



T.C.

MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BUĞDAY (*Triticum aestivum* L.) FİDELERİNDE KURAKLIK -  
NO (NİTRİK OKSİT) ETKİLEŞİMLERİNDE ÇALIŞAN GENLERİN  
İFADESİ VE ANTİOKSİDAN ENZİM AKTİVİTESİ**

**Nagehan YAYIK**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**HATAY**

**ŞUBAT-2017**



T.C.  
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BUĞDAY (*Triticum aestivum* L.) FİDELERİNDE KURAKLIK -  
NO (NİTRİK OKSİT) ETKİLEŞİMLERİNDE ÇALIŞAN GENLERİN  
İFADESİ VE ANTİOKSİDAN ENZİM AKTİVİTESİ**

**Nagehan YAYIK**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

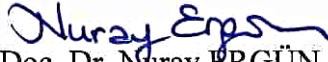
**HATAY  
ŞUBAT-2017**

T.C.  
MUSTAFAKEMAL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

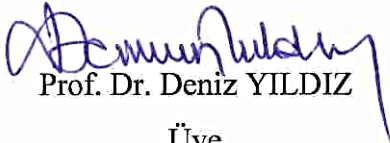
**BUĞDAY (*Triticum aestivum* L.) FİDELERİNDE KURAKLIK  
NO (NİTRİKOKSİT) ETKİLEŞİMLERİNDE ÇALIŞAN GENLERİN  
İFADESİ VE ANTİOKSİDAN ENZİM AKTİVİTESİ**

Nagehan YAYIK  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Doç. Dr. Nuray ERGÜN danışmanlığında hazırlanan bu tez 24/02/2017 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **OYBİRLİĞİ** ile kabul edilmiştir.

  
Doç. Dr. Nuray ERGÜN

Başkan

  
Prof. Dr. Deniz YILDIZ  
Üye

  
Prof. Dr. Yüksel KELEŞ  
Üye

**Kod No:**

**Prof. Dr. Erdal SERTKAYA**  
**Enstitü Müdür**

Bu çalışma MKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 12841

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

24/02/2017

## 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.

**Nagehan YAYIK**

## ÖZET

### BUĞDAY (*Triticum aestivum* L.) FİDELERİNDE KURAKLIK - NO (NİTRİK OKSİT) ETKİLEŞİMLERİNDE ÇALIŞAN GENLERİN İFADESİ VE ANTIOKSİDAN ENZİM AKTİVİTESİ

Bu tez çalışmasında, kuraklık ve kuraklık-NO (nitrik oksit) etkileşimlerinin buğday fidelerindeki (*Triticum aestivum* L. cv. Sultan, Yüreğir, İkizce ) etkileri incelenmiştir. Sürgün boyu, sürgün taze ve kuru ağırlığı, klorofil a (kl a), klorofil b (kl b), toplam klorofil (kl a+b) miktarı, prolin ve malondialdehit (MDA) birikimi, katalaz (CAT), glutatyon redüktaz (GR) ve askorbat peroksidaz (APX) antioksidan enzim aktiviteleri analiz edilmiştir. Kuraklıkta aktivitesi artan genlerin No Apical Meristem (NAM) ATAF1/2 CUC2 (NAC) ve *Triticum aestivum* Lipid Transfer Proteini (TaLTP1) ifadesi gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) tekniği ile belirlenmiştir.

Sonuç olarak, kuraklık uygulaması sonucu sürgün boyu ve taze ağırlığının her üç çeşitte de azaldığı gözlemlenmiştir. Sürgün kuru ağırlığının Sultan ve İkizce türlerinde azalırken Yüreğir türünde arttığı gözlenmiştir. Kuraklık uygulamasının sürgün fidelerinin belirli pigment miktarlarında (kl a, kl b ve toplam kl) azalmaya neden olurken, kuraklık-NO uygulamasının her üç parametrede, bir miktar iyileşmeye yardımcı olduğu görülmüştür.

Sultan fidelerinde antioksidan enzim aktivitelerinin (CAT, GR ve APX) stresine bağlı olarak arttığı, Yüreğir ve İkizce fidelerinde kuraklıkta CAT aktivitesi azalırken, GR ve APX aktivitesi arttığı tespit edilmiştir.

Yaptığımız çalışmada gen verileri incelendiğinde strese bağlı olarak kontrole göre NAC ve TaLTP1 gen ekspresiyonları her üç çeşitte de arttığı, bu artışın kuraklığa duyarlı Sultan çeşidinde daha fazla olduğu saptanmıştır.

2017, 49 Sayfa

**Anahtar Kelimeler:** Katalaz, Glutatyon Redüktaz, Askorbat Peroksidaz, RT-PCR, NAC ve TaLTP1

## ABSTRACT

### EXPRESSION OF GENE WORKS ON DROUGHT-NO (NITRIC OXIDE) INTERACTION ON WHEAT (*Triticum aestivum* L.) SEEDLINGS AND ANTIOXIDANT ENZYMES ACTIVITY

In this thesis, effect of drought and drought-NO (nitric oxide) interactions on three wheat seedlings (*Triticum aestivum* L. cv. Sultan, Yüreğir, İkizce) was studied. Length of shoot, wet and dry weight of shoot, chlorophyll a (chl a) and b (chl b), total chlorophyll (chl a+b) amount, proline and malondialdehyde (MDA) accumulation, also antioxidant enzyme activities (catalase (CAT), glutathione reductase (GR) and ascorbate peroxidase (APX)) were analysed and as well as gene expressions which occurred in drought stress were determined by real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) technique.

As a result, in all three types of seedlings, decrease in both length of shoot and wet weight of shoot were observed. Also, whereas in Sultan and İkizce types decrease in dry weight of shoot was observed, in Yüreğir types increase is observed.

When effect of drought types were analysed in detail, it was noticed that drought stress application trigger decrease in specific pigment amounts of shoots seeds (chl a, chl b and chl a+b), while drought-NO triggered increase. In all three types of seedlings, increase in antioxidant enzyme activities (CAT, GR and APX) associated with drought stress was detected. Moreover, increase of MDA and free proline accumulation in wheat seedlings that were exposed to drought was detected.

Furthermore, in all three types of seedlings, increase of expressions of NAC and TaLTP1 genes was observed, even much more level in the drought sensitive variety Sultan.

2017, 49 Pages

**Key words:** Catalase, Glutathione Reductase, Ascorbate Peroxidase, RT-PCR, NAC and TaLTP1

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim boyunca bana maddi manevi destek olan, çalışmalarım da bilgi ve deneyimleri ile yolumu aydınlatan, çok değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Nuray ERGÜN' e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Laboratuvar çalışmalarım da maddi manevi desteğiyle her daim yanımda olan, sevgili yüksek biyolog Mehmet H. AKGÜN' e, yüksek biyolog Ayyuş OTUZHİR' e, yüksek biyolog Pelin ŞENGÜL, yüksek biyolog Berna ÇALICI' ya, yüksek lisans arkadaşım Özge OKTAY' a ve gen çalışmalarım da bana destek olan Canan KETRE hanıma teşekkürü bir borç bilirim.

Tüm hayatım ve öğrenimim boyunca maddi ve manevi her zaman yanımda olan bugünlere gelmemi sağlayan çok değerli aileme ve sevgili eşim Apdullah YAYIK' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

## İÇİNDEKİLER

|                                                                                   |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----|
| ÖZET.....                                                                         | I   |
| ABSTRACT.....                                                                     | II  |
| TEŞEKKÜR.....                                                                     | III |
| İÇİNDEKİLER .....                                                                 | IV  |
| ŞEKİLLER DİZİNİ.....                                                              | V   |
| ÇİZELGELER DİZİNİ .....                                                           | VI  |
| SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....                                              | VII |
| 1. GİRİŞ .....                                                                    | 1   |
| 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....                                                         | 5   |
| 3. MATERYAL VE YÖNTEM .....                                                       | 10  |
| 3.1 Materyal .....                                                                | 10  |
| 3.1.2 Materyallerin temini.....                                                   | 10  |
| 3.2 Yöntem.....                                                                   | 10  |
| 3.2.1 Bitkilerin Yetiştirilme Koşulları .....                                     | 10  |
| 3.2.2. Bitki Büyüme Ölçümler .....                                                | 11  |
| 3.2.3 Kuru Madde Tayini .....                                                     | 11  |
| 3.2.4 Klorofil Analizi .....                                                      | 11  |
| 3.2.5 Enzim Analizleri .....                                                      | 12  |
| 3.2.6. MDA Analizi.....                                                           | 12  |
| 3.2.7. Serbest Prolin Analizi .....                                               | 13  |
| 3.3 Gen İfadelerinin Tespiti .....                                                | 13  |
| 3.3.1 RT-PCR Hazırlık Aşamaları .....                                             | 13  |
| 3. 4. İstatistiksel Analizler.....                                                | 15  |
| 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA .....                                          | 16  |
| 4.1.Kuraklık ve Kuraklık- NO uygulamalarının Bitki Büyümesi Üzerine Etkileri .... | 16  |
| 4.1.1.Sürgün Gelişimine Etkileri.....                                             | 16  |
| 4.1.2 Klorofil Miktarı Üzerine Etkisi .....                                       | 19  |
| 4.1.3. Antioksidan Enzim Aktivitesi Üzerine Etkileri .....                        | 21  |
| 4.1.4. MDA Üzerine Etkisi .....                                                   | 24  |
| 4.1.5. Serbest Prolin Üzerine Etkisi .....                                        | 25  |
| 4.1.6. Gen İfadelerinin Sonuçları .....                                           | 25  |
| 5. SONUÇ VE ÖNERİLER .....                                                        | 29  |
| KAYNAKLAR .....                                                                   | 31  |
| ÖZGEÇMİŞ .....                                                                    | 36  |
| EKLER.....                                                                        | 37  |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|             |                                                                                                                                                                                                               |    |
|-------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 2.1.  | Abiyotik stres şartlarında pirinçteki NAC transkripsiyon ifade basamakları (Nakashima ve ark. 2012).....                                                                                                      | 9  |
| Şekil 4.1.  | Kuraklık ve kuraklık - NO uygulamaları altında yetişen buğday ( <i>Triticum aestivum</i> L. cv. Sultan, Yüreğir, İkizce ) fidelerinin ortalama sürgün boyundaki değişimler (cm/bitki) (n=3).....              | 16 |
| Şekil 4.2.  | Kuraklık ve kuraklık - NO uygulamaları altında yetişen buğday ( <i>Triticum aestivum</i> L. cv. Sultan, Yüreğir, İkizce ) fidelerinin ortalama sürgün taze ağırlığındaki değişimler (g/bitki) (n=3) .....     | 17 |
| Şekil 4.3.  | Kuraklık ve kuraklık - NO uygulamaları altında yetişen buğday ( <i>Triticum aestivum</i> L. cv. Sultan, Yüreğir, İkizce ) fidelerinin ortalama sürgün kuru ağırlığındaki değişimler (g/bitki) (n=3) .....     | 18 |
| Şekil 4.4.  | Kuraklık ve kuraklık-NO uygulamaları altında yetişen buğday ( <i>Triticum aestivum</i> L. cv. Sultan, Yüreğir, İkizce) fidelerinin ortalama klorofil a miktarındaki değişimler (mg/g T.A) (n=3) .....         | 19 |
| Şekil 4.5.  | Kuraklık ve kuraklık-NO uygulamaları altında yetişen buğday ( <i>Triticum aestivum</i> L. cv. Sultan, Yüreğir, İkizce) fidelerinin ortalama klorofil b miktarındaki değişimler (mg/g T.A) (n=3) .....         | 20 |
| Şekil 4.6.  | Kuraklık ve kuraklık-NO uygulamaları altında yetişen buğday ( <i>Triticum aestivum</i> L. cv. Sultan, Yüreğir, İkizce) fidelerinin ortalama klorofil a + b miktarındaki değişimler (mg/g T.A) (n=3) .....     | 20 |
| Şekil 4.7.  | Kuraklık ve kuraklık-NO uygulamaları altında yetişen buğday ( <i>Triticum aestivum</i> L. cv. Sultan, Yüreğir, İkizce) fidelerinin ortalama katalaz aktivitesindeki değişimler (µmol/min/g T.A) (n=3) .....   | 21 |
| Şekil 4.8.  | Kuraklık ve kuraklık-NO uygulamaları altında yetişen buğday ( <i>Triticum aestivum</i> L. cv. Sultan, Yüreğir, İkizce) fidelerinin ortalama glutatyon aktivitesindeki değişimler (µmol/min/g T.A) (n=3) ..... | 22 |
| Şekil 4.9.  | Kuraklık ve kuraklık-NO uygulamaları altında yetişen buğday ( <i>Triticum aestivum</i> L. cv. Sultan, Yüreğir, İkizce ) fidelerinin ortalama APX aktivitesine etkisi(µmol/min/g T.A) (n=3) .....              | 23 |
| Şekil 4.10. | Kuraklık ve kuraklık-NO uygulamaları altında yetişen buğday ( <i>Triticum aestivum</i> L. cv. Sultan, Yüreğir, İkizce ) fidelerinin ortalama MDA miktarındaki değişimler (mg/bitki) (n=3) .....               | 24 |
| Şekil 4.11. | Kuraklık ve kuraklık-NO uygulamaları altında yetişen buğday ( <i>Triticum aestivum</i> L. cv. Sultan, Yüreğir, İkizce) fidelerinin serbest prolin miktarındaki değişimler (n=3) .....                         | 25 |
| Şekil 4.12. | Kuraklık ve kuraklık-NO uygulamaları altında yetişen buğday ( <i>Triticum aestivum</i> L. cv. Sultan, Yüreğir, İkizce) fidelerinin NAC gen ifadesindeki değişimler (n=3) .....                                | 26 |
| Şekil 4.13. | Kuraklık ve kuraklık-NO uygulamaları altında yetişen buğday ( <i>Triticum aestivum</i> L. cv. Sultan, Yüreğir, İkizce) fidelerinin TaLTP1 gen ifadesindeki değişimler (n=3) .....                             | 27 |

## ÇİZELGELER DİZİNİ

|                                                                                                                     |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Çizelge 2.1. Aktif oksijen türlerinin hücredeki yerleri ve Enzimatik savunma sistemleri.....                        | 6  |
| Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılan kuraklık koşullarında ifade olan primerlerin adları, kod adları, dizilimleri..... | 26 |



## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

|                               |                                                                                  |
|-------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|
| APX                           | : Askorbat Peroksidaz                                                            |
| CAT                           | : Katalaz                                                                        |
| cDNA                          | : Komplementer Deoksiribo Nükleik Asit                                           |
| cADPR                         | : Siklik ADP-Riboz                                                               |
| cGMP                          | : Siklik Guanil Mono Fosfat                                                      |
| chl                           | : Klorofil                                                                       |
| ER                            | : Endoplazmik Retikulum                                                          |
| g                             | : Gram                                                                           |
| GR                            | : Glutasyon Redüktaz                                                             |
| GTP                           | : Guanil Mono Fosfat                                                             |
| GC                            | : Guanil Siklaz                                                                  |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | : Hidrojen Peroksit                                                              |
| MDA                           | : Malondialdehit                                                                 |
| NAC                           | : NAM (no apical meristem) ATAF1/2 CUC2                                          |
| NaClO                         | : Sodyum hipoklorid                                                              |
| NO                            | : Nitrik Oksit                                                                   |
| NOS                           | : Nitrik Oksit Sentaz                                                            |
| OH                            | : Hidroksil Radikali                                                             |
| POD                           | : Peroksidaz                                                                     |
| RT-PCR                        | : Real Time Polimeraz Chain Reaction(Gerçek Zamanlı Polimeraz Reaksiyon Zinciri) |
| ROT                           | : Reaktif Oksijen Türleri                                                        |
| SOD                           | : Süperoksit Dismutaz                                                            |
| SNP                           | : Sodyum nitroprusside                                                           |
| TaLTP1                        | : <i>Triticum aestivum</i> Lipid Transfer Proteini                               |
| TMO                           | : Tarım Mahsulleri Ofisi                                                         |

## 1. GİRİŞ

Buğday (*Triticum*), buğdaygiller (*Poaceae*) familyasından olup, dünyada en fazla üretilen ve tüketilen hububat çeşididir. Günümüz dünyasının günlük enerji ihtiyacının %60'dan fazlası buğdaydan karşılandığı için buğday çok önemli bir besindir (Akbaş ve ark. 2005).

Dünyada hububat üretiminde 696 milyon ton ile buğday ilk sırayı alırken bunu mısır, arpa, yulaf, çavdar çeşitleri takip etmektedir (TMO 2010). Türkiye, dünya buğday ekim alanının % 3'üne sahiptir. Buğday, toplam işlenen tarım alanlarının yaklaşık % 57'sini, tahıl ekili alanların ise yaklaşık % 67'sini kaplamaktadır. Türkiye' de buğday ekim alanları 8,1- 9,8 milyon hektar arasında, üretimi ise 17,2 - 21,8 milyon ton arasında değişmektedir (TMO 2010).

Ülkemizde insan ve hayvan beslenmesi büyük ölçüde tahıllara, özellikle de buğdaya dayalıdır. Son 20 yılda buğday tüketimimiz gıda olarak; ekmek, bulgur, makarna, irmik gibi buğdaya dayalı unlu mamullerdir. Bu mamullerin tüketim miktarı 18-18,5 milyon ton seviyelerindedir (TMO 2010). 2011 Türkiye Un Sanayicileri Federasyonu (TUSAF) verilerine göre buğday tüketimimiz 18,2 milyon tondur (TUSAF 2014).

Buğday dünyada ılıman, serin ve sulamanın yeterli olduğu ya da az yağışlı olduğu bölgelerde en önemli geçim kaynağıdır. İnsanların temel besin maddesi olması nedeniyle de ekonomik ve sosyal değeri çok yüksek bir besin maddesidir. Buğday genellikle kuru tarım alanlarında üretilmekte ve kuraklık da bu alanlardaki buğday üretiminde ciddi problemlere neden olmaktadır (Kadioglu 2011). Buğday bitkisinin giderek artan dünya nüfusuna karşı, yakın gelecekte ihtiyacı karşılayamayacağı düşünülmektedir (Akkaya 1994). Dünyada ve ülkemizde buğday üretim verimini olumsuz etkileyen; hastalık etmenleri (patojenler), yabancı bitkiler, böcekler, mikroorganizmalar, hayvanlar gibi biyotik stresler ve yüksek sıcaklık, kuraklık, tuzluluk ve kimyasal toksisite gibi abiyotik stresler mevcuttur.

Bunlar içerisinde kuralık, dünyada ekilebilir alanları ve %26'lık payıyla en çok etkileyen stres faktörleri içerisinde yer almaktadır (Blum ve R. 1985). Tarımda özellikle de hububat bitkilerinde kuraklık stresi ile meydana gelen verim kaybının %50-80 oranında olduğu bildirilmiştir (Kadioglu 2011). TÜİK (Türkiye İstatistik Kurumu) 2007

yılı verilerine göre yaşanan kuraklıktan zarar gören ürünler ve kayıp oranlarında ilk sırayı % 13,9 ile buğday almaktadır.

Kuraklık; toprakta bulunan suyun bitki gelişimi için yetersiz kalmasına bununla birlikte de bitkilerin gelişiminde azalmaya neden olacak kadar uzun süren yağışsız dönemdir (Kutlu 2010). Kuraklık ilk olarak toprağın daha sonra da bitkinin su potansiyelini azaltır. Bununla beraber turgor basıncında düşme, yaprak büyümesinde azalma, fotosentez miktarında da düşme meydana gelmektedir (Öztürk 1999). Kuraklığın ilerleyen safhalarında, bitkilerde mekanik, metabolik, oksidatif hasarlar meydana gelmektedir (Aksoy 2008).

**Mekanik etkisi;** bitki hücrelerinde belirgin olarak su azalması öncelikle turgor kaybına neden olmaktadır. Turgorun bir sonucu olarak membran yapısı değişikliğe uğrar, su kaybı ile hücrenin hacmi azalır, hacim azalınca membranlar hücre duvarından uzaklaşır (Kalefetoğlu ve Ekmekci 2005).

**Metabolik etkisi;** su hücresel reaksiyonların büyük bir kısmında rol oynadığı için suyun yetersizliği ile birlikte normal metabolik faaliyetler devam ettirilememektedir. Bunun sonucunda hücrede iyon birikimi, enzimlerin çalışamaması, proteinlerin yapısının bozulması gibi sonuçlar meydana gelmektedir (Kalefetoğlu ve Ekmekci 2005). Kuraklıkla birlikte bitkilerin hormonal sistemlerinde de değişim olur; ABA miktarı artarken, sitokinin ve giberellik asit miktarı azalır (Kadioglu 2011).

**Oksidatif etkisi;** bitkilerdeki oksidatif etki, serbest radikallerin (hidroksil, hidrojen peroksit, singlet oksijeni) oluşumuna yol açmaktadır. Serbest radikaller dış orbitallerindeki eşleşmemiş elektron nedeniyle kimyasal aktifliği yüksek molekülerdir (Kadioglu, 2011). Bu radikaller hücrede plazma membranı, mitokondri, ER membranında üretilir.

Günümüzde çok yaygın olan kuraklık stresi, bitkilerde fizyolojik ve moleküler cevabı indüklemekte buna karşın bitkilerde stresli çevresel koşullarına adapte olmak için çeşitli tolerans mekanizmaları geliştirmektedirler.

Buğdayda kuraklık stresi genellikle başak oluşumu döneminde başlayıp, tane dolum döneminde etkisini artırarak tane sayısı, ağırlığı ve verimini olumsuz etkilemektedir. Bununla birlikte, farklı fizyolojik ve morfolojik karakterlere sahip bazı buğday genotipleri, kuraklık şartlarına iyi adapte olabilmekte ve yüksek verim sağlayabilmektedirler.

Yapılan çalışmalarda bu adaptasyonu sağlayan mekanizmaların; kuraklıktan kaçma, kuraklıktan korunma ve kuraklığa tolerans olduğu görülmüştür (Öztürk ve Çağlar 1999; Başer ve ark. 2005).

Bu çalışmada ekmeklik buğday çeşitlerinden Sultan, Yüreğir ve İkizce türleri kullanılmıştır. Bu türlerden Sultan'ın kuraklığa toleransı çok az iken, Yüreğir' in toleransı orta, İkizce'nin ise kuraklığa dayanımı iyidir (Anadolu Tarımsal Arş. Ens./Eskişehir, Çukurova Tarımsal Araştırma Enstitüsü-Adana, Tarla Bitkileri Merkezi Arş. Ens./Ankara-1996).

Nitrik oksit, aktif redoks sinyal molekülüdür. Hayvanlarda NO sinyal mekanizması ikincil haberci olan siklik guanin mono fosfata (cGMP) bağımlı ve cGMP'dan bağımsız olmak üzere iki şekilde meydana gelmektedir (Bogdan 2001). cGMP'a bağımlı yolda, guanin üç fosfattan (GTP) cGMP sentezini sağlayan guanil siklaz (GC) enzimini aktive ederek, cGMP miktarını artırır, artan cGMP miktarı diğer bir ikincil haberci olan siklik ADP-riboz (cADPR) aktivitesini artırarak sitosolik kalsiyum düzeylerini yükseltir. Ayrıca hücre içinde cGMP'nin diğer bir hedefi de protein kinazları aktive etmektir (Honda ve ark. 2001; Trewavas ve ark. 2002). cGMP'dan bağımsız yolda demir içeren proteinler NO için önemli hücresel hedeflerdir (Beligni and Lamitta 2001; D Wendehenne ve ark. 2001).

Bitkilerde nitrik oksit, bitkilerin fizyolojik süreçlerinde, bağışıklık sisteminde bulunan serbest radikaldir (Trapet ve ark. 2015). Biyotik, abiyotik faktörler ve ağır metallere karşı cevap oluşturan biyoaktif moleküldür. NO in etkisi biyosentetik enzim olan nitrik oksit sentaz (NOS)' a bağlıdır. NOS u da cGMP ve cADPR tetikler ve bunlar ikincil haberci olarak görev yapar (Durner ve ark. 1998). Mısır bitkilerinde de NOS varlığı tespit edilmiştir (Ribeiro ve ark. 1999).

Bitkiler enzimatik NO üretme kapasitesine sahiplerdir. NO, bitkilerde patojenlere karşı savunma genlerini (PAL, PR-1) erken uyarıcı sinyal olarak da çalışmaktadır (D. Wendehenne ve ark. 2001).

Bitki hücrelerinde NO üretim yeri sitosol, nukleus, peroksizom matriksi ve kloroplastlardır. Enzimatik yollardan biri olan ve memelilerdeki nitrik oksit sentaza benzeyen ancak henüz tanımlanmamış bir enzim ile bitki hücrelerinde L-argininin katalizlenmesi sonucu NO oluşmaktadır (Pedroso ve ark. 2000; BARROSO ET AL

1999). Bitki hücrelerinde NO in öncü maddesi olan nitritin ksilem yolu ile taşındığı bilinmektedir (Desikan ve ark. 2002).

NO stomaların kapanması, senesens, olgunlaşma ve programlanmış hücre ölümünde görev almaktadır (He ve ark. 2014). NO, bitki hücrelerinde tohum çimlenmesinde rol almaktadır (Yemets ve ark. 2011). NO bitkilerde genellikle embriyonik tabakalarda, kotiledonlarda aktivite gösterir. Ayrıca dağıntık halde bulunan bitkisel hormonlar arasında iletişimi kolaylaştırır (Beligni and Lamitta 2001). Bitkide patojen enfeksiyonuna karşı bir savunma sinyali olarak NO 'in düzenleyici bir rol oynadığı belirtilmiştir (Bogdan 2001).

NO yaprak genişlemesi, tohum çimlenmesi ve de-etiyolasyonu desteklerken, hipokotil ve internod uzamasını inhibe etmektedir (Beligni and Lamattina 2000).

NAC proteinleri bitkilerde bulunan transkripsiyon faktörlerinin en geniş ailelerinden biridir. Arabidopsis ve pirinç gibi bitkilerde 100 den fazla NAC gen çeşidi bulunur. Biyotik ve abiyotik streslerde ifade olan NAC geni özellikle stres cevap geni (SNAC) olarak bitkilerde görev yapmaktadır (Nakashima ve ark. 2012).

LTP (lipit transfer proteini) bitkilerde genç embriyo, mitokondri ve endoplazmik retikulum membranında bulunur. Bitkilerin abiyotik streslere karşı toleransında, patojenlere karşı korunmasında görev yapan proteinlerdir.

Yapılan çalışmalarda kuraklığa maruz kalan Sultan, Yüreğir ve İkizce çeşitlerinde NO uygulaması, transkripsiyon faktörlerinden NAC geni ve lipit proteininde bulunan TaLTP1 geni ile ilgili çalışma sayısının çok az olması göz önünde bulundurularak; bu tez çalışmasında kuraklık-NO uygulamasına maruz kalan buğday (Sultan, Yüreğir ve İkizce) fidelerinin sürgün boyu, taze ağırlığı, kuru ağırlığı, pigment içeriği (klo a,klo toplam klorofil),antioksidan enzim miktarları (Cat, GR, APX), mda ve serbest protein miktarlarının belirlenmesine bağlı parametrelerin incelenmesi amaçlanmıştır.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Buğdaylar dünyada ve ülkemizde en çok üretilen bitki cinsidir. Kültüre alınan ve yabani formu da bulunan buğdaylar kromozom sayılarına göre üç ana grupta toplanırlar.

- Diploid buğdaylar (Kaplıca buğdayları) ( $2n = 14$ ) *Triticum monococcum*.
- Tetraploid buğdaylar (Makarnalık buğdaylar) ( $4n = 28$ ) *Triticum durum*.
- Hekzaploid buğdaylar (Ekmeklik buğdaylar) ( $6n = 42$ ) *Triticum aestivum*.

Hekzaploid (ekmeklik) buğdaylar;

- a) *T. aestivum*, asıl ekmeklik buğdaylar
- b) *T. compactum*, topbaş ekmeklik buğdaylar olmak üzere iki grupta toplanırlar.

Kuraklık stresinin buğday gelişimine ve verimine etkisinin, stresin olduğu bitkinin gelişim dönemine, stresin şiddetine ve süresine bağlı olduğunu belirtmiştir. Bitkiler üzerine kuraklığın etkilerinin mekanik, metabolik, oksidatif olduğunu bildirmiştir. Geç kuraklığın yeşil bitki dokularındaki yaşlanmayı hızlandırdığını belirtmiştir (Öztürk 1999). Öztürk ve Çağlar (1999) 1995-96 ve 1996-97 yıllarında yaptıkları bir araştırmada sulu ortamlar, kuru ortamlar, erken kuraklık, geç kuraklık ve tam kuraklık gibi uygulamalar yapılarak kışlık buğdayın vejetatif dönem, tane dolum dönemi, tane dolum oranı ve maksimum kuru tane ağırlığı gibi parametreler ölçülmüştür. Bu ölçümler sonucunda erken kuraklık (fide tabanında 2. boğumun görüldüğü dönemden süt olum dönemi başlangıcına kadar olan dönem), bitkilerin daha erken çiçeklenmesine neden olarak buğday kuru tane ağırlığının 2,6 mg azalmasına yol açmıştır (Öztürk ve Çağlar 1999).

Yer fıstığı bitkisinde kuraklığın zararlı etkilerinin belirlenmesi için MDA,  $H_2O_2$  ve prolin seviyeleri ile SOD enzim aktivitesi incelendiğinde kök dokularında gövdeye kıyasla daha az aktivitelerinin olduğu gözlenmiştir (Kuru 2014). Serbest radikallerin özellikle aktif oksijen türlerinin meydana geldiği lokasyonlar Çizelge 2.1. de belirtilmiştir (Soydam Aydın 2011). Fotosentezin gerçekleştiği kloroplast reaktif oksijen türlerinin (ROT) verdiği hasara karşı çok hassastır ve burada ROT' lar fotosentetik

elektron transferinden kaçan  $O_2$  ve elektronlar sebebiyle oluşur. ROT'ların neden olduğu oksidatif hasar ile başa çıkabilmek için bitkiler kloroplastta bulunan antioksidan enzimlerden olan APX i kullanır (Soydam Aydın 2011; Kadioglu 2011).

Çizelge 2.1. Aktif oksijen türlerinin hücredeki yerleri ve Enzimatik savunma sistemleri

| Subselüler Lokasyon      | Aktif $O_2$ Türlerinin Tipi | Aktif $O_2$ Türlerinin Kaynağı          | Enzimatik Temizleme Sistemleri |
|--------------------------|-----------------------------|-----------------------------------------|--------------------------------|
| Kloroplast               | $H_2O_2$ , Süperoksit       | PSII                                    | SOD, APX                       |
| Mitokondri               | $H_2O_2$ , Süperoksit       | Elektron Taşınımı ve enzimik            | SOD, CAT                       |
| Sitosol                  | $H_2O_2$ , Süperoksit       | Enzimik                                 | SOD, CAT                       |
| Glioksizom ve Peroksizom | $H_2O_2$                    | $\beta$ – Oksidasyon<br>Fotorespirasyon | CAT                            |

(Terzi ve ark. 2010)' a göre fasulye fidelerinde kuraklığın etkisiyle  $H_2O_2$  içeriğinde azalma, antioksidan enzim aktivitelerinde artmaya neden olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmada CAT, APX, aktiviteleri artarken, klorofil a, b, toplam klorofil miktarının azaldığı saptanmıştır.

Artan kuraklık stresinin nohut bitkisinin tohumun canlılığını ve çimlenme düzenini olumsuz etkilediğinden çimlenme indeksi ve tane iriliğinin azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada küçük tohumların büyük tohumlara nazaran çimlenme indeksinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Gülbüz ve ark. 2009).

Ekmeklik buğdaya kurak ve normal koşullar altında priming uygulamaları yapılarak büyüme parametrelerine ve bağıl su içeriğine etkileri araştırılmış, tesadüf parsellerinde faktöriyel deneme desenine göre kurulan denemede, faktör olarak iki çeşit (Altay 2000, Kırar 66), iki ortam (kurak ve normal), beş uygulama (kontrol, saf su, % 2 KCl, % 0,5  $KH_2PO_4$ , % 0,1 NaCl) ve iki örneklem zamanı (çıkıştan sonra 7. ve 14. günler) ele alınmıştır. Fidelerde çıkıştan sonraki yedi ve on dördüncü günlerde büyüme parametreleri (yaş ağırlık, kuru ağırlık, fide uzunluğu) ve bağıl su içeriği incelenmiştir. Sonuç olarak kuraklık stresi altında ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.) fidelerinin

kuru madde miktarının % 37 oranında kayba uğradığı tespit edilmiştir (Özdemir ve ark. 2012).

(Ezer ve ark. 2010; Tatar 2011)' a göre kuraklık uygulamasına maruz kalan buğday çeşitlerinde klorofil pigment içeriği azalırken, prolin ve malondialdehit içeriğinin arttığı belirtilmiştir.

NO in buğday fidelerinde kuraklıktan kaynaklanan oksidatif strese karşı koruyucu etkisinin olduğu belirtilmiştir (García-Mata and Lamattina 2001).

Kuraklığa dayanıklı (*Triticum aestivum* L. Doğu-88) ve hassas (*Triticum aestivum* L. Yıldırım) buğday türlerine kuraklık ve kuraklıkla beraber SNP uygulaması yapılmıştır. Uygulama sonucunda yaprak dokularında biriken NO düzeyleri, CAT, glutatyon peroksidaz (GSH-Px) antioksidan enzim aktiviteleri araştırılmıştır. Sonuçlarda, Yıldırım çeşidinde antioksidan enzim aktiviteleri artarken, Doğu-88 çeşidinde ise azaldığı gözlemlenmiştir NO vericisi SNP'nin her iki türde de etkilerinin meydana geldiği gözlemlenirken, hassas türde artışların daha fazla olduğu ve hassas türün stresten korunmasında yardımcı olduğu bildirilmiştir (Kireççi 2012).

Tuz stresine maruz kalan *Helianthus annuus* L. A-6535 ve hassas (*Helianthus annuus* L. A-2517) ayçiçeği bitkilerinde dışsal uygulanan sodyum nitroprussidin (SNP), glutatyon peroksidaz (GPx), askorbat peroksidaz (APX) ve katalaz (CAT) antioksidan enzim aktivitelerine etkileri ve nitrik oksit (NO) düzeyleri araştırılmıştır. Her iki çeşitte de NO düzeylerinde artış belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre her iki çeşidin de NO vericisi SNP uygulamasıyla tuz stresi altında reaktif oksijen türleri (ROT) oluşumu ile başa çıkabildikleri belirtilmiştir (Çelik 2014).

Mısır fidelerine farklı dozlarda uygulanan SNP (25 ve 50 µM) kök ve yaprakta prolin, malondialdehit (MDA) ve klorofil (a+b) analizleri yapılmıştır. Kontrol fidelerine kıyasla SNP uygulanan fidelede hem kök hem de yaprakta malondialdehit miktarı azaldığı; prolin miktarı kökte azaldığı, yaprakta ise arttığı tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra SNP uygulanan fidelere göre yapraklardaki pigment (klorofil (a+b)) yıkımları da daha az bulunmuştur (Deveci 2015).

Patates, marul ve Arabidopsis gibi bazı bitkilere NO vericilerinin uygulanması klorofil içeriğini arttırmaktadır (Beligni and Lamattina 2000).

Bezelye yapraklarında özellikle bekçi hücrelerinde NO in klorofil içeriğini artırdığı tespit edilmiştir (Leshem ve ark. 1997). Mısır bitkisinde klorosis olayını tamamen önlediği belirtilmiştir (Graziano ve ark. 2002).

Klimakterik ve klimakterik olmayan meyve, sebze ve baklagil sürgün türlerinde yapılan çalışmada NO in olgunlaşmayı ve senesensi geciktirdiği belirlenmiştir (Leshem ve ark. 1998).

Bitkiler abiyotik streslerle sürekli tehdit altındadırlar. Bu tehditlere karşı bitkilerde metabolik ve düzenleyici proteinler üretirler. Düzenleyici proteinlerin tipik örneği transkripsiyon faktörleri ve protein kinazlardır. Bu düzenleyici süreçlerin büyük çoğunluğu transkripsiyon faktörler tarafından düzenlenir. Bu faktörlere örnek NAC proteinleridir ve bitkinin strese karşı kontrolünü düzenlemede ve savunma cevapları oluşturmada görevlidirler (Xia ve ark. 2010).

NAC proteinleri ile yapılan araştırmada bitkiye özel transkripsiyon faktörlerinin çok geniş bir çeşidi olduğu ve bitkinin büyüme, savunma ve abiyotik stres tepkileriyle bağlantılı olduğu belirtilmiştir. TaNAC69-1 ve TtNAM-B2 genleri sırasıyla *T. aestivum* ve *T. turgidum*’ dan izole edilmiş , ayrıca farklı tek çenekli ve çift çenekli bitkilere özgü ifade vektörlerine klonlanmıştır. TaNAC69-1 ve TtNAM-B2 genlerinin ifadelerini belirlemek için kantitatif gerçek zamanlı PCR yöntemi kullanılmıştır. Abiyotik streslerden kuraklık, soğuk ve sıcaklıkta TaNAC69-1 geninin ifadesinin önemli derecede arttığı belirlenmiştir (Baloğlu 2011).

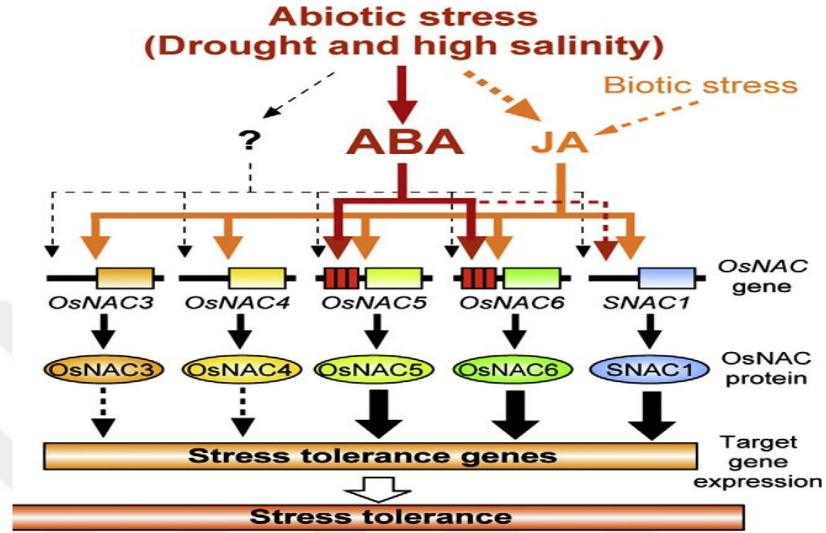
Soya fasulyesinin kök ve fidelerinde GmNAC proteinleri mevcuttur (L.S. Tran,2009).

Abiyotik stresler (kuraklık, tuzluluk gibi ) bitkilerin büyümesini ve gelişmesini olumsuz etkilediğinden son yıllarda araştırmalar bitkilerin bu streslere toleransını arttırmak üzerine yoğunlaşmıştır. Toleransı artırırken de bitkilerin genleri araştırılmıştır. Bu çalışmada NAC faktörleri araştırılmıştır. NAC proteinleri bitki transkripsiyon faktörlerindendir. Fizyolojik araştırmalarda 6 ana grupta toplandığı belirlenmiştir.

Arabidopsisde ve pirinçte 100 den fazla NAC geni bulunmaktadır ve birçok fonksiyonları vardır, abiyotik stresle toleransını artırmak bunlardan sadece birisidir (Nakashima,2012).

Lipit transfer proteinleri birçok bitkide (domates (Fleming ve ark. 1992), havuç (Sterk ve ark. 1991), mısır (Tchang ve ark. 1988), ıspanak (Bernhard ve ark. 1991) mitokondri ve endoplazmik retikulum membranında bulunur. Yüksek bitkiler 9 kDa

miktarında LTP içermektedir. Bitkilerde özellikle genç embriyonun somatik hücrelerinde çokça mevcuttur. Bitkileri patojenlere karşı korumada, simbiyozis (Rhizobium), embriyogenez, çevresel şartlara adaptasyon, hücreler arası yağ havuzlarının düzenlenmesinde ve membran oluşumunda görev yapar (Kader ve ark. 1996).



Şekil 2.1. Abiyotik stres şartlarında pirinçteki NAC transkripsiyon ifade basamakları (Nakashima ve ark. 2012)

Lhcbp (Chl 1), bitkilerde en çok bulunan proteinlerden biridir. Ana fonksiyonu ışık enerjisini fotosentetik reaksiyon merkezlerine toplamak ve transfer etmektir. Bu çalışmada 35 farklı Afrika, Orta Doğu Asya, Kuzey Doğu Asya, Arap Yarımadası, Avustralya ve Avrupa ülkelerinden 292 arpa çeşidinde EcoTILLING teknolojisi kullanılarak Lhcb1 geni araştırılmıştır. Katılan çeşitlere ve coğrafik bölgelerine göre Lhcb geninin nükleotid çeşitliliği farklılık göstermekte, en yüksek çeşitliliğin Orta Doğu Asya ülkelerindeki olduğu belirtilmiştir. Fotosistem 1 ile ilişkili 4 tane (Lcha1 Lcha2, Lcha3, Lcha4), fotosistem 2 ile ilişkili 3 tane (Lhcb1, Lhcb2, Lhcb3) Lhcb proteini vardır (Xia, 2012). Çalışmamızda kullanılan Lhcb proteini fotosistem 2 ile ilişkidir (Wong, 1997).

Kuraklığa toleranslı çeşit (Martin) de kuraklığa hassas çeşit Moroc9-75 çeşidine göre kuraklık stresi altında Lhcb geninin daha fazla ifade olduğu gözlemlenmiştir (Guo, 2009). Pirinç bitkisinin yapraklarından pcr yöntemi kullanılarak Lhcb gen dizisi çalışılmıştır (Kusumi, 2004).

### **3. MATERYAL VE YÖNTEM**

#### **3.1 Materyal**

##### **3.1.2 Materyallerin temini**

Bu çalışmada bitki materyali olarak buğday (*Triticum aestivum* L., Sultan, Yüreğir, İkizce) tohumları kullanılmıştır. Araştırmada bitki materyali olarak Eskişehir Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen ekmeklik buğdaylar kullanılmıştır.

Sultan çeşidinin yaprakları koyu yeşil, tüysüz ve dik duruşlu, başakları beyaz renkte, kılçıklı, sık ve dik başaklıdır. Taneleri beyaz renkli, yumuşak yapıdadır. Doğu Anadolu bölgesinin sert kışları hariç, kışlık buğday yetiştirilen bölgelerin kışlarına dayanıklı ancak kuraklığa dayanıklı olmayıp, orta erkencidir. Sarı pas, kara pasa dayanıklı, kahverengi pasa orta derecede hassastır.

Yüreğir çeşidinin yaprakları yeşil, tüysüz ve yarı dik duruşlu, başakları beyaz renkli, kılçıklıdır. Taneleri beyaz renkli, oval şekilli ve yumuşak yapılıdır. Kahverengi ve sarı pasa kışa ve kurağa orta derecede dayanıklıdır.

İkizce çeşidinin sapları orta uzunlukta ve sağlam yapılı, başakları kılçıklı, beyaz renkte, uzun şekilli, orta-sık ve dik bir yapıya sahiptir. Soğuğa ve kuraklığa dayanımı iyidir. Sarı pasa dayanıklı, kara pasa orta hassas yapıdadır.

#### **3.2 Yöntem**

##### **3.2.1 Bitkilerin Yetiştirilme Koşulları**

Deney bitkilerinin tohumları her çeşitten 100'er adet olacak şekilde seçilmiştir. Her grup ayrı ayrı kaplarda 20 dakika % 2'lik sodyum hipoklorid (NaOCl) çözeltisi ile (Rubio vd. 1994) steril edilmiş, distile su ile durulanarak da sterilizasyon işlemi tamamlanmıştır. Steril hale getirilen buğday tohumları numaralandırılmış petri kaplarına alınmıştır. NO verici olarak SNP (sodyum nitroprusside) 0,1 mM olarak hazırlanarak NO uygulaması yapılacak tohumlara eklenerek 24±2 °C lik inkübatörde 20 saat süre ile çimlendirilmeye

bırakılırken, kontrol grubu olarak belirlenen buğday tohumları da distile su içerisinde aynı şartlar altında çimlendirilmeye bırakılmıştır.

Deney bitkileri çimlendirildikten sonra, içerisinde 2:2:1 oranında; sırasıyla kum, toprak, torf bulunan saksılar içinde yetiştirilmiştir. Daha sonra tohumların üzeri 1cm kadar kum, toprak, torf karışımından eklenerek kapatılmıştır. Ekimi tamamlanan saksılar Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü iklim kabinlerine yerleştirilmiştir ve her saksı 200 ml distile su ile sulanmıştır.

Kuraklık uygulaması yapılacak saksılara 6.günden sonra ihtiyacı olan su verilmeyerek kuraklık stresine maruz bırakılırken, diğer saksılara birer gün ara ile 100'er ml distile su verilmiştir. Her deneme 3 tekrarlı olacak şekilde kurulmuştur. Bitkiler, tüm bu işlemlerin ardından 12. günün sonunda hasat edilmiştir.

Hasat sonunda taze bitki örneklerinden sürgün boyları ve büyüme ölçümleri, klorofil analizleri gerçekleştirilmiştir. Biyokimyasal analizler için taze fideler sürgün kısımlarından kesilerek 0,5 gramlık parçalara ayrılarak -80 derecelik dondurucuda saklanmıştır.

### **3.2.2. Bitki Büyüme Ölçümler**

Bitkilerin büyüme ölçümleri, hasat sonrası tesadüfi bloklar desenine uygun şekilde seçilen 3 fidenin sürgün boyları cm olarak ölçülmüştür.

### **3.2.3 Kuru Madde Tayini**

Hasat sonrası taze ağırlıkları ölçülen materyaller 110 °C lik etüvde 24 saat kurutulmuş ve kuru ağırlıkları tayin edilmiştir.

### **3.2.4 Klorofil Analizi**

Hasat sonrası 0,2 gramlık taze örnekler klorofil ekstraksiyonu için pH 7.8 ' e ayarlanmış % 80 lik aseton ile havanda ezilerek süzölmüştür. Hazırlanan örnekler klorofil a ve b ölçümleri için sırasıyla, 663,6 ve 646,6 nm dalga boyunda spektrofotometredeki absorbans değerleri kaydedilmiştir (Arnon 1949). Klorofil miktarları Porra vd (1989)' a

göre belirlenmiştir ve klorofil miktarı hesaplanmıştır. Deneyler üç tekrarlı olarak yapılmıştır

### **3.2.5 Enzim Analizleri**

#### **3.2.5.1 Glutatyon Redüktaz ( GR, 1.6.4.2 )**

Glutatyon redüktaz (GR) aktivitesi, (Çakmak and Marschner 1992) ve (Çakmak 1994)'e göre 339,5 nm de NADPH oksidasyonuna bağlı olarak absorbandsaki azalmaya dikkate alınarak ölçülmüştür. Reaksiyon karışımı (1ml), 50 mM fosfor tamponu (pH 7. 6), 0,1 mM EDTA, 0,5 mM okside glutatyon (GSSG) 0,12 mM NADPH.Na4 ve enzim ekstratından oluşmaktadır.

#### **3.2.5.2 Katalaz (CAT, E.C. 1.11.1.6)**

Katalaz aktivitesi (CAT), spektrofotometrede 240 nm' de spektrofotometrede H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in parçalanma oranına bağlı olarak ölçülmüştür. Reaksiyon karışımı (1ml), 50 mM fosfor tamponu (pH 7. 6), 0,1 mM EDTA, 100 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve enzim ekstratından oluşmaktadır (Çakmak and Marschner 1992).

#### **3.2.5.3 Askorbat peroksidaz (APEX, E.C. 1.11.1.11)**

Askorbat peroksidaz (APX), (Asada 1992)'e göre 290 nm dalga boyunda askorbik asit aktivitesine bağlı olarak absorbands değerleri kaydedilmiştir. Reaksiyon karışımı (1ml) ,50 mM fosfat tamponu (pH 7,6), 0,1 mM EDTA, 0, 12 mM hidrojen peroksit, 0,12 mM askorbik asit ve enzim ekstratından oluşmaktadır.

### **3.2.6. MDA Analizi**

Malondialdehit (MDA) analizi (Çakmak 1994)' e göre yapılmıştır. Taze örneklerin dokularındaki lipid peroksidasyonu belirleme işlemi Hodges ve ark. (1999)'na göre yapılmıştır. 0,5 gram taze örnek alınarak % 80'lik etil alkol ile havan içerisinde ezilerek

homojenize hale getirilmiş ve 10 dakika 3000 rpm’de santrifüjlenmiştir. Analiz iki kademedede gerçekleştirilmiştir. Birinci kademedede santrifügattan alınan 1 hacim ekstrakt üzerine 1 hacim % 20’lik TCA ve 1 hacim % 0.01’lik BHT eklenmiştir. İkinci kademedede santrifügattan alınan 1 hacim ekstrakt üzerine 1 hacim % 0.65’lik TBA içeren % 20’lik TCA ve bunun üzerine 1 hacim % 0.01’lik BHT eklenip sonra örnekler karıştırılmıştır. Sıcak su banyosunda (95 °C) 25 dakika inkübe edilmiş ve ardından şok soğutma yapılmıştır. Örnekler tekrar santrifüjlenmiş ve birinci safha örnekleri 532 ve 600 nm’de, ikinci safha örnekleri ise 532, 600 ve 440 nm’de absorbans okumaları yapılmıştır.

### **3.2.7. Serbest Prolin Analizi**

Serbest prolin analizinde, 0.5 g taze bitki materyal 10 ml % 3’ lük sülfosalisilik asit ile havanda ezilmiş ve süzüntü 24 saat +4 °C’ de bekletilmiştir. Süzüntü Whatman No:2’ den süzülen homojenat cam tüplere konulmuştur. Süzüntünün 2 ml’si üzerine 2 ml ninhidrin çözeltisi ve 2 ml glasiyel asetik asit eklenerek su banyosunda 100 °C’ de 1 saat bekletilmiştir. Ardından tüpler oda sıcaklığına alınarak üzerlerine 4 ml soğuk toluen eklenerek 15-20 sn vortekslenmiştir. Absorbansı 520 nm’ ye ayarlanmış spektrofotometrede toluen fazı prolin standardına karşı ölçülmüştür (Bates ve ark. 1973).

## **3.3 Gen İfadelerinin Tespiti**

### **3.3.1 RT-PCR Hazırlık Aşamaları**

Kuraklık stresine maruz bırakılan ve kontrol grubundan oluşan buğday çeşitleri iklim kabinlerinde yeterli süre yetiştirilerek hasat sonrası elde edilen sürgünler, RNA analizleri başlayıncaya kadar sıvı azot içerisinde muhafaza edilip ve -80°C’ de tutularak saklanmıştır.

#### **3.3.1.1 RNA İzolasyonu**

Hasat edilen 12 adet buğday örneğinden Biospeedy™ RNA izolasyon kiti kullanılarak izolasyon yapılmıştır. Buğday yaprakları küçük parçalara bölünüp yaklaşık 10 gr olacak şekilde 2 ml’lik tüpe alınmıştır. Örneklerin üzerine 500 µl Trizol ve yaklaşık

200 µl 0.5 mm çapında cam boncuk eklenip 2 dakika homojenizatörde 7000 rpmde homojenize edilmiştir. Elde edilen karışım oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildikten sonra 0,2 ml kloroform eklenip el yardımıyla 20 saniye çalkalanmıştır. Çalkalanan numuneler 3 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Karışım 12000 RCF (G)'de +4°C'de 15 dakika santrifüj edilerek üst sıvı temiz tüpe alınmıştır. Üzerine 500 µl 2-propanol ilave edilerek oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edilmiştir. Bu işlemde sonra 12000 RCF (G)'de +4°C'de 10 dakika santrifüj edilerek Üst fazı atılmış ve üzerine 1 ml % 75'lik etanol eklenip vorteksle iyice karıştırılmıştır. Elde edilen karışım 17500 G'de +4 °C'de 5 dakika santrifüj edilmiş, süpernatant atılmış, geriye kalan fazla alkol pipetle atılmıştır. Karışımın dibinde kalan pelletin 5-10 dakika kuruması ve alkolün iyice uçması beklenmiştir. Kuruyan pellet 50 µl RNase - free suda çözölmüştür. özönmüş sıvı 60 °C'de 15 dakika bekletilerek oluşun RNA'lerden komplementer DNA (cDNA) sentezi sağlanmıştır.

#### **3.3.1.2 Komplementer DNA (cDNA) Sentezi**

Komplementer DNA sentezi için Biospeedy™ cDNA sentez kiti kullanılmıştır. 1,6 µl RNA, 2 µl oligo dT ile karıştırılarak 10 dakika 70°C'de bekletilmiştir. Elde edilen karışıma 4 µl 5x Reaksiyon Tamponu, 1 µl dNTP karışımı, 1 µl ters transkriptaz enzimi ve 6 µl su eklenmiştir. Totalde 20 µl'lik bir karışım elde edilerek 37 °C'de 60 dakika inkübe edilmiş ve elde edilen cDNA'ler -20 °C'de saklanmıştır.

Elde cDNAlar, buğdaylardaki strese bağlı gen ekspresyon seviyelerindeki değişimleri görmek için uygulanan Gerçek Zamanlı PCR reaksiyonlarında template olarak kullanılmıştır.

#### **3.3.1.3 Gerçek Zamanlı PCR (Q---PCR)**

Farklı stres koşullarına maruz kalmış 12 farklı buğday örneğinde 3 tekrarlı olarak gen ekspresyon seviyelerini belirlemek için Biospeedy™ Rölatif Sayım Kiti kullanılmıştır. Bu kiti kullanmaktaki amacımız strese karşı hassas NAC transkripsiyon faktörünü kodlayan NAC1 geni ve LTP yağ transfer proteinini kodlayan TaLTP1 genlerini tespit etmektir. Hedef genleri normalize etmek için buğdaylarda protein kodlayan referans gen olarak klorofil kullanılmıştır. Kit, referans ve hedef genlere özgü primerleri ve Gerçek Zamanlı PCR reaksiyonunun gerçekleşmesi için gereken enzim ve tamponları içermektedir. Bütün reaksiyonlarda Biorad CFX Connect (Bio-Rad Laboratories, Amerika) Real Time PCR cihazı kullanılmıştır. Reaksiyon 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>,

0,2 mM dNTP mix, 1x Reaksiyon Tamponu, 0.1U Fast Start Taq DNA Polimeraz, 1x EvaGreen, 4 ng/µl kalıp cDNA ve her bir primerden 0,5 µM içermektedir. Q-PCR sırasında sadece istenilen ürünün çoğaltıldığını belirlemek için 65 °C – 98 °C arasında erime eğrisi analizi yapılmıştır. Q-PCR dataları CFX Manager Software 3,0'da analiz edilmiştir.

Çalışmada kullanılan primerler, araştırılan gen bölgelerine spesifik olarak Dr. Mustafa Kolukırmık (Bioeksen Ar-Ge Teknolojileri Ltd. Şti.) tarafından Primer tasarımı için Primer 3 programı (<http://primer3.ut.ee/>) kullanılmıştır. Tasarlanan primer çiftinin özgüllüğü Primer Blast (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>) ile yapılan in siliko olarak test edilmiştir (Yuryev A, 2007).

### **3. 4. İstatistiksel Analizler**

Verileri değerlendirmek için IBM SPSS STATISTICS 20 programı kullanılmıştır. Sonuçların değerlendirilmesi aritmetik ortalaması, standart sapmaları, standart hataları hesaplanarak yapılmıştır (Apaydın ve ark. 2002). Hesaplamalar sonucunda elde edilen verilerin karşılaştırılmasında varyans analizi tekniği kullanılırken, sonuçlar arası farklar, varyanslar arasındaki homojenlik durumuna göre DUNCAN testi ile belirlenmiştir.

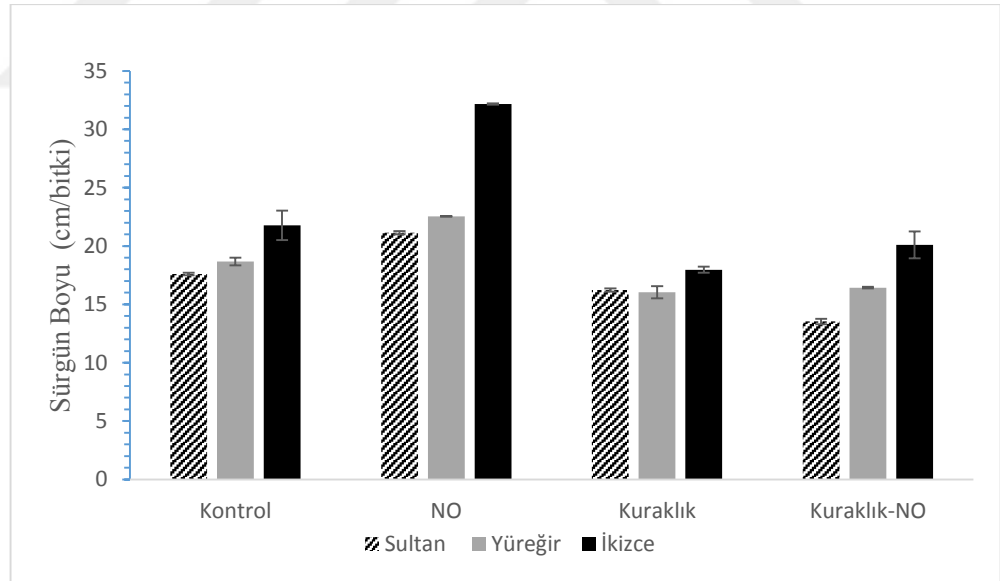
#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında elde edilen sonuçlar, kontrol grubu buğday (*Triticum aestivum* L. cv. Sultan, Yüreğir, İkizce) fideleri ile kuraklık ve kuraklık –NO uygulamalarına maruz kalan fideler arasındaki farklılıkları ortaya koyacak şekilde ele alınmıştır. Denemelerde kullanılan buğday fidelerinde sürgün boyu; sürgün kuru ağırlığı, katalaz, glutatyon redüktaz, MDA, prolin birikimi ve stres koşullarında ifade edilen NAC ve TaLTP1 transkripsiyon faktörlerinin RT-PCR analiz sonuçları incelenmiştir.

##### 4.1.Kuraklık ve Kuraklık- NO uygulamalarının Bitki Büyümesi Üzerine Etkileri

###### 4.1.1.Sürgün Gelişimine Etkileri

###### 4.1.1.1.Sürgün Boyuna Etkisi

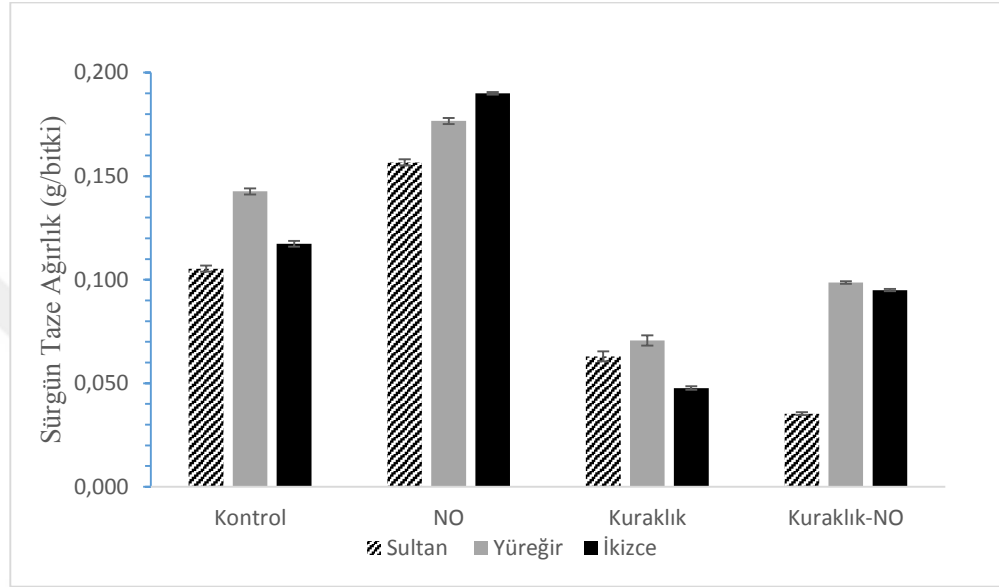


Şekil 4.1. Kuraklık ve kuraklık - NO uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum aestivum* L. cv. Sultan, Yüreğir, İkizce ) fidelerinin ortalama sürgün boyundaki değişimler (cm/bitki) (n=3)

Yapılan çalışmada Sultan, Yüreğir ve İkizce buğday çeşidi fidelerinde kuraklık stresinin kontrole göre sürgün boyunda azalmaya ( $p \leq 0,05$ ) ve NO uygulamasının da

sürgün boyunda artışa neden olduğu tespit edilmiştir ( $p \leq 0,01$ ) (Ek 1). Kuraklık-NO uygulaması kuraklığa göre Sultan fidelerinde azalmaya neden olurken İkizce fidelerinde artışa neden olmuştur ( $p \leq 0,01$ ) (Şekil 4.1).

#### 4.1.1.2. Sürgün Taze Ağırlık

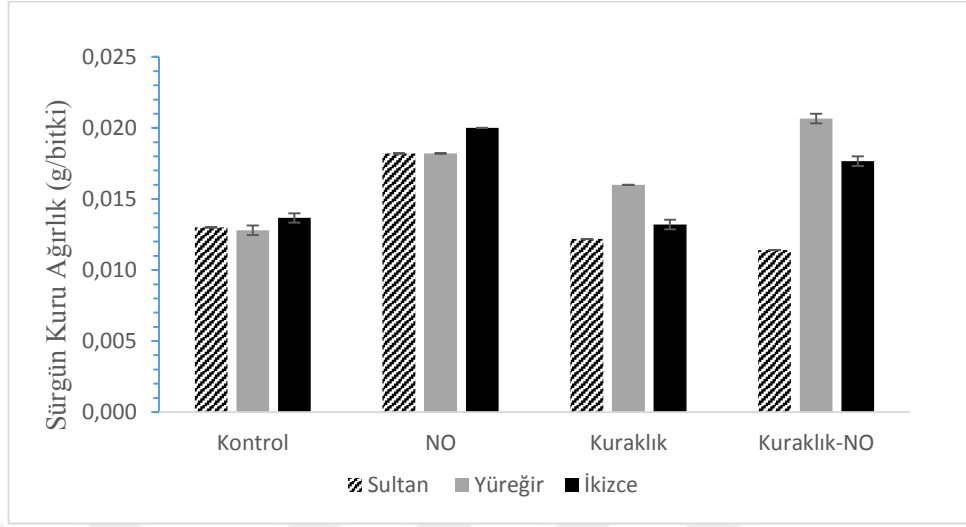


Şekil 4.2. Kuraklık ve kuraklık - NO uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum aestivum* L. cv. Sultan, Yüreğir, İkizce ) fidelerinin ortalama sürgün taze ağırlığındaki değişimler (g/bitki) (n=3)

Kuraklık stresinin her üç buğday çeşidi fidelerinin taze ağırlıklarında azalmaya neden olduğu belirlenmiştir ( $p \leq 0,05$ ) (Ek 2). Kuraklığa göre kuraklık – NO uygulaması Yüreğir ve İkizce türlerinde taze ağırlık miktarında artışa neden olurken, Sultan türünde azalma meydana gelmiştir. NO uygulamasında kontrol fidelerine göre her üç çeşitte artış olduğu bu artış İkizce fidelerinde 1,5 kata yakındır ( $p \leq 0,01$ ) (Şekil 4.2).

Hassan ve ark. 2015 ‘e göre ekmeklik buğday türü olan Sids ve Gmiza’da kuraklık şartlarında her iki türde de taze ağırlık miktarının kontrole kıyasla azaldığı tespit etmiştir.

#### 4.1.1.3. Sürgün Kuru Ağırlık



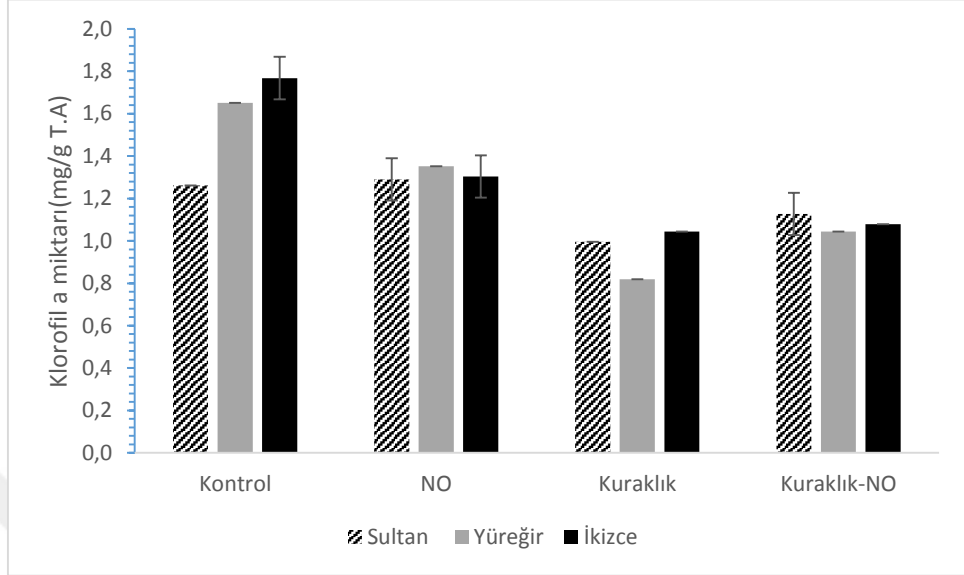
Şekil 4.3. Kuraklık ve kuraklık - NO uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum aestivum* L. cv. Sultan, Yüreğir, İkizce ) fidelerinin ortalama sürgün kuru ağırlığındaki değişimler (g/bitki) (n=3)

Strese maruz kalan buğday fidelerinden Sultan ve İkizce türlerinde kuru ağırlıkta azalma, Yüreğir türünün kuru ağırlık miktarında ise artış olduğu gözlenmiştir ( $p \leq 0,01$ )(Ek 3). Kuraklık – NO uygulamasında Yüreğir ve İkizce fidelerinde artış olmasına rağmen Sultan fidelerinde azalma olduğu tespit edilmiştir ( $p \leq 0,01$ ). NO uygulamalarında kontrol fidelerine göre kök kuru ağırlığındaki artışlar ( $p \leq 0,01$ ) düzeyinde önemlidir (Şekil 4.3).

Hassan ve ark. 2015’ e göre Gmiza ve Sids türlerinde kontrolle kıyaslandığında kuraklık uygulamasıyla her iki buğday fidesinin de kuru ağırlıklarının azaldığını belirlemiştir.

#### 4.1.2 Klorofil Miktarı Üzerine Etkisi

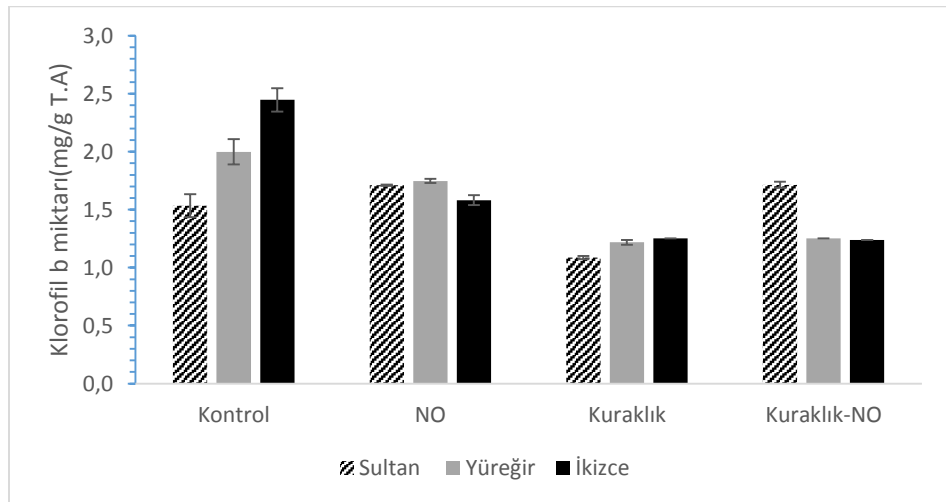
##### Klorofil a



Şekil 4.4. Kuraklık ve kuraklık-NO uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum aestivum* L. cv. Sultan, Yüreğir, İkizce) fidelerinin ortalama klorofil a miktarındaki değişimler (mg/g T.A) (n=3)

Kuraklık stresine maruz kalan tüm buğday fidelerinin NO uygulaması ile klorofil a miktarında  $p \leq 0,05$  düzeyinde artış meydana gelmiştir.

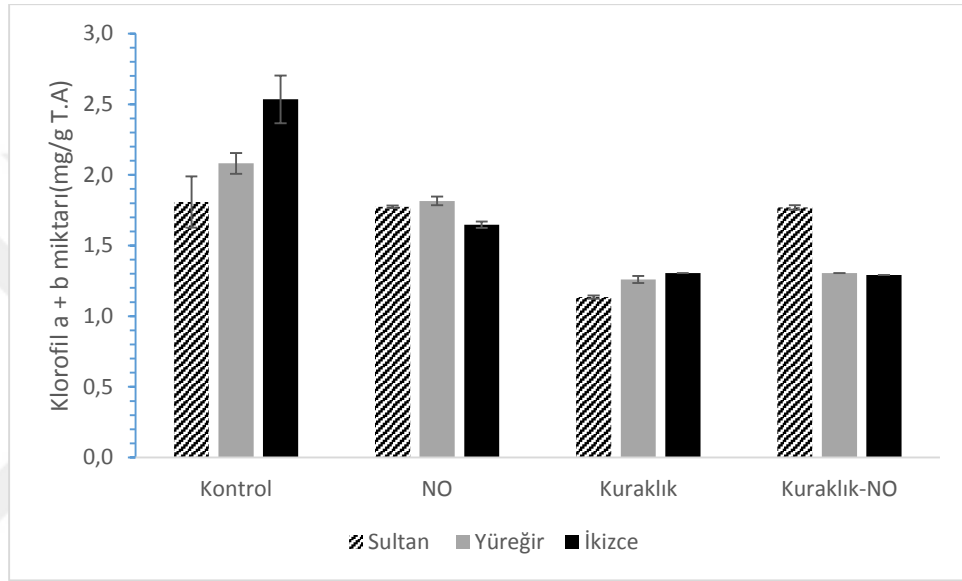
##### Klorofil b



Şekil 4.5. Kuraklık ve kuraklık-NO uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum aestivum* L. cv. Sultan, Yüreğir, İkizce) fidelerinin ortalama klorofil b miktarındaki değişimler (mg/g T.A) (n=3)

Kuraklık-NO uygulamasının kuraklık stresine karşı iyileştirmeye yardımcı olduğu tespit edilmiştir ( $p \leq 0,01$ ) (Ek 4) (Şekil 4.4).

### Toplam klorofil



Şekil 4.6. Kuraklık ve kuraklık-NO uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum aestivum* L. cv. Sultan, Yüreğir, İkizce) fidelerinin ortalama klorofil a + b miktarındaki değişimler (mg/g T.A) (n=3).

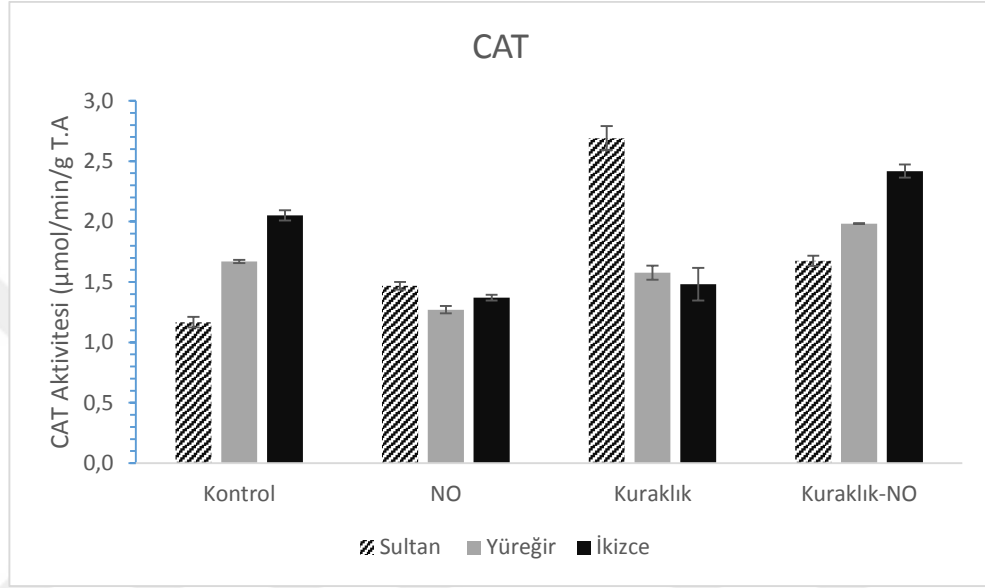
Çalışmada kullanılan Sultan, Yüreğir, İkizce türlerinin stres koşullarında klorofil b ve toplam klorofil miktarlarının azaldığı ( $p \leq 0,01$ ) (Ek5; Ek 6), kuraklık-NO uygulamasının ise iyileştirme yaparak artışa neden olduğu belirlenmiştir ( $p \leq 0,01$ ). Kontrol fidelerine göre NO uygulanan fideler kıyaslandığında ise İkizce ve Yüreğir’de klorofil b miktarı azalırken, Sultan da arttığı tespit edilmiştir. Toplam klorofil miktarlarının kontrole göre NO uygulaması ile Sultan değişmezken, diğer iki çeşitte de azalma gözlemlenmiştir ( $p \leq 0,01$ ) (Şekil 4.5, Şekil 4.6).

Soya bitkisinde yapılan analizler sonucunda kuraklık stresine bağlı olarak klorofil miktarın azaldığı tespit edilmiştir (Doğan ve Avu 2013).

Nohut genotiplerine uygulanan 5 günlük kuraklık stresi sonucu klorofil b miktarının tüm genotiplerde azaldığı belirtilmiştir (Gökmen 2011).

#### 4.1.3. Antioksidan Enzim Aktivitesi Üzerine Etkileri

##### 4.1.3.1. Katalaz Miktarı Üzerine Etkisi



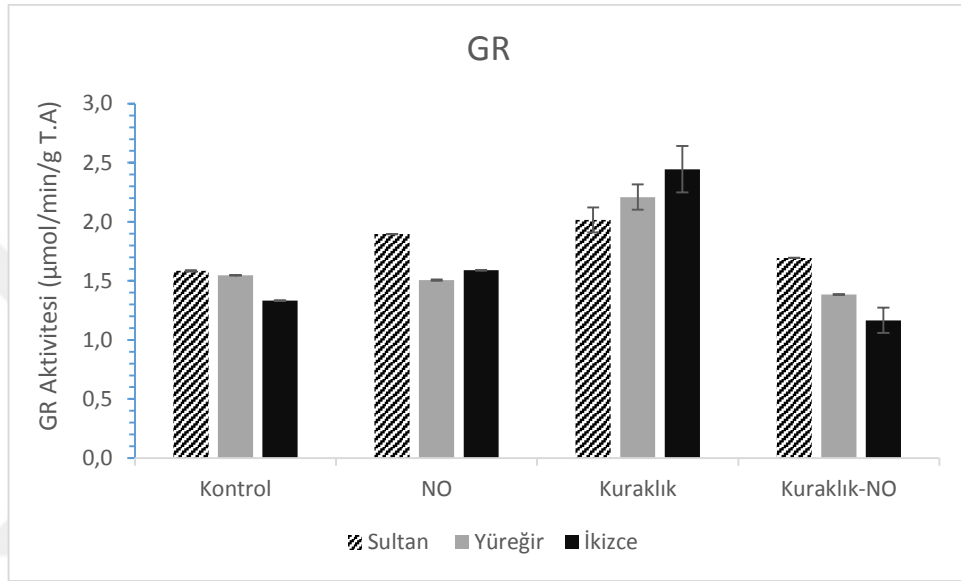
Şekil 4.7. Kuraklık ve kuraklık-NO uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum aestivum* L. cv. Sultan, Yüreğir, İkizce) fidelerinin ortalama katalaz aktivitesindeki değişimler ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g T.A}$ ) ( $n=3$ )

Kuraklık uygulaması Sultan çeşidi buğday fidelerinde CAT aktiviteleri kontrole göre yaklaşık 3 kat artarken, Yüreğir ve İkizce çeşitlerinde azalmıştır ( $p \leq 0,01$ )(Ek 7). Kuraklık koşullarında yapılan NO uygulaması kuraklığa hassas Sultan çeşidinde CAT aktivitesinde kuraklık koşullarına göre azalmaya, Yüreğir ve İkizce çeşitlerinde ise aktivite artışına neden olmuştur ( $p \leq 0,01$ ) (Şekil 4.7). Hassan ve ark 2015' e göre iki ekmeklik buğday çeşidi olan Sids ve Gmiza türlerinde kuraklık koşullarında CAT aktivitesinin Sids türünde artarken Gmiza türünde azaldığını belirtmiştir.

Bayraktar ve Atalay ekmeklik buğday türlerinde PEG-theraloz ve tuz-theraloz uygulaması yapılmıştır. CAT aktivitesinin en düşük PEG-trehaloz uygulamasında duyarlı Atalay türünde, en yüksek aktivitenin ise dirençli Bayraktar türünde tuz-theraloz koşullarında olduğunu tespit etmiştir (Yediyıldız 2008).

Kuraklık koşullarında yetiştirilen *Phaseolus vulgaris* L. çeşitlerinin (Göynük 98, Karacaşehir 90, ES 855, Şehirali 90, Yunus 90) CAT aktiviteleri araştırılmıştır. Araştırma sonucunda kuraklık uygulamasında kontrole göre CAT miktarı en fazla artanın strese toleranslı tür olan Yunus 90 olduğu belirlenmiştir (Terzi ve ark. 2010).

#### 4.1.3.2. Glutasyon Redüktaz Üzerine Etkisi



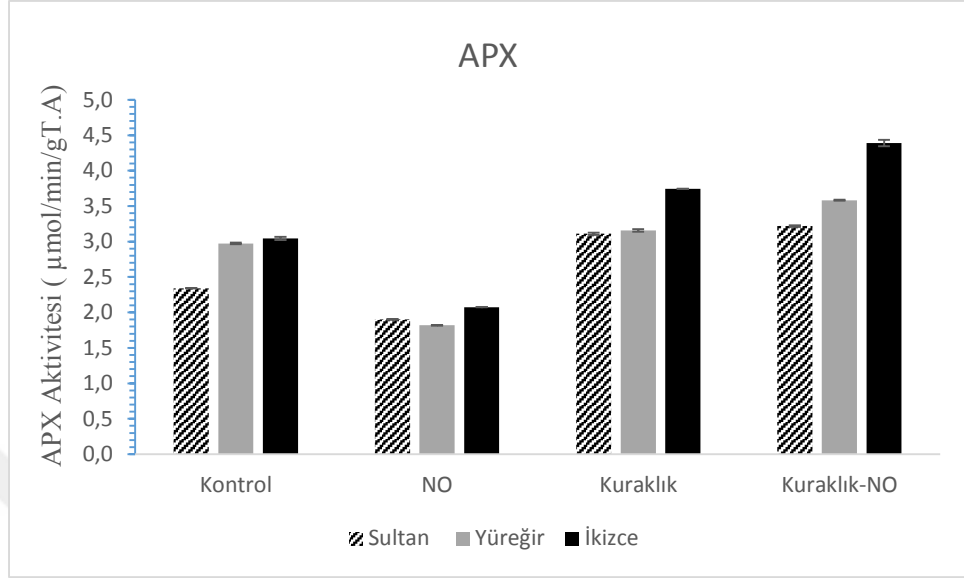
Şekil 4.8. Kuraklık ve kuraklık-NO uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum aestivum* L. cv. Sultan, Yüreğir, İkizce) fidelerinin ortalama glutatyon aktivitesindeki değişimler ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g T.A}$ ) ( $n=3$ )

Çalışmada GR aktivitesinin kuraklık uygulamaları sonucu her üç türde de artmıştır ancak bu artış  $p \geq 0,05$  düzeyinde olduğundan anlam ifade etmemektedir. NO uygulamasıyla Sultan ve İkizce de artış olurken Yüreğir bu uygulamadan etkilenmemiştir ( $p \leq 0,01$ )(Ek 8). Aynı zamanda kuraklık-NO etkileşimlerinin ise her üç türde  $p \leq 0,01$  düzeyinde önemli olduğu saptanmıştır (Şekil 4.8)

Sekiz adet bamya genotipine kuraklık uygulaması yapılmıştır. Kuraklık uygulamasının fizyolojik ölçümler sonucunda kuraklık stresine dayanımı iyi olan genotiplerin GR aktivitelerini artırdığı belirtilmiştir (Yaşar ve ark. 2012).

Kuraklık ve tuz stresi uygulanan Bayraktar ve Atalay isimli buğday türlerinde, tuz stresinde GR aktivitesinin yaklaşık iki kat arttığı ancak kuraklık stresinde GR miktarının değişmediği belirtilmiştir (Yediyıldız 2008).

#### 4.1.3.3. Askorbat Peroksidaz Üzerine Etkisi



Şekil 4.9. Kuraklık ve kuraklık-NO uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum aestivum* L. cv. Sultan, Yüreğir, İkizce ) fidelerinin ortalama APX aktivitesine etkisi(µmol/min/g T.A) (n=3)

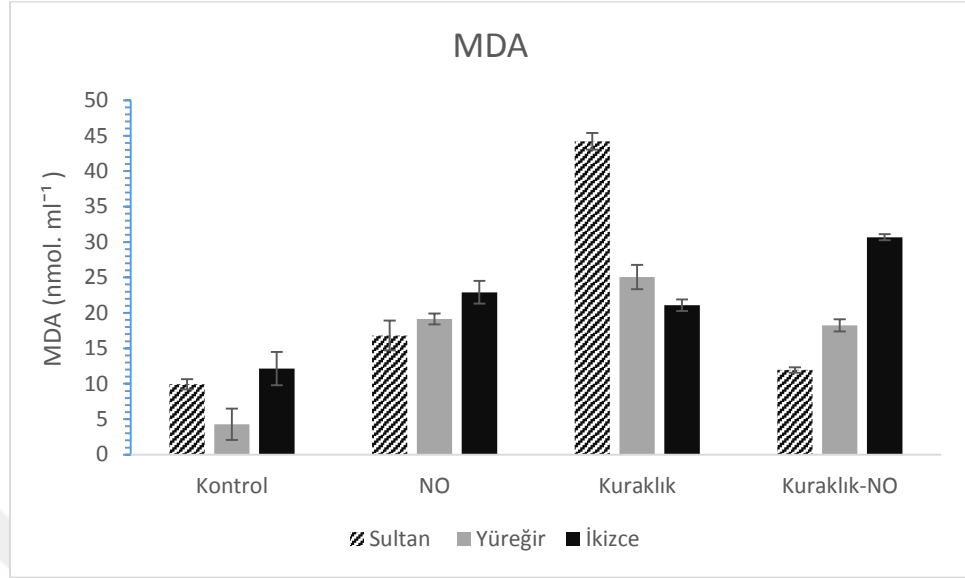
Araştırmada APX aktivitesinin her üç buğday çeşidinde farklılık gösterdiği ( $p \leq 0,01$ ), stres uygulaması altında kontrol fidelerine göre de miktarlarında artış olduğu gözlenmiştir. ( $p \leq 0,01$ ) (Ek. 9). NO uygulanan fidelerde ise azalma ( $p \leq 0,01$ ) seviyesinde önemli bulunmuştur. Kuraklık-NO uygulamasıyla kuraklığa göre her üç türde de APX miktarında artış olduğu tespit edilmiştir ( $p \leq 0,01$ ) (Şekil 4.9).

Kurak koşullarda yetiştirilen sekiz yerel bamya türlerinde yapılan analizler sonucunda kuraklığa toleransı fazla olan türlerde APX aktivitesinin daha çok arttığı belirtilmiştir (Yaşar ve ark. 2012).

Kuraklık uygulamasının Gmiza ve Sids türlerinde APX aktivitesini inhibe ettiği özellikle 30. Günde etkisinin ( $p \leq 0,05$ ) düzeyinde önemli olduğu belirtilmiştir (Hassan ve ark. 2015).

PEG uygulaması yapılan Bayraktar ve Atay türlerinde kontrole kıyasla kuraklığa duyarlı Atay türünde APX aktivitesi daha yüksek belirlenirken, kuraklığa dirençli Bayraktar türünde daha düşük olduğu tespit edilmiştir (Yediyıldız 2008).

#### 4.1.4. MDA Üzerine Etkisi



Şekil 4.10. Kuraklık ve kuraklık-NO uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum aestivum* L. cv. Sultan, Yüreğir, İkizce ) fidelerinin ortalama MDA miktarındaki değişimler (mg/bitki) (n=3)

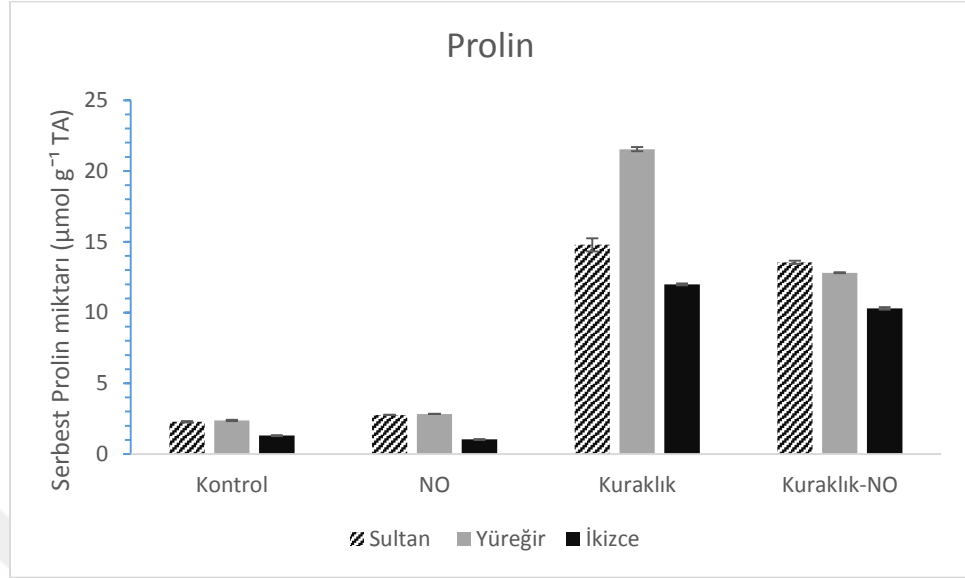
Araştırmamızda kuraklık stresi altında her üç tür buğday fidelerinde MDA miktarında artış meydana gelirken, Sultan türünün fidelerinde bu artışın yaklaşık 4 kat olduğu saptanmıştır ( $p \leq 0,05$ )(Ek 10). NO uygulamasıyla her üç çeşitte de MDA miktarı kontrole göre arttığı belirlenmiştir ( $p \leq 0,01$ ). Kuraklık –NO uygulamasıyla Sultan ve Yüreğir fidelerinde azalma meydana gelirken İkizce artış olduğu tespit edilmiştir ( $p \leq 0,01$ ) (Şekil 4.10)

Yıldırım buğday bitkisinin yaprak dokusunda kuraklık stresinde MDA artmış, %10 PEG+SNP 10  $\mu$ M uygulamasıyla kuraklık grubuna kıyasla azaldığı belirlenmiştir (Kireççi 2012).

Soya bitkisinde kuraklık stresi uygulaması sonucu MDA miktarının arttığı belirlenmiştir (Doğan ve Avu 2013).

Beş farklı (Şehirali 90, Yunus 90, ES 855, Göynük 98 ve Karacaşehir 90) fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) türünde yapılan çalışmada kuraklık uygulaması sonucu MDA miktarlarının arttığı belirlenmiştir (Terzi ve ark. 2010).

#### 4.1.5. Serbest Prolin Üzerine Etkisi



Şekil 4.11. Kuraklık ve kuraklık-NO uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum aestivum* L. cv. Sultan, Yüreğir, İkizce) fidelerinin serbest prolin miktarındaki değişimler (n=3)

Çalışmada kuraklık stresinin uygulandığı tüm buğday fidelerinde prolin miktarının önemli derecede arttığı saptanmıştır ( $p \leq 0,01$ ) (Ek 11). Kuraklık-NO uygulanan her üç türün fidelerinde prolin miktarının azaldığı belirlenmiştir ( $p \leq 0,01$ ). NO uygulamasında Sultan ve Yüreğir fidelerinde prolin miktarında artış, İkizce fidelerinde ise azalma olduğu gözlenmiştir ( $p \leq 0,01$ ) (Şekil 4.11).

Soya bitkisinde kuraklık stresi uygulaması sonucu prolin miktarının arttığı belirlenmiştir (Doğan ve Avu 2013).

Stres dirençli *Triticum aestivum* L. (Bayraktar) ve stres duyarlı *Triticum aestivum* L. (Atay) çeşitleri ile yapılan çalışmada kuraklık ve tuz streslerinde prolin seviyesinin önemli derecede arttığı tespit edilmiştir (Yediyıldız 2008).

#### 4.1.6. Gen İfadelerinin Sonuçları

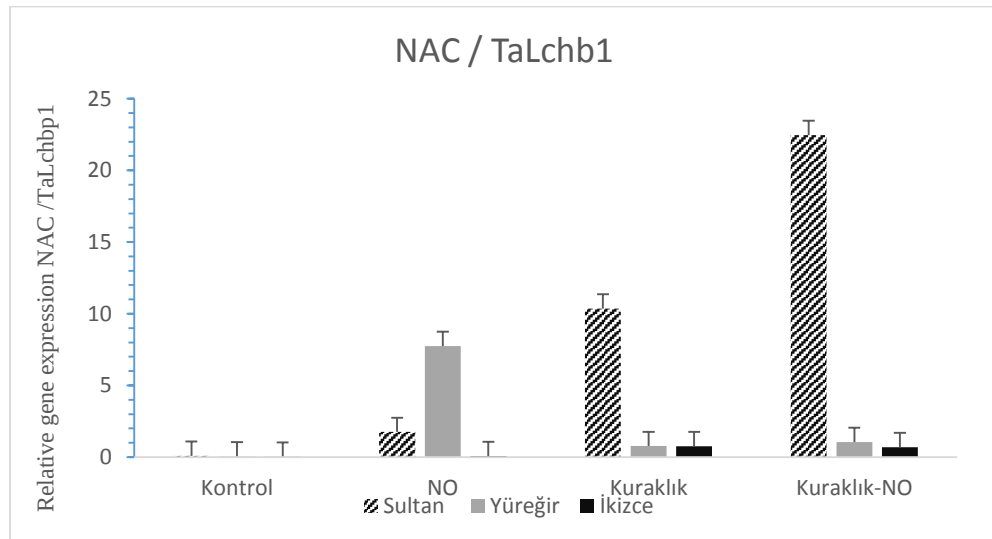
Araştırmada gerçek zamanlı RT-PCR yöntemi ile yapılan kuantitatif mRNA analizlerinde kuraklık, stresine maruz kalan buğday fidelerindeki mRNA transkripsiyonları incelenmiştir. Çalışmada abiyotik streslerle ilişkili olduğu

düşünülen toplamda 3 adet primer kullanılmıştır. Bu primerlerin ifade olanları ve RT-PCR analizleri sonuçlarının rölatif (misli) değerleri grafiklerle gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılan kuraklık koşullarında ifade olan primerlerin adları, kod adları, dizilimleri

| Gen adı                                                | Kod adı    | Sol Primer             | Sağ Primer             | Bağlanma sıcaklığı (°C) | Kaynak             |
|--------------------------------------------------------|------------|------------------------|------------------------|-------------------------|--------------------|
| <i>Triticum aestivum</i> Lipid Transfer Proteini       | TaLTP1-216 | AGGTGGTTG<br>TGATTGGAT | GAATTGATA<br>GCCGACCAC | 53                      | Jang ve ark., 2004 |
| NAM(no apikal meristem) ATAF1/2 CUC2                   | NAC        | CCTGAGAAA<br>AGGCCATCG | CACACTTCA<br>CTAGCAGCC | 54                      | Saad ve ark.,2013  |
| Kloroplast ışık toplayan klorofil a/b bağlama proteini | TaLchb1    | CCTCGACTC<br>CTCGGCAAC | AAGAAGCCA<br>ACATGGAGA | 51                      | Kolukırmık,2014    |

#### 4.1.6.1. NAC Gen Sonuçları



Şekil 4.12. Kuraklık ve kuraklık-NO uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum aestivum* L. cv. Sultan, Yüreğir, İkizce) fidelerinin NAC gen ifadesindeki değişimler (n=3)

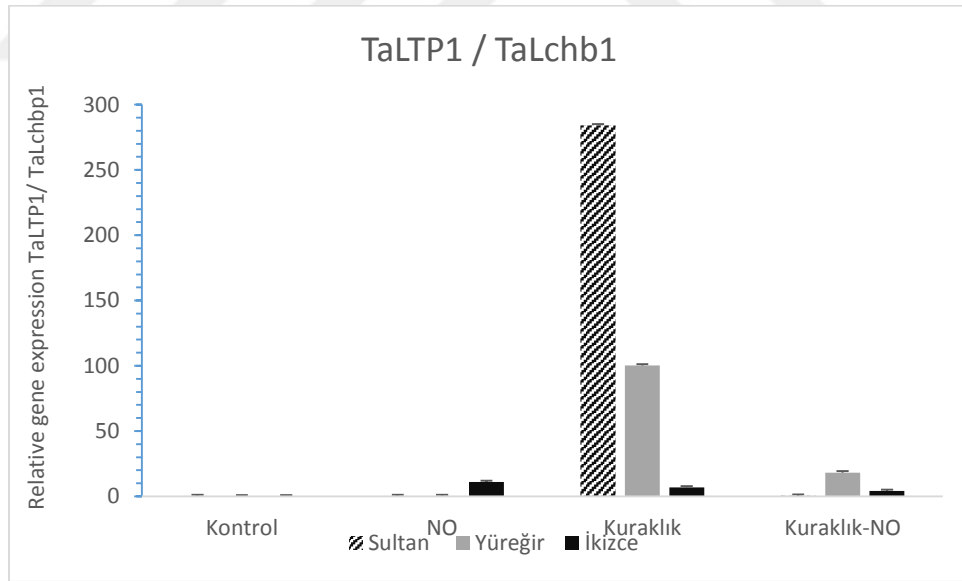
Yapılan çalışmada kuraklık stresine maruz kalan buğday fidelerinde NAC geninin aktif olduğu belirlenmiştir ( $p \leq 0,01$ )(Ek 12). Çalışılan buğday türlerinde kuraklığa hassas olan Sultan fidelerinde NAC geninin kontrole göre 100 kat artarken, kuraklık-NO uygulamasında 220 kat artmıştır. Bu durumda kuraklıkla birlikte yapılan NO uygulamasının ilgili çeşidin kuraklık toleransını arttırmasıyla ilgili olduğu söylenebilir (Şekil 4.12).

NAC geni abiyotik stres koşullarında toleransın geliştirilmesinde önemli role sahiptir (Mao ve ark. 2012).

Bir başka araştırmada TaNAC69-1 geninin ifadesinin kuraklık stres uygulamasında önemli derecede arttığını belirtilmiştir (Baloğlu 2011).

Transgenik Arabidopsis ve pirinç bitkisinde aşırı ifade olan SNAC (stress-response NAC) geninin kuraklık toleransında önemli rol oynadığı tespit edilmiştir (Nakashima ve ark. 2012).

#### 4.1.6.2. TaLTP1 Gen Sonuçları



Şekil 4.13. Kuraklık ve kuraklık-NO uygulamaları altında yetişen buğday (*Triticum aestivum* L. cv. Sultan, Yüreğir, İkizce) fidelerinin TaLTP1 gen ifadesindeki değişimler (n=3)

Çalışmamızda her üç tür fidede de kuraklık stresi uygulaması ile TaLTP1 gen miktarının arttığı gözlenmiştir ( $p \leq 0,01$ ) (Ek 13). Kuraklık-NO uygulamasında NO

iyileştirici rol oynamıştır ve buğdaylar arasında TaLTP1 gen miktarındaki farklılıklar istatistiksel olarak ( $p \leq 0,01$ ) düzeyinde önemli bulunmuştur (Şekil 4.13).

LTP ‘i bitkilerde in vitro ortamda membranlar arasında fosfolipitlerin transferini kolaylaştırdığı, abiyotik streslerden düşük sıcaklığın pirinç bitkisinde NAC gen miktarının ilk 6 saatlik dilimde artırdığı, 12 saatten sonra ise azalmasına neden olduğu belirtilmiştir (Aslam ve ark. 2012).

Yüksek bitkilerde LTP ‘nin abiyotik streslerde (düşük sıcaklık, NaCl, su eksikliği) ifade olduğu belirtilmiştir. 4 hafta yetiştirilen ve kuraklık uygulaması yapılan NIL ve Coker 797 buğday fidelerinde kontrole göre TaLTP1 gen ifadesinin arttığı belirlenmiştir (Janga ve ark. 2004).



## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Araştırmamızda NO in kuraklık stresi altında yetiştirilen buğday bitkisinin gelişimi, bazı fizyolojik özellikleri ve bu strese rol oynayan genlerin ifadesini belirlemek amacıyla NO vericisi olarak sodyum nitroprussid (SNP) 0,1 mM olarak uygulanmıştır. Bitkilerin büyüme ve gelişmesinde kuraklık stresinin ve kuraklık-NO uygulamasının sonucunda meydana gelen değişimler değerlendirilmiştir. Kuraklık stresinin ve kuraklık-NO uygulamalarının yapılan analizler sonucunda parametrelerin artış ve azalışlar şeklinde olduğu saptanmıştır.

Kuraklık stresinin bitki büyüme ve gelişmesini olumsuz etkilediği analizlerimiz ve yapılan diğer çalışmalar (Özdemir ve ark. 2012; Kutlu 2010; Hassan ve ark. 2015) sonucunda ortaya konulmuştur. Çalışmamızda buğday fidelerinde (Sultan, Yüreğir ve İkizce) kuraklık stresinde yetişen bitkilerin kontrol grubuna göre sürgün boyunda, taze ağırlığında ve kuru ağırlığında azalmanın olduğu; NO uygulamasının kontrol grubuna göre her üç parametre ve kullandığımız buğday çeşitlerinde iyileşmenin olduğu tespit edilmiştir. Bir monokotil (*Tradescantia sp.*) ve iki dikotiledon (*Salpichroa organifolia*, *Vicia faba*) ile yapılan çalışmada NO'un kuraklık stresi altındaki bitkilerde su varlığını korumada, stomaların mekanizmalarını korumada iyileştirici rol oynadığı belirtilmiştir (Garcia-Mata and Lamattina 2001).

Kuraklık stresine hassasiyeti yüksek olan Sultan fidelerinin kuraklık stresinde katalaz aktivitesinin yaklaşık 2,5 kat arttığı, NO uygulamasında kontrole göre artış olduğu belirlenmiştir.

Yüreğir ve İkizce fidelerinde ise kuraklık stresinde CAT aktivitesinin azaldığı, kuraklık- NO uygulamasının iki türde de iyileştirme yaptığı gözlemlenmiştir. NO uygulamasında kontrole göre Yüreğir ve İkizce türlerinin CAT miktarında azalma olduğu tespit edilmiştir.

GR aktivitesinin kuraklık uygulamaları sonucu her üç türde de artışa sebep olduğu gözlenirken, stres altında İkizce çeşidinde aynı uygulamaya maruz kalan Yüreğir ve Sultan çeşitlerine göre GR aktivitesinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

APX aktivitesi her üç çeşitte kuraklık ve kuraklık-NO uygulanmalarında kontrole göre artarken, NO uygulamasıyla her üç çeşitte de azalma olduğu gözlemlenmiştir.

Kuraklık stresinde her üç tür buğday fidelerinde MDA miktarında artış meydana gelirken, bu artışın Sultan çeşidinde kontrole göre yaklaşık 4 kat olduğu belirlenmiştir. Kuraklık-NO uygulamasıyla kuraklığa göre Sultan ve Yüreğir türlerinde MDA miktarı azalırken İkizce türünde artış olmuştur.

Buğday fidelerinde kuraklığın etkisiyle prolin miktarının önemli derecede artarken, kuraklık-NO uygulamasının her üç türün fidelerinde iyileşmeye katkı sağladığı saptanmıştır.

Bitkilerde abiyotik stres koşullarında NAC geninin, bitkilerin stres toleransını artırdığı bilinmektedir (Nakashima,2012). Kuraklık stresine maruz kalan buğday fidelerinde NAC geninin her üç çeşitte de artışa neden olduğu gözlemlenirken en çok artışın hassas olan Sultan türünde olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda kuraklık-NO uygulamasıyla NAC geninin Sultan ve Yüreğir’de artarken, İkizce de kuraklığa göre azaldığı gözlenmiştir. Bu durum NO uygulamasının kuraklık koşullarında ilgili genin ifadesini kontrole göre bir miktar artması ile ilişkili olabilir.

Sultan, Yüreğir ve İkizce türlerinde kuraklık stresine bağlı olarak TaLTP1 gen miktarının artışı tespit edilmiştir. Kuraklık-NO uygulamasının özellikle Yüreğir çeşidi buğday fidelerinde TaLTP1 gen ifadesinin kontrole göre artmak suretiyle iyileştirici rol oynadığı saptanmıştır. Bu durumun NO uygulamasının membranlar üzerindeki olumlu etkisinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Bu tez konusuyla ilgili olarak kuraklık-NO etkileşimlerinin moleküler mekanizmasının daha iyi anlaşılabilmesi için NO konsantrasyonlarının çeşitlendirilmesine, enzim ve gen aktivitelerinin belirlenmesine yönelik yapılacak yeni çalışmalara gereksinim olduğu düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- Akbaş, B., İlhan, D. ve Güner, Ü., 2005. Orta Anadolu bölgesinde tohumluk olarak kullanılan buğday tohumlarında virüs varlığı. **Bitki Koruma Bülteni**, 45, pp.55–60.
- Akkaya, A., 1994. **Buğday Yetiştiriciliği**, Kahramanmaraş Ziraat Fakültesi Genel Yayın.
- Aksoy, E., 2008. Kuraklık ve Tuz Ttreslerinin Tercimek (*lens culinaris m.*) Fidelerinde Antioksidant Enzimlerin Gen İfadeleri Üzerine Etkileri. Ortadoğu Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi.
- Apaydın, A., Kutsal, A. ve Atakan, C., 2002. **Uygulamalı istatistik Klavuz Kitabı.**, Ankara.
- Arnon, Daniel I., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*, **Plant Physiology**, 24(1) pp.1-15
- Asada, K., 1992. Ascorbate peroxidase-a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. **Physiologia Plantarum**, 85(2), pp.235–241.
- Aslam, M., Grover, A. and Bhushan, V., 2012. Isolation and characterization of cold responsive NAC gene from *Lepidium latifolium*, **Molecular Biology Reports**, pp.9629–9638.
- Baloğlu, M.C., 2011. Buğday Fidelerinde Abiyotik Stres Koşulları Altında Nac Tipi Transkripsiyon Faktörlerinin İfade Analizi. Ortadoğu Teknik Üniversitesi fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı Doktora Tezi.
- Barroso, J. B., Corpas, F. J., Carreras, A., Sandalio, L. M., Valderrama, R., Palma, J., and del Río, L. A. 1999. Localization of Nitric-oxide Synthase in Plant Peroxisomes. **Journal of Biological Chemistry**, 274, p.36729–36733.
- Başer, İ., Korkut, K.Z. ve Bilgin, O., 2005. Ekmeklik Buğdayda (*Triticum aestivum* L.) Kurağa Dayanıklılıkla İlgili Özellikler Arasındaki İlişkiler. **Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi**, 2(3), pp.253–259.
- Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant and Soil**, 39(1), pp.205–207.
- Beligni, M.V. and Lamattina, L., 2000. Nitric oxide stimulates seed germination and de-etiolation, and inhibits hypocotyl elongation, three light-inducible responses in plants. **Planta**, 210, pp.215–221.
- Beligni, M.V. and Lamitta, L., 2001. Nitric oxide : a non- traditional regulator of plant growth. **Trends in Plant Science**, 6(11), pp.508–509.
- Bernhard, W. R., Thoma, S., Botella, J., and Somerville, C. R. 1991. Isolation of a cDNA Clone for Spinach Lipid Transfer Protein and Evidence that the Protein Is Synthesized by the Secretory Pathway. **Plant Physiol**, 95(1), pp.164–170.
- Blum, A. and R., J.W., 1985. Breeding crop varieties for stress environments. **Critical Reviews in Plant Sciences**, 2(3), pp.199–238.
- Bogdan, C., 2001. Nitric oxide and the regulation of gene expression. **Trends in Cell Biology**, 11(2), pp.66–75.
- Çakmak, I., 1994. Activity of ascorbate-dependent H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> -scavenging enzymes and leaf chlorosis are enhanced in magnesium- and potassium-deficient leaves, but not in phosphorus-deficient leaves. **Journal of Experimental Botany**, 45(9), pp.1259–1266.
- Çakmak, I. and 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(4), pp.1222–1227.
- Çelik, İ., 2014. Tuza dayanıklı ve duyarlı *Helianthus annuus* L. (ayçiçeği) bitkilerinde dışsal nitrik oksit (NO) uygulamasının antioksidan sistem üzerine etkilerinin araştırılması. İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi.
- Desikan, R., Griffiths, R., Hancock, J., and Neill, S., 2002. A new role for an old enzyme: nitrate reductase-mediated nitric oxide generation is required for abscisic acid-induced stomatal closure in *Arabidopsis thaliana*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 99(25), pp.16314–16318.
- Deveci, D., 2015. Mısır (*Zea mays* L.) bitkilerinde kadmiyumun toksitesi ile nitrik oksit arasındaki ilişkinin incelenmesi. Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi.
- Doğan, M. ve Avu, A., 2013. Kuraklık Stresine Karşı Bor Bileşiklerinin Soyada (*Glycine max* L.) Büyüme Parametrelerine Etkisi. **Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi**, 2(2), pp.1–13.
- Durner, J., Wendehenne, D. and Klessig, D.F., 1998. Defense gene induction in tobacco by nitric oxide, cyclic GMP, and cyclic ADP-ribose. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 95(17), pp.10328–10333.
- Ezer, T., Kara, R. ve Demir, I., 2010. Bazı Akuatik ve Akuatik Olmayan Biryofitlerin Pigment Konsantrasyonlarının Karşılaştırılması; Klorofil a/b ve Toplam Karotenoid. **Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi**, 3(2), pp.181–183.
- Fleming, A. J., Mandel, T., Hofmann, S., Sterk, P., Vries, S. C., and Kuhlemeier, C. 1992. Expression pattern of a tobacco lipid transfer protein gene within the shoot apex. **The Plant journal : for cell and molecular biology**, 2(6), pp.855–62.
- García-Mata, C. And Lamattina, L., 2001. Nitric oxide induces stomatal closure and enhances the adaptive plant responses against drought stress. **Plant physiology**, 126(3), pp.1196–1204.
- Gökmen, E., 2011. Nohut genotiplerinin kuraklık stresine karşı gösterdikleri bazı fizyolojik ve biyokimyasal tepkilerin belirlenmesi Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans tezi.
- Graziano, M., Beligni, M.V. and Lamattina, L., 2002. Nitric oxide improves internal iron availability in plants. **Plant physiology**, 130(4), pp.1852–1859.
- Guo, P., Baum, M., Grando, S., Ceccarelli, S., Bai, G., Li, R., ... & Valkoun, J. (2009). Differentially expressed genes between drought-tolerant and drought-sensitive barley genotypes in response to drought stress during the reproductive stage. *Journal of experimental botany*, 60(12), 3531-3544
- Gürbüz, A., Kaya, M. ve Divanlı Türkan, A., 2009. Bazı nohut (*Cicer arietinum* L.) çeşitlerinde tane iriliği ve kuraklık stresinin çimlenme özelliklerine etkisi. **Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, 22(1), pp.69–74.
- Hassan, N. M., El-Bastawisy, Z. M., El-Sayed, A. K., Ebeed, H. T., and Alla, M. M. N., 2015. Roles of dehydrin genes in wheat tolerance to drought stress. **Journal of Advanced Research**, 6(2), pp.179–188.
- He, J., Ren, Y., Chen, X., and Chen, H. 2014. Protective roles of nitric oxide on seed germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.) under cadmium stress. **Ecotoxicology and environmental safety**, 108, pp.114–119.
- Honda, A., Adams, S. R., Sawyer, C. L., Lev-Ram, V., Tsien, R. Y., and Dostmann, W. R. 2001. Spatiotemporal dynamics of guanosine 3',5'-cyclic monophosphate

- revealed by a genetically encoded, fluorescent indicator. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 98(5), pp.2437–2442.
- Jang, C. S., Lee, H. J., Chang, S. J., and Seo, Y. W. 2004. Expression and promoter analysis of the TaLTP1 gene induced by drought and salt stress in wheat (*Triticum aestivum* L.). **Plant Science**, 167, pp.995–1001.
- Kader, J.C. 1996. Lipid-transfer proteins in plants. **Annual review of plant biology**, pp.627-654.
- Kadioglu, A., 2011. **Bitki Fizyolojisi** 5th ed., Trabzon Offset Matbaacılık.
- Kalefetoğlu, T. and Ekmekci, Y., 2005. The Effects of drought on plants and tolerance mechanisms. **Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi**, 18(4), pp.723–740.
- Kireççi, O. A., 2012. Kuraklık stresine maruz bırakılan *Triticum aestivum* (buğday) çeşitlerinde sinyal iletiminde rol oynayan bazı biyomoleküllerin araştırılması. İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi.
- Kolukıncık M., 2014. Bioeksen Ar-Ge Teknolojileri Ltd. Şti, İTÜ Ayazağa kampüsü KOSGEB A blok Maslak/İSTANBUL
- Kuru, H. N., 2014. Silikonun kuraklık ve tuz stresi altındaki yerfıstığı (*Arachis hypogaea*) çeşitli antioksidatif sistem bileşenleri ve gen aktiviteleri üzerine etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi.
- Kusumi K., Yara A., Mitsui N., Tozawa Y. and Iba K., (2004) Characterization of a Rice Nuclear-Encoded Plastid RNA Polymerase Gene OsRpoTp Plant Cell Physiol. 45(9): 1194–1201.
- Kutlu, İ., 2010. Tahıllarda Kuraklık Stresi. **Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi**, 3(1), pp.35–41.
- Leshem, Y. Y., Haramaty, E., Iluz, D., Malik, Z., Sofer, Y., Roitman, L., and Leshem, Y. 1997. Effect of stress nitric oxide (NO): Interaction between chlorophyll fluorescence, galactolipid fluidity and lipoxygenase activity. **Plant physiology and biochemistry**, 35(7), pp.573–579.
- Leshem, Y.Y., Wills, R.B.H. and Ku, V.V.V., 1998. Evidence for the function of the free radical gas - nitric oxide (NO•) - as an endogenous maturation and senescence regulating factor in higher plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, 36(11), pp.825–833.
- Mao, X., Zhang, H., Qian, X., Li, A., Zhao, G., and Jing, R., 2012. TaNAC2, a NAC-type wheat transcription factor conferring enhanced multiple abiotic stress tolerances in Arabidopsis. **Journal of Experimental Botany**, 63(8), pp.2933–2946.
- Nakashima, K., Takasaki, H., Mizoi, J., Shinozaki, K., and Yamaguchi-Shinozaki, K., 2012. NAC transcription factors in plant abiotic stress responses. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Regulatory Mechanisms**, 1819(2), pp.97–103.
- Özdemir, E., Bayram, S. A. D. E., Soylu, S., ve Atalay, E., 2012. Ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.)’da priming uygulamalarının kurak ve normal koşullarında büyüme parametreleri ile bağlı su içeriği değerleri üzerine etkileri. **Selçuk Üniversitesi Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi**, 26(2), pp.25–30.
- Öztürk, A., 1999. Kuraklığın kışlık buğdayın gelişmesi ve verimine etkisi. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, 23, pp.531–540.
- Öztürk, A. ve Çağlar, Ö., 1999. Kışlık buğdayda kuraklığın vejetatif dönem, tane dolum dönemi ve tane dolum oranına etkisi. **Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi**, 30(1), pp.1–10.
- Pedroso, M.C., Magalhaes, J.R. and Durzan, D., 2000. A nitric oxide burst precedes

- apoptosis in angiosperm and gymnosperm callus cells and foliar tissues. **Journal of Experimental Botany**, 51(347), pp.1027–1036.
- Ribeiro, E. A., Cunha, F. Q., Tamashiro, W., and Martins, I. S., 1999. Growth phase-dependent subcellular localization of nitric oxide synthase in maize cells. **FEBS Letters**, 445(2–3), pp.283–286.
- Saad, A. S. I., Li, X., Li, H.P., Huang, T., Gao, C.S., Guo, M.W., and Liao, Y.C., 2013. A rice stress-responsive NAC gene enhances tolerance of transgenic wheat to drought and salt stresses. **Plant Science**, 203, 33-40.
- Soydam Aydın, S., 2011. Soğuk, kuraklık ve tuz gibi abiyotik stres koşulları altındaki aomates bitkisinde(Lycopersicum esculentum L.) süperoksid dismutaz (SOD)gen ekspresyon profilinin real time pcr aracılığı ile araştırılması. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı.
- Sterk, P., Booij, H., Schellekens, G. A., Van Kammen, A., and De Vries, S. C., 1991. Cell-specific expression of the carrot EP2 lipid transfer protein gene. **The Plant cell**, 3(9), pp.907–921.
- Tatar, M.Ö., 2011. Bazı ekmeklik buğday çeşitlerinde kuraklık stresine dayanıklılığın fizyolojik denetimi ve verim unsurları ile ilişkileri. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı Doktora Tezi.
- Tchang, F., This, P., Stiefel, V., Arondel, V., Morch, M. D., Pages, M., and Bouillon, P., 1988. Phospholipid Transfer Protein - Full-Length Cdna and Amino-Acid Sequence in Maize - Amino-Acid Sequence Homologies between Plant Phospholipid Transfer Proteins. **Journal of Biological Chemistry**, 263(32), pp.16849–16855.
- Terzi, R., Sağlam, A., Kutlu, N., Nar, H., and Kadioğlu, A., 2010. Impact of soil drought stress on photochemical efficiency of photosystem II BeligmBe antioxidant enzyme activities of Phaseolus vulgaris cultivars. **Turkish Journal of Botany**, 34, pp.1–10.
- Anonim, 2010. 2010 Yılı Hububat Raporu, Erişim tarihi: 18.02.2017 <http://www.tmo.gov.tr/Upload/Document/raporlar/HububatSektorRaporu.pdf>.
- Trapet, P., Kulik, A., Lamotte, O., Jeandroz, S., Bourque, S., Nicolas-Francès, V., and Wendehenne, D., 2015. NO signaling in plant immunity: A tale of messengers. **Phytochemistry**, 112, pp.72–79.
- Trewavas, A. J., Rodrigues, C., Rato, C., and Malhó, R., 2002. Cyclic nucleotides: the current dilemma. **Current opinion in plant**, 5(5), pp.425–429.
- TUSAF, 2014. 2013 Yılı Un Sanayi Sektör Raporu. Türkiye Un Sanayicileri Federasyonu (TUSAF).
- Wang Z.Y., Kenigsbuch D., Sun L., Harel E., Ong M. S., and Tobin E. M. ,(1997) A Myb-Related Transcription Factor 1s Involved in the Phytochrome Regulation of an Arabidopsis Lhcb Gene. American Society of Plant Physiologists, Vol. 9, 491-507
- Wendehenne, D., Pugin, A., Klessig, D. F., and Durner, J., 2001. Nitric oxide: comparative synthesis and signaling in animal and plant cells. **Trends in plant science**, 6(4), pp.177–183.
- Xia, N., Zhang, G. and Lin, X.L., 2010. Characterization of a novel wheat NAC transcription factor gene involved in defense response against stripe rust pathogen infection and abiotic stresses, **Molecular biology reports**, pp.3703–3712.
- Xia Y., Ning Z. , Bai G, Li R. , Yan G. , Siddique K. H. M. , Baum M., Guo P.,(2012).

- Allelic Variations of a Light Harvesting Chlorophyll A/B Binding Protein Gene (Lhcb1) Associated with Agronomic Traits in Barley 7 ( 5).
- Yaşar, F., Kuşvuran, Ş. and Ellialtıoğlu, Ş., 2012. Tuzluluk ve kuraklık stresi çalışmalarında antioksidant enzim aktiviteleri ile dayanıklılık arasındaki ilişkilerin incelenmesi. **9. Ulusal Sebze Tarımı Sempozyumu**. pp. 12–14.
- Yediyıldız, A.G., 2008. Kuraklık ve tuz stresi uygulanan buğday (*Triticum aestivum* L.) çeşitlerinde antioksidan enzim aktivitesindeki değişimlerin belirlenmesi. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi.
- Yemets, A. I., Krasylenko, Y. A., Lytvyn, D. I., Sheremet, Y. A., and Blume, Y. B., 2011. Nitric oxide signalling via cytoskeleton in plants. **Plant science**, 181(5), pp.545–554.
- Yuryev A., 2007. PCR primer design, Humana Press p:431 ISBN:978-1-59829-725-729



## ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında Tokat'ta doğdu. 2002 yılında Ulvi Saime KAYA ilköğretim okulundan, 2007 yılında ise Mustafa Kemal Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesinden mezun oldu. 2012 yılında Sakarya Üniversitesi Fen- Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü lisans programından mezun oldu. Lisans eğitimi sürecinde pedagojik formasyon, beden dili, yaratıcı drama ve diksiyon eğitimlerini tamamlayarak sertifikalarını aldı.



## EKLER

### Ek.1.

**1.1.** Kuraklık, kuraklık-NO uygulamalarının Sultan, Yüreğir ve İkizce fidelerinin sürgün boyuna etkisinin ortalama değerleri

|             | Sultan    | Yüreğir   | İkizce    |
|-------------|-----------|-----------|-----------|
| Kontrol     | 18 ± 0,12 | 19 ± 0,33 | 22 ± 1,27 |
| NO          | 21 ± 0,13 | 23 ± 0,03 | 32 ± 0,07 |
| Kuraklık    | 16 ± 0,13 | 16 ± 0,52 | 18 ± 0,26 |
| Kuraklık-NO | 14 ± 0,23 | 16 ± 0,07 | 20 ± 1,15 |

**1.2.** Kuraklık, kuraklık-NO uygulamalarının (*Triticum aestivum* L. cv. Sultan, Yüreğir ve İkizce) fidelerinin sürgün boyuna etkisinin varyans analiz sonuçları

| Varyans kaynağı        | Kareler toplamı | Serbestlik derecesi | Kareler ortalaması | p değeri |
|------------------------|-----------------|---------------------|--------------------|----------|
| Doğrulanmış Model      | 773,380         | 11                  | 70,31              | 0,000*   |
| Kesişim                | 13829,76        | 1                   | 13829,76           | 0,000*   |
| Buğday                 | 250,91          | 2                   | 125,46             | 0,000*   |
| Kuraklık               | 299,29          | 1                   | 299,29             | 0,000*   |
| No                     | 68,89           | 1                   | 68,89              | 0,000*   |
| Buğday / Kuraklık      | 32,42           | 2                   | 16,21              | 0,002**  |
| Buğday / No            | 44,47           | 2                   | 22,24              | 0,000*   |
| Kuraklık / No          | 71,68           | 1                   | 71,68              | 0,000*   |
| Buğday / Kuraklık / No | 5,71            | 2                   | 2,86               | 0,245    |
| Hata                   | 45,86           | 24                  | 1,91               |          |

\* p ≤ 0,01 önem düzeyine sahip

\*\* p ≤ 0,05 önem düzeyine sahip

## Ek.2.

**2.1.** Kuraklık, kuraklık-NO uygulamalarının Sultan, Yüreğir ve İkizce fidelerinin sürgün taze ağırlık miktarı ortalama değerleri

|             | Sultan        | Yüreğir       | İkizce        |
|-------------|---------------|---------------|---------------|
| Kontrol     | 0,105 ± 0,005 | 0,143 ± 0,001 | 0,117 ± 0,001 |
| NO          | 0,157 ± 0,001 | 0,177 ± 0,001 | 0,19 ± 0,001  |
| Kuraklık    | 0,063 ± 0,002 | 0,071 ± 0,002 | 0,048 ± 0,001 |
| Kuraklık-NO | 0,035 ± 0,002 | 0,099 ± 0,001 | 0,095 ± 0,001 |

**2.2.** Kuraklık, kuraklık-NO uygulamalarının (*Triticum aestivum* L. cv. Sultan, Yüreğir ve İkizce) fidelerinin sürgün taze ağırlık miktarına etkisinin varyans analiz sonuçları

| Varyans kaynağı        | Kareler toplamı | Serbestlik derecesi | Kareler ortalaması | p değeri |
|------------------------|-----------------|---------------------|--------------------|----------|
| Doğrulanmış Model      | 0,083           | 11                  | 0,008              | 0,000*   |
| Kesişim                | 0,422           | 1                   | 0,422              | 0,000*   |
| Buğday                 | 0,006           | 2                   | 0,003              | 0,000*   |
| Kuraklık               | 0,057           | 1                   | 0,057              | 0,000*   |
| No                     | 0,011           | 1                   | 0,011              | 0,000*   |
| Buğday / Kuraklık      | 0,000           | 2                   | 0,000              | 0,025**  |
| Buğday / No            | 0,004           | 2                   | 0,002              | 0,000*   |
| Kuraklık / No          | 0,003           | 1                   | 0,003              | 0,000*   |
| Buğday / Kuraklık / No | 0,002           | 2                   | 0,001              | 0,000*   |
| Hata                   | 0,000           | 24                  |                    |          |

\* p≤ 0,01 önem düzeyine sahip

\*\* p≤ 0,05 önem düzeyine sahip

### Ek.3.

**3.1.** Kuraklık, kuraklık-NO uygulamalarının Sultan, Yüreğir ve İkizce fidelerinin sürgün kuru ağırlık miktarı ortalama değerleri

|             | Sultan    | Yüreğir        | İkizce         |
|-------------|-----------|----------------|----------------|
| Kontrol     | 0,013 ± 0 | 0,013 ± 0,0003 | 0,014 ± 0,0003 |
| NO          | 0,018 ± 0 | 0,018 ± 0      | 0,02 ± 0       |
| Kuraklık    | 0,012 ± 0 | 0,016 ± 0      | 0,013 ± 0,0003 |
| Kuraklık-NO | 0,011 ± 0 | 0,021 ± 0,0003 | 0,018 ± 0,0003 |

**3.2.** Kuraklık, kuraklık-NO uygulamalarının (*Triticum aestivum* L. cv. Sultan, Yüreğir ve İkizce) fidelerinin sürgün kuru ağırlık miktarına etkisinin varyans analiz sonuçları

| Varyans kaynağı        | Kareler toplamı | Serbestlik derecesi | Kareler ortalaması | p değeri |
|------------------------|-----------------|---------------------|--------------------|----------|
| Doğrulanmış Model      | 0,000           | 11                  | 0,000              | 0,000*   |
| Kesişim                | 0,009           | 1                   | 0,009              | 0,000*   |
| Buğday                 | 0,000           | 2                   | 0,000              | 0,000*   |
| Kuraklık               | 0,000           | 1                   | 0,000              | 0,000*   |
| No                     | 0,000           | 1                   | 0,000              | 0,000*   |
| Buğday / Kuraklık      | 0,000           | 2                   | 0,000              | 0,000*   |
| Buğday / No            | 0,000           | 2                   | 0,000              | 0,000*   |
| Kuraklık / No          | 0,000           | 1                   | 0,000              | 0,000*   |
| Buğday / Kuraklık / No | 0,000           | 2                   | 0,000              | 0,000*   |
| Hata                   | 0,000           | 24                  | 0,000              |          |

\* p≤ 0,01 önem düzeyine sahip

#### Ek.4.

**4.1.** Kuraklık, kuraklık-NO uygulamalarının Sultan, Yüreğir ve İkizce fidelerinin klorofil a miktarı ortalama değerleri

|             | Sultan    | Yüreğir | İkizce    |
|-------------|-----------|---------|-----------|
| Kontrol     | 1,3 ± 0   | 1,7 ± 0 | 1,8 ± 0,1 |
| NO          | 1,3 ± 0,1 | 1,4 ± 0 | 1,3 ± 0,1 |
| Kuraklık    | 1,0 ± 0   | 0,8 ± 0 | 1,0 ± 0   |
| Kuraklık-NO | 1,1 ± 0,1 | 1,0 ± 0 | 1,1 ± 0   |

**4.2.** Kuraklık, kuraklık-NO uygulamalarının (*Triticum aestivum* L. cv. Sultan, Yüreğir ve İkizce) fidelerinin klorofil a miktarına etkisinin varyans analiz sonuçları

| Varyans kaynağı        | Kareler toplamı | Serbestlik derecesi | Kareler ortalaması | p değeri |
|------------------------|-----------------|---------------------|--------------------|----------|
| Doğrulanmış Model      | 10678,903       | 11                  | 970,809            | 0,000*   |
| Kesişim                | 510496,913      | 1                   | 510496,913         | 0,000*   |
| Buğday                 | 230,202         | 2                   | 115,101            | 0,100    |
| Kuraklık               | 8887,587        | 1                   | 8887,587           | 0,000*   |
| No                     | 4,172           | 1                   | 4,172              | 0,764    |
| Buğday / Kuraklık      | 157,914         | 2                   | 78,957             | 0,197    |
| Buğday / No            | 438,941         | 2                   | 219,471            | 0,017**  |
| Kuraklık / No          | 950,489         | 1                   | 950,489            | 0,000*   |
| Buğday / Kuraklık / No | 9,598           | 2                   | 4,799              | 0,900    |
| Hata                   | 1088,744        | 24                  | 45,364             |          |

\* p ≤ 0,01 önem düzeyine sahip

\*\* p ≤ 0,05 önem düzeyine sahip

## Ek.5.

5.1.Kuraklık, kuraklık-NO uygulamalarının Sultan, Yüreğir ve İkizce fidelerinin klorofil b miktarı ortalama değerleri

|             | Sultan    | Yüreğir   | İkizce    |
|-------------|-----------|-----------|-----------|
| Kontrol     | 1,5 ± 0,1 | 2,0 ± 0,1 | 2,4 ± 0,1 |
| NO          | 1,7 ± 0   | 1,7 ± 0   | 1,6 ± 0   |
| Kuraklık    | 1,1 ± 0   | 1,2 ± 0   | 1,3 ± 0   |
| Kuraklık-NO | 1,7 ± 0   | 1,3 ± 0   | 1,2 ± 0   |

5.2. Kuraklık, kuraklık-NO uygulamalarının (*Triticum aestivum* L. cv. Sultan, Yüreğir ve İkizce) fidelerinin klorofil b miktarına etkisinin varyans analiz sonuçları

| Varyans kaynağı        | Kareler toplamı | Serbestlik derecesi | Kareler ortalaması | p değeri |
|------------------------|-----------------|---------------------|--------------------|----------|
| Doğrulanmış Model      | 48154,365       | 11                  | 4377,670           | 0,000*   |
| Kesişim                | 816182,151      | 1                   | 816182,151         | 0,000*   |
| Buğday                 | 35669,121       | 2                   | 17834,561          | 0,000*   |
| Kuraklık               | 7852,441        | 1                   | 7852,441           | 0,000*   |
| No                     | 531,963         | 1                   | 531,963            | 0,005*   |
| Buğday / Kuraklık      | 2189,974        | 2                   | 1094,987           | 0,000*   |
| Buğday / No            | 777,346         | 2                   | 388,673            | 0,004*   |
| Kuraklık / No          | 721,549         | 1                   | 721,549            | 0,001*   |
| Buğday / Kuraklık / No | 411,969         | 2                   | 205,985            | 0,037**  |
| Hata                   | 1299,967        | 24                  | 54,165             |          |

\* p≤ 0,01 önem düzeyine sahip

\*\* p≤ 0,05 önem düzeyine sahip

## Ek.6.

**6.1.**Kuraklık, kuraklık-NO uygulamalarının Sultan, Yüreğir ve İkizce fidelerinin toplam klorofil miktarı ortalama değerleri

|             | Sultan      | Yüreğir     | İkizce      |
|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Kontrol     | 244 ± 1,568 | 327 ± 1,143 | 347 ± 1,5   |
| NO          | 238 ± 1,36  | 313 ± 3,184 | 331 ± 4,063 |
| Kuraklık    | 182 ± 3,205 | 247 ± 4,535 | 249 ± 5,733 |
| Kuraklık-NO | 228 ± 3,723 | 263 ± 5,73  | 273 ± 5,912 |

**6.2.** Kuraklık, kuraklık-NO uygulamalarının (*Triticum aestivum* L. cv. Sultan, Yüreğir ve İkizce) fidelerinin toplam klorofil miktarına etkisinin varyans analiz sonuçları

| Varyans kaynağı        | Kareler toplamı | Serbestlik derecesi | Kareler ortalaması | p değeri |
|------------------------|-----------------|---------------------|--------------------|----------|
| Doğrulanmış Model      | 81757,880       | 11                  | 7432,535           | 0,000*   |
| Kesişim                | 2617660,812     | 1                   | 2617660,812        | 0,000*   |
| Buğday                 | 40455,404       | 2                   | 20227,702          | 0,000*   |
| Kuraklık               | 33448,021       | 1                   | 33448,021          | 0,000*   |
| No                     | 441,910         | 1                   | 441,910            | 0,006*   |
| Buğday / Kuraklık      | 2947,778        | 2                   | 1473,889           | 0,000*   |
| Buğday / No            | 809,410         | 2                   | 404,705            | 0,002*   |
| Kuraklık / No          | 3328,328        | 1                   | 3328,328           | 0,000*   |
| Buğday / Kuraklık / No | 327,028         | 2                   | 163,514            | 0,051    |
| Hata                   | 1163,329        | 24                  | 48,472             |          |

\* p≤ 0,01 önem düzeyine sahip

**Ek.7.****7.1. Kuraklık, kuraklık-NO uygulamalarının Sultan, Yüreğir ve İkizce fidelerindeki CAT miktarı ortalaması**

|             | Sultan      | Yüreğir     | İkizce      |
|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Kontrol     | 1,2 ± 0,044 | 1,7 ± 0,013 | 2,1 ± 0,042 |
| NO          | 1,5 ± 0,032 | 1,3 ± 0,031 | 1,4 ± 0,023 |
| Kuraklık    | 2,7 ± 0,1   | 1,6 ± 0,058 | 1,5 ± 0,135 |
| Kuraklık-NO | 1,7 ± 0,043 | 2 ± 0,002   | 2,4 ± 0,054 |

**7.2. Kuraklık, kuraklık-NO uygulamalarının (*Triticum aestivum* L. cv. Sultan, Yüreğir ve İkizce) fidelerinin CAT miktarına etkisinin varyans analiz sonuçları**

| Varyans kaynağı        | Kareler toplamı | Serbestlik derecesi | Kareler ortalaması | p değeri |
|------------------------|-----------------|---------------------|--------------------|----------|
| Doğrulanmış Model      | 7,138           | 11                  | 0,649              | 0,000*   |
| Kesişim                | 108,428         | 1                   | 108,428            | 0,000*   |
| Buğday                 | 0,258           | 2                   | 0,129              | 0,000*   |
| Kuraklık               | 1,996           | 1                   | 1,996              | 0,000*   |
| No                     | 0,051           | 1                   | 0,051              | 0,038**  |
| Buğday / Kuraklık      | 0,705           | 2                   | 0,353              | 0,000*   |
| Buğday / No            | 0,379           | 2                   | 0,190              | 0,000*   |
| Kuraklık / No          | 0,306           | 1                   | 0,306              | 0,000*   |
| Buğday / Kuraklık / No | 3,443           | 2                   | 1,721              | 0,000*   |
| Hata                   | 0,255           | 24                  | 0,011              |          |

\*p≤ 0,01 önem düzeyine sahip

\*\*p≤ 0,05 önem düzeyine sahip

**Ek.8.****8.1.** Kuraklık, kuraklık-NO uygulamalarının Sultan, Yüreğir ve İkizce fidelerindeki GR miktarının ortalaması

|             | Sultan      | Yüreğir     | İkizce      |
|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Kontrol     | 1,6 ± 0,005 | 1,5 ± 0,001 | 1,3 ± 0     |
| NO          | 1,9 ± 0,001 | 1,5 ± 0,005 | 1,6 ± 0,001 |
| Kuraklık    | 2 ± 0,106   | 2,2 ± 0,108 | 2,4 ± 0,196 |
| Kuraklık-NO | 1,7 ± 0,001 | 1,4 ± 0     | 1,2 ± 0,108 |

**8.2.** Kuraklık, kuraklık-NO uygulamalarının (*Triticum aestivum* L. cv. Sultan, Yüreğir ve İkizce) fidelerinin GR miktarına etkisinin varyans analiz sonuçları

| Varyans kaynağı        | Kareler toplamı | Serbestlik derecesi | Kareler ortalaması | p değeri |
|------------------------|-----------------|---------------------|--------------------|----------|
| Doğrulanmış Model      | 4,682           | 11                  | 0,426              | 0,000*   |
| Kesişim                | 103,741         | 1                   | 103,741            | 0,000*   |
| Buğday                 | 0,187           | 2                   | 0,093              | 0,014**  |
| Kuraklık               | 0,533           | 1                   | 0,533              | 0,000*   |
| No                     | 0,901           | 1                   | 0,901              | 0,000*   |
| Buğday / Kuraklık      | 0,082           | 2                   | 0,041              | 0,127    |
| Buğday / No            | 0,446           | 2                   | 0,223              | 0,000*   |
| Kuraklık / No          | 2,182           | 1                   | 2,182              | 0,000*   |
| Buğday / Kuraklık / No | 0,351           | 2                   | 0,176              | 0,001*   |
| Hata                   | 0,438           | 24                  | 0,018              |          |

\* p≤ 0,01 önem düzeyine sahip

\*\* p≤ 0,05 önem düzeyine sahip

## Ek.9.

### 9.1. Kuraklık, kuraklık-NO uygulamalarının Sultan, Yüreğir ve İkizce fidelerindeki APX miktarının ortalaması

|             | Sultan      | Yüreğir     | İkizce      |
|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Kontrol     | 2,3 ± 0,002 | 3 ± 0,013   | 3 ± 0,023   |
| NO          | 1,9 ± 0     | 1,8 ± 0,002 | 2,1 ± 0,002 |
| Kuraklık    | 3,1 ± 0,016 | 3,2 ± 0,018 | 3,7 ± 0     |
| Kuraklık-NO | 3,2 ± 0,01  | 3,6 ± 0,006 | 4,4 ± 0,045 |

### 9.2. Kuraklık, kuraklık-NO uygulamalarının (*Triticum aestivum* L. cv. Sultan, Yüreğir ve İkizce) fidelerinin APX miktarına etkisinin varyans analiz sonuçları

| Varyans kaynağı       | Kareler toplamı | Serbestlik derecesi | Kareler ortalaması | p değeri |
|-----------------------|-----------------|---------------------|--------------------|----------|
| Doğrulanmış Model     | 15,065          | 11                  | 1,370              | 0,000*   |
| Kesişim               | 298,138         | 1                   | 298,138            | 0,000*   |
| Buğday                | 1,301           | 2                   | 0,650              | 0,000*   |
| Kuraklık              | 9,699           | 1                   | 9,699              | 0,000*   |
| No                    | 1,215           | 1                   | 1,215              | 0,000*   |
| Buğday / Kuraklık     | 0,023           | 2                   | 0,011              | 0,000*   |
| Buğday / No           | 0,249           | 2                   | 0,124              | 0,000*   |
| Kuraklık / No         | 2,144           | 1                   | 2,144              | 0,000*   |
| Buğday / Kuraklık /No | 0,434           | 2                   | 0,217              | 0,000*   |
| Hata                  | 0,010           | 24                  | 0,000              |          |

\* p≤ 0,01 önem düzeyine sahip

**Ek.10.**

**10.1.** Kuraklık, kuraklık-NO uygulamalarının Sultan, Yüreğir ve İkizce fidelerindeki MDA miktarı ortalaması

|             | Sultan     | Yüreğir    | İkizce     |
|-------------|------------|------------|------------|
| Kontrol     | 10 ± 0,712 | 4 ± 2,225  | 12 ± 2,353 |
| NO          | 17 ± 2,106 | 19 ± 0,77  | 23 ± 1,601 |
| Kuraklık    | 44 ± 1,179 | 25 ± 1,714 | 21 ± 0,827 |
| Kuraklık-NO | 12 ± 0,397 | 18 ± 0,873 | 31 ± 0,408 |

**10.2.** Kuraklık, kuraklık-NO uygulamalarının (*Triticum aestivum* L. cv. Sultan, Yüreğir ve İkizce) fidelerinin MDA miktarına etkisinin varyans analiz sonuçları

| Varyans kaynağı        | Kareler toplamı | Serbestlik derecesi | Kareler ortalaması | p değeri |
|------------------------|-----------------|---------------------|--------------------|----------|
| Doğrulanmış Model      | 3668,761        | 11                  | 333,524            | 0,000*   |
| Kesişim                | 13969,731       | 1                   | 13969,731          | 0,000*   |
| Buğday                 | 169,656         | 2                   | 84,828             | 0,000*   |
| Kuraklık               | 1088,312        | 1                   | 1088,312           | 0,000*   |
| No                     | 2,329           | 1                   | 2,329              | 0,545    |
| Buğday / Kuraklık      | 65,413          | 2                   | 32,706             | 0,012**  |
| Buğday / No            | 840,708         | 2                   | 420,354            | 0,000*   |
| Kuraklık / No          | 960,483         | 1                   | 960,483            | 0,000*   |
| Buğday / Kuraklık / No | 541,860         | 2                   | 270,930            | 0,000*   |
| Hata                   | 148,092         | 24                  | 6,171              |          |

\* p ≤ 0,01 önem düzeyine sahip

\*\* p ≤ 0,05 önem düzeyine sahip

**Ek.11.**

**11.1.** Kuraklık, kuraklık-NO uygulamalarının Sultan, Yüreğir ve İkizce fidelerindeki serbest prolin miktarı ortalaması

|             | Sultan       | Yüreğir      | İkizce       |
|-------------|--------------|--------------|--------------|
| Kontrol     | 2,3 ± 0,044  | 2,4 ± 0,047  | 1,3 ± 0,031  |
| NO          | 2,8 ± 0,01   | 2,8 ± 0,015  | 1 ± 0,018    |
| Kuraklık    | 14,8 ± 0,463 | 21,5 ± 0,148 | 12 ± 0,066   |
| Kuraklık-NO | 13,5 ± 0,109 | 12,8 ± 0,031 | 10,3 ± 0,093 |

**11.2.** Kuraklık, kuraklık-NO uygulamalarının (*Triticum aestivum* L. cv. Sultan, Yüreğir ve İkizce) fidelerinin serbest prolin miktarına etkisinin varyans analiz sonuçları

| Varyans kaynağı        | Kareler toplamı | Serbestlik derecesi | Kareler ortalaması | p değeri |
|------------------------|-----------------|---------------------|--------------------|----------|
| Doğrulanmış Model      | 1548,141        | 11                  | 140,740            | 0,000*   |
| Kesişim                | 2379,776        | 1                   | 2379,776           | 0,000*   |
| Buğday                 | 84,466          | 2                   | 42,233             | 0,000*   |
| Kuraklık               | 1309,486        | 1                   | 1309,486           | 0,000*   |
| No                     | 30,188          | 1                   | 30,188             | 0,000*   |
| Buğday / Kuraklık      | 32,501          | 2                   | 16,251             | 0,000*   |
| Buğday / No            | 24,380          | 2                   | 12,190             | 0,000*   |
| Kuraklık / No          | 38,171          | 1                   | 38,171             | 0,000*   |
| Buğday / Kuraklık / No | 28,948          | 2                   | 14,474             | 0,000*   |
| Hata                   | 1,606           | 24                  | 0,067              |          |

\* p ≤ 0,01 önem düzeyine sahip

**Ek.12.**

**12.1.** Kuraklık, kuraklık-NO uygulamalarının Sultan, Yüreğir ve İkizce fidelerindeki NAC gen miktarı ortalaması

|             | Sultan        | Yüreğir      | İkizce       |
|-------------|---------------|--------------|--------------|
| Kontrol     | 0,089 ± 0,01  | 0,047 ± 0,01 | 0,027 ± 0    |
| NO          | 1,754 ± 0,53  | 7,754 ± 1,51 | 0,068 ± 0,02 |
| Kuraklık    | 10,356 ± 2,61 | 0,768 ± 0,12 | 0,754 ± 0,03 |
| Kuraklık-NO | 22,471 ± 5,79 | 1,056 ± 0,16 | 0,686 ± 0,05 |

**12.2.** Kuraklık, kuraklık-NO uygulamalarının (*Triticum aestivum* L. cv. Sultan, Yüreğir ve İkizce) fidelerinin NAC gen miktarına etkisinin varyans analiz sonuçları

| Varyans kaynağı        | Kareler toplamı | Serbestlik derecesi | Kareler ortalaması | p değeri |
|------------------------|-----------------|---------------------|--------------------|----------|
| Doğrulanmış Model      | 1509,404        | 11                  | 137,219            | 0,000*   |
| Kesişim                | 525,150         | 1                   | 525,150            | 0,000*   |
| Buğday                 | 447,650         | 2                   | 223,825            | 0,000*   |
| Kuraklık               | 173,623         | 1                   | 173,623            | 0,003*   |
| No                     | 118,248         | 1                   | 118,248            | 0,012**  |
| Buğday / Kuraklık      | 574,560         | 2                   | 287,280            | 0,000*   |
| Buğday / No            | 72,118          | 2                   | 36,059             | 0,128    |
| Kuraklık / No          | 2,135           | 1                   | 2,135              | 0,719    |
| Buğday / Kuraklık / No | 121,070         | 2                   | 60,535             | 0,038**  |
| Hata                   | 386,549         | 24                  | 16,106             |          |

\* p ≤ 0,01 önem düzeyine sahip

\*\* p ≤ 0,05 önem düzeyine sahip

**Ek.13.**

**13.1.** Kuraklık, kuraklık-NO uygulamalarının Sultan, Yüreğir ve İkizce fidelerindeki TaLTP1 gen miktarı ortalaması

|             | Sultan          | Yüreğir        | İkizce       |
|-------------|-----------------|----------------|--------------|
| Kontrol     | 0,121 ± 0,02    | 0,005 ± 0      | 0,024 ± 0    |
| NO          | 0,338 ± 0,01    | 0,227 ± 0,04   | 11 ± 0,04    |
| Kuraklık    | 284,048 ± 11,25 | 100,243 ± 4,24 | 6,944 ± 0,52 |
| Kuraklık-NO | 0,523 ± 0,02    | 18,251 ± 1,45  | 4,048 ± 0,41 |

**13.2.** Kuraklık, kuraklık-NO uygulamalarının (*Triticum aestivum* L. cv. Sultan, Yüreğir ve İkizce) fidelerinin TaLTP1 gen miktarına etkisinin varyans analiz sonuçları

| Varyans kaynağı        | Kareler toplamı | Serbestlik derecesi | Kareler ortalaması | p değeri |
|------------------------|-----------------|---------------------|--------------------|----------|
| Doğrulanmış Model      | 230333,271      | 11                  | 20939,388          | 0,000*   |
| Kesişim                | 43057,187       | 1                   | 43057,187          | 0,000*   |
| Buğday                 | 28541,750       | 2                   | 14270,875          | 0,000*   |
| Kuraklık               | 42665,038       | 1                   | 42665,038          | 0,000*   |
| No                     | 33813,003       | 1                   | 33813,003          | 0,000*   |
| Buğday / Kuraklık      | 28450,403       | 2                   | 14225,202          | 0,000*   |
| Buğday / No            | 31404,443       | 2                   | 15702,222          | 0,000*   |
| Kuraklık / No          | 34050,915       | 1                   | 34050,915          | 0,000*   |
| Buğday / Kuraklık / No | 31407,719       | 2                   | 15703,860          | 0,000*   |
| Hata                   | 1324,509        | 24                  | 55,188             |          |

\*p≤ 0,01 önem düzeyine sahip