021), dört kışık buğday fidesine farklı tuz streslerini (0, 80, 160 ve 240 nmol NaCl) farklı sürelerde (0, 1, 4 ve 7 gün) uygulayarak Ca^{+2} , K^{+2} , Na^+ , Ca^+/Na^+ , K^+/Na^+ değişimleri ve Na^+ sınırlama yeteneklerini araştırmışlardır. Yapılan analizler sonucunda K^+ , Ca^{+2} içeriğinin ve K^+/Na^+ oranının artan tuz konsantrasyonuna ve stresin süresine bağlı olarak kademeli bir şekilde arttığını belirlemişlerdir. K^+ ve Ca^{+2} 'un azalma derecesi kökte sürgüne göre çok daha fazla bulunmuştur. K^+ homeostasisinin önemini açıkça ortaya koyduğunu belirlemişlerdir. Artan tuz konsantrasyonları altında buğdayların sürgünlerinde Na^+ konsantrasyonu kökten daha yüksek bulunmuştur.



Şekil 2.2. Buğdayda tuzluluk stresine toleransta fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler yaklaşımlar (El Sabagh ve ark., 2021)

2.2. Prolin ve P5CR ile ilgili çalışmalar

Szoke ve ark. (1992), Soya bitkisinde *P5CR* geninin ifade edildiği alanlar, prolin birikimi ile ilgili çalışmalarında tuzlu topraklardaki bitkilerde oluşacak olan tuz stresinin önüne geçilmesi için prolin biyosentez yolunun iyi bir şekilde anlaşılması gerektiğini bildirmişlerdir. Sonuç olarak soya fasulyesinin kök nodüllerinde yapraklarından ve köklerinden daha yüksek seviyede *P5CR* geninin ifade edildiğini tespit etmişlerdir. Ayrıca *P5CR* aktivitesi soya fasulyesinin yaprakları, kökleri ve kök nodüllerinin sitoplazmasında ve yaprakların plastidlerinde tespit etmişlerdir. Yüksek düzeyde *P5CR* aktivitesi sergileyen transgenik bitkilerde prolin konsantrasyonu önemli ölçüde artmamıştır. Bu da *P5CR*'nin azalmasının prolin üretiminde hız sınırlayıcı bir adım olmadığını göstermektedir.

Verbruggen ve ark. (1993), Prolin biyosentetik yolunun son aşaması *P5CR* tarafından katalize edilir. *Arabidopsis thaliana* bitkilerinin tuz muamele edilmesi *P5CR* geninin indüksiyonunun 5 kat arttığını bildirmişlerdir.

Nanjo ve ark. (1999), antisens transgenik *Arabidopsis thaliana* (L.) ve yabani tip bitkilerde uygulanan %100'den %55'e kadar hızlı bir şekilde düşürülen nem ile oluşturulan stres ortamı sonucunda antisens transgenik *Arabidopsis*'te *P5CS*'nin baskılanması sonucu prolin üretiminin azaldığını belirtmişlerdir. Sonuç olarak *P5CS*'in Glu yolunda prolin biyosentezini sınırlayan bir enzim olduğunu desteklemişlerdir.

Ma ve ark. (2008), *Triticum aestivum* L. buğdayından homolog sekans metoduyla *TaP5CR* izole edilerek *Arabidopsis thaliana* bitkisine aktarmışlardır. Elde edilen transgenik *Arabidopsis*'e 250 mM NaCl stresi uygulaması sonucunda *TaP5CR*'nin aşırı ekspresyonu belirlenmiş, kök büyümesi ve prolin içeriğinde artış görülmüştür. Sonuç olarak transgenik *Arabidopsis*'in strese toleransını *TaP5CR* kullanımıyla arttırmışlardır.

Mattioni ve ark. (1997), yaptıkları çalışmada 5 günlük *Triticum durum* cv. Simento fidelerine 200mM NaCl ve 3 saat su baskını uygulaması yaptıktan sonra 8, 24, 48 ve 72. saatlerde hasat etmişlerdir. Sonuç olarak hem tuz hem de su stresinde *P5CR* artış göstermiştir. 8, 24, 48. saatlerde NaCl stresinde *P5CR* aktivitesinde yüzde olarak artış belirlenmiş ve 48. saat ve 72. saatte benzer aktivite ölçmüşlerdir. Buğday fidelerinde tuz ve su baskını stresi altında amino asitlerin (glutamik asit, arjinin, ornitin) çoğu her iki stresinde indüklemesiyle artış gösterirken en belirgin artış prolin amino asitinde görülmüştür.

Baloglu ve ark. (2014), yaptıkları araştırmada kuraklığa toleranslı Kızıltan 91 (*T. turgidum* ssp. Durum.), orta şiddetteki kuraklığa toleranslı Yüreğir-89 (*T. aestivum*) ve kuraklığa düşük toleranslı Siyez (*Triticum monococcum* L.) gen ifadesi çalışmalarında kullanmışlardır. Kuraklık stresi uygulaması için PEG 6000 ve tuz stresi uygulaması için 250 mM NaCl kullanmışlardır. 10 gün normal büyüme şartları altında yetişen fideler stres uygulamalarının ardından 0, 3, 12 ve 24. saatlerde hasat edilerek analiz edilmiştir. Analiz sonucunda 5 genin Kızıltan 91’de kuraklık stresi altında 12. Saatte yukarı regüle edildiği, Yüreğir-89’da bir gen dışında 12 ve 24. Saatlerde yukarı regüle edildiği ve atasal buğday olarak bilinen Siyez türünde bir gen dışında 3. Saatte yukarı regülasyon gösterdiği belirlenmiştir. Tuzluluk stresinde Kızıltan-91 çeşidinde 5 gende de 24. saatte yukarı regüle olduğu ve Siyez türlerinde bir gen dışında 24. saatlik dilimde yukarı regüle olduğu belirlenmiştir.

Tavakolli ve ark. (2016), iki farklı tuz stresi etkisinde, toleranslı ve hassas üç buğday çeşidi kullanarak bu stresler altında prolin birikimi ve ilgili genlerin cevabı ile iyonların artış azalış konsantrasyonlarını incelemişlerdir. 21 gün boyunca yetiştirilen buğdaylar istenilen tuzluluk seviyesine ulaşmak için 3 gün boyunca 150 mM NaCl çözeltisi ile sulanmıştır. Tuzluluk stresi koşulları altında tüm çeşitlerde K^+ konsantrasyonunun genellikle azaldığı görülmüştür. Hassas çeşitteki Na^+ konsantrasyonu, toleranslı çeşitlere kıyasla iki kat veya daha fazla artmıştır. Tüm çeşitlerde yapraklarda K^+/Na^+ oranı, kontrol işlemine göre tuzluluk seviyesinin artmasıyla önemli ölçüde azalmıştır. Tuzluluk stresi etkilerine bağlı olarak sürgün biyokütlesi ve tane ağırlığı tüm çeşitlerde azalmıştır. Prolin hassas türlerde toleranslı türe göre daha fazla birikmiştir. Toleranslı çeşitlerin dördüncü yaprağında daha yüksek prolin bozumasının tuzluluk stresi altında bu çeşitlerin verimini arttırmaya destek bir enerji veya nitrojen kaynağı sağlanmış olabileceğini düşündürmektedir. Prolin bozunduğunda NAD(P)H salınacak ve hücre enerjisi daha yüksek olacaktır.

Amist ve Singh (2017), sera ortamında yetiştirdikleri *Triticum aestivum* L. fidelerine su eksikliği ve pirinç kalıntıları kullanılarak alleopatik stres uygulamaktadırlar. Bu stresler tek başlarına, kombine şekilde ve 15 ila 25 günlük süreler kullanılarak yapılmıştır. Sonuç olarak buğday fidelerinde, su eksikliği olan fidelerde kontrole göre maksimum artış (23,8 kat) gözlenmiştir. Su eksikliği olmayan kalıntılarda prolin içeriği 5,5 kat artmıştır. Su eksikliği olan ve maksimum kalıntı olan muamelede prolin içeriği

önemli ölçüde (31,7 kat) artmıştır. Su stresine tepki olarak buğday fidelerinin yapraklarındaki glutamat dehidrojenaz (GDH), *P5CR*, *P5CS* aktiviteleri artmıştır. Yapılan bu çalışma prolin sentezinin sadece biyotik, abiyotik stres faktörleri tarafından yönetilmediği aynı zamanda streslerin süresine bağlı olduğunu göstermektedir.

Koenigshofer ve Loeppert (2019), buğday fidelerinde (*Triticum aestivum* L. Josef) yapmış oldukları çalışmada 8 saat boyunca ozmotik stres uygulaması sonucunda kök uçlarında ve yaprak taban bölgelerinde prolin temel enzimleri olan *P5CR* ve *P5CS* tarafından prolin birikiminin hızla gerçekleştiğini göstermektedirler. Ayrıca ozmotik stres altında prolin birikimi, *P5CS* ve *P5CR* aktivitelerinin aktif hücre bölünmesinin olduğu bölgelerde en yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu çalışma su stresinin ilk aşamasında kök ve yaprakların meristematik dokularının korunmasında ilk önce prolin miktarının artmasının önemli olduğunu göstermektedir.

2.3. SRG İle İlgili Çalışmalar

Rana ve ark. (2015)'de Kharchia 65 (tuza toleranslı) ve HD 2009 (tuza hassas) 2 buğday genotipini tuzluluk stresine *TaSRG* (*Triticum aestivum* salt response gene) ve *TaRUB* (*Triticum aestivum* ubiquitin ile ilgili gen) genlerinin ekspresyonunu araştırmak amacıyla ilk yaprak çıkışına kadar yetiştirilmiştir. 7 gün sonra 0,75g NaCl ve 0,11g CaCl₂ (kap başına) üç gün boyunca uygulanmıştır. Her bir genotipin üç kopyası 24, 48, 72 saatlik tuz muamelesinde analiz edilmiştir. Tuza hassas HD 2009 genotipine (2 kat) kıyasla tuza toleranslı Kh 65'in (16 kat) köklerinde *TaSRG*'nin daha yüksek ifade olduğunu belirlenmiştir.

Sürgünlerde, her iki genotipte de *TaSRG* ekspresyonunda 48 saate kadar bir artış ve ardından 72 saatte bir azalma olduğunu belirlenmiştir. 48. saatte Kh 65 genotipinin yaprağında 9 kat, HD 2009 da 4kat *TaSRG* ekspresyonu gerçekleşmiştir. Tuzluluk stresine tolerans sağlayan genler tuzluluğa toleranslı bitki çeşitleri yetiştirmek ve geliştirmek için yapılan çalışmaların artırılması sürdürülebilir tarım için son derece önemlidir.

2.4. Antosiyanin ile İlgili Çalışmalar

Mancinelli ve ark. (1975) çeşitli spektral bölgelerde ışınlanma periyotlarına uzun

süre maruz bıraktıkları lahana (*Brassica oleracea*), hardal (*Sinapis alba*), domates (*Lycopersicon esculentum*) ve şalgam (*Brassica rapa*) fidelerinde streptomisin antosiyanin sentezini arttırırken klorofil sentezini ve kloroplast gelişimini engellediğini belirlemişlerdir. Bu sonuçlara bakılarak lahana, hardal, domates ve şalgam fidelerinde fotosentezin ışığa bağlı yüksek ışınım reaksiyonlarında antosiyanin sentezine minimum seviyede katkıda bulunduğunu belirlemişlerdir.

Şimdiye kadar sadece fitokrom fotoreseptör olarak bilinse de lahana, hardal, domates ve şalgam fidelerinde yapılan bu çalışmayla birlikte ışığa bağımlı antosiyanin sentezinin takibi ile tatmin edici bir sonuç belirlemişlerdir.

Ayrıca klorofil sentezinin inhibisyonu ile streptomisin tarafından meydana getirilen antosiyanin birikiminin artması arasında korelasyon olduğunu belirlemişlerdir. Streptomisin hardal, domates ve lahana fidelerinde çeşitli ışık uygulamaları altında klorofil sentezi üzerine güçlü bir inhibitör etkiye sahiptir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu çalışmada iki buğday türü (*Triticum monococcum* L., Siyez ve *Triticum aestivum* L. cv, Dağdaş-94) tohumları kullanılmıştır. Buğday materyalleri Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü laboratuvarındaki ulusal tohumlardan temin edilmiştir. Siyez buğdayı düşük verimli olmakla birlikte protein oranı, bin tane ağırlığı, kül ve glüten oranı ekmeklik buğday kadar kaliteli yapıdadır (Olgun ve ark., 2015).

Buğdayın atası olarak bilinen *T. monococcum* L. (Siyez), diploid 14 kromozumlu, sıkı kavuz yapısında, bu yapı sayesinde abiyotik ve biyotik stres faktörlerine karşı yüksek rekabet gücüne sahip, düşük verimli bir çeşit olduğu bildirilmiştir (Keçeli, 2019).

T. monococcum L., Siyez kirlilik, tuz, ağır metal, kireç, kuraklık gibi abiyotik stres koşullarına tolerans göstermektedir (Turfan, 2019). *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94 ise, hexaploid genotiptedir. Kuraklık, sıcaklık, tuzluluk gibi çeşitli abiyotik stres faktörlerine tolerans göstermektedir (Pandey ve ark. 2015a, 2015b).

3.2. Yöntem

3.2.1. Bitki Yetiştirme Koşulları

Tohumlar % 2 'lik sodyum hipoklorit çözeltisinde 20 dk bekletilerek steril edilmiş tohumlar saf su ile yıkanıp yaklaşık bir saat saf su içine bırakılarak şişmesi sağlanmıştır. Daha sonra toprak, kum ve torf (2v:1v:2v) karışımı hazırlanmıştır. Bu karışımın belirli bir kısmı tuz stresi (%0,7 NaCl) uygulaması için kullanılmıştır. Bu karışım viyollere doldurulup her viyole yaklaşık 18 tohum olacak şekilde ekimi yapılmıştır. Viyollere alınan tohumlar 12 saat gündüz 24±2 °C'lik ve 12 saat gece 16±2 °C'lik ortamda yaklaşık 25 gün yetiştirilmiştir.

Deney 8 farklı gruba ayrılmıştır.

1. Grup (Siyez kontrol): Birinci günden 25. günün sonuna kadar koşullar değiştirilmeden (24/16 °C gündüz/ gece) bitkiler yetiştirilmiştir.

2. Grup (Siyez Tuz uygulaması (%0,7 NaCl): Bu bitkilerin toprakları %0,7 NaCl (Keleş ve Öncel, 2004) ile iyice karıştırıldıktan sonra viyollere konmuştur. Buğday tohumlarının tuzdan etkilenerek çimlenmede yaşanacak sorunun önüne geçmek amacıyla tohumlar viyollerin tuz uygulaması yapılmamış olan üst kısmına ekilmiştir. 25 gün

boyunca normal su ile sulama işlemine devam edilmiştir.

3. Grup (Siyez Su baskını): 25. Günü sonuna kadar koşullar değiştirilmeden (24/16 °C gündüz/ gece) bitkiler yetiştirilmiştir. 25 günün sonunda bitki toprakları su altında kalacak şekilde sulandıktan sonra 0, 3 ve 24. saatlerde (Tiryakioğlu ve ark., 2014) bitkiler hasat edilmiştir.

4. Grup (Siyez Su baskını+ %0,7 NaCl): Bu bitkilerin toprakları %0,7 NaCl ile iyice karıştırıldıktan sonra viyollere konmuştur. Buğday tohumlarının tuzdan etkilenerek çimlenmede yaşanacak sorunun önüne geçmek amacıyla tohumlar viyollerin tuz uygulaması yapılmamış üst kısmına ekilmiştir. 25 gün boyunca normal su ile sulama işlemine devam edilmiştir. 25. Günü sonuna kadar koşullar değiştirilmeden (24/16 °C gündüz/ gece) bitkiler yetiştirilmiştir. 25. Günü sonunda bitki toprakları su altında kalacak şekilde sulandıktan sonra 0, 3 ve 24. saatlerde bitkiler hasat edilmiştir.

5. Grup (Dağdaş Kontrol): Birinci günden 25. günü sonuna kadar koşullar değiştirilmeden (24/16 °C gündüz/ gece) bitkiler yetiştirilmiştir.

6. Grup (Dağdaş Tuz uygulaması (%0,7 NaCl): Bu bitkilerin toprakları %0,7 NaCl ile iyice karıştırıldıktan sonra viyollere konmuştur. Buğday tohumlarının tuzdan etkilenerek çimlenmede yaşanacak sorunun önüne geçmek amacıyla tohumlar viyollerin tuz uygulaması yapılmamış üst kısmına ekilmiştir. 25 gün boyunca normal su ile sulama işlemine devam edilmiştir.

7. Grup (Dağdaş Su baskını): 25. Günü sonuna kadar koşullar değiştirilmeden (24/16 °C gündüz/ gece) bitkiler yetiştirilmiştir. 25. Günü sonunda bitki toprakları su altında kalacak şekilde 0, 3 ve 24. saatlerde bitkiler hasat edilmiştir.

8. Grup (Dağdaş Su baskını+%0,7 NaCl): Bu bitkilerin toprakları %0,7 NaCl ile iyice karıştırıldıktan sonra viyollere konmuştur. Buğday tohumlarının tuzdan etkilenerek çimlenmede yaşanacak sorunun önüne geçmek amacıyla tohumlar viyollerin tuz uygulaması yapılmamış olan üst kısmına kısmına ekilmiştir. 25 gün boyunca normal su ile sulama işlemine devam edilmiştir. 25. Günü sonuna kadar koşullar değiştirilmeden (24/16 °C gündüz/ gece) bitkiler yetiştirilmiştir. 25. Günü sonunda bitki toprakları su altında kalacak şekilde 0, 3 ve 24. saatlerde bitkiler hasat edilmiştir. 25 gün boyunca viyoller saat yönünde her gün değiştirilmiştir.

Deney aşamasında hasat yapılırken her gruptan grubu en iyi temsil eden 3 örnek alınmıştır. Hasat sonunda fidelerin büyüme ve klorofil ölçümlerini yapılabilmesi için

fidelerin taze sürgün kısımları kesilmiştir. Sürgünlerin uzunluk (cm) verileri ölçülmüş, taze ağırlıkları (gr) tartılmıştır. Sürgünler, bazı analizleri (KAT, GR, APX, serbest prolin, Antosiyanin) yapabilmek için tarih ve grup ismi belirtilerek paketlenip -80 °C'lık derin dondurucuda bekletilmiştir.

3.2.2. Bitki Büyüme Ölçümleri

Herhangi bir uygulama yapılmayan ve uygulama yapılan buğday fidelerinden boyları grubu temsil eden 5 örnek seçilmiştir. Bu örneklerin boyları cm olarak ve taze ağırlıkları gr olarak ölçülmüştür.

3.2.3. Kuru Madde Tayini

Taze ağırlıkları tespit edilmiş sürgünler 80°C' lik etüvde 48 saat süreyle suyu uzaklaştırılmış ve kuru ağırlığı tartılmıştır.

3.2.4. Pigmentlerin Analizi

3.2.4.1 Klorofil

Klorofil ekstraksiyonu öncesi sodyum fosfat tamponu hazırlanarak, bu tampon ile %80'lik aseton'un pH'sı 7,8'e ayarlanmıştır. Hasat günü taze yapraklardan alınan örneklerin klorofil ekstraksiyonu %80'lik aseton kullanılarak yapılmıştır. Spektrofotometre %80 aseton (pH 7,8) ile 750 nm dalga boyunda sıfırlanmıştır. Spektrofotometrede 664 ve 647 nm dalga boylarında klorofil a ve klorofil b miktarlarının ölçümü yapılmıştır. Klorofil miktarları Porra ve ark., (1989)' a göre yapılmış, Klorofil a+b ve klorofil a/b oranı da hesaplanmıştır..

3.2.4.2 Antosiyanin

Bitkinin toprak yüzeyine yakın kısmından alınan 0,2 g taze yaprak materyali Mancinelli ve ark., 1975' e göre 10 ml metanol: HCl (99:1 v/v) içinde 3-5 °C'lık ortamda çalkalama cihazına yerleştirilerek 24 saat homojenize edilmiştir. 24 saatin sonunda homojenat süzölmüştür. Süzölen homojenatların absorbansları spektrofotometrede ölçölmeden önce metanol: HCl çözeltisi ile spektrofotometre sıfırlanmış daha sonra

süzülen ekstraktların 530 ve 657 nm dalga boylarında absorbanans değerleri ölçülmüştür.

3.2.5. Enzim Analizleri

-80 °C'lik derin dondurucuda bekletilen örneklerden 0,5 er gram havana alınmış üzerine bir miktar sıvı azot konularak hızlı bir şekilde toz haline getirilmiştir. Örneğin üstüne sırasıyla 2 ml+ 2 ml+ 1 ml şeklinde toplam 5 ml, pH 7,6'ya ayarlanmış fosfat ($K_2HPO_4 + KH_2PO_4$) tamponu eklenip ekstrakte edilmiştir. Örnek eppendorf tüplere alınıp 1500 rpm'de 15 dakika +4 dereceye ayarlanmış soğutmalı santrifüj cihazında çöktürülmüştür. Santrifüj edilen örneklerin süpernatant kısımları başka eppendorflara otomatik pipet yardımıyla alınarak derin dondurucuya konulmuştur.

3.2.5.1. Glutasyon Redüktaz (GR)

Çakmak ve Marschner (1992) ve Çakmak (1994)'e göre, glutasyon redüktaz (GR) aktivitesi ölçümü 339,5 nm dalga boyuna ayarlanmış spektrofotometrede absorbanstaki azalma dikkate alınarak ölçülmüştür. Reaksiyon için hazırlana karışımın içinde (1 ml), 50 mM pH'sı 7,6'ya ayarlanmış fosfor tamponu 0,1 mM EDTA, 0,5 mM okside glutasyon (GSSG) 0,12 mM NADPH.Na₄ ve enzim ekstratı bulunmaktadır.

3.2.5.2. Katalaz (KAT)

Katalaz enziminin aktivitesinin ölçümü (KAT), spektrofotometrede 240 nm dalga boyunda H₂O₂'in parçalanma oranına göre yapılmıştır. Reaksiyon için hazırlanan karışımın içerisinde (1 ml), 50 mM fosfor tamponu (pH 7,6), 0,1 mM EDTA, 100 mM H₂O₂ ve enzim ekstratı bulunmaktadır (Çakmak ve Marschner, 1992).

3.2.5.3. Askorbat Peroksidaz (APX)

Askorbat Peroksidaz (APX) aktivitesi, 290 nm dalga boyunda askorbik asit oksidasyonuna bağlı olarak absorbanstadaki azalmaya bakılarak ölçülmüştür (Asada, 1992). Reaksiyon karışımı (1ml), 50 mM fosfor tamponu (pH 7,6), 0,1 mM EDTA, 12 mM hidrojen peroksit, 0,12 mM askorbik asit ve enzim ekstraktından oluşmaktadır.

3.2.5. Serbest Prolin Analizi

Prolin analizi için, 0,5 g tartılan taze sürgünler %3'lük sülfosalisilik asit (10 ml) kullanılarak porselen havanda ezilmiş ve Whatman No:2 filtre kağıdına aktarılan ezilmiş örnek 24 saat +4 °C' de süzölmüştür. Süzölen örneklerin 2 ml'si alınıp ve üzerine 2 ml ninhidrin çözeltisi, 2 ml glasiyel asetik asit eklenerek 100°C'lik su banyosunda 1 saat bekletilmiştir. Su banyosundan çıkarılan örnekler oda sıcaklığına alınmış ve 4 ml soğuk tolüen eklenerek 15-20 sn vortekslenmiştir. Tolüen fazı pipetle alınarak 520 nm dalga boyundaki değeri spektrofotometrede ölçölmüştür (Bates ve ark., 1973).

3.3. Gen İfadelerinin Tespiti

3.3.1. RT-PCR Hazırlık Aşamaları

Su baskını ve tuzluluk streslerine maruz bırakılan buğday örnekleri, 12 saat gündüz 24±2 °C'lik ve 12 saat gece 16±2 °C'lik ortamda yaklaşık 25 gün yetiştirilmiştir. 25. günün sonunda hasat sırasında alınan yaprak örnekleri sıvı azot içerisinde bekletilmiştir. Örnekler RNA analizleri yapılcaya kadar -80 °C 'de saklanmıştır.

3.3.2. Total RNA İzolasyonu

Ortalama 1 gr olarak alınan buğday sürgünleri küçük parçalara ayrılarak 2 ml'lik tüplere alınmıştır. Örneklerin üzerine 500 µl Trizol ve 200 µl 0.5mm çapında cam boncuk eklenmiş ve 2 dakika homojenizatörde 7000 rpm'de karıştırılmıştır. Karışım oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildikten sonra 0,2 ml kloroform eklenmiş ve elle 20 saniye çalkalanmış daha sonra 3 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Karışım 12000 RCF (G)'de +4°C'de 15 dakika santrifüj edilip üst kısım temiz tüpe alınmıştır. Üzerine 500 µl 2-propanol eklenmiştir. Karışım oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edilmiştir. Daha sonra 12000 RCF (G)'de +4°C'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Üst fazı atılmış ve üzerine 1 ml %75'lik etanol eklenip ve vortex ile iyice karıştırılmıştır. Daha sonra karışım 17500 G'de +4°C'de 5 dakika santrifüj edilmiş, süpernatant atılmış, geriye kalan fazla alkol pipetle atılmıştır. Dipte kalan pelletin 5-10 dakika kuruması ve alkolün iyice uçması beklenmiştir. Kuruyan pellet 50 µl RNase - free suda çözölmüştür. Çözönen sıvı 60°C'de 15 dakika bekletilmiştir. Elde edilen RNA'lardan komplementer DNA (cDNA) sentez edilmiştir.

3. 3. 3. Ters Transkripsiyon (Komplementer DNA (cDNA) Sentezi)

6 µl RNA ,2 µl oligo dT primer ile karıştırılarak, 10 dk. 70 °C inkübe edildikten sonra 5 dk buz üzerinde inkübe edilmiştir. 4 µl 5x reaksiyon tamponu (250 mM Tris-HCL Ph 8,3 375 Mm MgCl₂ and 50 Mm DDT) 1 µl Dntp mix (40 mM), 1 µl ters transkriptaz (200 U/ µl) ve 6 µl steril deiyonize su eklenmiştir. Toplam 20 µl'lik bir karışım elde edilmiştir. 60 dk. 37 °C'de inkübe edilmiş ve elde edilen cDNA -20 °C'de saklanmıştır.

cDNA'lar, buğdaylardaki strese bağlı gen ifade seviyelerindeki değişimleri belirlemek için uygulanan Gerçek Zamanlı PCR reaksiyonlarında template olarak kullanılmıştır.

3. 3. 4. Gerçek Zamanlı PCR

Farklı streslere maruz bırakılmış 24 farklı buğday örneğinde 3 tekrarlı olarak gen ekspresyon seviyelerini belirlemek için **Biospeedy™ Rölatif Sayım Kiti, Türkiye** kullanılmıştır.

Kit, Pyrroline-5-carboxylate reductase *P5CR* ve *Triticum aestivum* L. Dağdaş-94 Salt Response *TaSRG* genlerini hedef almaktadır.

Hedef genlerin ekspresyon seviyelerini normalize etmek için buğdaylarda protein kodlayan referans gen olarak chlorophyll (chl) kullanılmıştır. Kit, referans ve hedef genlere özgü primerleri ve gerçek Zamanlı PCR reaksiyonunun gerçekleşmesi için gereken enzim ve tamponları içermektedir.

Bütün reaksiyonlarda Bio-Rad CFX Connect (Bio-Rad Laboratories, Amerika) Real Time PCR cihazı kullanılmıştır. Reaksiyon 1.5 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTP mix, 1x Reaksiyon Tamponu, TAKARA Ex Taq HS DNA Polimeraz, 1x EvaGreen, 4 ng/µl kalıp cDNA ve her bir primerden 0.5 µM içermektedir. Cihazda, primer çiftine özgü bağlanma sıcaklıkları ve optimizasyonu sağlanmış ısı döngüsü programı uygulanmıştır. Q-PCR sırasında sadece istenilen ürünün çoğaltıldığını belirlemek için 65°C - 98°C arasında erime eğrisi analizi yapılmıştır. Q-PCR dataları, Bio-Rad CFX Connect Maestro Software'de analiz edilmiştir.

3.3.5. Verilerin Değerlendirilmesi

Çalışmada yer alan değişkenlerin normal dağılıma uygunluk gösterip göstermediği Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi. Değişkenlerin tanımlayıcı istatistiklerinin gösteriminde ortalama±SS (standart sapma) değerleri verildi. Grup faktörü (kontrol, tuz

stresi, su baskını stresi, tuz+su baskını stresi), zaman faktörünün (0.saat, 3.saat ve 24.saat) ve her iki faktörün etkileşiminin, ölçüm değerleri üzerindeki etkisi iki yönlü karma varyans analizi (two way mixed ANOVA) kapsamında incelendi. Zaman faktörünün ikili karşılaştırılmasında Bonferroni metodu tercih edildi. Grup faktörünün ikili karşılaştırmalarında Duncan metodu tercih edildi. Zaman faktörünün ikili karşılaştırılmasında Bonferroni metodu tercih edildi. Değişkenlerin kendi aralarında yapılan korelasyon analizinde pearson korelasyon katsayısı verildi. İstatistiksel analizler ve hesaplamalar için IBM SPSS Statistics 21.0 (IBM Corp. Released 2012. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0. Armonk, NY: IBM Corp.) ve MS-Excel 2007 programları kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $P<0.05$ olarak kabul edilmiştir.



4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Deney sonuçlarına göre elde edilen veriler, stres uygulanmayan fideler ile tuz stresi uygulanan, 3 ve 24 saat su baskını stresine maruz kalan ve tuz+su baskını (T+SB) stresi uygulanan buğday fideleri arasında fizyolojik ve biyokimyasal değişiklikleri belirleyecek şekilde değerlendirilmiştir. Çalışmalarda kullanılan buğday fidelerinde sürgün boyu, sürgün taze ağırlığı, sürgün kuru ağırlığı, klorofil (a, b, a+b, a/b), KAT, GR ve APX enzim aktiviteleri, antosiyanin miktarı, prolin birikimi ve stres koşullarında ifade edilen *TaSRG* ve *P5CR* proteinlerinin RT-PCR analiz sonuçları incelenmiştir.

Seçilen modern ve atasal buğday türleri, kullanılan parametrelere göre karşılaştırılarak stres çeşidine göre gösterdikleri tolerans belirlenmeye çalışılmıştır.

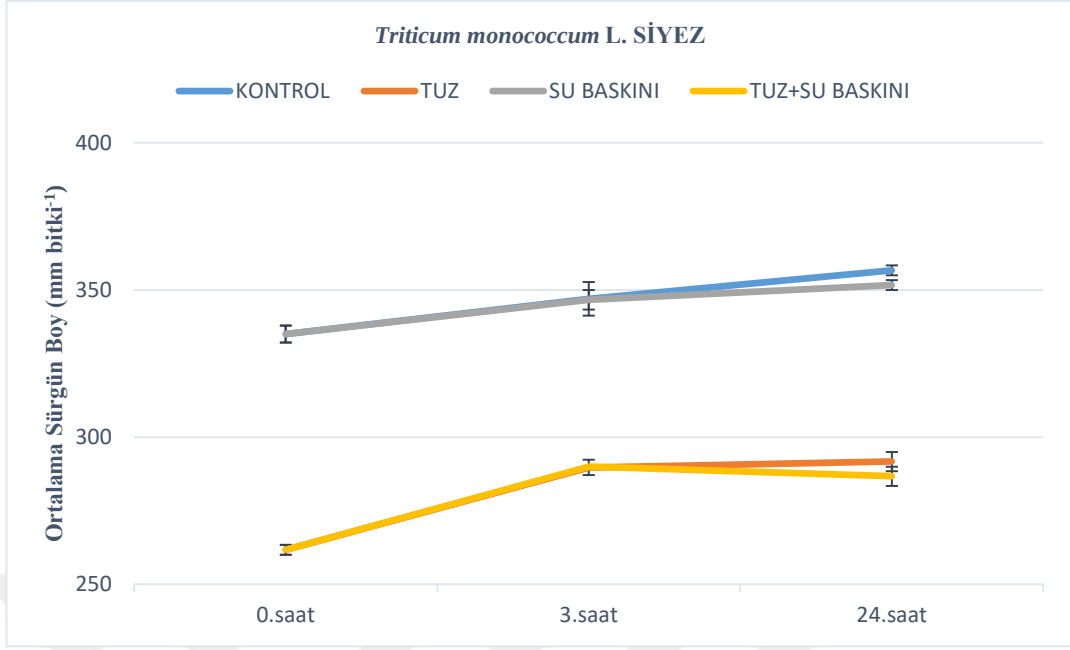
Tuz ve su baskını streslerinin bitkilerde meydana getirdiği fizyolojik ve biyokimyasal değişimler birçok araştırmada yer almıştır. Tuz stresi (Sairam ve ark., 2002; Wang ve Xia, 2018), su baskını stresi (Zheng ve ark., 2009; Rivest ve ark., 2013), tuz ve su baskını streslerinin çapraz etkileşimleri altında bitkilerin verdiği cevaplar çeşitli parametreler açısından değerlendirilmiştir (Sagib ve ark., 2004). Ayrıca birçok çalışmada strese toleranslı bitkilerin belirlenmesi (Wani ve ark., 2018) konu edinmiştir.

4.1. Büyüme Parametreleri

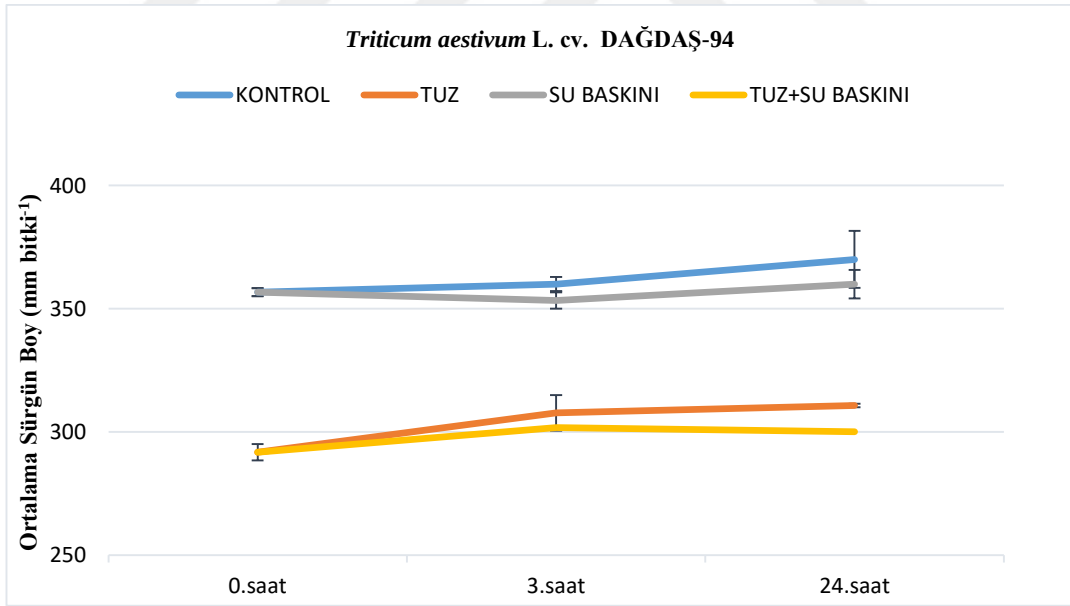
Tuz stresi etkisinde *Triticum monococcum* L. Siyez ve *Triticum aestivum* L. cv., Dağdaş-94 buğday türlerinde sürgün boy uzunluğu, önemli derecede etkilenmiştir ($P<0.001$) (Şekil 4.1) (Şekil 4.2) (Çizelge 4.3) (Çizelge 4.6). Ata buğdayı *T. monococcum* L. Siyez, modern buğday *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94'e göre tuz stresine daha duyarlıdır (Şekil 4.1), (Şekil 4.2). *T. monococcum* L., Siyez türünde sürgün boylanmasında meydana gelen azalma, *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94 ten daha fazla olmuştur.

Su baskını süresinin (3 ve 24 saat gibi) kısa olması nedeniyle *Triticum monococcum* L. Siyez ve *Triticum aestivum* L. cv., Dağdaş-94 sürgün boy uzunluğunda önemli bir değişiklik gözlenmemiştir. (Şekil 4.1) (Şekil 4.2).

Tuz ve su baskını (T+SB) uygulamasında *Triticum monococcum* L. Siyez buğday türünde sürgün boy uzunluğunda meydana gelen farklılıklar önemlidir ($P<0.001$) (Çizelge 4.3). *T. monococcum* L. Siyez türünde T+SB uygulamasında zamana bağlı (0- 3 saat ve 3- 24) sürgün gelişiminin olumsuz yönde etkilendiği belirlenmiş, ($P<0.001$) bu etkinin en fazla 24. saatte olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.2).



Şekil 4.1. Tuz, su baskını ve tuz+ su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum monococcum* L. Siyez fidelerinin ortalama sürgün boyunda değişimler (mm bitki⁻¹)

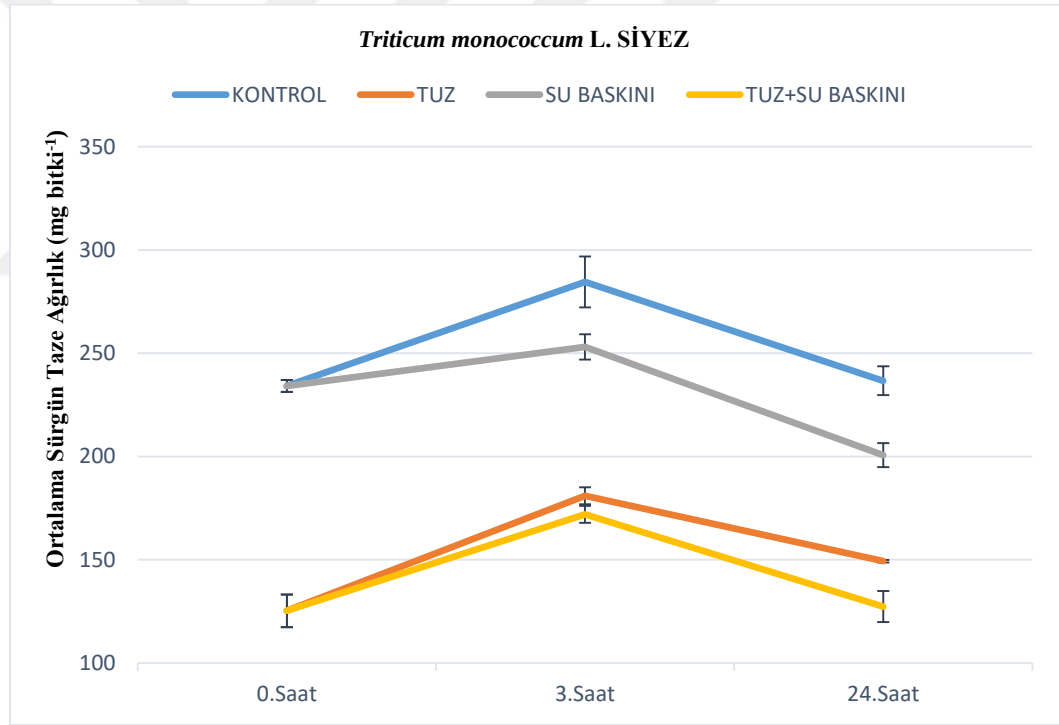


Şekil 4.2. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum aestivum* L. cv, Dağdaş-94) fidelerinin ortalama sürgün boyunda değişimler (mm bitki⁻¹)

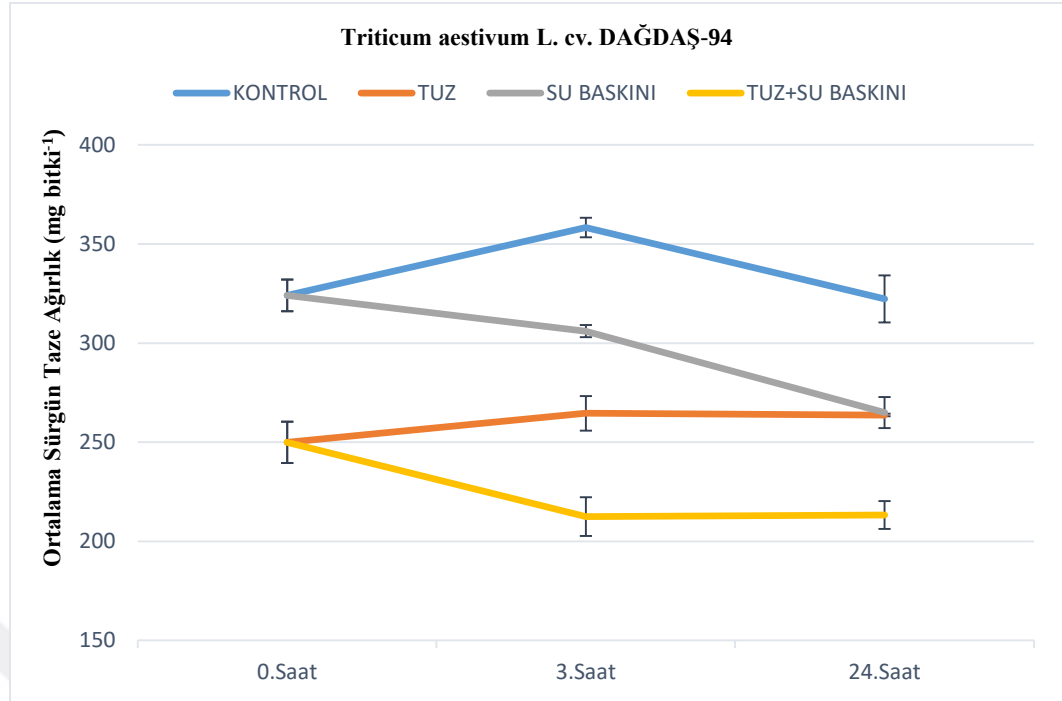
Tuz stresine maruz bırakılan, *Triticum monococcum* L. Siyez ve *Triticum aestivum* L. cv., Dağdaş-94 türlerinde sürgün taze ağırlık miktarında azalma gözlenmiştir (Şekil 4.4), (Şekil 4.3), ($P<0.001$).

Su baskını uygulamaları iki buğday türünde de sürgün taze ağırlığında, önemli derecede azalmaya neden olmuştur ($P<0.05$) (Şekil 4.3, 4.4). *Triticum monococcum* L. Siyez türünde SB uygulamasında taze ağırlık miktarı meydana gelen azalma, *Triticum aestivum* L. cv., Dağdaş-94 türüne göre daha az miktarda belirlenmiştir.

T+SB streslerinin etkisi altında taze ağırlık miktarında önemli değişiklikler kaydedilmiştir ($P<0.001$). *Triticum monococcum* L. Siyez türünde taze ağırlık miktarındaki azalma *Triticum aestivum* L. cv., Dağdaş-94'e göre daha fazla olmuştur (Şekil 4.3) (Şekil 4.4).



Şekil 4.3. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum monococcum* L. Siyez) fidelerinin ortalama sürgün taze ağırlığındaki değişimler (mg bitki^{-1}).

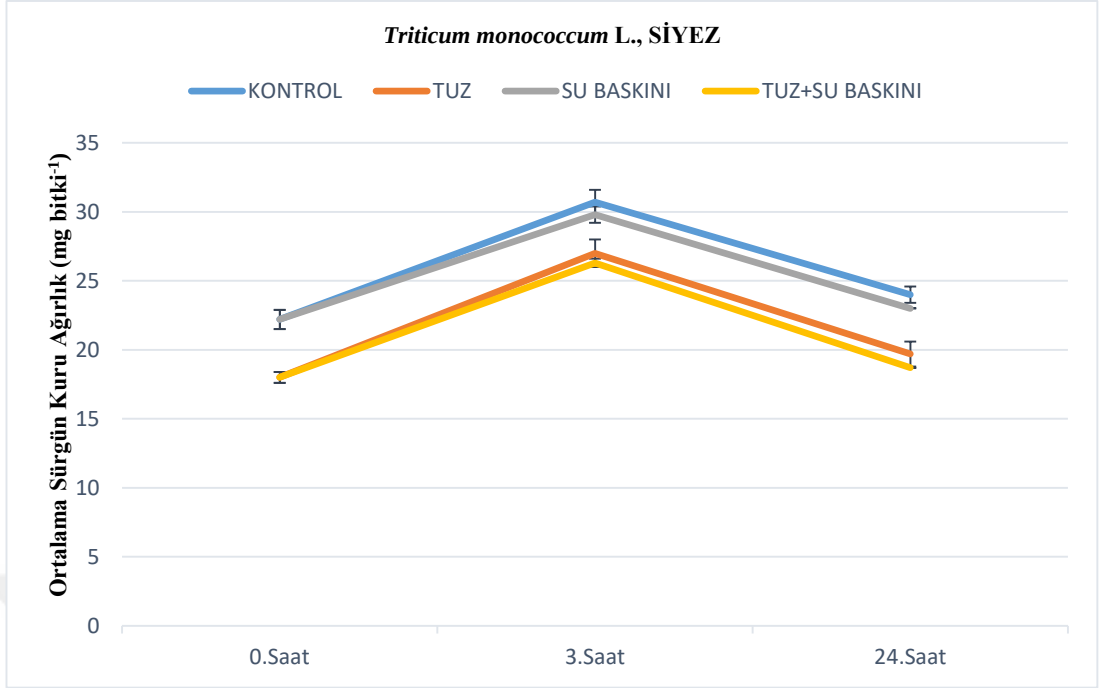


Şekil 4.4. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum aestivum* L. cv., Dağdaş-94) fidelerinin ortalama sürgün taze ağırlığındaki değişimler (mg bitki⁻¹).

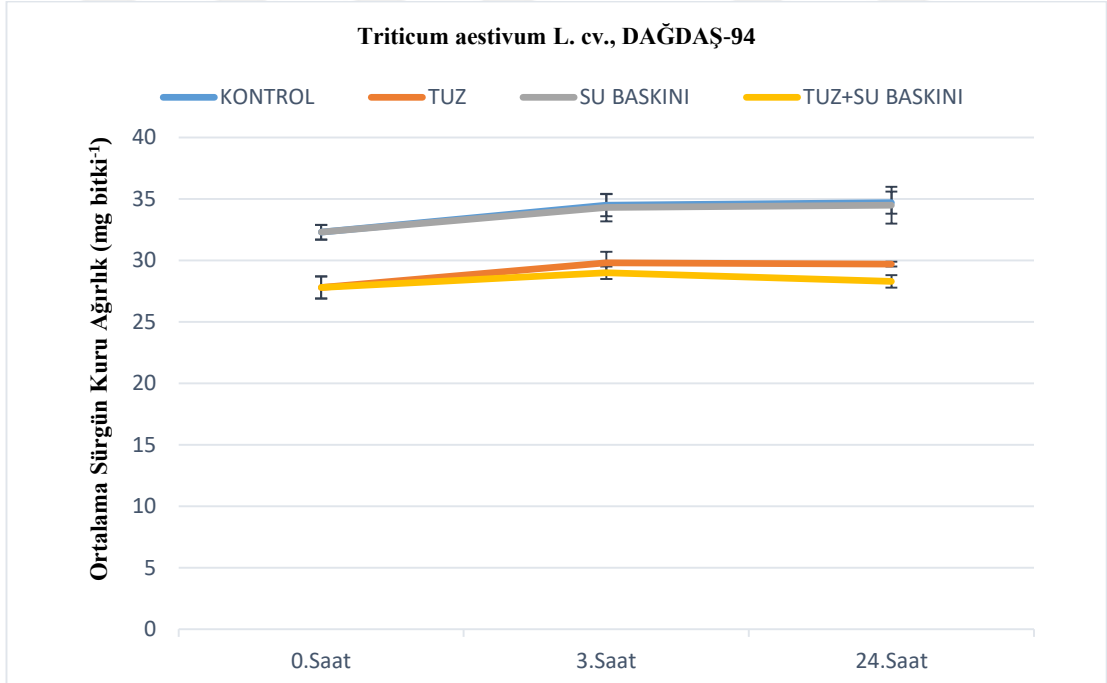
Tuz stresine maruz bırakılan *T. monococcum* L., Siyez türünde sürgün kuru ağırlık miktarında meydana gelen azalma önemli olarak belirlenmiştir ($P < 0.001$) (Çizelge 4.3). Sürgün kuru ağırlığındaki azalmanın aerob metabolizmadan anaerob metabolizmaya geçiş nedeni ile meydana gelen enerji kaybı ve organik madde birikimindeki azalmadan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Su baskını uygulanmış *T. monococcum* L., Siyez ve *T. aestivum* L., cv., Dağdaş-94 türlerinde sürgün kuru ağırlık miktarı azalmıştır (Şekil 4.5) (Şekil 4.6). Sürgün kuru ağırlık miktarındaki azalma *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94 türünde, *T. monococcum* L. Siyez türüne göre daha fazla olmuştur ($P < 0.05$) (Çizelge 4.3, Çizelge 4.6).

Tuz ve su baskını streslerinin etkileşiminde sürgün kuru ağırlık miktarı azalmıştır (Çizelge 4.3, Çizelge 4.6). *T. monococcum* L., Siyez in (Şekil 4.5) sürgün kuru ağırlık miktarının, *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94'ten (Şekil 4.6) daha fazla etkilendiği görülmüştür.



Şekil 4.5. Tuz, su baskını, tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum monococcum* L. Siyez) fidelerinin ortalama sürgün kuru ağırlığındaki değişimler (mg bitki⁻¹).



Şekil 4.6. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum aestivum* L. cv., Dağdaş-94) fidelerinin ortalama sürgün kuru ağırlığındaki değişimler (mg bitki⁻¹).

Prazak (2001), *Triticum aestivum*, *Triticum monococcum*, *Triticum durum* buğday türlerinin tuz stresine (0-20-50-100-200 mM) tolerans indeksini sürgün uzunluğu bazında belirlemiştir. Tuz konsantrasyonlarındaki artışın tohum çimlenmesinde azalmaya, sürgün ve kök uzamasında inhibisyona neden olduğunu belirlemiştir. Hekzaploid ve diploid buğdayların tuz stresine tetraploid buğdaylardan daha toleranslı olduğunu göstermiştir. 100 ve 200 mM tuz konsantrasyonunda *T. aestivum* türlerinin tuza tolerans yönünden *T. monococcum* türünden daha toleranslı olduğunu belirlemişlerdir. Benzer şekilde çalışmamızda tuz stresi etkisindeki *Triticum aestivum*, *T. monococcum* türlerinin, sürgün boy uzunluğu da negatif yönde etkilenmiş olup bulgularımız Prazak (2001) ile paralellik göstermektedir.

T. monococcum ve *T. aestivum* türlerinin kullanıldığı bu çalışmada benzer sürgün büyüme değişiklikleri tuz stresi uygulamalarında gözlenmiştir. Sürgün boylarında meydana gelen değişimler, tuz stresinin etkisi sonucu bitki toprağındaki yüksek tuz konsantrasyonunun artmasıyla ilk olarak bitkide osmotik stres oluşturmaktadır. Osmotik stresin etkisiyle kullanılabilir su miktarının azalmasına bağlı olarak sürgün gelişiminin yavaşladığı düşünülmektedir.

Asıf ve ark., (2020), buğday fidelerinin tuz ve ağır metal streslerine karşı dirençlerini belirlemek amacıyla 0,5 mM ve 1 mM NaCl ve 0,5 mM, 1 mM CuSO₄ ve bu streslerin kombine şekillerini uygulayarak buğdayın yaprak uzunluğu ve genişliği, yaprak sapı, kök uzunluğu, yaprak taze ve kuru ağırlığı kök-sürgün uzunluğu gibi büyüme parametrelerine bakılarak streslerin zararlı etkilerini belirlemişlerdir. Sonuç olarak, tuz ve ağır metal uygulamalarında büyüme parametreleri olumsuz olarak etkilenmiştir. Yaptığımız çalışmada da tuz stresinin etkisiyle sürgün boy, taze ağırlık, kuru ağırlık miktarlarında azalmalar kaydedilmiştir.

Khosravi ve ark. (2018) tetraploid buğday (*Triticum turgidum* L.) ve hexaploid buğday (*Triticum aestivum*.) fideleri 0, 3, 6 ve 9 gün süreyle su baskını stresine maruz bırakılmışlardır. Sonuç olarak buğdayların kök ve sürgün uzunluğunun azaldığını belirtmişlerdir. Çalışmamızda su baskını stresinin etkisinde, sürgün boy uzunluğunda önemli değişimler olmamıştır. (Çizelge 4.1.3, Çizelge 4.1.6). Sürgün boy uzunluğunda meydana gelen değişimlerin önemsiz bulunmasının kullanılan su baskını streslerinin süresinin kısalığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Barrett-Lennard ve Shabala (2013), tuzluluk ve su baskını streslerinin genellikle birlikte ortaya çıktığını belirlemişlerdir. Streslerin etkileşimi sonucunda bitki büyümesi azalmaktadır. Çalışmamızda kullandığımız buğday türlerinde, tuz ve su baskını uygulamalarının çapraz etkisinde sürgün boy, taze ağırlık ve kuru ağırlık miktarlarında meydana gelen azalmalar belirlenmiştir (Çizelge 4.1.3, Çizelge 4.1.6). Bu durum, Barrett-Lennard ve Shabala (2013)'nın sonuçları ile uyumludur.

Tuz stresi ve hipoksi faktörlerinin etkileşimi besinlerin bitkiler tarafından alınmasını azaltabilir. Sonuç olarak bitki büyümesi olumsuz etkilemektedir.

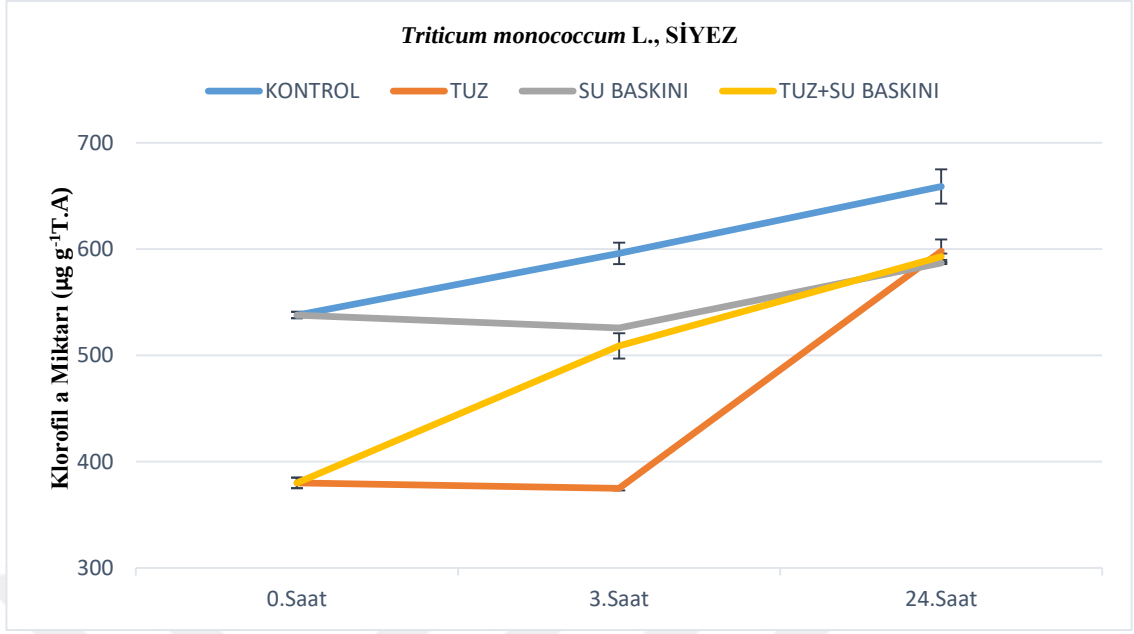
4.2. Klorofil Miktarı

4.2.1. Klorofil a Miktarı

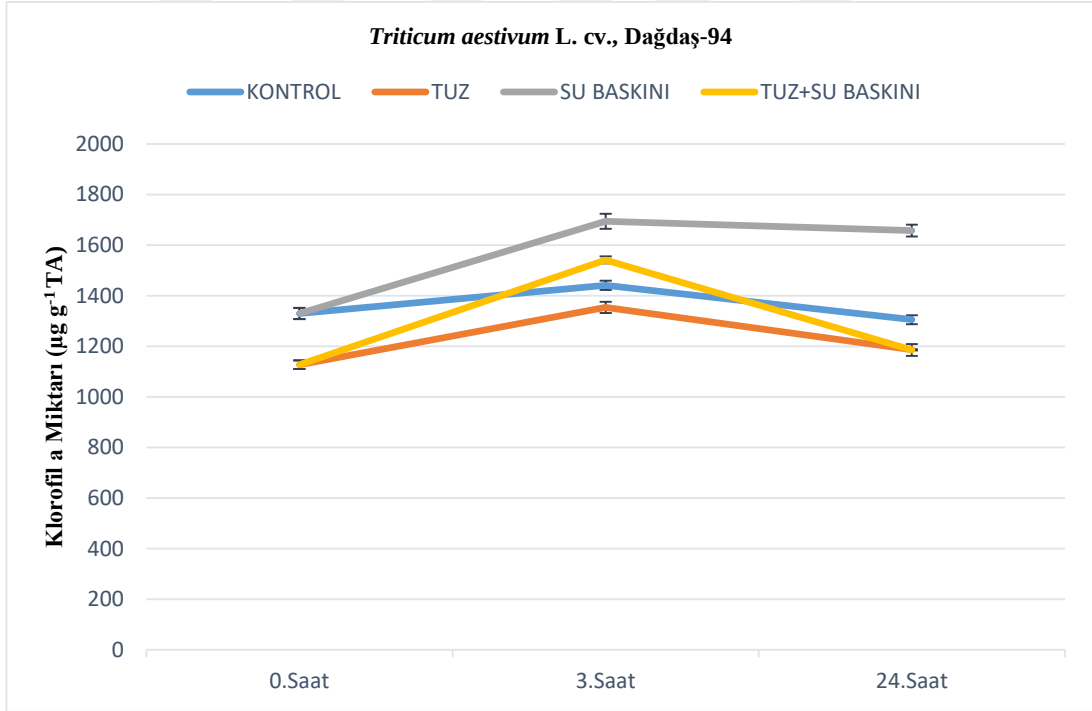
Tuz stresi etkisinde ata buğdayı *T. monococcum* L., Siyez'de (Şekil 4.7) ve modern buğday *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94'te (Şekil 4.8) Kl-a miktarları azalmıştır (Çizelge 4.3, Çizelge 4.6). Siyez buğdayında Kl-a miktarındaki azalma *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94'e göre daha fazla bulunmuştur.

Su baskını stresinin etkisinde *T. monococcum* L., Siyez'de Kl-a miktarı önemli şekilde azalırken, *T. aestivum* L. cv., Dağdaş'ta önemli miktarda artma olmuştur. ($P<0.001$) (Çizelge 4.3) (Şekil 4.7).

T. monococcum L., Siyez ($P<0.001$) ve *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94 ($P<0.05$) türlerinde tuz ve su baskını streslerinin birlikte etkisinde meydana gelen değişimler önemli bulunmuştur (Çizelge 4.3) (Çizelge 4.6). *T. monococcum* L., Siyez türünün Kl-a miktarında meydana gelen klorofil kaybının, *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-daha fazla olduğu görülmüştür (Şekil 4.7) (Şekil 4.8).



Şekil 4.7. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum monococcum* L. Siyez) fidelerinin ortalama sürgün Kl- a miktarındaki değişimler ($\mu\text{g g}^{-1}\text{T.A.}$).



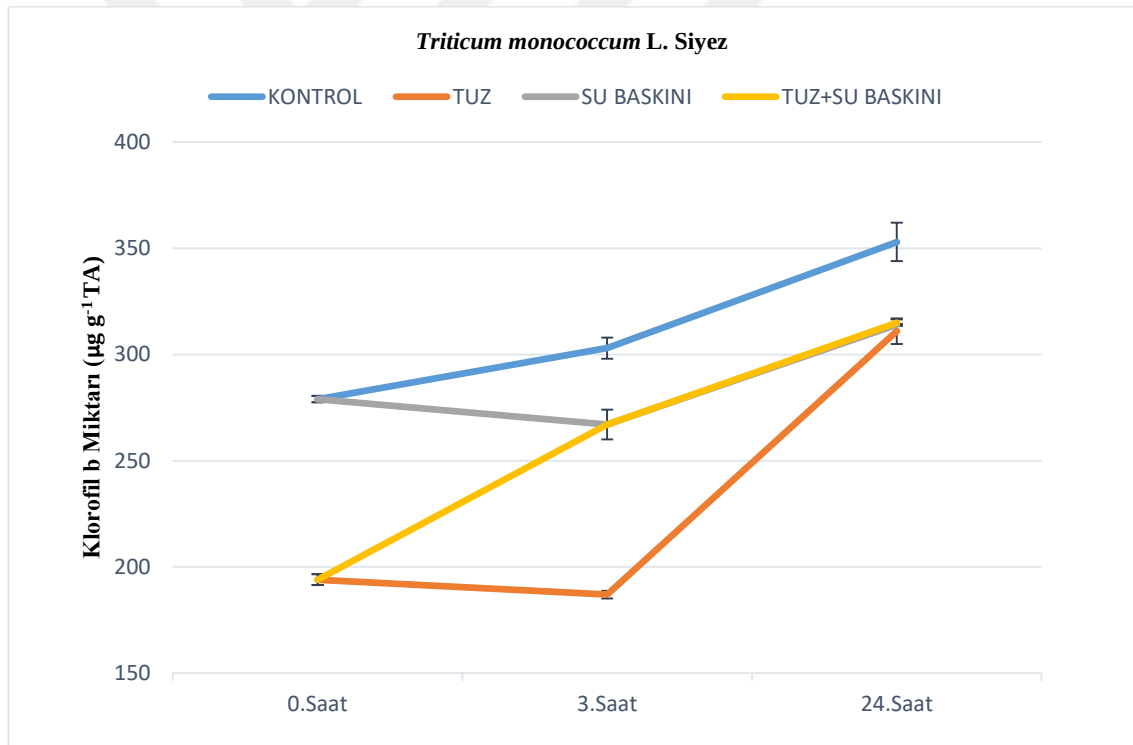
Şekil 4.8. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum aestivum* L. cv., Dağdaş-94) fidelerinin ortalama sürgün Kl-a miktarındaki değişimler ($\mu\text{g g}^{-1}\text{TA}$).

4.2.2. Klorofil b Miktarı

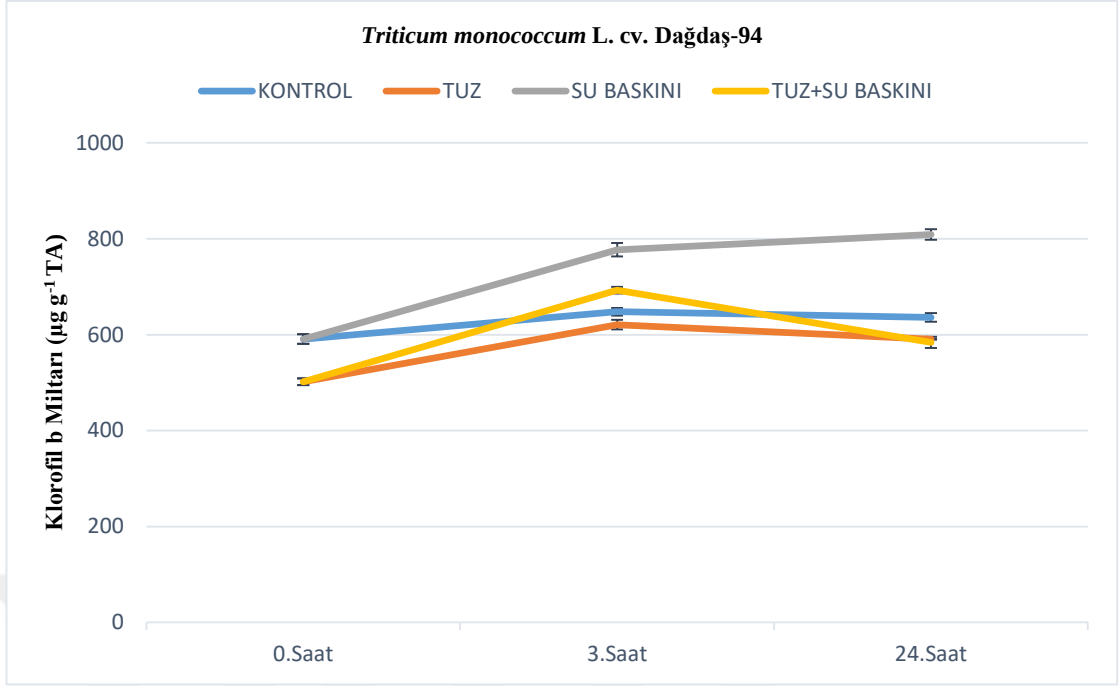
Tuz stresi, *T. monococcum* L., Siyez ve *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94 türlerinin Kl-b içeriğini azaltmaktadır ($P<0.001$) (Çizelge 4.3, Çizelge 4.6). Bu azalma *T. monococcum* L., Siyez türünde klorofil kaybı, *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94 türünden daha fazla olmuştur. (Şekil 4.9) (Şekil 4.10).

Su baskını uygulanan *T. monococcum* L., Siyez buğdaylarının Kl-b içeriği azalmıştır ($P<0.001$) (Çizelge 4.3) (Şekil 4.9). *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94 buğdayında Kl-b içeriği artmıştır ($P<0.001$), (Şekil 4.10).

Tuz ve su baskınının çapraz etkisi sonucu, *T. monococcum* L., Siyez ($P<0.001$) Kl-b içeriğinde meydana gelen azalma, *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94 türünden daha fazla belirlenmiştir ($P<0.05$) (Şekil 4.9) (Şekil 4.10).



Şekil 4.9. Tuz , su baskını ve tuz+ su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum monococcum* L., Siyez) fidelerinin ortalama sürgün Kl-b miktarındaki değişimler ($\mu\text{g g}^{-1}\text{TA}$).



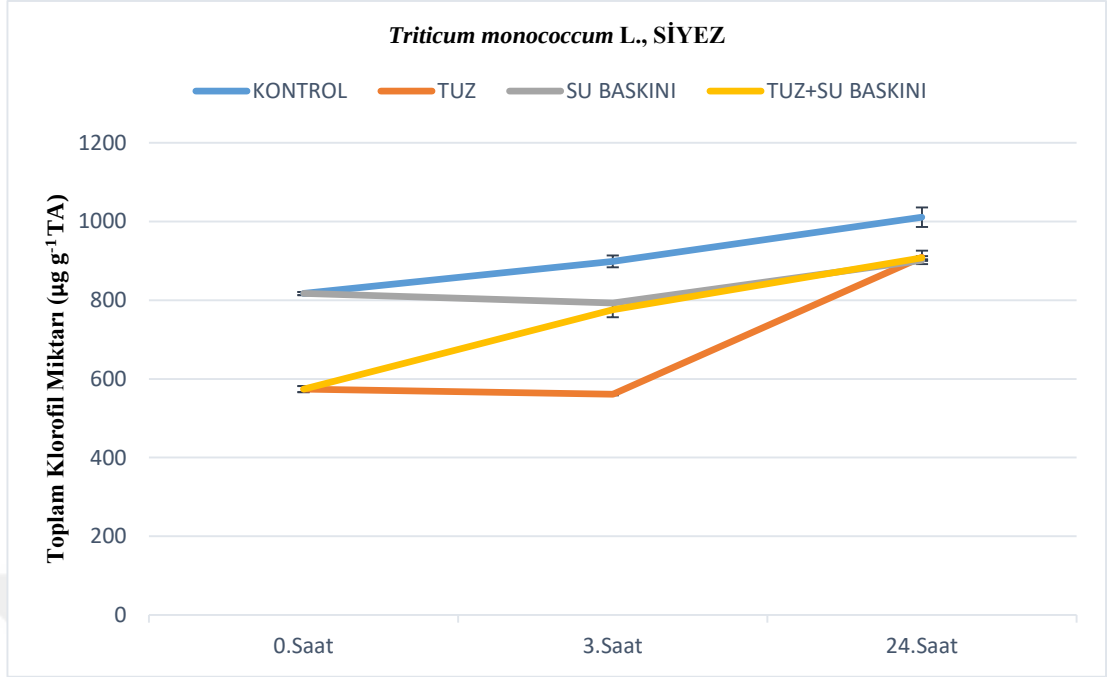
Şekil 4.10. Tuz ve su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum aestivum* L. cv., Dağdaş-94) fidelerinin ortalama K1- b miktarındaki değişimler ($\mu\text{g g}^{-1}\text{TA}$).

4.2.3. Toplam Klorofil Miktarı

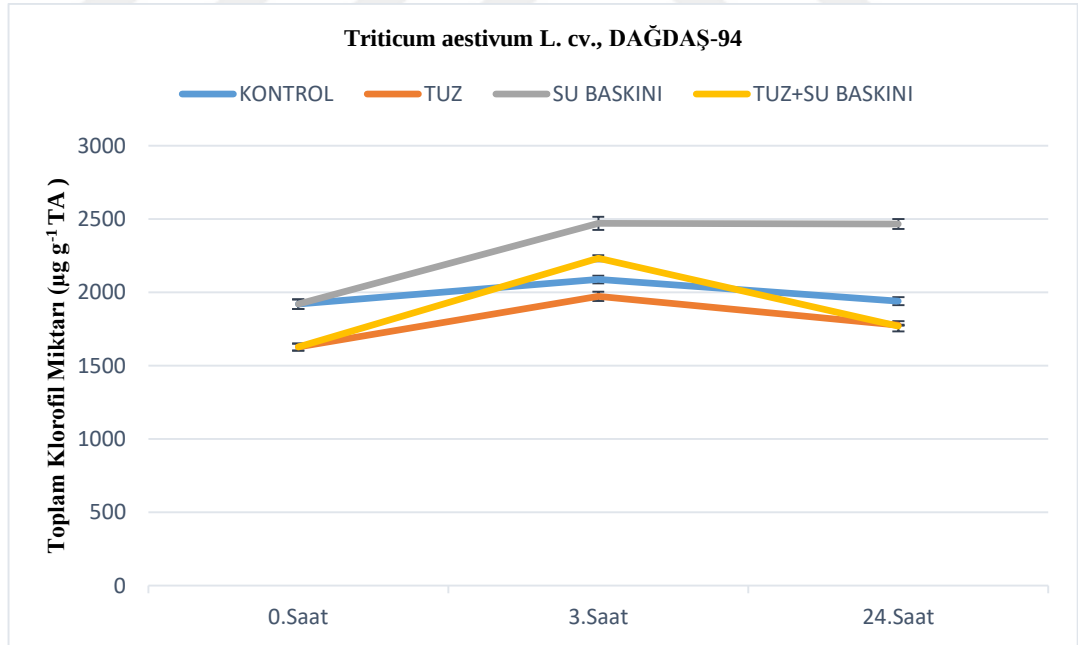
Kl a+b miktarı, tuz stresi uygulamaları altında her iki çeşit buğdayda da azalmıştır. *Triticum monococcum* L. Siyez türünde ki azalma *Triticum aestivum* L. cv., Dağdaş-94 türünden daha fazla olmuştur ($P<0.001$) (Çizelge 4.3, Çizelge 4.6) (Şekil 4.11) (Şekil 4.12).

Su baskını stresi etkisinde *T. monococcum* L., Siyez buğday çeşidinde Kl a+b miktarı azalma eğilimi gösterirken, *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94 çeşidinde artma eğilimi göstermiştir (Şekil 4.11) (Şekil 4.12) ($P<0.001$).

Kontrol grubu buğdaylar T+SB etkisindeki buğdaylar ile karşılaştırıldığında *T. monococcum* L., Siyez ($P<0.001$), türünde Kl a+b içeriği azalmıştır, *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94 türünde ($P<0.001$), 3.saatte artarken, 24.saatte azalmıştır (Şekil 4.11) (Şekil 4.12).



Şekil 4.11. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum monococcum* L. Siyez) fidelerinin ortalama sürgün Kl a+b miktarındaki değişimler ($\mu\text{g g}^{-1}\text{TA}$).



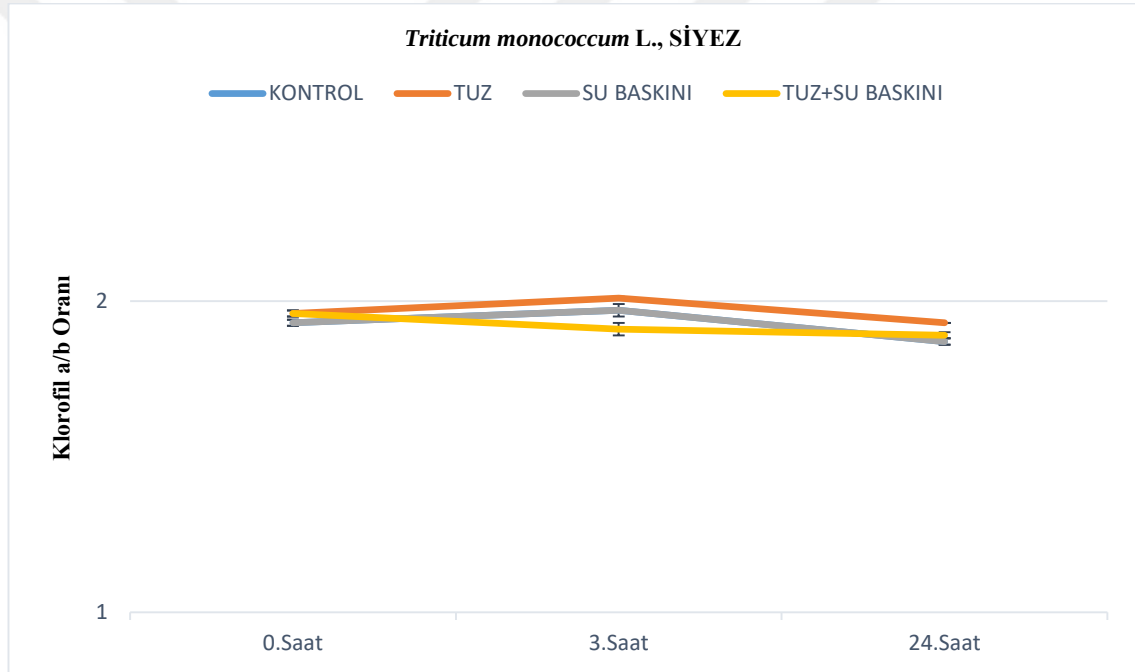
Şekil 4.12. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum aestivum* L. cv., Dağdaş-94) fidelerinin ortalama Kl a+b miktarındaki değişimler ($\mu\text{g g}^{-1}\text{TA}$).

4.2.4. Klorofil a/b

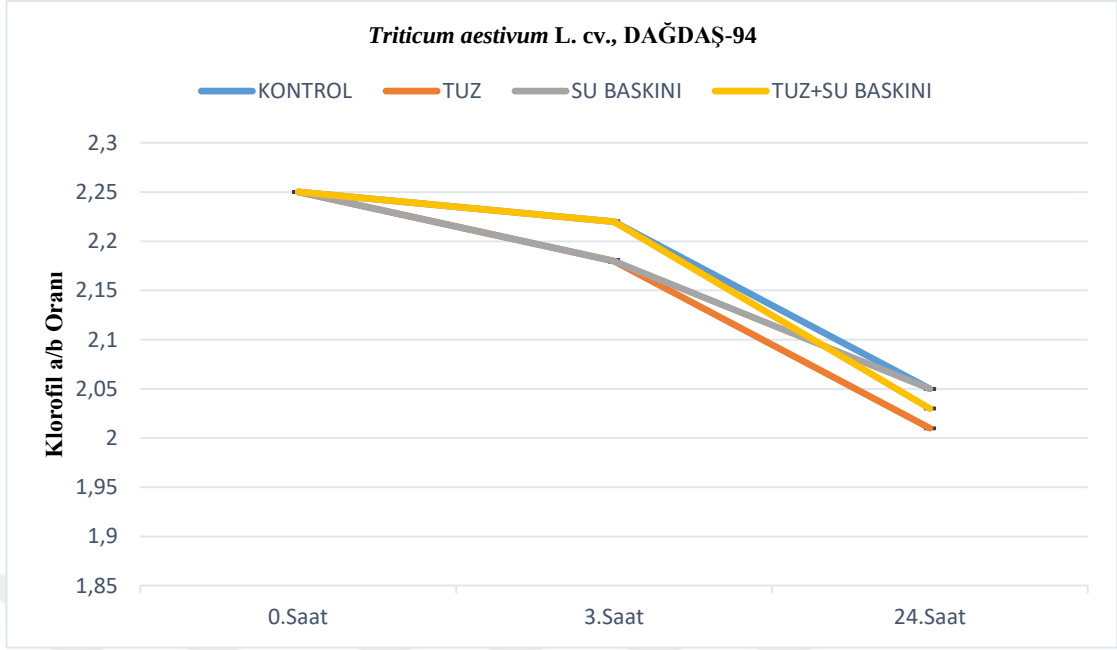
T. monococcum L., Siyez buğdayında, tuz stresinin etkisinde Kl a/b oranı artarken, *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94 te Kl a/b oranı azalmıştır (Şekil 4.13) (Şekil 4.14) ($P<0.001$).

Su baskını uygulaması sonucu, *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94 çeşidinde 3. saatte Kl a/b azalmıştır, 24. saatte değişim göstermemiştir ($P<0.001$) (Şekil 4.14).

T+SB streslerinin etkileşimi kontrol grubu buğday türleri ile karşılaştırıldığında, *T. monococcum* L., Siyez) türünde meydana gelen azalma *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94'e göre daha fazla olmuştur ($P<0.001$) (Çizelge 4.3, Çizelge 4.6) (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum monococcum* L. Siyez) fidelerinin ortalama sürgün Kl a/b oranındaki değişimler



Şekil 4.14. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum aestivum* L. cv., Dağdaş-94 fidelerinin ortalama Kl a/b oranındaki değişimler

Bu çalışmada elde edilen klorofil değerleri *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94 türünde *T. monococcum* L., Siyez türüne göre daha yüksek seviyelerde belirlenmiştir. Tuz stresinin etkisinde klorofil içeriğinde her iki buğday türünde de azalma meydana gelmiştir. Çalışma sonuçlarımız Öncel ve Keleş (2002), Sairam ve ark., (2005), Wang ve ark., (2007), Kaya ve Ashraf (2020), Tiwarive ve ark., (2020) ile uyum göstermektedir.

Su baskını stresi etkisinde *T. aestivum* türünde klorofil içeriğindeki artma, Smethurst ve Shabala (2003), Tiryakioğlu ve ark., (2014), Sairam ve Saxena (2000)'in sonuçları ile uyumludur. Çalışmamızda kullandığımız ikinci bir tür olan *T. monococcum*' un klorofil içeriği su baskını stresi altında azalmıştır, bu durum Smethurst ve Shabala (2003), Ergün ve ark, (2020), Özçubukçu ve Ergun (2013)' ün sonuçları ile paralellik göstermektedir.

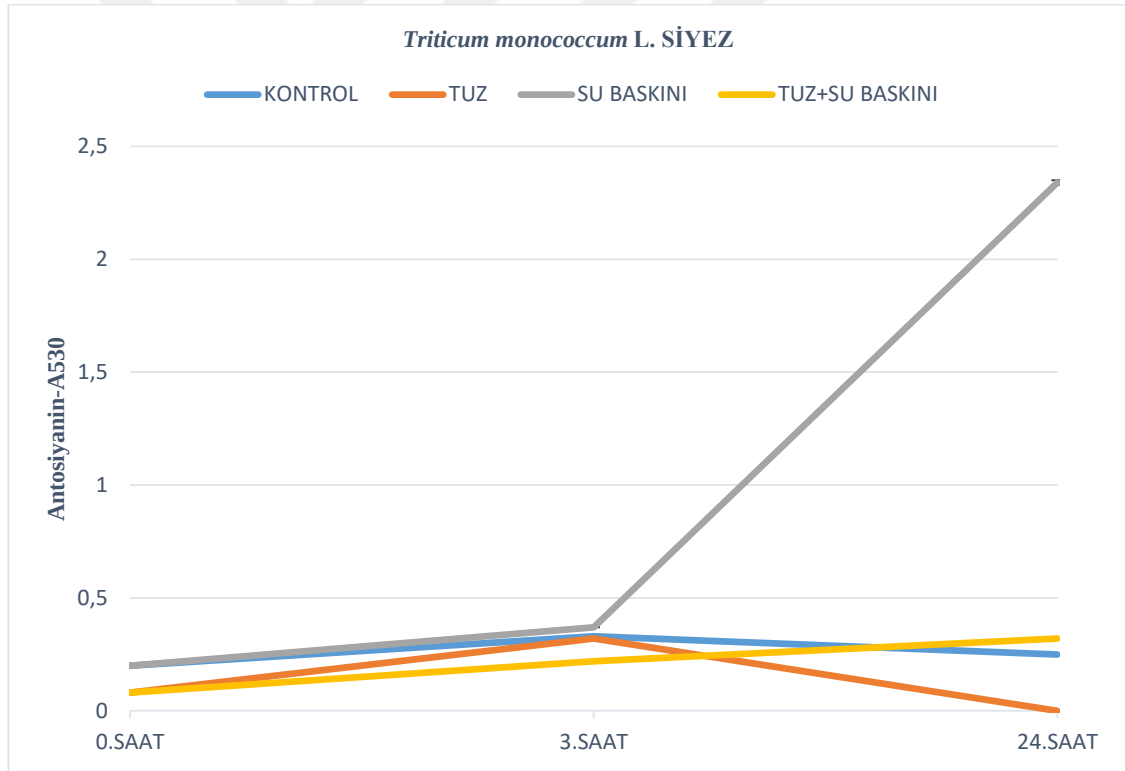
Tuz ve su baskını streslerinin birlikte etkisi incelendiğinde, streslerin tek başına etkisine göre daha fazla miktarda klorofil kaybı meydana gelmiştir. Zeng ve ark., (2013) tuz ve su baskını streslerinin etkileşiminde klorofil azalmalarının daha fazla olduğunu belirterek çalışmamızla benzer sonuçlar göstermişlerdir.

4.3. Antosiyanin Miktarı

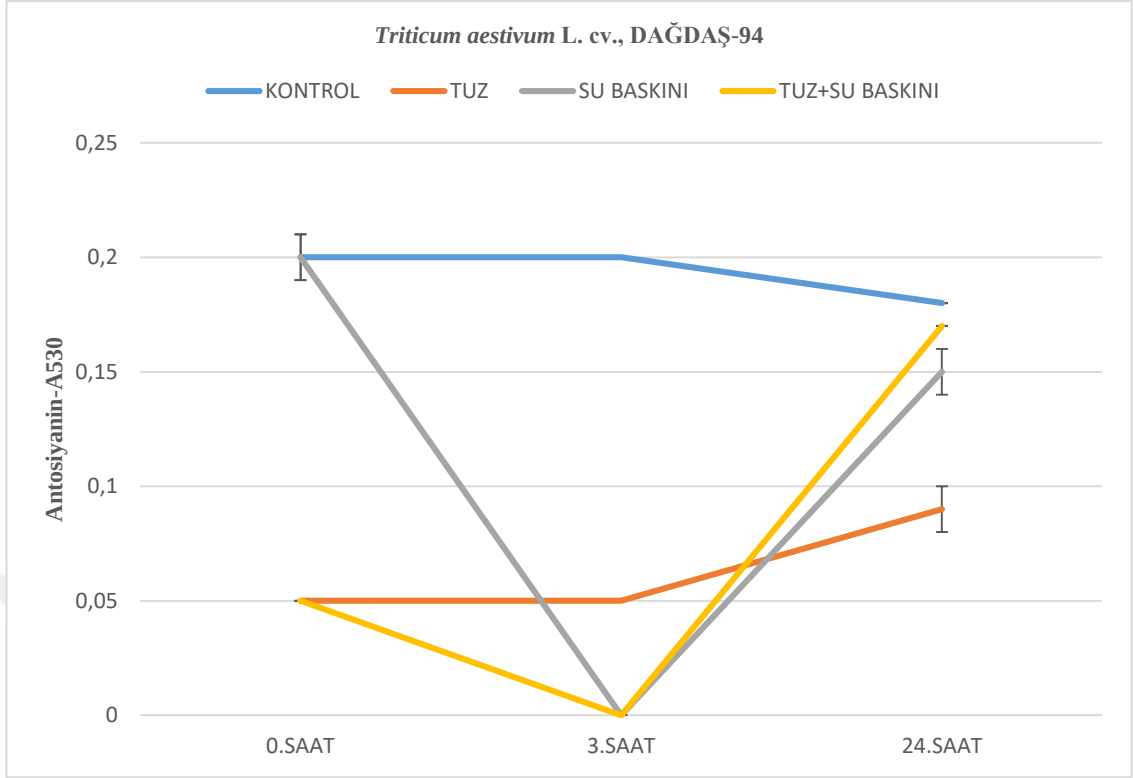
Tuz stresi uygulanan, *T.monococcum* L. Siyez ve *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94 buğday fidelerinde antosiyanin miktarı azalmıştır (Şekil 4.27) (Şekil 4.28) ($P<0.001$).

Su baskını streslerinin etkisinde *T.monococcum* L. Siyez buğdayında antosiyanin miktarı artarken ($P<0.001$), *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94 buğdayında antosiyanin miktarı azalmıştır ($P<0.001$), (Şekil 4.27) (Şekil 4.28).

T+SB streslerinin etkileşiminde *T.monococcum* L. Siyez ve *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94 buğdaylarında meydana gelen değişimler önemli bulunmuştur ($P<0.001$). Streslerin etkileşiminde *T.monococcum* L. Siyez buğdayında antosiyanin miktarı artarken, *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94 buğday fidelerinde azalmıştır (Şekil 4.27) (Şekil 4.28) (Çizelge 4.3) (Çizelge 4.6)



Şekil 4.15. Tuz, su baskını ve tuz+ su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum monococcum* L, Siyez) fidelerinin ortalama antosiyanin miktarındaki değişimler.



Şekil 4.16. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum aestivum* L., Dağdaş-94) fidelerinin ortalama antosiyanin miktarındaki değişimler.

Li ve ark. (2018) Mor buğdayda (*Triticum aestivum*, Guizi1) tuz (100, 200 mM NaCl) streslerinin etki altında tane ağırlığındaki değişimler araştırılmıştır. Yapılan çalışmanın %25'inde antosiyanin miktarı artmıştır. Çalışmamızda tuz stresi altında antosiyanin miktarı, tuz stresi etkisi altında azalma göstermiştir. Bu durumun kullanılan buğday türünün renk farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Soylu ve ark. (2022) yaptığı araştırma sonucunda antosiyanin miktarında meydana gelen azalma, tuz stresi sonuçlarımız ile benzerlik göstermektedir.

Su baskını ve tuz ile su baskını streslerinin birlikte etkisi sonucu antosiyanin miktarı *Triticum monococcum* L. Siyez 'de artmıştır. Tereshchenko ve ark. (2012) çalışması sonucumuzu desteklemektedir.

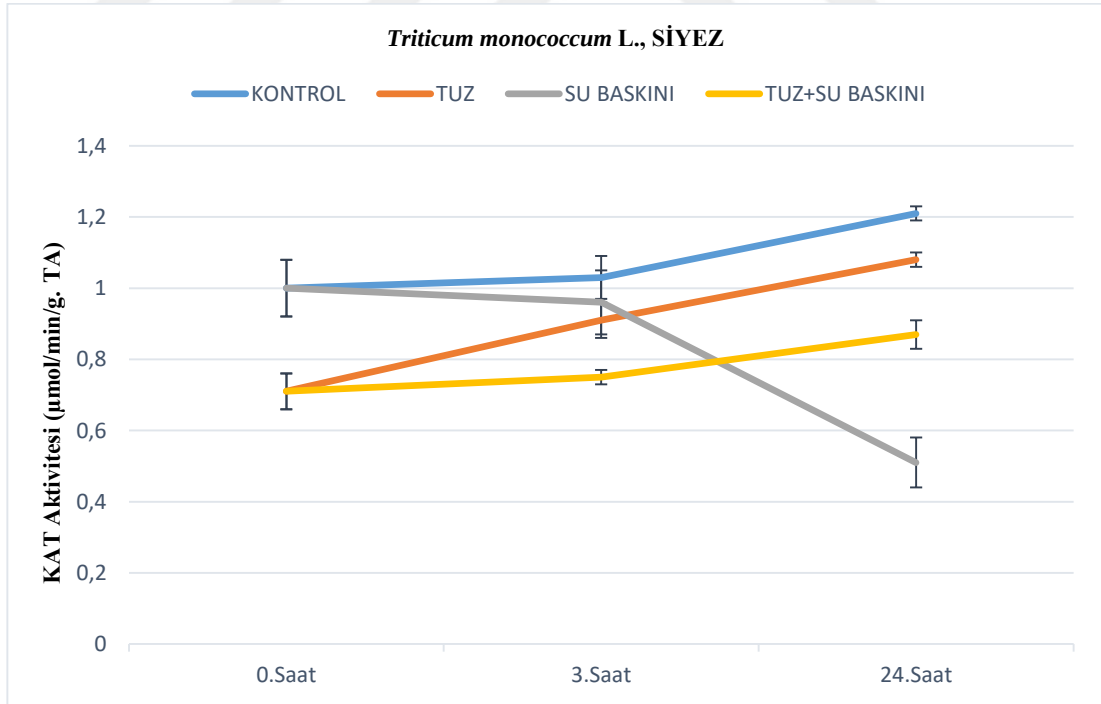
4.4. Antioksidan Enzim Aktivitesindeki Değişimler

4.4.1. KAT Enzim Aktivitesindeki Değişimler

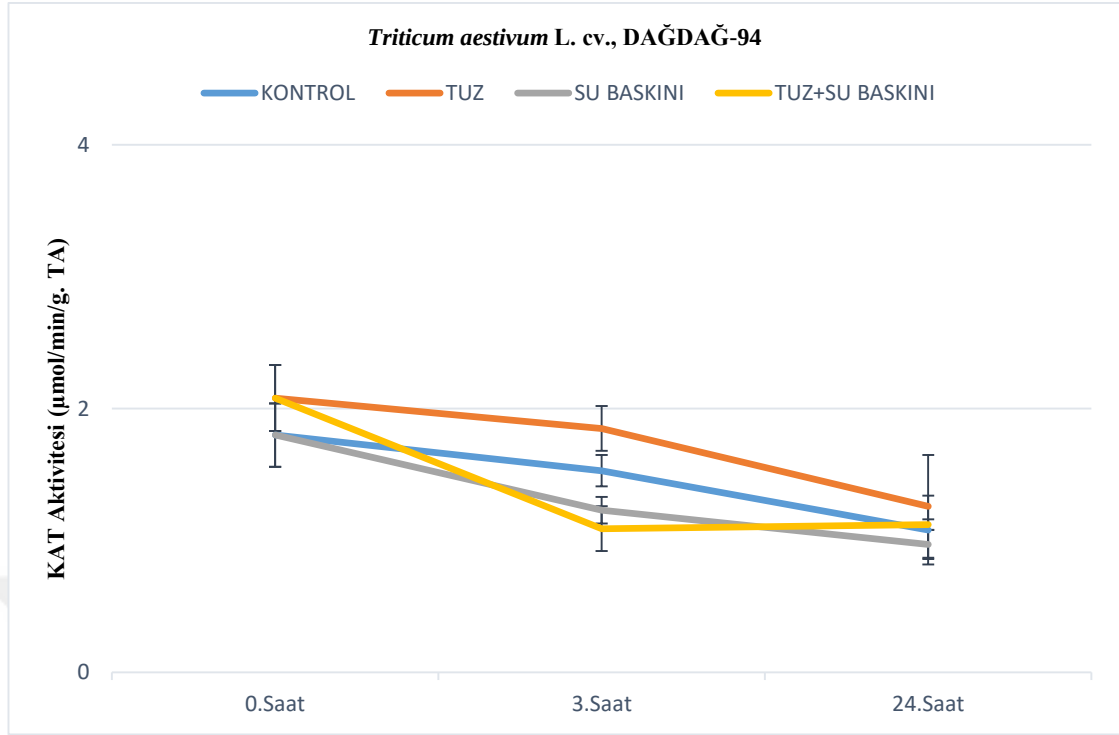
KAT aktivitesi tuz stresi (200mM) etkisinde önemli değişiklikler göstermiştir ($P<0.05$) (Çizelge 4.3, Çizelge 4.6). Tuz stresi uygulamasında *T. monococcum* L. Siyez türünde KAT aktivitesini azaltırken, *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94 türünde aktivite artışına yol açmıştır (Şekil 4.15) (Şekil 4.16).

Su baskını stresi altında, *T. monococcum* L., Siyez buğday fidelerinde meydana gelen değişimler önemli bulunmuştur ($P<0.05$), (Çizelge 4.3) *T. monococcum* L. Siyez de su baskını stresi etkisi altında KAT enzim aktivitesi önemli ölçüde kayba uğramıştır (Şekil 4.15).

T+SB streslerinin etkileşimindeki buğday fideleri, kontrol grubu buğdaylar ile karşılaştırıldığında her iki buğday türünde de KAT enzim aktivitesinde azalmaya neden olmuştur (Şekil 4.15, Şekil 4.16). *T. monococcum* L., Siyez buğday fidelerinde meydana gelen enzim aktivitesindeki azalma önemli bulunmuştur ($P<0.05$), (Çizelge 4.3).



Şekil 4.17. Tuz ve su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum monococcum* L. Siyez) fidelerinin ortalama KAT aktivitesindeki değişimler (μmol/min/g. TA)

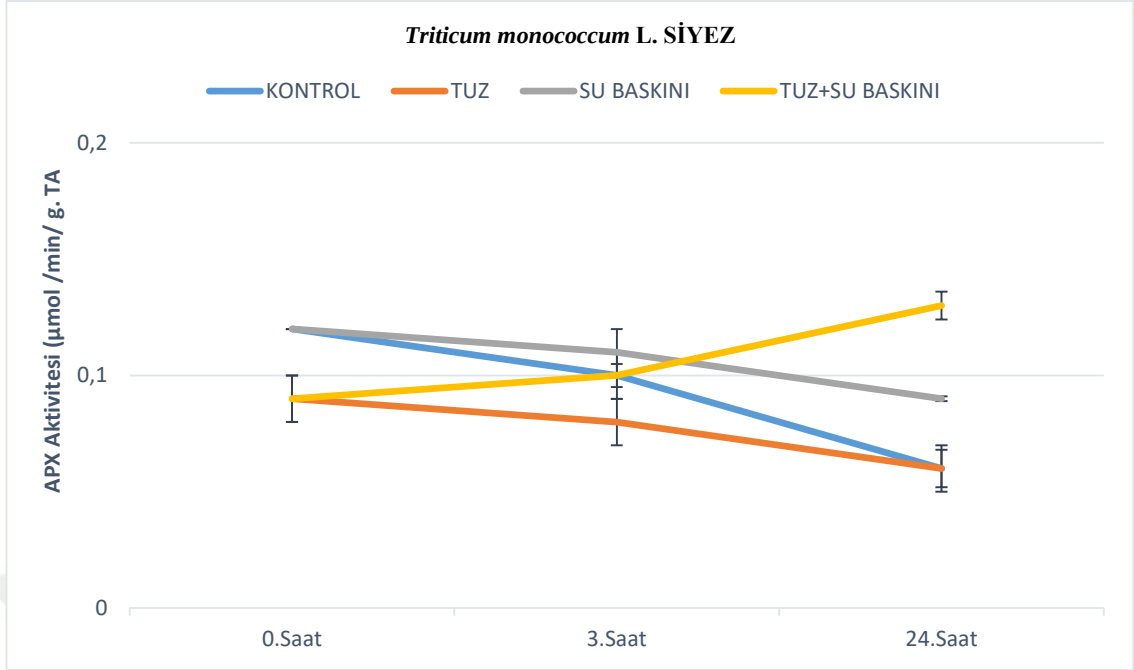


Şekil 4.18. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum aestivum* L. cv., Dağdaş-94) fidelerinin ortalama KAT aktivitesindeki değişimler ($\mu\text{mol/min/g. TA}$)

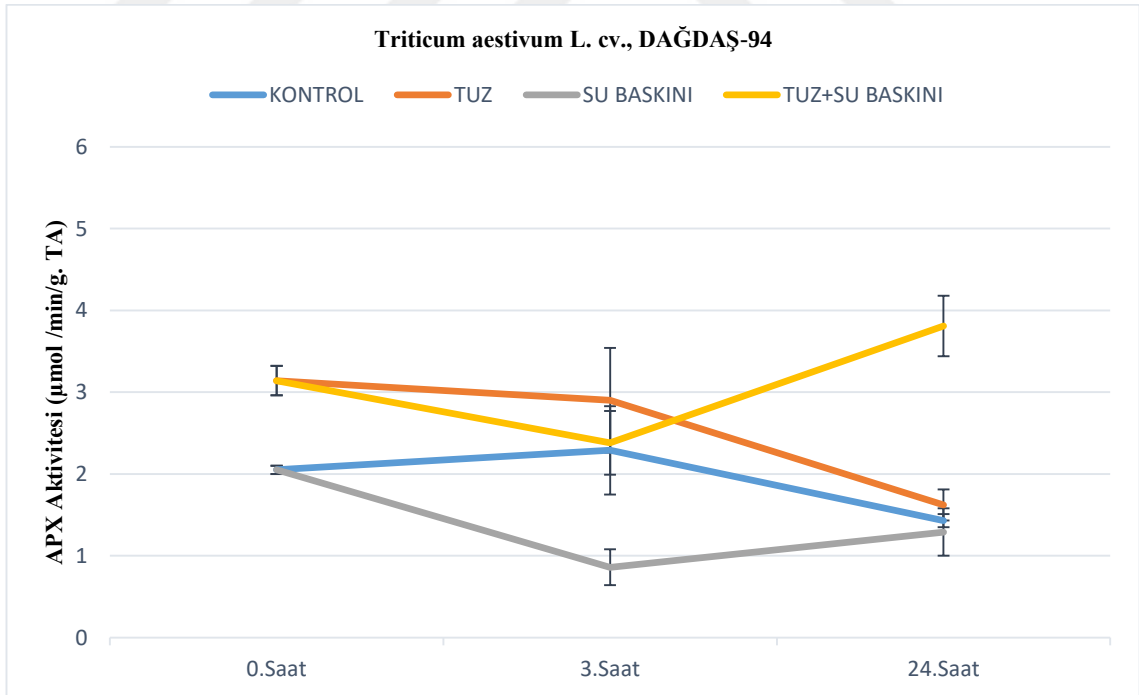
4.4.2. APX Aktivitesi

Buğday türlerinde tuz, SB etkisinde, APX aktivitesinde meydana gelen değişimler önemli bulunmamıştır, (Çizelge 4.3, Çizelge 4.6).

T+SB streslerinin birlikte etkisine maruz bırakılan *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94 buğday fidelerinde APX enzim aktivitesinde artış meydana gelmiştir (Şekil 4.18). Tuz ve su baskını streslerinin tek başlarına etkisi önemli bulunmazken, tuz ve su baskını streslerinin birlikte etkisi ile APX enzim aktivitesindeki artış önemli bulunmuştur ($P<0.001$) (Çizelge 4.6).



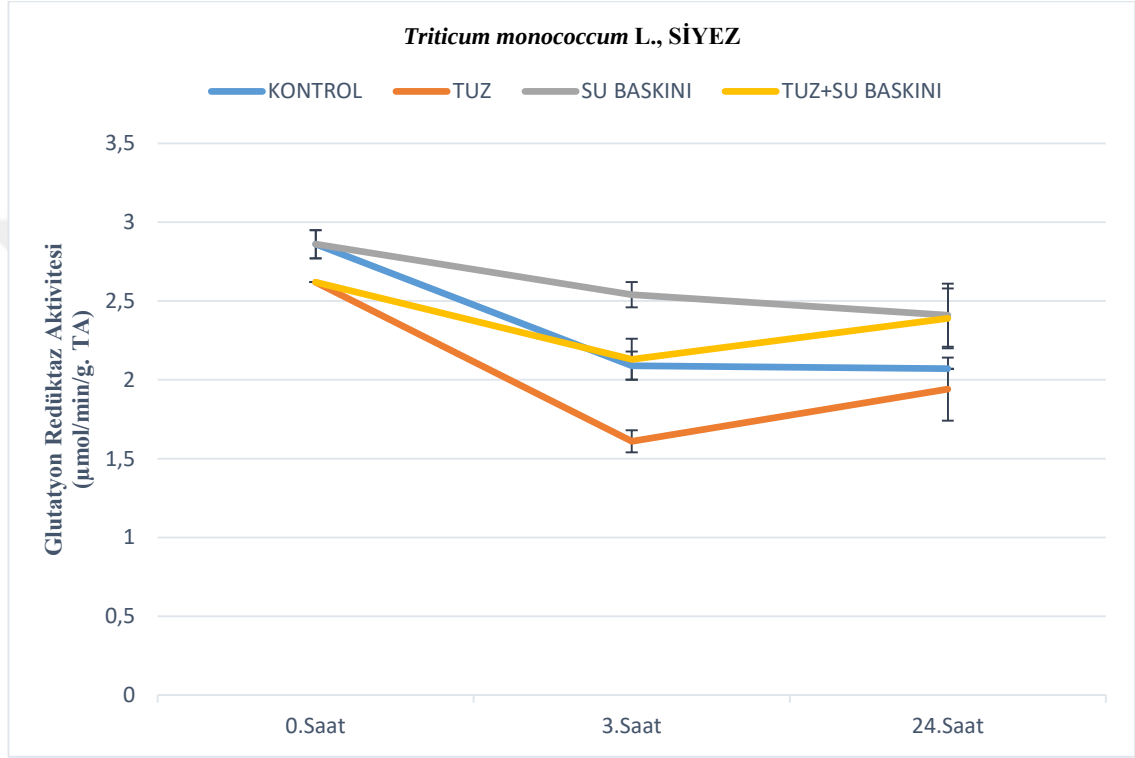
Şekil 4.19. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum monococcum* L., Siyez) fidelerinin ortalama APX aktivitesindeki değişimler ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g. TA}$)



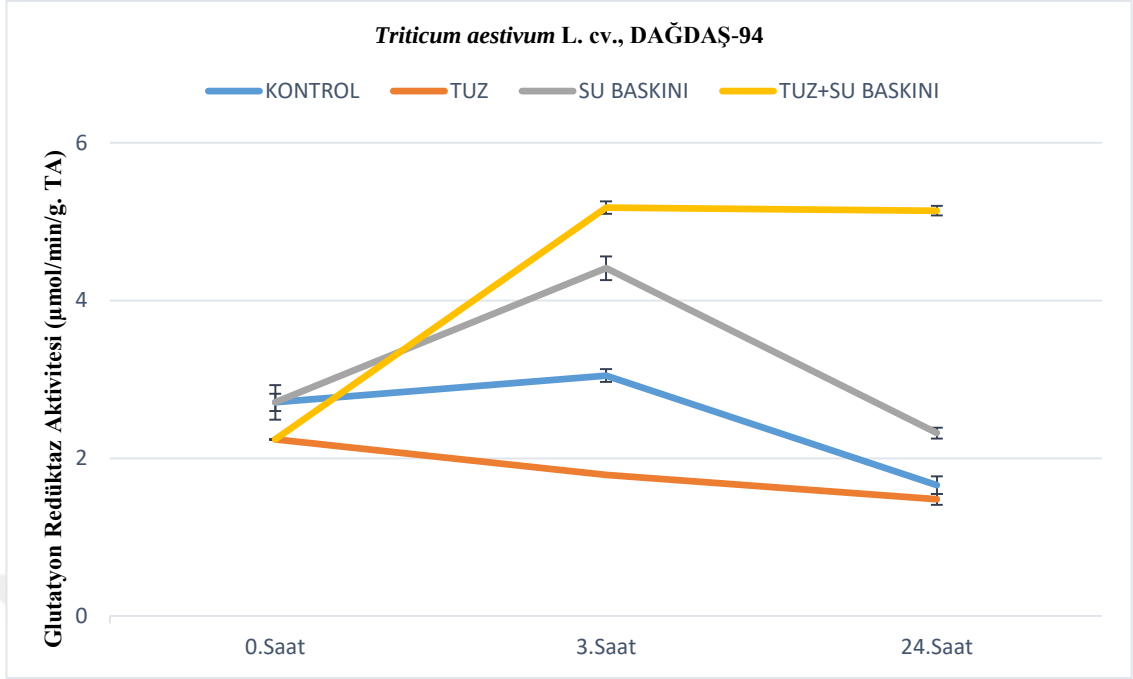
Şekil 4.20. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum aestivum* L. cv., Dağdaş-94) fidelerinin ortalama APX aktivitesindeki değişimler ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g. TA}$)

4.4.3. GR Enzim Aktivitesi

Su baskını ve tuz streslerinin tek başına etkisi altında *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94 (Şekil 20) buğday türünde GR enzim aktivitesindeki azalma önemli bulunmazken, T+SB streslerinin birlikte etkisinde GR enzim aktivitesindeki artma önemli bulunmuştur ($P<0.001$), (Çizelge 4.6).



Şekil 4.21. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum monococcum* L., Siyez) fidelerinin ortalama GR aktivitesindeki değişimler ($\mu\text{mol/min/g. TA}$)



Şekil 4.22. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum aestivum* L. cv., Dağdaş-94) fidelerinin ortalama GR aktivitesindeki değişimler (µmol/min/g. TA)

Turfan ve ark. (2019) tuz stresi (150 mM ve 225mM) etkisinde büyütülmüş *Triticum monococcum* L., Siyez fidelerinde, KAT antioksidan enzim aktivitesinin önemli ölçüde baskılandığını, bu çalışmanın aksine Keleş ve Öncel (2002b) 200mM NaCl stresi uygulanmış *T. aestivum* ve *T. durum* Desf çeşitlerinde KAT aktivitesinin artış gösterdiğini, araştırma sonucunda belirlemişlerdir. Heidari (2009) *Sorgum bicolor* ve *T. aestivum* türleri 100 ve 200 mM NaCl uygulaması altında yetiştirilmiş ve sürgün KAT aktivitesi her iki türde de artmıştır. Pourmohammad, EEA ve ark. (2013) tuza duyarlı Karkheh ve tuza toleranslı Golestan buğday genotiplerine 200mM NaCl uygulanmış, duyarlı Karkheh genotipinde KAT aktivitesinde artış önemli bulunmuştur. Golestan buğday genotipinde tuza toleransı şeker miktarında meydana gelen artıştan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Yaptığımız çalışmada KAT aktivitesinin tuz (200Mm) stresinin etkisinde önemli ölçüde değiştiği belirlenmiştir. Tuz stresinin etkisindeki *T. monococcum* un KAT aktivitesindeki azalma Turfan ve ark. (2009) sonuçları ile benzerlik gösterirken, *T. aestivum* türünde tuz stresi etkisinde KAT aktivitesindeki artma Keleş ve Öncel (2002b), Heidari (2009) ile benzer sonuç göstermiştir.

T. aestivum L. cv. Doğankent ve *T. aestivum* L. cv. Ducul-4 genotiplerinde su baskını stresinin etkisi sonucu KAT aktivitesi artmıştır (Özçubukçu ve ark., 2014). Cheng ve ark. (2016) su baskını stresine toleransı yüksek Hua 8 ve duyarlı Hua 9 buğday fidelerine su baskını uygulaması sonucunda her iki buğday çeşidinde de KAT aktivitesi azalmıştır. Bu çalışmaya benzer şekilde Tan ve ark. (2008) *T. aestivum* türlerinden su baskını stresine toleranslı Yangmai 9 ve hassas Yumai 34 7 gün süreyle su baskını uygulaması sonunda yapılan ölçümlerde hem toleranslı ve hem hassas çeşitte KAT aktivitesi azalmıştır. Çalışmamızda kullandığımız *Triticum monococcum* L. Siyez türünde su baskını stresi etkisinde meydana gelen azalma Cheng ve ark (2016), Tan ve ark. (2008) ile benzerlik gösterirken, Özçubukçu ve ark. (2014) ile ters sonuçlar göstermiştir. Meydana gelen farklılıklar iki buğday türünün su baskını stresine gösterdikleri tolerans farklılığından kaynaklanabilmektedir. Sairam ve Saxena (1999) *Triticum aestivum* L. cv., Dağdaş-94'ün su baskınına tolerans düzeyi farklı olan üç çeşidini karşılaştırmış, su baskınına toleranslı çeşitlerde GR antioksidan enzim aktivitesi artmıştır.

Bu çalışmada, tuz ve su baskını streslerinin etkileşiminde APX ve GR antioksidan enzim aktiviteleri *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94'te artmıştır. Çalışmamızla paralel olarak Zheng ve ark. (2009) iki kışlık buğday (*T. aestivum*) Huaimai 17 ve Yangmai 12'yi 195 mM NaCl ve 12- 18 gün su baskını streslerinin etkileşiminde Huaimai 17 de ve Haddadi ve ark. (2016) 50, 100,150 Mm NaCl ve 30 gün su baskını etkisinde APX aktivitesi artmıştır. Benzer şekilde Turkan ve ark. (2013) 200 mM NaCl ve su baskını etkisinde APX ve GR enzim aktiviteleri artmıştır.

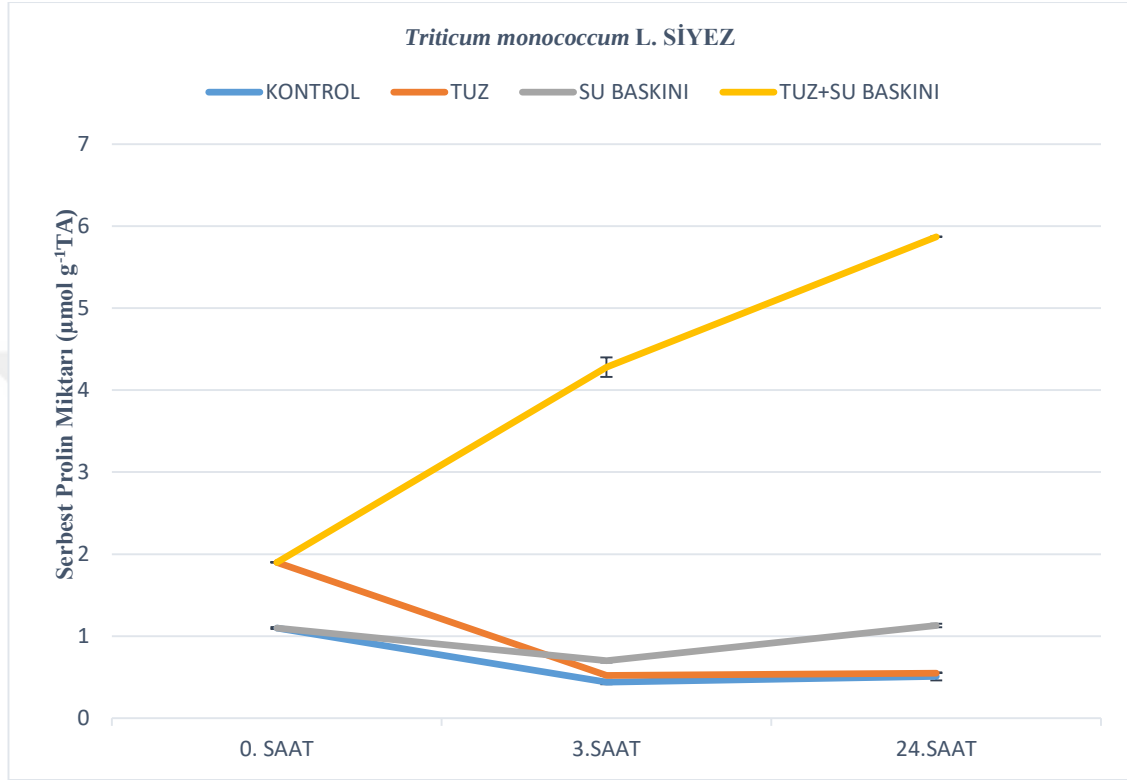
4.5. Prolin Birikimi

Tuzluluk, *T. monococcum* L., Siyez ve *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94 buğday fidelerinde prolin birikimini uyarmıştır (Şekil 4.21), (Şekil 4.22). Tuz stresi uygulanmamış grup ile karşılaştırıldığında prolin birikimi artmıştır ($P<0.001$). *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94 buğday fidelerinde prolin birikimi *T. monococcum* L., Siyez buğdayından daha fazla olmuştur (Çizelge 4.3, Çizelge 4.6). Bu sonuçlar, prolin birikiminin, bitki su alımının azalması ile ilgili olduğunu göstermektedir.

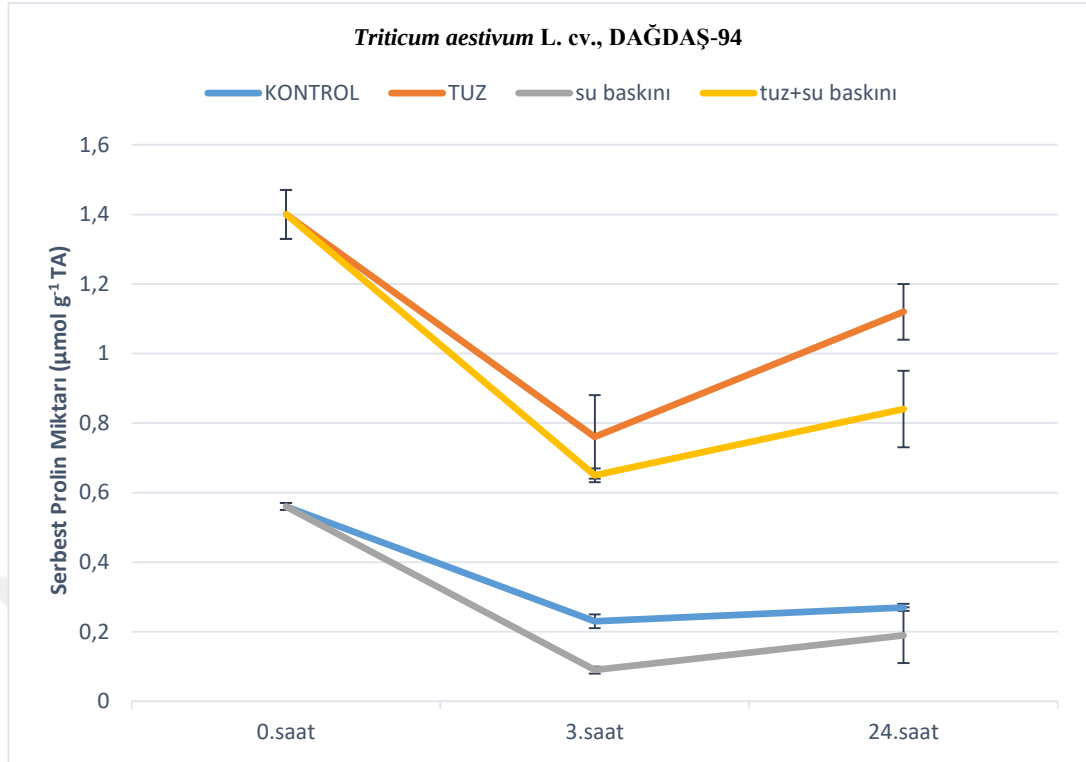
Su baskını stresinin etkisi altında *T. monococcum* L., Siyez de prolin birikimi artmıştır (Çizelge 4.3). *T. monococcum* L., Siyez türünün, su baskını etkisinde prolin

birikimini arttırması göze çarpan bir sonuçtur.

Tuz ve su baskını streslerinin etkileşiminde, prolin birikimi *T. monococcum* L., Siyez buğdayında önemli miktarda artmıştır ($P<0.001$).



Şekil 4.23. Tuz, su baskını ve tuz+ su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum monococcum* L. Siyez) fidelerinin ortalama serbest prolin miktarındaki değişimler ($\mu\text{mol g}^{-1}\text{TA}$)



Şekil 4.24. Tuz, su baskını ve tuz+ su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum aestivum* L. cv., Dağdaş-94) fidelerinin ortalama serbest prolin miktarındaki değişimler ($\mu\text{mol g}^{-1}\text{TA}$)

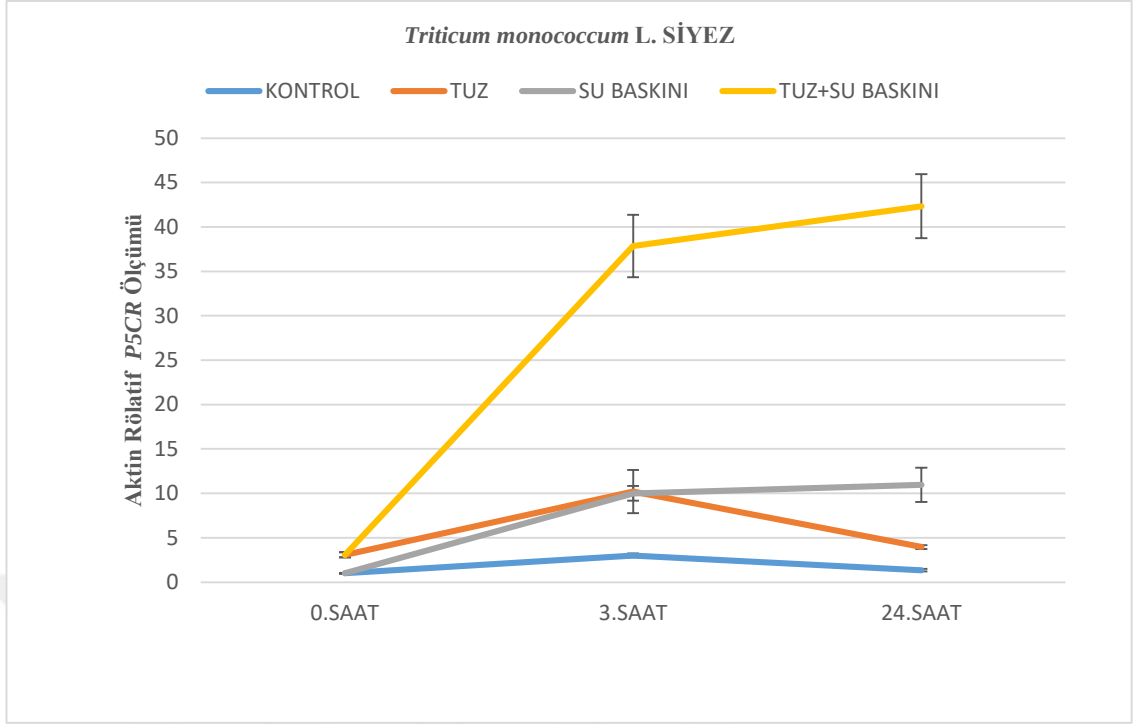
4.6. Gen İfadesi

4.6.1. P5CR Gen ifadesi

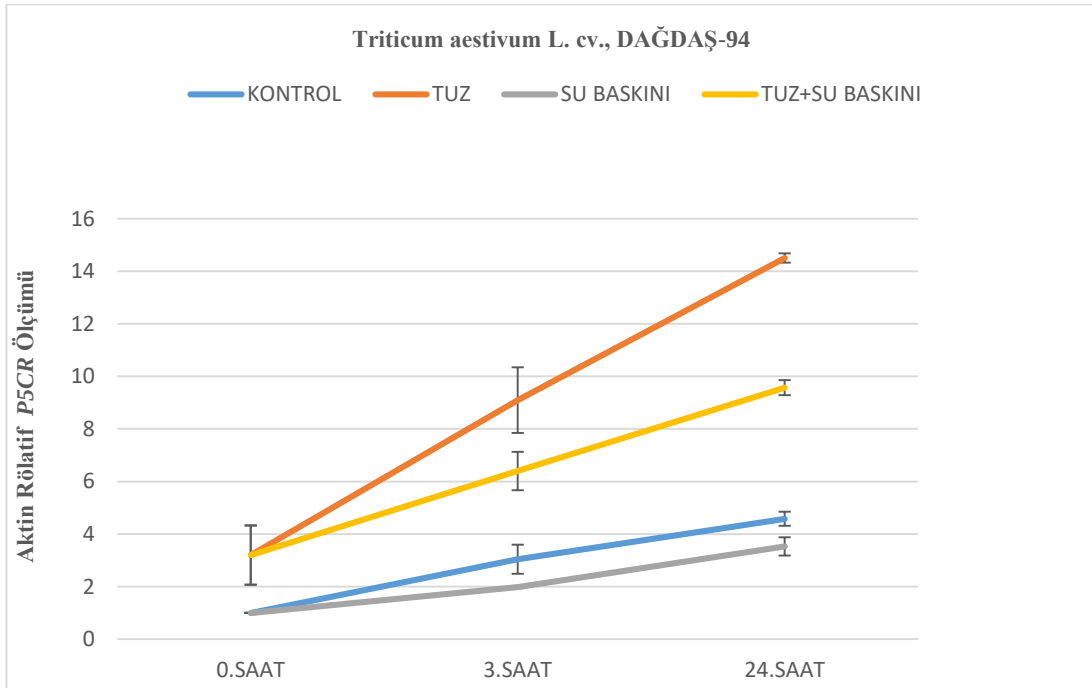
P5CR gen ifade seviyesi, tuz stresi etkisindeki *Triticum aestivum* L. cv., Dağdaş-94 ($P<0.001$) türünde artış göstermektedir Çizelge 4.3, Çizelge 4.6).

Su baskını stresinin etkisi altında *T. monococcum* L., Siyez buğday fidelerinde *P5CR* gen ifadesi seviyesindeki yükselme önemli bulunmuştur ($P<0.05$) (Çizelge 4.3).

T+SB streslerinin birlikte etkisine maruz bırakılan *T. monococcum* L., Siyez ($P<0.001$) ve *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94 ($P<0.05$) türlerinde *P5CR* gen ifade seviyesi artmıştır (Şekil 4.23, Şekil 4.24).



Şekil 4.25. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum monococcum* L. Siyez) fidelerinin ortalama *P5CR* gen ifadesindeki değişimler



Şekil 4.26. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum aestivum* L. Dağdaş-94) fidelerinin ortalama *P5CR* ifadesindeki değişimler.

Çalışmamızda *Triticum monococcum* L. türünde tuz+su baskını stresi altında, *Triticum aestivum* L. cv., Dağdaş-94 te ise tuz stresi etkisi altında *P5CR* gen ifadesi ile prolin miktarındaki artış arasında pozitif yönlü bir ilişki tespit edilmiştir ($P<0.001$).

Simon-Sarkadi ve ark. (2002) *Triticum aestivum*'un tuza toleranslı ve hassas genotiplerini kullanıldığı çalışmada tuza tolerans ile prolin birikimi arasında ilişki olduğunu göstermektedir. Chiraz ve ark. (2013) Tuz stresine duyarlılığı farklı olan *Triticum aestivum* L. Dağdaş-94 ve *Triticum monococcum* türlerine 100, 150, 200, 300 mM NaCl uygulamalarına maruz bırakılmıştır. *T. aestivum* genotipleri *T. monococcum* genotiplerine göre daha yüksek prolin biriktirmiştir. Bu sonuca göre tuz stresine buğday genotiplerinin farklı tepkilerinin ozmolitlerin seviyesinin artışıyla paralel olduğunu göstermektedir (Muslu ve Ergun, 2013). Tavakolli ve ark., 2016 tuzluluk stresi altında Hirmand, Chamran, Atrak buğday çeşitlerinde prolin birimini sağlayan genlerinin ifadesini araştırmıştır. Prolin birikimindeki artışın *P5CS* ve *P5CR* genlerinin yukarı regülasyonu ile gerçekleştiğini belirtmişlerdir. Bütün buğday çeşitlerinde prolin birikimi ve prolin birikiminden sorumlu genlerin ifadesi artmıştır. Kishor ve ark., 1995 Tobacco (*Nicotiana tabacum* cv.) fidelerinde tuz stresinin etkisinde prolin birikimi artmıştır. Bu çalışmalara paralel olarak çalışmamızda kullandığımız *T. monococcum* L., Siyez ve *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94 türlerinde prolin birikimi artmıştır, tuz stresi etkisinde prolin birikimi *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94 de, *T. monococcum* L. Siyez den fazla olmuştur. *Triticum aestivum* L. Dağdaş-94 ve *Triticum monococcum* L. Siyez türlerinde tuz stresinin etkisi altında prolin birikimi ile prolin birikiminden sorumlu genlerden biri olan *P5CR* ifade seviyesi artmıştır.

Mattioni ve ark., 1997 *Triticum durum* cv. Simento fidelerinde tuz, su streslerinin etkisi altında *P5CR* gen ifadesinin her iki stres çeşidinde de indüklenerek prolin birikimi artmıştır. Bu araştırma çalışmamız ile paralellik göstermiştir ve *T. monococcum* türlerinde su baskını stresi altında *P5CR* gen ifade seviyesi ve prolin birikimi artmıştır.

Khosravi ve ark. (2018) Tetraploid ve hekzaploid *Triticum* genotiplerinin 0, 3, 6, 9 gün süreyle su baskını stresinin etkisine bırakmışlardır. İki buğday türünün büyüme parametreleri ve klorofil a, klorofil b içeriklerinin su baskını stresine verdiği tepkiler karşılaştırılarak daha toleranslı olan tür belirlenmiştir. Tetraploid buğdayın kloba ve kloba içeriğindeki azalma hekzaploid buğdaydan daha fazla artmıştır. Sürgünlerdeki prolin

seviyesi hexaploid buğdaya göre tetraploid buğdayda daha fazla artmıştır. Hekzaploid buğdayda ise çözünür şeker içeriğinin arttığı belirlenmiştir. Su baskını stresine daha iyi tolerans göstermek için tetraploid ve hekzaploid buğdaylar farklı mekanizmalar kullanmışlardır. Benzer şekilde çalışmamızda kullanılan türler de su baskını stresine farklı tepkiler vermişlerdir.

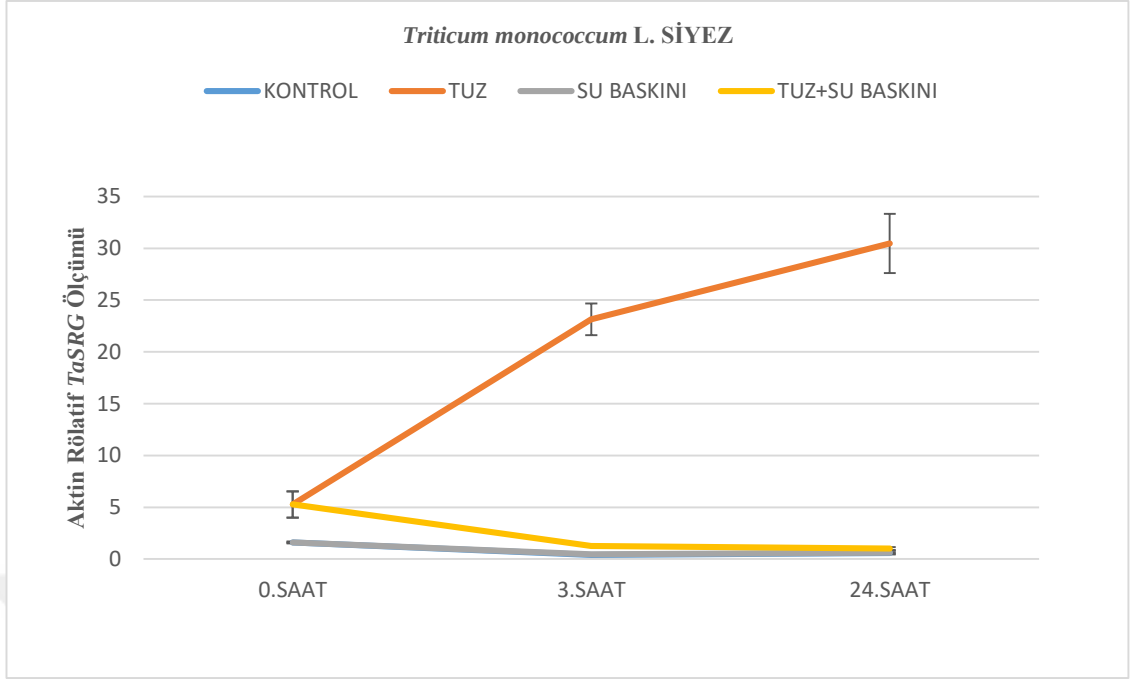
Behr ve ark. (2017), bir halofit olan *Suaeda maritima* da yüksek tuz ve hipoksik koşullarda prolin birikimi artmıştır. Yaptığımız çalışmada tuz ve su baskını streslerinin etkileşimi altında her iki buğday türünde de prolin birikimi artmıştır, bu yönü ile Behr ve ark., (2017)'nin çalışmasına benzerlik göstermiştir.

4.6.2. *TaSRG* Gen İfadesi

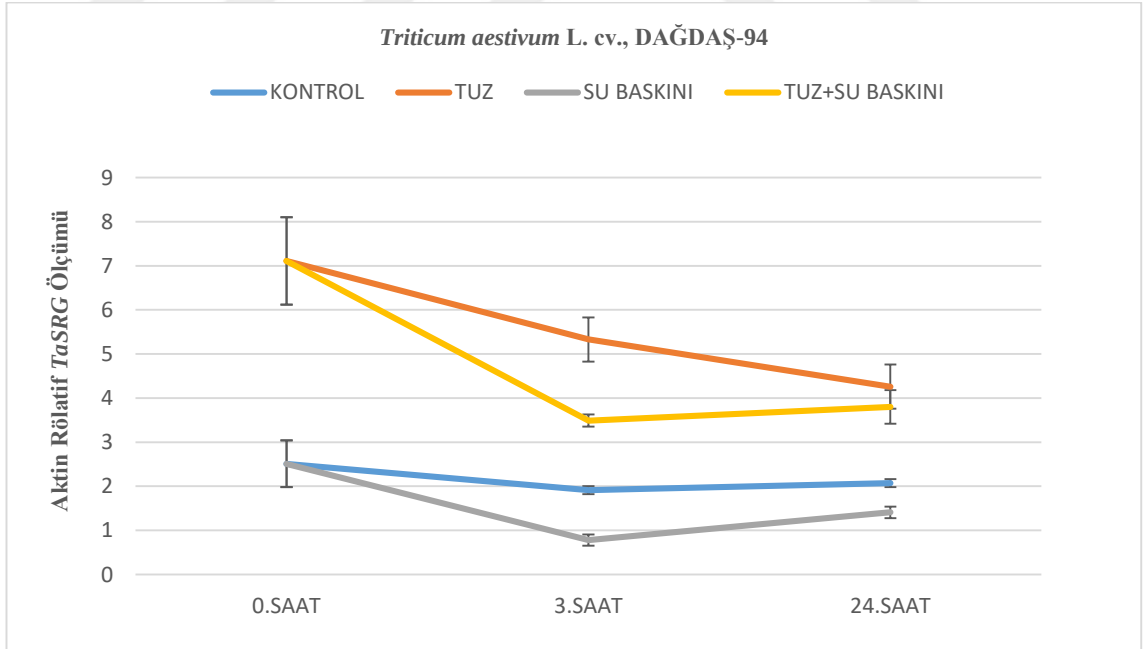
Tuz stresi uygulanan *T. monococcum* L., Siyez (Şekil 4.25) ve *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94 (Şekil 4.26) buğday fidelerinde *TaSRG* gen ifade seviyesi önemli şekilde artmıştır ($P<0.001$), (Çizelge 4.3, Çizelge 4.6).

Tuz ve su baskını streslerinin bir arada uygulanması sonucu *T. aestivum* L. cv., Dağdaş -94 buğday fidelerinde *TaSRG* gen ifadesinde meydana gelen düşüş önemli bulunmuştur ($P<0.001$).

Tong ve ark., 2007 *Triticum aestivum* genotiplerine uyguladığı tuz (250 mM) stresinin sonucunda *TaSRG* ifade seviyesi artmıştır. He ve ark., (2011) Tuza dirençli buğday mutanı RH8706-49a tuz (175 mM) uygulayarak 0, 1, 6, 12, 24, 72 saatlerde *TaSRG* gen ifade seviyeleri belirlenmiştir. Yaprak dokularında tuz stresinde kontrole göre tüm sürelerde gen ifadesinin arttığını belirlemişlerdir. Çalışmamız diğer araştırmalar ile karşılaştırıldığında tuz stresi etkisinde *TaSRG* gen ifade seviyesinin artışı yönünden paralellik göstermektedir.



Şekil 4.27. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum monococcum* L. Siyez) fidelerinin ortalama *TaSRG* gen ifadesindeki değişimler.



Şekil 4.28. Tuz, su baskını ve tuz+su baskını uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum aestivum* L. cv., Dağdaş-94) fidelerinin ortalama *TaSRG* gen ifadesindeki değişimler

Çizelge 4.1. Siyez buğdayına ait verilerinin karşılaştırılması

	Kontrol	Tuz Stresi	Su Baskını	Tuz+Su Baskını		
	Ortalama±SS	Ortalama±SS	Ortalama±SS	Ortalama±SS	p(Grup)	p(Etkileşim)
Sürgün Taze Ağırlık						
0.saat	234.13±5.01	125.33±13.61	234.13±5.01	125.33±13.61		
3.saat	284.50±21.32	181.00±7.00	253.00±10.58	172.00±7.21	<0.001	0.034
24.saat	236.67±12.05	149.33±1.15	200.67±10.02	127.33±13.01		
p(Zaman)	0.037	0.001	0.004	0.025		
Sürgün Kuru Ağırlık						
0.saat	23.67±0.58	17.67±0.58	23.67±0.58	17.67±0.58		
3.saat	29.00±1.00	23.17±0.15	27.90±0.35	22.97±0.06	<0.001	0.296
24.saat	24.00±1.00	17.33±1.53	22.67±0.58	16.00±0.00		
p(Zaman)	0.006	0.034	0.001	<0.001		
Sürgün Boy						
0.saat	335.00±5.00	261.67±2.89	335.00±5.00	261.67±2.89		
3.saat	347.00±9.85	289.67±4.51	346.67±5.77	290.00±0.00	<0.001	0.030
24.saat	356.67±2.89	291.67±5.77	351.67±2.89	286.67±5.77		
p(Zaman)	0.035	0.001	0.041	0.001		
Klorofil-a						
0.saat	538.00±5.00	380.33±9.02	538.00±5.00	380.33±9.02		
3.saat	596.33±16.74	374.67±2.89	525.67±2.08	509.00±22.11	<0.001	<0.001
24.saat	658.67±28.04	598.00±19.92	586.67±1.53	593.33±4.51		
p(Zaman)	0.008	<0.001	<0.001	<0.001		
Klorofil-b						
0.saat	279.67±2.52	193.67±4.51	279.67±2.52	193.67±4.51		
3.saat	303.00±8.66	186.67±1.15	267.33±0.58	266.67±11.15	<0.001	<0.001
24.saat	352.67±15.04	310.67±10.12	314.00±1.00	315.33±2.52		
p(Zaman)	0.005	<0.001	<0.001	<0.001		
Klorofil a+b						
0.saat	817.00±7.55	573.67±13.50	817.00±7.55	573.67±13.50		
3.saat	899.00±25.98	561.00±4.36	793.00±2.65	775.33±33.83	<0.001	<0.001
24.saat	1011.00±42.51	908.67±30.02	900.33±2.08	908.33±6.51		
p(Zaman)	0.007	<0.001	<0.001	<0.001		
Klorofil a/b						
0.saat	1.93±0.00	1.96±0.01	1.93±0.00	1.96±0.01		
3.saat	1.97±0.00	2.01±0.00	1.96±0.01	1.91±0.00	<0.001	<0.001
24.saat	1.87±0.00	1.93±0.00	1.87±0.00	1.89±0.01		
p(Zaman)	0.049	0.002	0.002	<0.001		

Çizelge 4.1. (Devamı) Siyez buğdayına ait verilerinin karşılaştırılması

Prolin						
0.saat	1.10±0.02	1.90±0.13	1.10±0.10	1.90±0.00		
3.saat	0.44±0.05	0.52±0.03	0.70±0.03	4.28±0.21	<0.001	<0.001
24.saat	0.51±0.08	0.55±0.02	1.13±0.03	5.87±0.00		
p(Zaman)	<0.001	<0.001	0.001	0.001		
Katalaz						
0.saat	1.07±0.08	0.71±0.08	0.99±0.14	0.72±0.08		
3.saat	1.02±0.11	0.91±0.09	0.96±0.16	0.75±0.04	0.002	<0.001
24.saat	1.21±0.03	1.08±0.04	0.51±0.12	0.87±0.07		
p(Zaman)	0.089	0.007	0.005	0.111		
Glutatayon Redüktaz						
0.saat	2.86±0.15	2.63±0.04	2.86±0.13	2.64±0.09		
3.saat	2.09±0.15	1.61±0.11	2.54±0.13	2.13±0.28	0.014	0.076
24.saat	2.06±0.00	1.94±0.38	2.41±0.39	2.38±0.33		
p(Zaman)	0.003	0.011	0.098	0.149		
Askorbat Peroksidaz						
0.saat	0.12±0.01	0.09±0.01	0.12±0.02	0.09±0.00		
3.saat	0.09±0.04	0.08±0.02	0.11±0.05	0.09±0.06	0.235	0.281
24.saat	0.06±0.01	0.06±0.03	0.09±0.01	0.13±0.04		
p(Zaman)	0.163	0.174	0.537	0.553		
Antosiyanin						
0.saat	0.20±0.00	0.08±0.00	0.20±0.00	0.08±0.00		
3.saat	0.33±0.00	0.32±0.00	0.37±0.00	0.22±0.00	<0.001	<0.001
24.saat	0.25±0.00	0.00±0.00	2.34±0.01	0.32±0.00		
p(Zaman)	0.049	0.049	<0.001	0.049		
P5CR						
0.saat	1.00±0.00	3.07±0.51	1.00±0.00	3.07±0.51		
3.saat	3.01±0.35	10.20±4.18	10.01±1.44	37.85±6.09	<0.001	<0.001
24.saat	1.34±0.25	3.96±0.37	10.95±3.35	42.34±6.25		
p(Zaman)	0.025	0.039	0.005	0.002		
SRG						
0.saat	1.59±0.14	5.28±2.20	1.59±0.14	5.28±2.20		
3.saat	0.40±0.06	23.15±2.66	0.46±0.10	1.27±0.07	<0.001	<0.001
24.saat	0.59±0.13	30.47±4.94	0.63±0.30	1.02±0.26		
p(Zaman)	<0.001	0.004	0.004	0.075		

Çizelge 4.2. Siyez buğdayına ait zaman etkisinin ikili karşılaştırma sonuçları

	0.saat*3.saat	0.saat*24.saat	3.saat*24.saat
	p	p	p
Sürgün Taze Ağırlık	<0.001	1.000	<0.001
Sürgün Kuru Ağırlık	<0.001	0.423	<0.001
Sürgün Boy	<0.001	<0.001	0.438
Klorofil-a	<0.001	<0.001	<0.001
Klorofil-b	<0.001	<0.001	<0.001
Klorofil a+b	<0.001	<0.001	<0.001
Klorofil a/b	<0.001	<0.001	<0.001
Prolin	1.000	<0.001	<0.001
Glutatayon Redüktaz	<0.001	0.001	0.778
Antosiyanin	<0.001	<0.001	<0.001
P5CR	<0.001	<0.001	1.000
SRG	0.001	0.003	0.386

Grup etkisinin anlamlı olduğu ölçüm değerleri için, hangi gruplar arasında anlamlılığa etki ettiğinin gösterilmesinde ikili karşılaştırma analizi (Post-Hoc) yapılmıştır

Çizelge 4.3. Siyez buğdayına ait grup etkisinin ikili karşılaştırma sonuçları

	Kontrol* Tuz Stresi	Kontrol*Su Baskını	Kontrol* Tuz+Su Baskını	Tuz Stresi*Su Baskını	Tuz Stresi* Tuz+Su Baskını	Su Baskını * Tuz+Su Baskını
	p	p	p	p	p	p
Sürgün Taze	<0.001	0.004	<0.001	<0.001	0.229	<0.001
Ağırlık						
Sürgün Kuru	<0.001	0.016	<0.001	<0.001	0.159	<0.001
Ağırlık						
Sürgün Boy	<0.001	1.000	<0.001	<0.001	1.000	<0.001
Klorofil-a	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Klorofil-b	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Klorofil a+b	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Klorofil a/b	<0.001	1.000	0.566	<0.001	<0.001	1.000
Prolin	<0.001	<0.001	<0.001	1.000	<0.001	<0.001
Katalaz	0.049	0.008	0.003	1.000	0.407	1.000
Glutatayon						
Redüktaz	0.321	0.360	1.000	0.013	0.167	0.689
Antosiyanin	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
P5CR	0.106	0.019	<0.001	1.000	<0.001	<0.001
SRG	<0.001	1.000	0.078	<0.001	<0.001	0.086

Çizelge 4.4. Dağdaş-94 buğdayına ait verilerin değerlendirilmesi

	Kontrol	Tuz Stresi	Su Baskını	Tuz+Su Baskını		
Dağdaş	Ortalama±SS	Ortalama±SS	Ortalama±SS	Ortalama±SS	P (Grup)	p(Etkileşim)
Sürgün Taze Ağırlık						
0.saat	324.00±13.86	250.00±18.08	324.00±13.86	250.00±18.08		
3.saat	358.33±8.50	264.60±15.07	306.00±5.29	212.50±17.04	<0.001	0.007
24.saat	322.33±20.59	263.67±1.15	265.00±13.45	213.33±12.22		
p(Zaman)	0.058	0.228	0.010	0.094		
Sürgün Kuru Ağırlık						
0.saat	32.67±1.15	32.17±0.29	32.67±1.15	32.17±0.29		
3.saat	36.00±1.00	35.33±0.58	29.27±0.25	31.00±1.00	0.001	<0.001
24.saat	32.00±2.00	30.00±0.00	29.33±1.53	29.30±0.52		
p(Zaman)	0.091	<0.001	0.031	0.013		
Sürgün Boy						
0.saat	356.67±2.89	291.67±5.77	356.67±2.89	291.67±5.77		
3.saat	360.00±5.00	307.67±12.42	353.33±5.77	301.67±2.89	<0.001	0.434
24.saat	370.00±20.00	310.67±1.15	360.00±10.00	300.00±5.00		
p(Zaman)	0.398	0.052	0.640	0.181		
Klorofil-a						
0.saat	1329.00±38.74	1126.33±28.43	1329.00±38.74	1126.33±28.43		
3.saat	1440.67±31.67	1352.67±37.54	1694.33±52.63	1540.67±23.44	<0.001	<0.001
24.saat	1304.33±31.00	1186.00±4.58	1657.33±39.31	1184.67±40.55		
p(Zaman)	0.019	0.001	0.002	<0.001		
Klorofil-b						
0.saat	591.33±18.04	501.33±12.34	591.33±18.04	501.33±12.34		
3.saat	648.00±13.89	620.67±17.62	777.00±24.64	692.67±11.15	<0.001	<0.001
24.saat	636.33±15.50	591.00±2.00	809.00±19.05	584.33±20.01		
p(Zaman)	0.031	<0.001	0.001	<0.001		
Klorofil a+b						
0.saat	1920.33±56.77	1628.00±41.33	1920.33±56.77	1628.00±41.33		
3.saat	2088.00±45.31	1973.33±55.14	2471.00±76.74	2233.00±35.16	<0.001	<0.001
24.saat	1940.67±46.50	1775.33±6.66	2466.33±58.35	1769.33±60.58		
p(Zaman)	0.032	0.001	0.001	<0.001		
Klorofil a/b						
0.saat	2.25±0.00	2.25±0.01	2.25±0.00	2.25±0.01		
3.saat	2.22±0.01	2.18±0.00	2.18±0.00	2.22±0.01	<0.001	<0.001
24.saat	2.05±0.00	2.01±0.01	2.05±0.00	2.03±0.00		
p(Zaman)	<0.001	<0.001	0.049	0.001		

Çizelge 4.4. (Devamı) Dağdaş-94 buğdayına ait verilerin değerlendirilmesi

Prolin						
0.saat	0.56±0.02	1.39±0.01	0.56±0.00	1.39±0.01		
3.saat	0.23±0.03	0.76±0.03	0.09±0.02	0.65±0.21	<0.001	0.011
24.saat	0.27±0.02	1.12±0.14	0.18±0.13	0.84±0.19		
p(Zaman)	0.007	0.001	0.003	0.008		
Katalaz						
0.saat	1.79±0.13	2.07±0.19	1.79±0.01	2.09±0.11		
3.saat	3.06±0.21	3.70±0.29	2.47±0.18	2.18±0.30	0.001	0.015
24.saat	2.16±0.44	2.52±0.67	1.94±0.19	2.23±0.07		
p(Zaman)	0.020	0.035	0.003	0.731		
Glutatayon Redüktaz						
0.saat	2.71±0.42	2.23±0.07	2.71±0.26	2.23±0.11		
3.saat	3.05±0.14	1.78±0.07	4.41±0.35	5.18±1.38	<0.001	<0.001
24.saat	1.66±0.18	1.48±0.11	2.32±0.11	5.14±0.10		
p(Zaman)	0.032	0.003	0.001	0.014		
Askorbat Peroksidaz						
0.saat	2.05±0.11	3.11±0.38	2.05±0.11	3.10±0.32		
3.saat	2.29±0.94	2.90±1.11	0.86±0.38	2.38±0.67	0.001	0.008
24.saat	1.43±0.14	1.62±0.33	1.28±0.49	3.81±0.65		
p(Zaman)	0.247	0.136	0.026	0.069		
Antosiyanin						
0.saat	0.16±0.01	0.05±0.00	0.16±0.01	0.05±0.00		
3.saat	0.20±0.00	0.05±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	<0.001	<0.001
24.saat	0.15±0.00	0.09±0.01	0.18±0.00	0.17±0.00		
p(Zaman)	0.021	0.023	<0.001	0.049		
P5CR						
0.saat	1.00±0.00	3.19±1.95	1.00±0.00	3.19±1.94		
3.saat	3.04±0.95	9.09±2.17	1.98±0.08	6.41±1.26	<0.001	<0.001
24.saat	4.58±0.47	14.49±0.31	3.53±0.60	9.57±0.49		
p(Zaman)	0.002	0.002	0.002	0.003		
SRG						
0.saat	2.51±0.91	7.11±2.09	2.51±0.91	7.11±2.09		
3.saat	1.91±0.49	5.33±0.22	0.79±0.02	3.49±0.24	<0.001	0.100
24.saat	2.07±0.20	4.26±1.05	1.41±0.28	3.80±0.80		
p(Zaman)	0.350	0.135	0.027	0.036		

Zaman etkisinin anlamlı olduğu ölçüm değeri için, hangi zaman aralığının bu anlamlılığa etki ettiğinin gösterilmesinde ikili karşılaştırma analizi (Post-Hoc) yapılmıştır.

Çizelge 4.5. Dağdaş buğdayına ait zaman etkisinin ikili karşılaştırma sonuçları

	0.saat*3.saat	0.saat*24.saat	3.saat*24.saat
	p	p	p
Sürgün Taze Ağırlık	1.000	0.052	0.042
Sürgün Kuru Ağırlık	0.192	0.004	<0.001
Sürgün Boy	0.045	0.062	0.811
Klorofil a	<0.001	<0.001	<0.001
Klorofil b	<0.001	<0.001	0.019
Klorofil a+b	<0.001	<0.001	<0.001
Klorofil a/b	<0.001	<0.001	<0.001
Prolin	<0.001	<0.001	0.006
Katalaz	<0.001	0.249	0.011
Glutatayon Redüktaz	0.002	0.085	0.004
Antosiyanin	<0.001	<0.001	<0.001
P5CR	<0.001	<0.001	<0.001
SRG	0.010	0.005	1.000

Grup etkisinin anlamlı olduğu ölçüm değeri için, hangi gruplar arasında anlamlılığa etki ettiğinin gösterilmesinde ikili karşılaştırma analizi (Post-Hoc) yapılmıştır.

Çizelge 4.6. Dağdaş buğdayına ait grup etkisinin ikili karşılaştırma sonuçları

	Kontrol* Tuz Stresi	Kontrol*Su Baskını	Kontrol* Tuz+Su Baskını	Tuz Stresi*Su Baskını	Tuz Stresi* Tuz+Su Baskını	Su Baskını * Tuz+Su Baskını
	p	p	p	p	p	p
Sürgün Taze Ağırlık	<0.001	0.005	<0.001	0.004	0.008	<0.001
Sürgün Kuru Ağırlık	0.538	0.003	0.006	0.031	0.092	1.000
Sürgün Boy	<0.001	1.000	<0.001	<0.001	1.000	<0.001
Klorofil-a	<0.001	<0.001	0.012	<0.001	0.032	<0.001
Klorofil-b	0.001	<0.001	0.016	<0.001	0.126	<0.001
Klorofil a+b	<0.001	<0.001	0.001	<0.001	0.049	0.002
Klorofil a/b	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Prolin	<0.001	1.000	<0.001	<0.001	0.289	<0.001
Katalaz	0.023	0.207	0.879	0.001	0.003	1.000
Glutatayon Redüktaz	0.159	0.128	0.001	0.003	<0.001	0.014
Askorbat Peroksidaz	0.294	0.518	0.014	0.016	0.441	0.001
Antosiyanin	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.033	<0.001
P5CR	<0.001	1.000	0.006	<0.001	0.039	0.002
SRG	0.001	1.000	0.008	<0.001	1.000	0.002

Çizelge 4.7. Çalışmamızda kullandığımız abiyotik stres koşullarında ifade olan primerlerin adları, kod adları, dizilimleri ve ürün büyüklükleri

Primer Adı	Sekans (5'-3')	Bağlanma Sıcaklığı	Referans
Chl-F	CCTCGACTACCTCGGCAAC	54	Ergün; Kolukırık, 2014
Chl-R	AAGAAGCCGAACATGGAGAA		
TaSRG-F	GAAGATGGAGGTCAGGGACA	56	Ergün; Kolukırık, 2014
TaSRG-R	AGCTCTTGCTGAGAGGCTTG		
P5CR-F	TTGGACAGCTGAAGAAAAATA	55	Ma; Zhou, 2008
P5CR-R	ACACAGCTAGACCAGGAAAAT		

Çizelge 4.8. Değişkenler arasındaki ilişki katsayıları

		Sürgün Taze Ağırlık	Sürgün Kuru Ağırlık	Sürgün Boy	Klorofil-A	Klorofil-B	Klorofil A+B	Klorofil A/B	Prolin	Katalaz	Glutatayon Redüktaz	Askorbat Peroksidaz	Antosiyanin	P5CR	SRG
Sürgün Taze Ağırlık	r	1	,869	,797	,682	,667	,678	,607	-,596	,617	,035	,435	-,106	-,435	-,366
	p		,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,771	,000	,373	,000	,002
Sürgün Kuru Ağırlık	r	,869	1	,506	,782	,752	,774	,787	-,537	,790	,140	,736	-,188	-,349	-,297
	p	,000		,000	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,240	,000	,114	,003	,011
Sürgün Boy	r	,797	,506	1	,413	,438	,421	,135	-,524	,214	,010	-,004	,247	-,347	-,435
	p	,000	,000		,000	,000	,000	,257	,000	,071	,932	,973	,036	,003	,000
Klorofil-A	r	,682	,782	,413	1	,994	,999	,773	-,422	,828	,356	,709	-,269	-,258	-,240
	p	,000	,000	,000		,000	,000	,000	,000	,000	,002	,000	,022	,029	,043
Klorofil-B	r	,667	,752	,438	,994	1	,997	,700	-,415	,814	,342	,678	-,244	-,230	-,256
	p	,000	,000	,000	,000		,000	,000	,000	,000	,003	,000	,038	,052	,030
Klorofil A+B	r	,678	,774	,421	,999	,997	1	,752	-,420	,824	,352	,701	-,262	-,250	-,245
	p	,000	,000	,000	,000	,000		,000	,000	,000	,002	,000	,026	,034	,038
Klorofil A/B	r	,607	,787	,135	,773	,700	,752	1	-,377	,714	,271	,763	-,376	-,372	-,041
	p	,000	,000	,257	,000	,000	,000		,001	,000	,021	,000	,001	,001	,735
Prolin	r	-,596	-,537	-,524	-,422	-,415	-,420	-,377	1	-,389	-,121	-,247	,045	,854	-,133
	p	,000	,000	,000	,000	,000	,000	,001		,001	,310	,036	,705	,000	,264
Katalaz	r	,617	,790	,214	,828	,814	,824	,714	-,389	1	,191	,764	-,368	-,224	-,112
	p	,000	,000	,071	,000	,000	,000	,000	,001		,108	,000	,001	,059	,349
Glutatayon Redüktaz	r	,035	,140	,010	,356	,342	,352	,271	-,121	,191	1	,339	-,106	-,136	-,243
	p	,771	,240	,932	,002	,003	,002	,021	,310	,108		,004	,377	,255	,040
Askorbat Peroksidaz	r	,435	,736	-,004	,709	,678	,701	,763	-,247	,764	,339	1	-,272	-,185	-,084
	p	,000	,000	,973	,000	,000	,000	,000	,036	,000	,004		,021	,119	,485
Antosiyanin	r	-,106	-,188	,247	-,269	-,244	-,262	-,376	,045	-,368	-,106	-,272	1	,137	-,172
	p	,373	,114	,036	,022	,038	,026	,001	,705	,001	,377	,021		,251	,149
P5CR	r	-,435	-,349	-,347	-,258	-,230	-,250	-,372	,854	-,224	-,136	-,185	,137	1	-,084
	p	,000	,003	,003	,029	,052	,034	,001	,000	,059	,255	,119	,251		,484
SRG	r	-,366	-,297	-,435	-,240	-,256	-,245	-,041	-,133	-,112	-,243	-,084	-,172	-,084	1
	p	,002	,011	,000	,043	,030	,038	,735	,264	,349	,040	,485	,149	,484	

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez çalışmasından elde edilen veriler, tuz, su baskını, T+SB etkileşiminde, buğday türlerinin stres tepkilerinde önemli değişiklikler gösterdiğini ortaya koymaktır. *T. aestivum* L. tuz stresinin tek başına etkisinde *T. monococcum* L.'den daha fazla tolerans gösterirken, tuz ve su baskını streslerinin etkileşiminde, *T. monococcum* L., Siyez, *P5CR* gen ifade seviyesini ve prolin birikimini arttırarak *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94'e göre daha yüksek tolerans gösterdiği düşünülmektedir. Ayrıca tuz stresine toleranslı olduğu bilinen *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94'te tuz stresi etkisinde KAT aktivitesi artarken, tuz ve su baskını streslerinin etkileşiminde APX ve GR enzim aktiviteleri artmıştır. İki farklı türdeki buğday fidelerinin, osmotik strese tepkileri belirlenmiştir.

Çalışmamızda kullanılan tuz stresinin etkisindeki *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94 ve *T. monococcum* L., Siyez türlerinde *P5CR* gen ifade seviyesi ve prolin birikimi artmıştır. Tuz stresine maruz bırakılmış, *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94 türünde prolin birikimi, *P5CR* gen ifade seviyesindeki artış *T. monococcum* L., Siyez' den daha fazla gerçekleşmiştir.

Tuz stresi etkisindeki *T. aestivum* L. cv. buğdayları *TaSRG* gen ifade seviyelerini arttırarak stresin olumsuz etkilerinden korunduğu düşünülmektedir.

Su baskını koşullarında *T. monococcum* L., Siyez türü buğday fidelerinin *P5CR* gen ifadesini ve prolin birikimini arttırmak suretiyle osmotik strese cevap verdiği belirlenmiştir. Benzer şekilde, tuz ve su baskını streslerinin etkileşiminde *T. monococcum* L., Siyez türünde *P5CR* gen ifade seviyesi ve prolin birikimi artarak tolerans gösterdiği düşünülmektedir.

Çalışmamızda gerek *T. monococcum* L., Siyez ve gerekse de *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94 türü buğday fidelerinde, tuz ve su baskını uygulamaları sonucu oluşan oksidatif stresi antioksidan savunma sistemini etkin bir şekilde kullanmak suretiyle cevapladığı tespit edilmiştir. Bu durumun kullanılan iki türün oksidatif strese toleransını belirlemek için kullanılabileceği düşünülmektedir.

Tuz stresi etkisi altında *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94 türünde KAT aktivitesi artarak oksidatif stresin etkisinden bitkiyi koruyabileceği ifade edilebilir. *T. monococcum* L., Siyez, antioksidan savunma sisteminde yer alan enzimleri etkin bir şekilde kullanamamıştır.

Su baskını stresinin etkisi altında iki buğday türünde de KAT enzim aktivitesi *T.*

monococcum'da önemli seviyede azalmasına karşın, APX ve GR antioksidan enzimlerinin oksidatif strese karşı etkin bir cevap verdikleri gözlenememiştir. Bu durum da fidelerin diğer enzimler ve ozmolitlerle tolerans gösterebileceğini düşünmekteyiz

T+SB uygulamalarında *T. monococcum* L., Siyez' de KAT aktivitesi azalmıştır. Bu durumda APX ve GR antioksidan enzim aktivitesi artan *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94 türünün oksidatif strese karşı tolerans geliştirebileceği ifade edilebilir.

T. aestivum L. cv., Dağdaş-94 ve *T. monococcum* L., Siyez türlerinin tuz, su baskını ve bu streslerin etkileşimine cevaplarının farklı olduğu, bu durumun belirtilen buğdaylardan *T. monococcum* L., Siyezin atasal, *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94'ün modern hibrit buğday türü olmasıyla ilişkili olduğu aşıkardır.

Literatür çalışmalarından da görüleceği gibi tuza dayanıklılığı tescilli *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94 tuz stresi altında osmotik strese karşı *P5CR* gen ifade seviyesini ve prolin birikimini; oksidatif strese karşı KAT antioksidan enzim aktivitesini *T. monococcum* L., Siyez den daha fazla arttırarak tolerans gösterdiği düşünülmektedir. Bu durum, *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94 fidelerinin sürgün taze ağırlık, sürgün kuru ağırlık, sürgün boy, Kl-a, Kl-b, Kl a+b kayıplarının *T. monococcum* L., Siyez den daha az olması ile desteklemektedir.

Su baskınında, *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94 ve *T. monococcum* L., Siyez türleri oksidatif strese karşı KAT, APX ve GR enzimlerindeki aktivite artışı az oranda gerçekleşmiştir. Bu durum bize çalışmamızda kullandıklarımızdan başka diğer antioksidan enzimlerin ve enzimatik olmayan antioksidanların (α -tokoferol, glutatyon, karotenoid, Askorbik asit vb) belirtilen streslere cevapta rol alabileceği fikrini vermektedir. Osmotik stres etkisi altında *T. monococcum* L., Siyez, prolin birikimini arttırarak tolerans göstermektedir. Büyüme parametrelerinden sürgün taze ağırlık ve sürgün kuru ağırlık miktarlarında meydana gelen kayıplar *T. monococcum* L., Siyez'de daha az olduğundan su baskınına daha toleranslı olduğu söylenebilir.

Tuz ve su baskını streslerinin etkileşimde oksidatif strese *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94 APX ve GR antioksidan enzim aktivitesini arttırarak toleans gösterirken, *T. monococcum* L., Siyez, osmotik strese *P5CR* gen ifade seviyesini ve prolin birikimini arttırarak tolerans gösterebileceği düşünülmektedir.

Ata buğdayı Siyez türü önemli bir gen kaynağıdır. *T. monococcum* L., Siyez buğday çeşitlerinin kromozom yapılarındaki farklılıklar bulunarak daha ileri fizyolojik ve

moleküler çalışmalarla strese tolerans mekanizmasının çalışabileceği ve toleranslı çeşitler elde edilebileceğini düşünmekteyiz.

Su baskınının etkisini daha iyi gözlemleyebilmek için kullandığımız kısa sürelerle ek olarak daha uzun süreler kullanılması, su baskını ve tuz streslerinin kök sisteminde yaptığı değişimi görmek için sürgüne ek olarak kök sisteminin de çalışılması, bu streslerin etkileşiminin buğday türlerinde tane verimine etkisine bakılması önerilebilir.

Sonuç olarak bu çalışmada *T. aestivum* L. cv., Dağdaş-94 türü tuz ve T+SB uygulamalarında *P5CR* gen ifade seviyesini ve prolin birikimi artırmıştır. Her iki parametredeki artışın paralel olduğu ve tuza toleransta görev aldığı düşünülmektedir. Ayrıca iki buğday türünde de tuz stresi uygulamasında *TaSRG* ifadesindeki artışın tuza tolerans ile ilişkili olduğu söylenebilir. *T. monococcum* L. Siyez türü su baskını uygulamasında prolin ve prolin birikimi ile ilgili *P5CR* gen ifadesini arttırmıştır, böylece su baskını etkisi ile oluşan osmotik strese tolerans göstermiş olabilir. Tuz uygulamasında *Triticum aestivum* L. cv., Dağdaş-94 türü KAT enzim aktivitesini ve T+SB uygulamasında GR ve APX aktivitesini arttırmıştır. Böylece antioksidan savunma sistemini aktif bir şekilde kullanan *T. aestivum* L. cv. Dağdaş-94 türünün oksidatif strese tolerans gösterdiği söylenebilir.

Su baskını, tuzluluk ve bu streslerin etkileşimi gibi stres koşullarında bitkinin türü, gelişimi, stresin süresi vb. durumlara bağlı olarak bitkinin cevabının önemli ölçüde değiştiği ifade edilmektedir. Tuzluluğun bitkisel üretimde önemli derecede kayıplara neden olduğu bilinmektedir. Abiyotik strese; özellikle de su baskını, kuraklık ve tuzluluk stresine maruz kalan bitkilerin; bitki türüne, bitkinin yaşına, süreye vb. bağlı olarak farklılıklar gösterebileceği belirlenmiştir. Bitkilerin stres faktörlerine karşı tolerans geliştirebilmesi sebebiyle bu duruma olanak sağlayan, fizyolojik ve moleküler mekanizmaların bilinmesi son derece önemlidir.

Stres koşullarının ve nüfusun artış gösterdiği çağımızda stres ile ilgili çalışmalara daha fazla önem verilerek, besin kıtlığı gibi sıkıntıların önüne geçilebilmesi için verimi arttırıcı yeni çalışmaların artması ve bu çalışmaların uygulamaya geçirilip, strese karşı önlemler alınıp, ilgili genlerin tanımlanması ve haritalanması, bunların buğday ıslah çalışmalarında kullanılabilirliğini arttırmak gerekli olduğunu düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- Adwas, A.A., Elsayed, A., Azab, A. E. & Quwaydir, F.A., 2019. Oxidative stress and antioxidant mechanisms in human body. **J. Appl. Biotechnol. Bioeng**, 6(1), 43-47.
- Amist, N. & Singh, N B., 2017. Responses of enzymes involved in proline biosynthesis and degradation in wheat seedlings under stress. **Allelopathy J**, 42(2), 195-206.
- Asada, K., 1992. Ascorbate peroxidase – a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. **Physiologia Plantarum**. 85/2: 235-241.
- Asif, S., Ali, Q., Malik, A., 2020. Evaluation of salt and heavy metal stress for seedling traits in wheat. **Biological and Clinical Sciences Research Journal**, 2020(1).
- Aslan, D., Ordu, B., Zencirci, N., 2016. Einkorn wheat (*Triticum monococcum* L. Siyez ssp. *monococcum*) tolerates cold stress better than bread wheat (*Triticum aestivum* L. Dağdaş-94 L.) during germination. **Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi**, 25(2), 182-192.
- Ashraf, M., Shahzad, S.M., Imtiaz, M., ve Rizwan, M. S., 2018. Salinity effects on nitrogen metabolism in plants–focusing on the activities of nitrogen metabolizing enzymes: A review. **Journal of Plant Nutrition**, 41(8), 1065-1081.
- Baloglu, M.C., Inal, B., Kavas, M. ve Unver, T., 2014. Diverse expression pattern of wheat transcription factors against abiotic stresses in wheat species. **Gene**, 550(1), 117-122.
- Barrett-Lennard, E.G. & Shabala, S.N., 2013. The waterlogging/salinity interaction in higher plants revisited–focusing on the hypoxia-induced disturbance to K⁺ homeostasis. **Functional Plant Biology**, 40(9), 872-882.
- Behr, J.H., Bouchereau, A., Berardocco, S., Seal, C.E, Flowers, T.J. ve Zörb, C., 2017. Suaeda maritima'nın kombine tuzluluk ve hipoksiye metabolik ve fizyolojik uyumu. **Botanik Yıllıkları** , 119 (6), 965-976.
- Blum, A., 2016. Stress, strain, signaling, and adaptation–not just a matter of definition. **Journal of experimental botany**, 67(3), 562-565.
- Bates L.S., 1973. Rapid Determination of Free Proline for Water- Stress Studies. **Plant and soil**, 39:205-207.
- Büyük, İ., Soydam-Aydın, S. ve Aras, S., 2012. Bitkilerin stres koşullarına verdiği moleküler cevaplar. **Turkish Bulletin of Hygiene & Experimental Biology/Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji**, 69(2).
- Chalker-Scott, L., 1999. Antosiyaninlerin bitki stres tepkilerinde çevresel önemi. **Fotokimya ve fotobiyoloji** , 70 (1), 1-9.
- Chantret, N., Salse, J., Sabot, F., Rahman, S., Bellec, A., Laubin, B. & Chalhoub, B., 2005. Molecular basis of evolutionary events that shaped the hardness locus in diploid and polyploid wheat species (*Triticum* and *Aegilops*). *The Plant Cell*, 17(4), 1033-1045.
- Cheng, X. X., Yu, M., Zhang, N., Zhou, Z.Q., Xu, Q.T., Mei, F.Z. & Qu, L.H., 2016. Reactive oxygen species regulate programmed cell death progress of endosperm in winter wheat (*Triticum aestivum* L. Dağdaş-94 L.) under waterlogging. **Protoplasma**, 253(2), 311-327.
- Chiraz, C.H., Afef, H.N., Elisa, C. & Houda, G., 2013. Variations in α -, β -amylase and α -glycosidase activities in two genotypes of wheat under NaCl salinity stress. **African Journal of Agricultural Research**, 8(18), 2038-2043.

- Çakmak, I., Marschner, H., 1992. Magnesium Deficiency and High Light Intensity Enhance Activities of Superoxide Dismutase, Ascorbate Peroxidase and Glutathione Reductase in Bean Leaves. **Plant Physiology**, 98: 1222-1226.
- Çakmak, I., 1994. Activity of Ascorbate-Dependent H₂O₂ Scavenging Enzymes and Leaf Chlorosis are Enhanced in Magnesium and Potassium Deficient Leaves, but not in Phosphorus Deficient Leaves. **Journal Experimental Botany**, 45: 1259-1266.
- Dikkaya, E.T. & Ergun, N., 2014. Effects of cadmium and zinc interactions on growth parameters and activities of ascorbate peroxidase on maize (*Zea mays* L. MAT 97). **European Journal Experimental Biology**, 4(1), 288-295.
- Doğru, A., 2019. Bitkilerde Antioksidan Sistemler ve Tuz Stresine Verdikleri Yanıtlar. **Uluslararası Doğu Anadolu Fen Mühendislik ve Tasarım Dergisi**, 1(2), 164-185.
- Dudziak, K., Zapalska, M., Börner, A., Szczerba, H., Kowalczyk, K. & Nowak, M., 2019. Analysis of wheat gene expression related to the oxidative stress response and signal transduction under short-term osmotic stress. **Scientific reports**, 9(1), 1-14.
- El Moukhtari, A., Cabassa-Hourton, C., Farissi, M., ve Savouré, A., 2020. How does proline treatment promote salt stress tolerance during crop plant development. **Frontiers in plant science**, 11, 1127.
- EL Sabagh, A., Islam, M.S., Skalicky, M., Ali Raza, M., Singh, K., Anwar Hossain, M., & Arshad, A., 2021. Salinity stress in wheat (*Triticum aestivum* L. Dağdaş-94 L.) in the changing climate: Adaptation and management strategies. **Frontiers in Agronomy**, 3, 661932.
- Toraman, P., Ergün, N. & Çalıcı, B., 2020. Some abiotic stress on growth and lipid peroxidation on wheat seedlings. **Natural and Engineering Sciences**. 5 (3): 144-154.
- Ergün, N., Özçubukçu, S., Kolukırmık, M. & Temizkan, Ö., 2014. Buğday (*Triticum aestivum* L. Dağdaş-94 L.) fidelerinde sıcaklığın etkileri—ağır metal etkileşimleri, antioksidan enzim aktivitesi ve gen ifadesi. **Acta Biologica Hungarica**, 65 (4): 439-450.
- Ertop, M.H. & Atasoy, R., 2019. Comparison of physicochemical attributes of einkorn wheat (*Triticum monococcum* L. Siyez) and durum wheat (*Triticum durum*) and evaluation of morphological properties using scanning electron microscopy and image analysis. **Journal of Agricultural Sciences**, 25(1): 93-99.
- Garg, G. & Kumari, R., 2016. Functional analysis of plants SRG-genes/transmembrane protein (RLKs) under stress condition. **Journal of Bioscience and Agriculture Research**, 9(02): 827-836.
- Ghorbel, M., Feki, K., Tounsi, S., Bouali, N., Besbes, M. & Brini, F., 2022. The Putative Auto-Inhibitory Domain of Durum Wheat Catalase (TdCAT1) Positively Regulates Bacteria Cells in Response to Different Stress Conditions. **Antioxidants**, 11(9): 18-20.
- Gill, M.B., Zeng, F., Shabala, L., Zhang, G., Yu, M., Demidchik, V., Zhou, M., 2019. Identification of QTL related to ROS formation under hypoxia and their association with waterlogging and salt tolerance in barley. **International journal of molecular sciences**, 20(3), 699.
- Guo, W., Han, X., Zhang, Y., Shi, C., Zhang, H., Lin, Q. & Liu, Y., 2021. Tuz Stresinin Buğday Fidelerinde Osmotik İyonların Emilimi ve Dağılımı Üzerine Etkileri.

- Bangladeř Botanik Dergisi**, 50 (4): 1209-1214.
- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M.H.M., Anee, T.I., Parvin, K., Nahar, K., Mahmud, J.A. & Fujita, M., 2019. Regulation of ascorbate-glutathione pathway in mitigating oxidative damage in plants under abiotic stress. **Antioxidants**, 8(9): 384.
- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M.H.M., Parvin, K., Bhuiyan, T.F., Anee, T.I., Nahar, K., Fujita, M., 2020a. Regulation of ROS metabolism in plants under environmental stress: A review of recent experimental evidence. **International Journal of Molecular Sciences**, 21(22): 8695.
- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. H.M., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S. M., Mahmud, J. A., Fotopoulos, V., 2020b. Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. **Antioxidants**, 9(8): 681.
- Heidari, M., 2009. Antioxidant activity and osmolyte concentration of sorghum (*Sorghum bicolor*) and wheat (*Triticum aestivum* L. Dağdaş-94) genotypes under salinity stress. **Asian Journal of Plant Sciences**, 8(3): 240-244.
- İrfan, M., Hayat, S., Hayat, Q., Afroz, S. ve Ahmad, A., 2010. Su baskını altındaki bitkilerde fizyolojik ve biyokimyasal değişiklikler. **Protoplasma**, 241 (1): 3-17.
- Kadioğlu A., 2011. **Bitki Fizyolojisi**, 5. Baskı. Gündüz Ofset Matbaacılık ve Yayıncılık, 419s, Trabzon. ISBN: 978-605-4361-06-9.
- Kadioğlu A., 2016. **Bitki Fizyolojisi**, 6. Baskı. Gündüz Ofset Matbaacılık ve Yayıncılık, 414s, Trabzon. ISBN: 978-605-4361-66-3.
- Karakař, A.P., 2016. Kabuklu Siyez (*Triticum monococcum* ssp. *monococcum*) ve ekmeklik (*Triticum aestivum* L. Dağdaş-94 L.) buğdaylarında kuraklık ve tuzluluk stresinin erken fide büyümesi ve antioksidan aktivite üzerindeki etkileri. **Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi**, 25 (1): 107-116.
- Kasuga, M., 1999. Improving plant drought salt and freezing tolerance by gene transfer of a single stress- inducible transcription factor, Nature America.
- Kaur, G., Asthir, B. & Bains, N.S., 2018. Modulation of proline metabolism under drought and salt stress conditions in wheat seedlings. **Indian Journal of Biochemistry & Biophysics**, 55, 114-124.
- Kaya, C., ve Ashraf, M., 2020. The endogenous L-cysteine desulphydrase and hydrogen sulfide participate in supplemented phosphorus-induced tolerance to salinity stress in maize (*Zea mays*) plants. **Turkish Journal of Botany**, 44(1): 36-46.
- Keçeli, A., 2019. Siyez (*Triticum monococcum* L. ssp. *monococcum*) popülasyonlarının biyoaktif, antioksidan özellikleri ve organik tarımda kullanımı üzerine bir derleme. **Türk Tarım-Gıda Bilimi ve Teknolojisi Dergisi** , 7 (12): 2111-2120.
- Keleş, Y. & Öncel, I., 2002a. Buğday fidelerinde büyüme ve pigment içeriği üzerine sıcaklık ve su-tuz streslerinin birlikte etkileri. **Anadolulu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi**. Cilt/vol: 3-sayı no: 1: 143-152.
- Keleş, Y. & Öncel, I., 2002b. Response of antioxidative defence system to temperature and water stress combinations in wheat seedlings. **Plant Science**, 163(4), 783-790.
- Keles, Y. & Öncel, I., 2004. Growth and Solute Composition in Two Wheat Species Experiencing Combined Influence of Stress Conditions1. Russian **Journal of Plant Physiology**, 51(2): 203-209.
- Keleş, Y., 2015. Antosiyanin pigmentlerin biyokimyası ve analizi. **Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi**: (1), 19-25.
- Khosravi, M.S., Heidari, R., Jamei, R., Kouhi, S.M.M. & Moudi M., 2018. Comparative

- growth and physiological responses of tetraploid and hexaploid species of wheat to flooding stress. **Acta agriculturae Slovenica**, 111(2): 285-292.
- Kishor, P.K., Hong, Z., Miao, G.H., Hu, C.A.A. & Verma, D.P.S., 1995. Overexpression of [δ]-pyrroline-5-carboxylate synthetase increases proline production and confers osmotolerance in transgenic plants. **Plant physiology**, 108(4): 1387-1394.
- Koenigshofer, H. ve Loeppert, H.G., 2019. The up-regulation of proline synthesis in the meristematic tissues of wheat seedlings upon short-term exposure to osmotic stress. **Journal of plant physiology**, 237, 21-29.
- Kumar, V., Khare, T., Shaikh, S. & Wani, S. H., 2018. Compatible solutes and abiotic stress tolerance in plants. **Metabolic adaptations in plants during abiotic stress**, 3, 213-220.
- Kunt, G. ve Taş, İ., 2019. Sulama Suyu Tuzluluğunun Eski ve Yeni İki Sıralı Arpa (*Hordeum vulgare* conv. *distichon*) Çeşitlerinin Çimlenmesi Üzerine Etkileri. **Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi**, 6(2): 216-221.
- Lebreton, S., Cabassa-Hourton, C., Saviouré, A., Funck, D. & Forlani, G., 2020. Appropriate activity assays are crucial for the specific determination of proline dehydrogenase and pyrroline-5-carboxylate reductase activities. **Frontiers in plant science**, 11, 2113.
- Li, C., Shuqiang, W., Lei, H., Yongqiang, Q., Huali, Z., Haibo, X. & Zhenyuan, S., 2015. Gene cloning and expression of the pyrroline-5-carboxylate reductase gene of perennial ryegrass (*Lolium perenne*). **Horticultural Plant Journal**, 1(2): 113-120.
- Li, X., Lv, X., Wang, X., Wang, L., Zhang, M. ve Ren, M., 2018. Mor buğdayda abiyotik stresin antosiyanin birikimi ve tane ağırlığı üzerine etkileri. **Bitki ve Mera Bilimi**, 69 (12): 1208-1214.
- Ma, L., Zhou, E., Gao, L., Mao, X., Zhou, R., Jia, J., 2008. Isolation, expression analysis and chromosomal location of P5CR gene in common wheat (*Triticum aestivum* L. Dağdaş-94 L.). **South African Journal of Botany**, 74:705-712.
- Maestri, E., Malcevski, A., Massari, A. & Marmioli, N., 2002. Genomic analysis of cultivated barley (*Hordeum vulgare*) using sequence-tagged molecular markers. Estimates of divergence based on RFLP and PCR markers derived from stress-responsive genes, and simple-sequence repeats (SSRs). **Molecular Genetics and Genomics**, 267(2): 186-201.
- Markham, K.R., Gould M, K. S., Winefield, C. S., Mitchell, K. A., Bloor, S. J. & Boase, M. R. 2000. Anthocyanic vacuolar inclusions their nature and significance in flower colouration. **Phytochemistry**, 55(4): 327-336.
- Mancinelli, A.L., Yang, C.P.H., Lindquist, P., Anderson, O.R. & Rabino, I., 1975. Photocontrol of anthocyanin synthesis: III. The action of streptomycin on the synthesis of chlorophyll and anthocyanin. **Plant physiology**, 55(2): 251-257.
- Mani, S., Van de Cotte, B., Van Montagu, M. & Verbruggen, N., 2002. Altered levels of proline dehydrogenase cause hypersensitivity to proline and its analogs in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, 128(1) 73-83.
- Mattioni, C., Lacerenza, N.G., Troccoli, A., De Leonardi, A.M. ve Di Fonzo, N., 1997. Water and salt stress-induced alterations in proline metabolism of *Triticum durum* seedlings. **Physiologia Plantarum**, 101(4): 787-792.
- Munns, R., 2002. Comparative Physiology of Salt and Water Stress. **Plant, Cell and Environment**, 25, 239-250.

- Munns, R. ve Tester, M., 2008. Mechanisms of salinity tolerance. **Annu. Rev. Plant Biol.**, 59, 651-681.
- Muslu, A. ve Ergün, N., 2013. Effects of copper and chromium and high temperature on growth, proline and protein content in wheat seedlings. **Bangladesh Journal of Botany**, 42(1): 105-112.
- Nadeem, M., Ali, M., Kubra, G., Fareed, A., Hasan, H., Khursheed, A. & Khan, S.U. 2020. Role of osmoprotectants in salinity tolerance in wheat. **In Climate Change and Food Security with Emphasis on Wheat** 93-106. Academic Press.
- Nanjo, T., Kobayashi, M., Yoshida, Y., Sanada, Y., Wada, K., Tsukaya, H. & Shinozaki, K., 1999a. Biological functions of proline in morphogenesis and osmotolerance revealed in antisense transgenic *Arabidopsis thaliana*. **The Plant Journal**, 18(2): 185-193.
- Nanjo, T., Kobayashi, M., Yoshida, Y., Kakubari, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K. & Shinozaki, K., 1999b. Antisense suppression of proline degradation improves tolerance to freezing and salinity in *Arabidopsis thaliana*. **FEBS letters**, 461(3): 205-210.
- Olgun, M., Karaduman, Y., Tunca, Z. Ş., Akın, A., Yorgancılar, Ö., Başçıftı, Z. B. ve Takıl, E., 2015. Comparison of Some Quality Characteristics in Kinoa (*Chenopodium quinoa*), Buckwheat (*Fagopyrum esculentum*), Siyez Wheat (*Triticum monococcum* L. Siyez) and Bread Wheat (*Triticum aestivum* L. Dağdaş-94) by Principle Component Analysis. **Biological Diversity and Conservation**, 8(3): 153-158.
- Ozcubukcu, S., ve Ergün, N., 2013. Effects of waterlogging and nitric oxide on chlorophyll and carotenoid pigments of wheat. **Journal Food Agric Environment**, 11, 2319-2323.
- Öncel, I., ve Keleş, Y., 2002. Tuz stresi altındaki buğday genotiplerinde büyüme, pigment içeriği ve çözünür madde kompozisyonunda değişimler. Cumhuriyet Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, **Fen Bilimleri Dergisi**, 23(2).
- Özberk, İ., Atasay, S., Altay, F., Cabi, E., Özkan, H., Atlı, A., 2016. Türkiye'nin Buğday Atlası. Basım. ISBN: 978-605-9903-07-3.
- Özçubukçu, S., Ergün, N. ve İlhan, E., 2014. Waterlogging and nitric oxide induce gene expression and increase antioxidant enzyme activity in wheat (*Triticum aestivum* L. Dağdaş-94 L.). **Acta Biologica Hungarica**, 65(1): 47-60.
- Özer, H., Karadoğan, T., Oral, E., 1997. Bitkilerde Su Stresi ve Dayanıklılık Mekanizması Atatürk Üniversitesi **Ziraat Fakültesi Dergisi**, 28(3).
- Özseven, İ., Gençtan, T., 2018. Bazı Ekmeklik Buğday (*Triticum aestivum* L. Dağdaş-94 L.) Genotiplerinde Uzun Süreli Su Baskınlarının Bayrak Yaprığı Klorofil İçeriğine Etkisi. **ANADOLU Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi**, 28(2): 1-16.
- Pandey, A., Khan, M. K., Thomas, G., Hakki, E. E., Kayis, S.A., Hamurcu, M. ve Akkaya, M.S., 2015a. Estimation of Indian and Turkish hexaploid wheat population structure employing molecular markers. **Not. Bot. Horti. Agrobiol.**, 43, 70-78.
- Pandey, P., Ramegowda, V. & Senthil-Kumar, M., 2015b. Shared and unique responses of plants to multiple individual stresses and stress combinations: physiological and molecular mechanisms. **Frontiers in Plant Science**, 6, 723.
- Porra, R.J., Thompson, R.A. and Kriedemann, P.E., 1989. Determination of accurate extinction coefficient and simultaneous equations for assaying chlorophylls a

- and b extracted with four different solvent verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. **Biochem. and Biophysica Acta**, 975, 384- 394.
- Pourmohammad, E.E.A., 2013. Evaluation of the salinity effects on some physiological and biochemical characteristics of two wheat cultivars. **Yuzuncu Yıl University Journal of Agricultural Sciences**, 23(2): 141-148.
- Prazak, R., 2001. Salt tolerance of Triticum monococcum L. Siyez L., T. dicoccum (Schränk) Schulbl., T. durum Desf and T. aestivum L. seedlings. **Institute of Agricultural Sciences**. 42(3), 289-292.
- Rana, V., Ram, S., Nehra, K., & Sharma, I., 2015. Buğday genotiplerinin aksine tuz stresi ile ilgili genler TaSRG ve TaRUB1'in diferansiyel ekspresyon analizi. **J Wheat Res**, 7(1), 71-73.
- Rivest, D., Lorente, M., Olivier, A., & Messier, C., 2013. Soil biochemical properties and microbial resilience in agroforestry systems: effects on wheat growth under controlled drought and flooding conditions. **Science of the Total Environment**, 463, 51-60.
- Saeediazar, S., Zarrini, HN, Ranjbar, G. & Heidari, P., 2014. TaSRG ve diğer tuz tepkisi genlerinin cis düzenleyici elemanlarının ve filogenetik ilişkisinin tanımlanması ve incelenmesi. **J Bio Env Sci**, 5, 1-5.
- Saqib, M., Akhtar, J. & Qureshi, R. H., 2004. Pot study on wheat growth in saline and waterlogged compacted soil: I. Grain yield and yield components. **Soil and Tillage Research**, 77(2): 169-177.
- Sairam, R.K. & Saxena, D.C., 2000. Oxidative stress and antioxidants in wheat genotypes: possible mechanism of water stress tolerance. **Journal of Agronomy and Crop Science**, 184(1): 55-61.
- Sairam, RK, Rao, K.V. ve Srivastava, G.C., 2002. Buğday genotiplerinin oksidatif stres, antioksidan aktivite ve osmolit konsantrasyonu ile ilgili olarak uzun vadeli tuzluluk stresine farklı tepkisi. **Bitki bilimi**, 163 (5): 1037-1046.
- Sairam, R.K., Tyagi, A., 2004. Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. **Division of plant physiology and division of biochemistry, Indian Agricultural research institute, Current science** vol 86 no: 3
- Sairam, R.K., Srivastava, G.C., Agarwal, S. ve Meena, R.C., 2005. Differences in antioxidant activity in response to salinity stress in tolerant and susceptible wheat genotypes. **Biologia Plantarum**, 49(1): 85.
- Sairam, RK, Kumutha, D., Ezhilmathi, K., Deshmukh, P.S ve Srivastava, G.C., 2008. Bitkilerde su baskını toleransının fizyolojisi ve biyokimyası. **Biologia plantarum**, 52 (3): 401-412.
- Simon-Sarkadi, L., Kocsy, G. & Sebestyén, Z., 2002. Effect of salt stress on free amino acid and polyamine content in cereals. **Acta Biologica Szegediensis**, 46(3-4): 73-75.
- Smethurst, C.F. & Shabala, S., 2003. Screening methods for waterlogging tolerance in lucerne: comparative analysis of waterlogging effects on chlorophyll fluorescence, photosynthesis, biomass and chlorophyll content. **Functional Plant Biology**, 30(3): 335-343.
- Soylu, O., Ergün, N., Çalıcı, B., Toroman, P. Ş., 2021. Kuraklık Stresinde Hidrojen Peroksit (H₂O₂) Ön Uygulamasının Buğday Fidelerinde, Büyüme ve Katalaz Üzerine Etkileri. **Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi**, 9(2), 477-485.
- Szoke, A., Miao, G.H., Hong, Z. and Verma, D.P.S., 1992. Subcellular location of δ1-

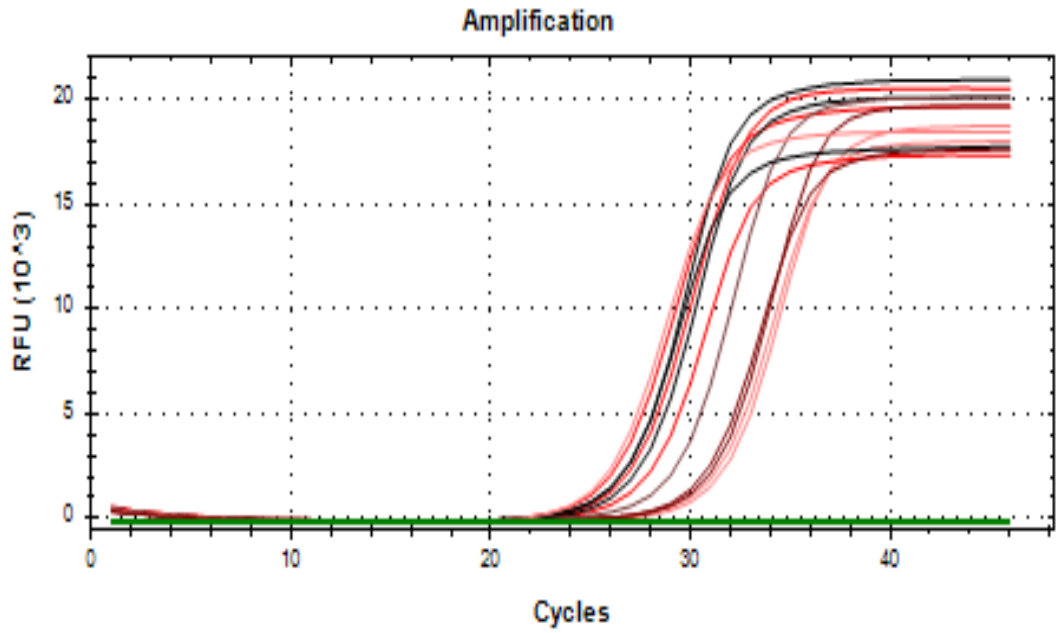
- pyrroline-5-carboxylate reductase in root/nodule and leaf of soybean. **Plant Physiology**, 99(4): 1642-1649.
- Taiz, L., Zeiger, E., Moller lan M., Murphy A., 2019. **Bitki fizyolojisi**. Palme. ISBN: 978-605-282-283-8.
- Tan, W., Liu, J., Dai, T., Jing, Q., Cao, W. & Jiang, D., 2008. Alterations in photosynthesis and antioxidant enzyme activity in winter wheat subjected to post-anthesis water-logging. **Photosynthetica**, 46(1): 21-27.
- Tavakoli, M., Poustini, K. ve Alizadeh, H., 2016. Proline accumulation and related genes in wheat leaves under salinity stress. **Journal of Agricultural Science and Technology**, 18(3): 707-716.
- Tereshchenko, O.Y., Gordeeva, E.I., Arbuzova, V.S. & Khlestkina, E.K., 2012. Anthocyanin pigmentation in Triticum aestivum L. Dağdaş-94 L.: genetic basis and role under abiotic stress conditions. **Journal of Stress Physiology & Biochemistry**, 8(3), S16.
- Trethowan, RM, van Ginkel, M. ve Rajaram, S., 2002. Küresel kuraklıktan etkilenen ortamlarda verim ve adaptasyon için buğday ıslahında ilerleme. **Bitki Bilimi**, 42 (5), 1441-1446.
- Tester, M., Bacic, A., 2005. Abiotic stress tolerance in grasses from model plants to crop plants. **Plant Physiology**. Vol137.
- Tetiktabanlar, İ., 2011. Tuz stresinin bezelyede (pisum sativum l.) fenolik bileşikler üzerine etkisi. **Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilisel Araştırma Projeleri Komisyonu**, 1-52
- Tong, S., Ni, Z., Peng, H., Dong, G. & Sun, Q., 2007. Ectopic overexpression of wheat TaSrg6 gene confers water stress tolerance in Arabidopsis. **Plant science**, 172(6): 1079-1086.
- Toraman, P.Ş., Ergün, N. & Çalıcı, B., 2020. Some abiotic stress on growth and lipid peroxidation on wheat seedlings. **Natural and Engineering Sciences**, 5(3): 144-154.
- Tiryakioğlu, M., Karanlık, S., Aslanyürek, D., 2014. Farklı su baskını sürelerinin ekmeklik buğday fidelerinde yaprak alanı, kuru madde ve klorofil içeriğine etkisi. **Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi**, 1(2): 281-288.
- Tiwari, B.K., Aquib, A. & Anand, R., 2020. Analysis of physiological traits and expression of NHX and SOS3 genes in bread wheat (Triticum aestivum L. Dağdaş-94 L.) under salinity stress. **J. Pharmacogn. Phytochem**, 9, 362-366.
- Turfan, N., Sarıyıldız, T. and Mutlu, E., 2019. Variation in Chemical Constituents of Siyez Wheat (Triticum monococcum L. Siyez L.) in Response to Some Abiotic Stress Factors. **Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology**, 7(4): 598-605.
- Turkan, I., Demiral, T. & Sekmen, A. H., 2013. The regulation of antioxidant enzymes in two Plantago species differing in salinity tolerance under combination of waterlogging and salinity. **Functional Plant Biology**, 40(5): 484-493.
- Verbruggen, N., Villarroel, R. & Van Montagu, M., 1993. Osmoregulation of a pyrroline-5-carboxylate reductase gene in Arabidopsis thaliana. **Plant Physiology**, 103(3): 771-781.
- Yan, M., Xue, C., Xiong, Y., Meng, X., Li, B., Shen, R. & Lan, P., 2020. Buğdayın tohum çimlenmesi sırasında kuraklığa, tuzluluğa ve suya batmaya benzer ve farklı tepkilerinin proteomik incelemesi. **Proteomik Dergisi**, 220, 103756.
- Yavaş, İ., Ünay, A., Şimşek, S., 2011. Su birikmesinin bitki ve toprak üzerine

- etkisi. **Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, 8(2): 57-61.
- Yılmaz, M., ve Doğru, A., 2014. Arpa Bitkisinde Alüminyum Toksisitesi Etkilerinin Araştırılması.
- Yoshida, Y., Kiyosue, T., Nakashima, K., Shinozaki, K.Y., 1997. Regulation of levels of proline as an osmolyte in plants under water stress.
- Zeng, F., Shabala, L., Zhou, M., Zhang, G. & Shabala, S., 2013. Barley responses to combined waterlogging and salinity stress: separating effects of oxygen deprivation and elemental toxicity. **Frontiers in Plant Science**, 4, 313.
- Zhang, Y., Zheng, L., Yun, L., Ji, L., Li, G., Ji, M., ... & Zheng, X., 2022. Catalase (CAT) Gene Family in Wheat (*Triticum aestivum* L. Dağdaş-94 L.): Evolution, Expression Pattern and Function Analysis. *International journal of molecular sciences*, 23(1), 542.
- Zheng, C., Jiang, D., Liu, F., Dai, T., Jing, Q. & Cao, W., 2009. Effects of salt and waterlogging stresses and their combination on leaf photosynthesis, chloroplast ATP synthesis, and antioxidant capacity in wheat. **Plant Science**, 176(4): 575-582.
- Wang, Z. Q., Yuan, Y. Z., Ou, J. Q., Lin, Q. H. ve Zhang, C. F., 2007. Glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase contribute differentially to proline accumulation in leaves of wheat (*Triticum aestivum* L. Dağdaş-94) seedlings exposed to different salinity. **Journal of Plant Physiology**, 164(6): 695-701.
- Wang, Y., Xu, H., Zhang, G., Zhu, H., Zhang, L., Zhang, Z., ve Ma, Z., 2009. Expression and responses to dehydration and salinity stresses of V-PPase gene members in wheat. **Journal of Genetics and Genomics**, 36(12): 711-720.
- Wang, M. & Xia, G., 2018. The landscape of molecular mechanisms for salt tolerance in wheat. **The crop journal**, 6(1): 42-47.
- Wani, S. H., Tripathi, P., Zaid, A., Challa, G. S., Kumar, A., Kumar, V. & Bhatt, M., 2018. Transcriptional regulation of osmotic stress tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L. Dağdaş-94 L.). **Plant Molecular Biology**, 97(6): 469-487.
- Wu, N., Mao, H.T., Chen, M.Y., Dong, J., Yuan, M., Zhang, Z.W. & Chen, Y.E., 2020. Different responses of photosystem and antioxidant defense system to three environmental stresses in wheat seedlings. **Photosynthetica**, 58(1): 87-99.

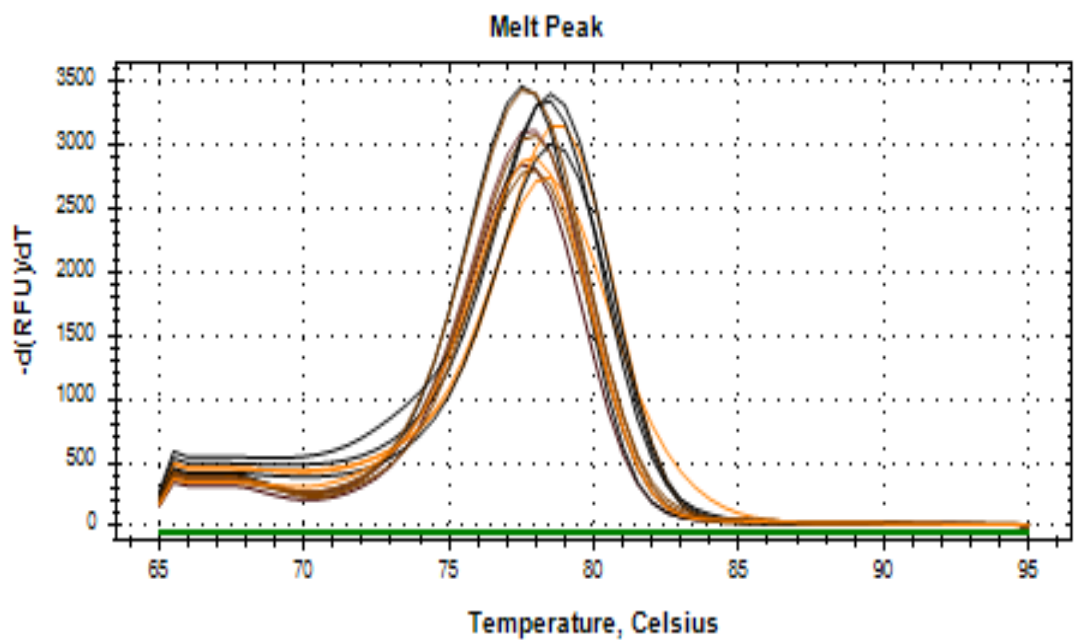
EKLER

Ek 1:P5CR Geni

Dağdaş Buğdayı Amplifikasyon Grafiği

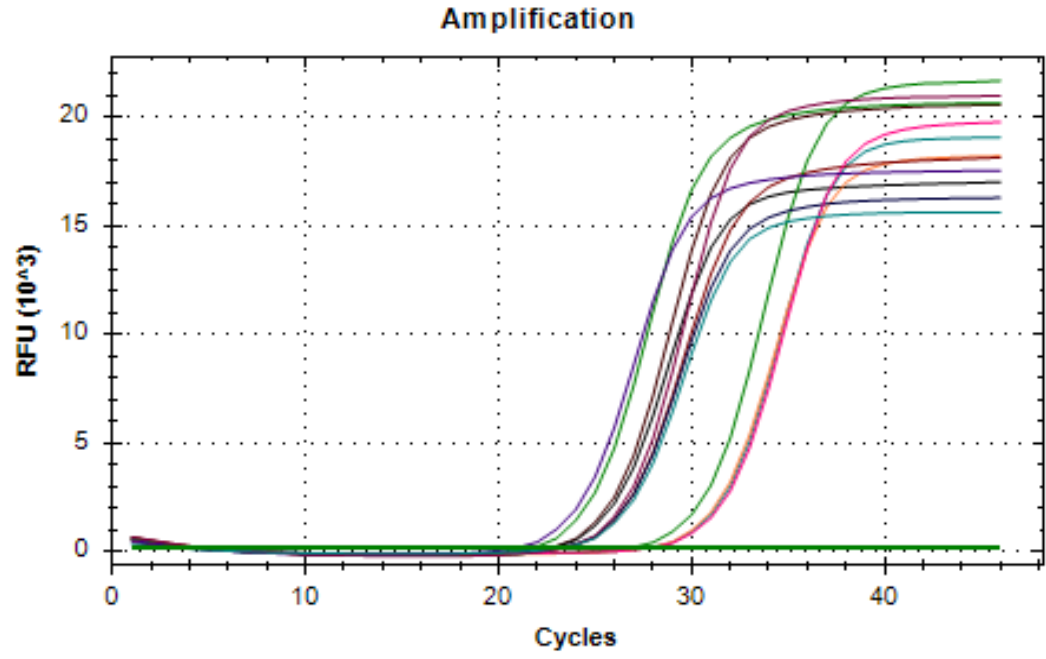


Erime Eğrisi Grafiği

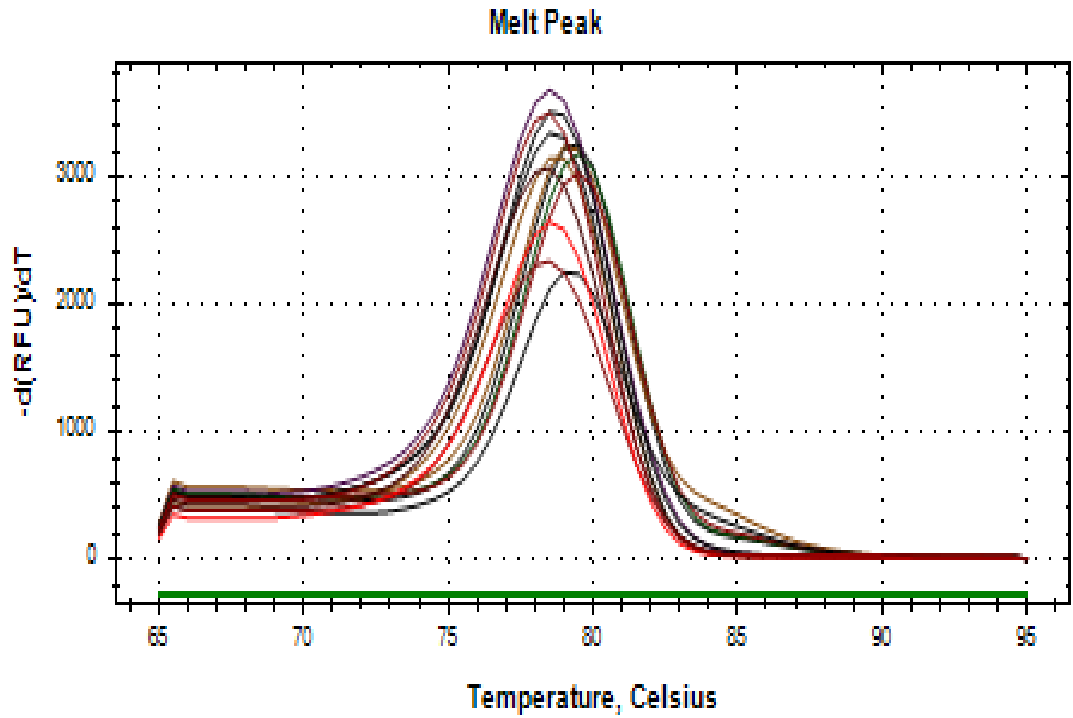


Ek 2: SRG

Dağdaş Buğdayı Amplifikasyon Grafiği

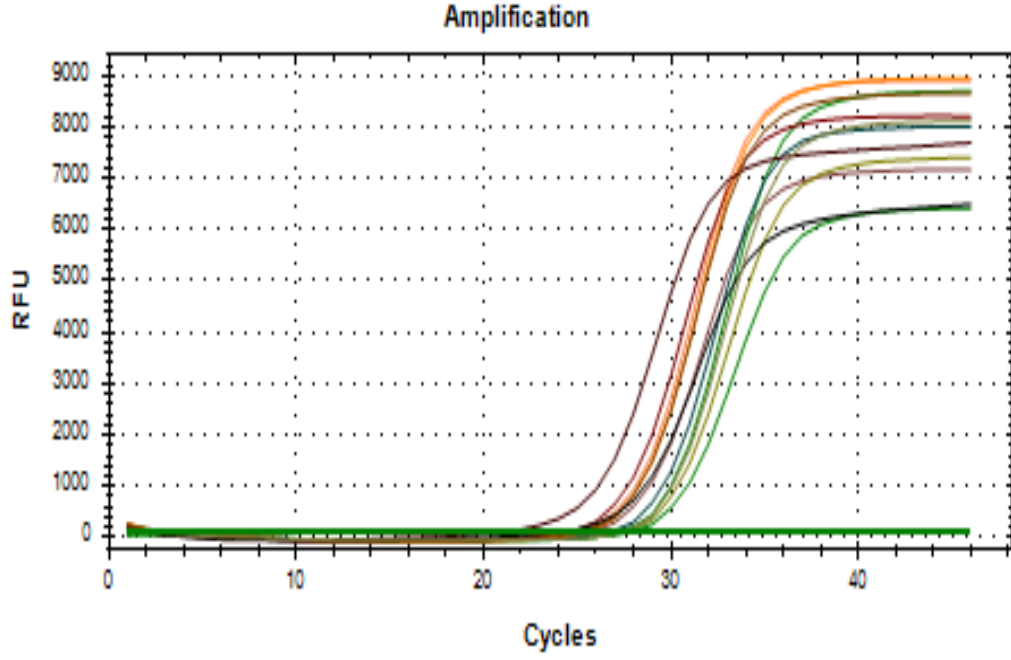


Erime Eğrisi Grafiği

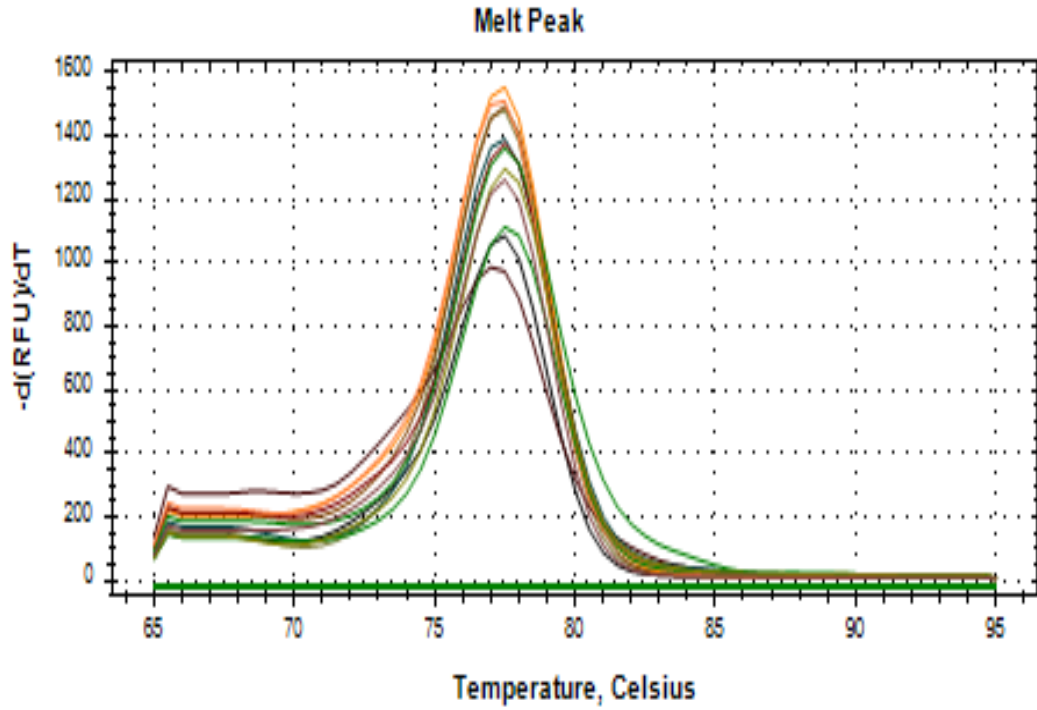


Ek 3: P5CR Geni

Siyez Buğdayı Amplifikasyon Grafiği

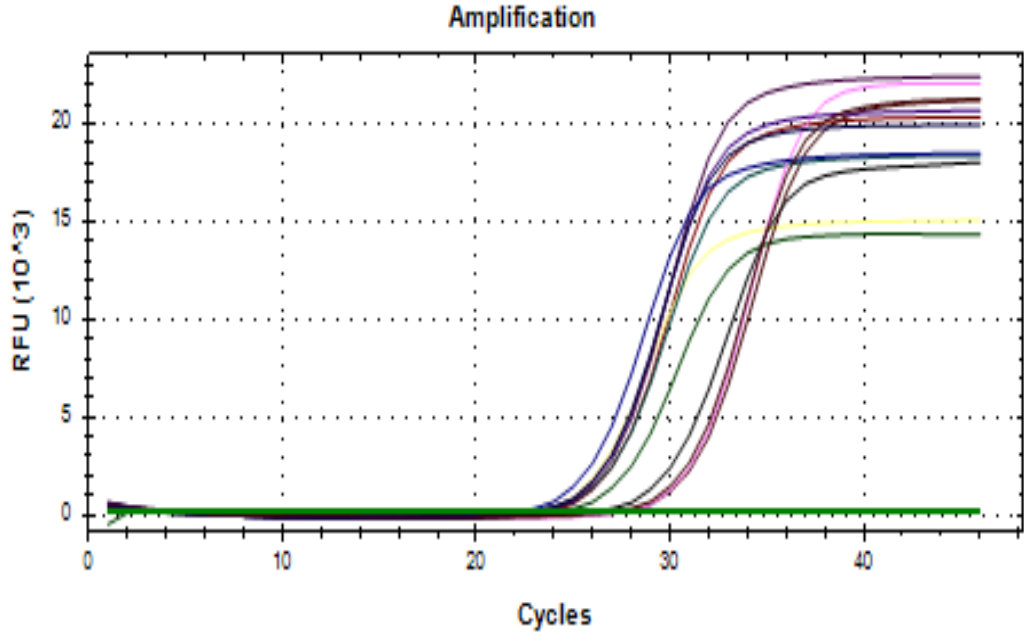


Erime Eğrisi Grafiği



Ek 4: SRG Geni

Siyez Buğdayı Amplifikasyon Grafiği



Erime Eğrisi Grafiği

