



**FASULYEDE (*Phaseolus vulgaris* L.) TUZ
STRESİNDE FERULİK ASİTİN BAZI
FİZYOLOJİK, BİYOKİMYASAL VE
MOLEKÜLER ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

Büşra Hilal YILMAZ

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Esra ARSLAN YÜKSEL
Yüksek Lisans Tezi
Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı
2024
(Her hakkı saklıdır.)

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

**FASULYEDE (*Phaseolus vulgaris* L.) TUZ STRESİNDE FERULİK ASİTİN BAZI
FİZYOLOJİK, BİYOKİMYASAL VE MOLEKÜLER ETKİLERİNİN
BELİRLENMESİ**

(Determination of Some Physiological, Biochemical and Molecular Effects of Ferulic Acid on
Salt Stress in Bean (*Phaseolus vulgaris* L.))

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Büşra Hilal YILMAZ

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Esra ARSLAN YÜKSEL

Erzurum
Mayıs, 2024

KABUL VE ONAY TUTANAĞI

Büşra Hilal YILMAZ tarafından hazırlanan “FASULYEDE (Phaseolus vulgaris L.) TUZ STRESİNDE FERULİK ASİTİN BAZI FİZYOLOJİK, BİYOKİMYASAL VE MOLEKÜLER ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ” başlıklı çalışması 06 /05 / 2024 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonucunda başarılı bulunarak jürimiz tarafından Tarımsal biyoteknoloji Ana Bilim Dalı, Bitkisel biyoteknoloji Bilim Dalında yüksek lisan tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:	Prof. Dr. Murat AYDIN <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır
Danışman:	Dr. Öğr. Üyesi Esra ARSLAN YÜKSEL <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır
Jüri Üyesi:	Doç.Dr.Emre İLHAN <i>Erzurum Teknik Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır

Bu tezin Atatürk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddelerinde belirtilen şartları yerine getirdiğini onaylarım.

Prof. Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN
Enstitü Müdürü

Aslı ıslak imzalıdır

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

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Yüksek Lisans Tezi olarak Dr. Öğr. Üyesi Esra ARSLAN YÜKSEL danışmanlığında sunulan “FASULYEDE (*Phaseolus vulgaris* L.) TUZ STRESİNDE FERULİK ASİTİN BAZI FİZYOLOJİK, BİYOKİMYASAL VE MOLEKÜLER ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	14	30
Kuramsal Temeller	6	30
Materyal ve Metot	11	35
Araştırma Bulguları ve Tartışma	4	20
Sonuçlar ve Öneriler	0	20
Tezin Geneli	9	25

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'ten büyük olmaması gerekir.

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
Büşra Hilal YILMAZ	Dr. Öğr. Üyesi Esra ARSLAN YÜKSEL
6.5.2024	6.5.2024
Aslı Islak İmzalıdır	Aslı Islak İmzalıdır

* Tez ile ilgili YÖKTEZ’de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

☐ Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun/....../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

☒ Enstitü Yönetim Kurulunun/....../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmada deneylerimi yaptığım Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Laboratuvarları Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

Bu çalışmanın planlanmasından yazım aşamasına kadar katkılarıyla bana yol gösteren sevgisini ve anlayışını asla esirgemeyen tez danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Esra ARSLAN YÜKSEL'e teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam süresince manevi desteğini ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen Sayın Dr. Semra YAĞCI'ya, Sayın Prof. Dr. Murat AYDIN'a ve Sayın Doç. Dr. Emre İLHAN'a ve Sayın Prof. Dr. Güleray AĞAR'a teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar ve tez çalışmam boyunca yardımlarını esirgemeyen değerli çalışma arkadaşlarım, Sayın Ilgın Asena SİBİRLİOĞLU'na, Sayın Hazal ÖZECE'ye, Sayın Neşe YAMAN'a, Sayın Sümeyra UÇAR'a ve Sayın Esra YAPRAK'a teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her anında maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen ve yanımda olan değerli eşim Sayın Halim YILMAZ'a, annem Kübra BAYOĞLU'ya babam Vedat BAYOĞLU'ya kardeşim Muhammed Şems BAYOĞLU'ya kayınvaldem Hanife YILMAZ'a ve Kayınpederim Semih YILMAZ'a kuzenim Aysima ENGİN BULUT'a ve tüm aile üyelerime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam süresince oyun arkadaşı olarak benimle çok zaman geçiremeyip sabırla beni bekleyen canım kızım Nehir Esmâ YILMAZ'a sonsuz sevgimi ve teşekkürlerimi sunarım.

Büşra Hilal YILMAZ

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FASULYEDE (*Phaseolus vulgaris* L.) TUZ STRESİNDE FERULİK ASİTİN BAZI FİZYOLOJİK, BİYOKİMYASAL VE MOLEKÜLER ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Büşra Hilal YILMAZ

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Esra ARSLAN YÜKSEL

Amaç: Tuz stresi, özellikle fasulye gibi tuzluluğa duyarlı bitkilerin tarımını belirgin bir şekilde etkileyen önemli bir abiyotik stres faktörüdür. Bu çalışmada tuzluluğa toleranslı bir fasulye çeşidinde (Gina) ferulik asitin (FA) NaCl stresi altında bazı biyokimyasal, fizyolojik ve bazı stres genleri üzerine olan iyileştirici etkilerinin tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Gina çeşidine ait fasulye tohumları (*Phaseolus vulgaris* L.) perlitte 15 gün boyunca çimlendirilmiş, ardından fideler Hoagland çözeltisi içeren hidroponik ortama aktararak NaCl (200 mM) ve FA'nın (0,5, 1 ve 2 mM) farklı dozlarına maruz bırakılmıştır. Uygulamalardan 7 gün sonra, kök ve sürgün uzunluğu (cm), kök ve sürgün ağırlığı (g), yaprak nispi su içeriği (YNSİ, %), klorofil içeriği (SPAD), elektrik iletkenliği (Eİ) ölçülmüştür, Hasat edilen örneklerden daha sonra hücre membran hasarı (H_2O_2 ve MDA) ve antioksidan enzim aktiviteleri [süperoksit dismutaz (SOD), peroksidaz (POD), askorbat peroksidaz (APX)] belirlenmiş, ayrıca yaprak dokularından *PvCPP5*, *PvGSTU3*, *PvGPAT9*, *PvSOD* ve *PvAPX* genlerinin mRNA ifade seviyeleri tespit edilmiştir.

Bulgular: NaCl stresi uygulanan fasulye örneklerinin kontrole kıyasla kök ve sürgün uzunlukları/ ağırlıkları, YNSİ ve SPAD değerleri azalış gösterirken, Eİ, H_2O_2 , MDA içerikleri ve SOD, POD ve APX enzim aktiviteleri artış göstermiştir. Bunun yanı sıra tek başına FA uygulamaları kontrole kıyasla kök ve sürgün uzunlukları/ ağırlıkları, YNSİ, SPAD, Eİ, H_2O_2 , MDA içerikleri ve SOD, POD ve APX enzim aktiviteleri değişkenlik göstermiştir. NaCl ve FA dozlarının birlikte yapıldığı uygulamalarda ise FA uygulamasının tüm dozlarının NaCl stresinin etkisini azaltarak bu parametrelerde genel olarak iyileştirmeye neden oldukları, 1 mM FA dozunun ise diğer dozlara kıyasla daha iyi bir etki gösterdiği belirlenmiştir. Yine NaCl stresi ve FA uygulamalarının *PvCPP5*, *PvGSTU3*, *PvGPAT9*, *PvSOD* ve *PvAPX* genlerinin mRNA ifade seviyelerinde değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir.

Sonuç: Araştırmada elde edilen bulgulara göre FA uygulamasının fasulyede tuz stresinin neden olduğu zararlı etkilerine karşı iyileştirici etki gösterdiği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Phaseolus vulgaris*, ferulik asit, SPAD, NaCl, Eİ, YNSİ, H_2O_2 , MDA qPCR, antioksidan enzim aktivitesi

Mayıs, 2024, 74 sayfa

ABSTRACT

MASTER THESIS

DETERMINATION OF SOME PHYSIOLOGICAL, BIOCHEMICAL AND MOLECULAR EFFECTS OF FERULIC ACID DURING SALT STRESS IN BEAN (*Phaseolus vulgaris* L.)

Büşra Hilal YILMAZ

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Esra ARSLAN YUKSEL

Aim: Salt stress is an important abiotic stress factor that significantly affects the cultivation of salinity-sensitive plants, especially in beans. In this study, it was aimed to determine the alleviative effects of ferulic acid (FA) on some biochemical, physiological parameters and expression levels of some stress-related genes under salt stress in bean seedlings.

Method: Bean seeds (*Phaseolus vulgaris* L.) of Gina variety were germinated in perlite for 15 days, then the seedlings were transferred to hydroponic medium containing Hoagland solution and exposed to different doses of NaCl (200 mM) and FA (0.5, 1 and 2 mM). 7 days after the applications, root and shoot length (cm), root and shoot weight (g), leaf relative water content (LRWC %), chlorophyll content (SPAD %), electrical conductivity (EC %) were measured. and cell samples were then collected from the harvested samples and cell membrane damage (H₂O₂ and MDA) and antioxidant enzyme activities [superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), ascorbate peroxidase (APX)] and mRNA expression levels of *PvCPP5*, *PvGSTU3*, *PvGPAT9*, *PvSOD* and *PvAPX* genes were determined from leaf tissues.

Results: While root and shoot lengths/weights, LRWC and SPAD values of bean samples subjected to NaCl stress decreased compared to the control, EC, H₂O₂, MDA contents and SOD, POD and APX enzyme activities increased. In addition, FA applications alone showed changes in root and shoot length/weight, YNSI, SPAD, EI, H₂O₂, MDA contents and SOD, POD and APX enzyme activities compared to the control. In applications where NaCl and FA doses were applied together, it was determined that all doses of FA application caused a general improvement in these parameters by reducing the effect of NaCl stress, and the 1 mM FA dose had a better effect compared to other doses. It was also determined that NaCl stress and FA applications showed variability in the mRNA expression levels of *PvCPP5*, *PvGSTU3*, *PvGPAT9*, *PvSOD* and *PvAPX* genes.

Conclusion: According to the findings obtained in the research, it was determined that the application of ferulic acid had a alleviative role against the harmful effects of salt stress in beans.

Keywords: *Phaseolus vulgaris*, ferulic acid, SPAD, NaCl, EC, RWC, H₂O₂, MDA, qPCR, antioxidant enzyme activities

May 2024, 74 pages

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY TUTANAĞI.....	i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ	x
GİRİŞ.....	1
KURAMSAL TEMELLER.....	12
MATERYAL VE YÖNTEM	19
Materyal	19
Bitki materyali.....	19
Araştırmada kullanılan çözeltiler ve kimyasallar	20
Yöntem.....	21
Sterilizasyon aşamalarında kullanılan çözeltilerin hazırlanışı	21
Çalışma ortamının ve kullanılan aletlerin sterilizasyonu	22
Tuz stresi (NaCl) ve iyileştirici olarak kullanılan Trans-ferulik asit (FA) kimyasalının hazırlanışı	22
Biyokimyasal analizlerde kullanılan çözeltilerin hazırlanışı	23
Tohum büyüme, gelişim aşamaları ve kimyasalların uygulanması	24
Araştırmada incelenen konular	27
Biyokimyasal analizler	27
Moleküler analizler	31
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	35
Morfolojik Parametreler	36
Kök ve sürgün uzunluğu (cm) / ağırlığının belirlenmesi (g).....	36
Biyokimyasal Parametreler	37
Yaprak nispi su içeriğinin belirlenmesi (YNSİ).....	37
Klorofil içeriğinin belirlenmesi (SPAD).....	38
Hücre membran hasarı (HMH) ve MDA miktarının belirlenmesi.....	39
Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂) miktarının belirlenmesi	40

Antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesi	41
SONUÇ VE ÖNERİLER	50
KAYNAKÇA	51
ÖZGEÇMİŞ.....	61



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Çalışmada Kullanılan Cihazlar ve Aletler	19
Tablo 2. mRNA İfade Seviyelerinin Belirlenmesinde Kullanılan Çözeltiler ve Kimyasallar	21
Tablo 3. FA Çözeltilerinin Hazırlaması	22
Tablo 4. Çalışmada Uygulanan Kombinasyonlar	27
Tablo 5. cDNA Sentezi PCR Döngü Basamakları	32
Tablo 6. qPCR Analizinde Kullanılan Kimyasallar	32
Tablo 7. Primerlerin Dizilimi	34
Tablo 8. Varyasyon Analiz Tablosu	35
Tablo 9. NaCl ve FA Dozları Uygulamalarının Fasulyede Kök/Sürgün Uzunlukları ve Kök/Sürgün Ağırlık Değerleri ¹	37
Tablo 10. NaCl ve FA Dozları Uygulamalarının Fasulyede Yaprak Nispi Su İçeriği (%), Klorofil İçerikleri (SPAD) ve Hücre Membran Hasarı (%) Değerleri ¹	40
Tablo 11. NaCl ve FA Dozları Uygulamalarının Fasulyede Antioksidan Enzim Aktiviteleri (SOD, POD, APX) H ₂ O ₂ Ve MDA Değerleri	43

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Dünya’da kuru fasulye ekim alanı, üretim ve verimi.....	2
Şekil 2. Türkiye fasulye üretiminde en büyük paya sahip iller (2022)	2
Şekil 3. Türkiye’de fasulye ekim alanı, üretim ve verimi	3
Şekil 4. <i>Phaseolus vulgaris</i> L.’nin Sistematikteki Yeri	3
Şekil 5. Fenolik bileşiklerin oluşum yolu.....	8
Şekil 6. Antioksidanların sınıflandırılması.....	9
Şekil 7. Hidroksisünamik asitlerin genel yapı formülleri	10
Şekil 8. Ferulik asitin yapısı	10
Şekil 9. Bitkilerde abiyotik stres toleransına karşı fenolik bileşiklerin biyosentezinde yer alan genlerin ifadelerinin ve enzim aktivitelerinin düzenlenmesinin şematik diyagramı	11
Şekil 10. Fasulye fidelerinin perlitte gelişim aşamaları	24
Şekil 11. Hidroponik ortamdaki fasulye fideleri	25
Şekil 12. 0,5, 1 ve 2 mM FA ve 200 mM NaCl doz uygulamaları	26
Şekil 13. Yaprak nispi su içeriği için alınan örnekler	28
Şekil 14. EC metre cihazı	29
Şekil 15. SPAD-502 Plus cihazı.....	29
Şekil 16. NaCl ve FA uygulamalarına göre <i>P. vulgaris</i> L. “Gina” çeşidinde <i>PvCPP5</i> mRNA ifade seviyeleri ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)	44
Şekil 17. NaCl ve FA uygulamalarına göre <i>P. vulgaris</i> cv. “Gina” çeşidinde <i>PvGSTU3</i> mRNA ifade seviyeleri ($2^{-\Delta\Delta Ct}$).....	46
Şekil 18. NaCl ve FA uygulamalarına göre <i>P. vulgaris</i> cv. “Gina” çeşidinde <i>PvGPAT9</i> mRNA ifade seviyeleri ($2^{-\Delta\Delta Ct}$).....	47
Şekil 19. NaCl ve FA uygulamalarına göre <i>P. vulgaris</i> cv. “Gina” çeşidinde <i>PvSOD</i> mRNA ifade seviyeleri ($2^{-\Delta\Delta Ct}$).....	48
Şekil 20. NaCl ve FA uygulamalarına göre <i>P. vulgaris</i> cv. “Gina” çeşidinde <i>PvAPX</i> mRNA ifade seviyeleri ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)	49

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

%	: Yüzde
°C	: Santigrat Derece
APX	: Askorbat Peroksidaz
C₄H	: Sinamat-4-Hidroksilaz
Ca	: Kalsiyum
cDNA	: Complementary DNA
CHI	: Kalkon İzomeraz
Cm	: Santimetre
CO₂	: Karbondioksit
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
FA	: Ferulik Asit
FAO	: Food and Agriculture Organisation
g	: Gram
GA	: Giberallik Asit
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
JA	: Jasmonik Asit
L	: Litre
MDA	: Malondialdehit
ml	: Mililitre
mg	: Miligram
mg/L	: Miligram/Litre
mM	: Milimolar
mRNA	: Messenger Ribonükleik Asit (Mesajcı RNA)
Na	: Sodyum
NaCl	: Sodyum Klorür
nm	: Nanometre
NP	: Nanopartikül
O₂	: Oksijen
PA	: Fosfatidik Asit
PAL	: Fenilalanin Amonyum Liyaz
POD	: Peroksidaz
qPCR	: Kantitatif PCR

RNA	: Ribonükleik Asit
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TF	: Transkripsiyon Faktörü
TUIK	: Türkiye İstatistik Kurumu
UV	: Ultraviole
�l	: Mikrolitre
�M	: Mikromolar



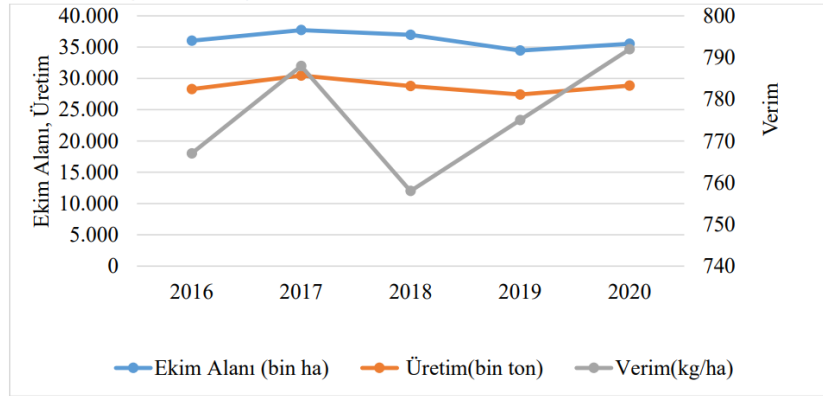
GİRİŞ

Küresel nüfus artışı bağlamında, özellikle yoğun nüfusa sahip ve gelişmekte olan ülkelerde, dengeli ve sağlıklı beslenme giderek artmakta ve daha fazla önem kazanmaktadır. 2050 yılında bu ihtiyaç %60'a varan oranlarda artacaktır. Az gelişmiş ülkelerde, protein ve kalori eksikliği en ciddi sorundur. Bu ülkelerde, hayvansal ürünlerin yüksek maliyeti nedeniyle bitkisel kökenli gıda kaynakları, temel bir beslenme unsuru olarak öne çıkmaktadır. Bitkisel gıda ihtiyacını karşılamak için tarımsal üretimin artırılması, üretim yapılan alanlarda verimliliğin artırılması ve bu alanların iyileştirilmesi ve geliştirilmesi gerekmektedir (Dibaba ve Goshu 2019).

Proteinlerin yapı taşı olan esansiyel aminoasitler vücutta sentezlenmeyip depolanamadıklarından her gün diyet yoluyla alınmaları gerekmektedir. Baklagillerin kuru taneleri %18–36 oranında protein içermektedir. Dünya genelinde, insan diyetindeki bitkisel proteinlerin %22'sinin ve karbonhidratların %7'sinin, hayvan diyetindeki proteinlerin ise %38'inin ve karbonhidratların %5'inin yemeklik baklagillerden temin edildiği bilinmektedir (Gülümser 2016). Yemeklik baklagiller, ekonomik ve kaliteli protein kaynağıdır. Baklagil içerisinde bulunan proteinler methionin aminoasidi bakımından eksik, ancak tahıllarda oldukça az miktarda bulunan lizin amino asidi bakımından yüksek değere sahiptir. Bu değer yaklaşık olarak sığır eti proteinine eşdeğerdir. Bugün birçok ülkede insanlar yeterli ve dengeli beslenebilmek için hayvansal gıdalara erişememektedir (Ünal 2017). Bu sebeple gelişmekte olan ülkelerde beslenme eksikliğinin giderilebilmesi için baklagillerin üretiminin artırılması gerekmektedir (Yeken *et al.* 2018). Günümüzde tarımı yapılan yaklaşık 200 baklagil türü bulunmaktadır. Yemeklik olarak tüketilen baklagiller; fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.), bakla (*Vicia faba* L.), bezelye (*Pisum sativum* L.), mercimek (*Lens culinaris* Medik, *Lens esculenta* Moench.), börülce (*Vigna sinensis* L.) ve nohut (*Cicer arietinum* L.) (Gülümser 2016). Dünya genelinde yetiştirilen baklagiller arasında, fasulye ön sıralarda kendine yer bulmaktadır.

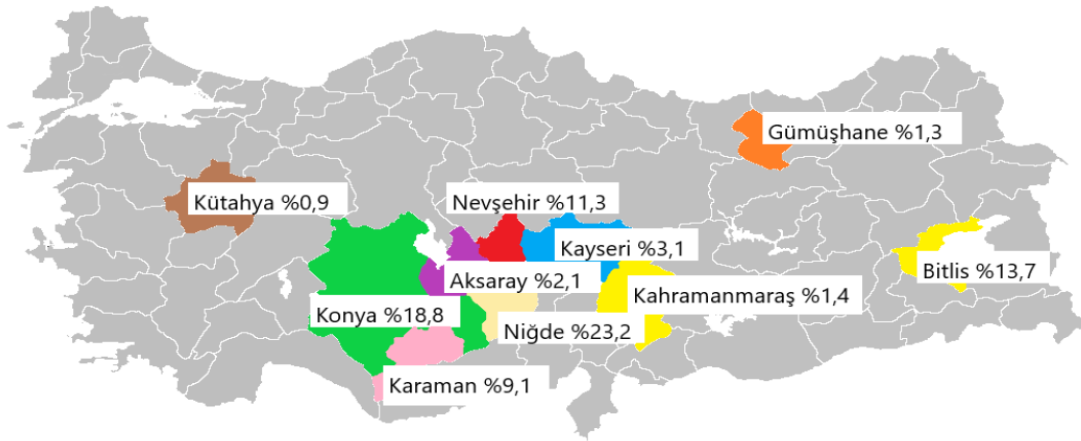
Fasulye üretiminin yoğun olduğu ülkelerin Amerika Birleşik Devletleri, Kanada, Orta Doğu ve Çin olduğu bilinmektedir. Fasulye, küresel olarak yaygın bir şekilde yetiştirilmesine rağmen, özellikle FAO verilerine göre 2020 yılında bir önceki yıllara göre 34,5 milyon ha iken %2,2 artarak 2021 yılında 35,9 milyon ha ile %3,2 oranında artmış ve üretimi %5,1 oranında yükseliş göstermiştir (Şekil 1). FAO 2021 verilerine göre, dünya toplam fasulye üretiminin %43'ünü Asya, %27,5'ini Amerika, %26,8'ini Afrika, %1,5'ini Avrupa ve %0,9'unu Okyanusya oluşturmaktadır. Dünya genelinde toplam fasulye ekim alanı 2022/23 üretim

sezonunda 35,3 milyon ha alandır. 2023/24 üretim sezonunda ise %1 azalışla 35 milyon ha olacağı tahmin edilmektedir.

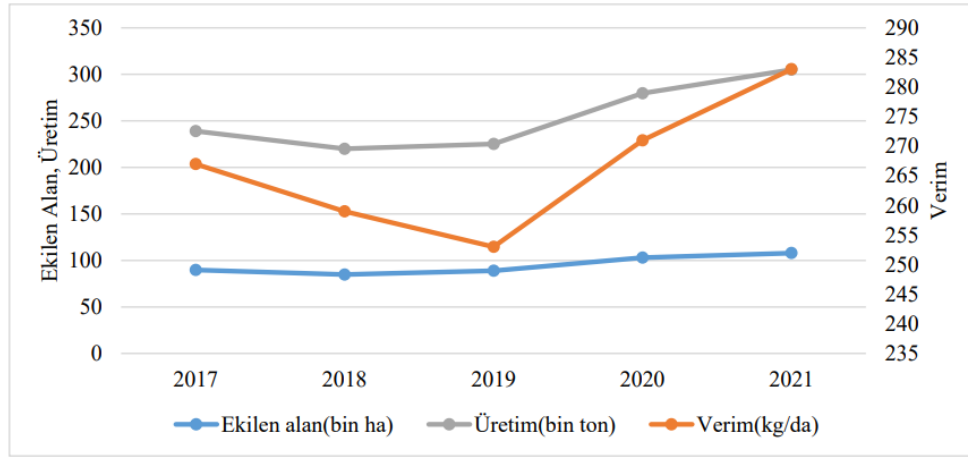


Şekil 1. Dünya’da kuru fasulye ekim alanı, üretim ve verimi (FAO 2022)

Ülkemizde ise üretilen baklagil türleri (fasulye, bakla, bezelye, nohut, mercimek ve börülce) arasında en ilk sıralarda nohut, mercimek ve fasulye yer almaktadır. Bu türler arasında yer alan fasulye üretimi bazı illerde önemli ölçüde önem kazanmaktadır (Şekil 2). TÜİK (Türkiye İstatistik Kurumu) 2020 yılı verilerine göre, fasulye üretimi ülkemizde yaklaşık 1,03 milyon dekar ekim alanında gerçekleşmiş ve 279,51 bin ton düzeyine ulaşmıştır (Anonim 2023). 2021 yılında ise Türkiye genelinde ortalama verimi 283 kg/da olarak kaydedilmiştir. TÜİK verilerine göre 2021/22’de 305 bin ton fasulye üretim yapılmıştır (TÜİK 2022). 2022’de % 11,5 azalış göstererek 270 ton üretilmiş ve 2023 yılında ise fasulye üretimi yaklaşık 240 bin ton olduğu (Şekil 3) belirlenmiştir (TÜİK 2023).

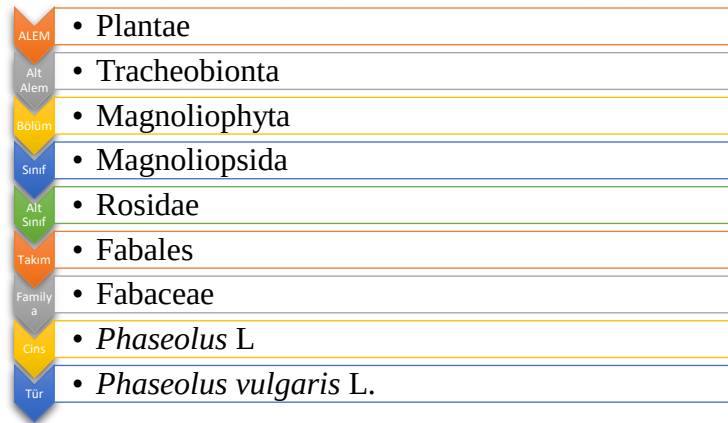


Şekil 2. Türkiye fasulye üretiminde en büyük paya sahip iller (2022) (TÜİK 2022)



Şekil 3. Türkiye’de fasulye ekim alanı, üretim ve verimi (TÜİK 2022)

Fasulye, Fabaceae familyasının içerisinde yer almaktadır (Şekil 4). Tanınan 50'den fazla fasulye türüne rağmen, sadece beş türü (*P. vulgaris*, *P. lunatus* L., *P. coccineus* L., *P. acutifolius* A. Gray ve *P. polyanthus* Greenm.) temel olarak insan gıdası olarak tüketilmektedir. Bu türler arasında en yaygın olarak tüketileni ise *P. vulgaris*'tir (Broughton *et al.* 2003). Bu türün, tahıllardan sonra en geniş ekim alanına sahip olduğu ve fasulye türleri arasında en fazla yetiştirilen tür olduğu bilinmektedir (Broughton *et al.* 2003). Fasulye (*P. vulgaris*), diploit ($2n=22$) kromozom takımından oluşmakta ve kendi kendine tozlaşabilme özelliği sayesinde kolaylıkla melezleşerek verimli döller üretebilmektedir.



Şekil 4. *Phaseolus vulgaris* L.'nin Sistematikteki Yeri (Anonim 2019)

İçerdiği yüksek proteinin yanı sıra, insan beslenmesi için kritik olan sekiz mineral (P, Mg, Mn, K, Zn, Cu, Fe, Ca), karbonhidrat, lif, nişasta, lektin, doymamış yağ asitleri, vitaminler [tiyamin (B1), askorbik asit (C), niyasin (B3), riboflavin (B2), B6 ve alfa tokoferol (E)], fenolik bileşikler ve amino asitler açısından zengin olan fasulye, antikanser, antioksidan ve antibakteriyel özellikleri nedeniyle sıklıkla tüketilmesi tavsiye edilmektedir.

Kazık köklü ve otsu bir gövdeye sahip olan fasulye kök kısımları zayıf olduğu için yeteri miktarda su alarak nemini korumaktadır. Su tutma kapasitesi yüksek ve tınlı topraklarda daha verimli sonuçlar vermektedir. Kök kısımları çiçeklenme evresine kadar hızlı büyümekte, ancak çimlenme evresinde bu durum yavaşlamaktadır. Bu büyüme 3-3,5 cm kadardır. Kökler yanlara doğru 65 cm, aşağıya doğru ise 75-100 cm kadar uzayabilmektedir. Fasulye kökleri soğuğa karşı dayanıklı değildir. Toprak sıcaklığı 30°C'ye kadar olmalıdır. Işığa toleransları azdır. Tuz ve kuraklık gibi abiyotik stres şartlarına karşı duyarlıdırlar (Hnatuszko-Konka *et al.* 2014).

Bitkiler yaşamları boyunca birçok stres faktörüyle karşılaşmaktadırlar. Bu stres faktörleri abiyotik (tuzluluk, kuraklık, sıcaklık, ağır metal, UV vb.) ve biyotik stres faktörleri (mikroorganizmalardan oluşan enfeksiyon ve hayvan saldırıları sonucunda meydana gelen stres faktörleri) olarak 2 sınıfa ayrılmaktadır (Zhu 2016).

Gelişmekte olan ülkelerin çoğunda tarımsal üretim, tuz stresinin olumsuz etkilerinden ciddi şekilde etkilenmektedir. Dünya çapında 45 milyon hektardan fazla tarıma elverişli alan tuzdan zarar görmekte ve yüksek toprak tuzluluğu nedeniyle her yıl 1,5 milyon hektar alan kullanılamaz hale gelmektedir (FAO 2020). Tuz stresinin kökenleri, doğal kaynaklardan kaynaklanan primer etmenler ve insan faaliyetlerinden kaynaklanan sekonder etmenler olarak 2'ye ayrılarak incelenmektedir. Primer etmenlerin ana nedenleri, ana kayaların ayrışması, okyanuslardaki tuz depoları ve iklim faktörleridir. Sekonder tuzluluğun ortaya çıkma nedenleri ise tarımsal alanlarda yoğun sulama sonucu yer altı suyu seviyelerinin yükselmesi, aşırı otlatma, yetersiz drenaj, doğal bitki örtüsünün tahrip edilerek tarım arazilerinin açılması ve toprakların tuzluluğa neden olan kimyasallarla kirlenmesi olarak sıralanabilir (Munns and Tester 2008). Tuz stresi tarım ürünlerinin fotosentetik ve solunum süreçlerini değiştirmekte, protein biyosentezini ve fitohormon regülasyonunu bozmakta, ayrıca hücresel organellere zarar vererek büyüme ve gelişmesini olumsuz yönde etkilemektedir (Bhat *et al.* 2020). Tuz stresi boyunca, bitkilerde osmotik homeostazın değiştiği, çeşitli metabolitleri biriktirdiği ve bazı sinyal yollarını aktive ettiği bilinmektedir (Zhu 2016). Tuz stresi, bitkilerin büyümesini ve gelişmesini osmotik ve iyon stresine neden olarak engellemektedir.

Kök rizosferinde tuz miktarının artmasıyla birlikte ilk olarak osmotik stres oluşmaktadır. Osmotik stres bitkilerde su ve besin alımını kısıtlayarak stomaların kapanmasına ve hücre bölünmesinde inhibisyonlara sebep olmaktadır. Bu olay “fizyolojik kuraklık” olarak da adlandırılmaktadır. Bitkilerdeki su alımının azalması ile hücre genişlemesi azalmakta, bu durum sürgün gelişiminin yavaşlamasına sebep olmaktadır. Bitki dokularında Na⁺ ve Cl⁻ iyonlarının artarak birikmesinden kaynaklanan iyonik stres, uzun süreli tuza maruz kalmanın bir sonucudur. İyonik stresin etkisiyle bitkilerde osmotik dengesizlik, erken yaşlanma, hücre

şışmesi, enerji üretiminde azalma, toksik semptomlar (albinizm, nekroz), protein sentezinde bozulma ve birçok enzim aktivitesinde değişiklikler görülmekte, ayrıca elektron taşıma zincirini bozarak DNA, protein, klorofil ve zar fonksiyonuna zarar veren ROT (reaktif oksijen türleri)'ların aşırı üretimine ve birikimine yol açarak nükleik asitlerde, lipidlerde ve proteinlerde oksidatif hasara yol açmaktadır (Hasanuzzaman *et al.* 2012; Das and Roychoudhury 2014; El-Ramady *et al.* 2018). Tüm bu streslere adaptasyon, şekerler, polioller, betainler ve prolin gibi çeşitli organik çözünenlerin birikmesi, iyonik homeostazın sürdürülmesi, serbest radikallerin temizlenmesi, fitohormonların uyarılması ve bazı genlerin ekspresyonunda değişikliklerin oluşması şeklinde olabilmektedir. Ayrıca aşırı ROT birikimini tetikleyen ve bitkilerde oksidatif stresi indükleyen antioksidan savunma sistemleri ile ROT üretimi arasındaki dengenin bozulması, tuz stresinin en önemli sonuçlarından biridir (Saleem *et al.* 2020).

Tuz stresi hücre bölünme oranının azalmasına, bitkilerin kök ve sürgün hücre sayısının ve mitotik aktivitenin azalmasına sebep olabilmektedir. Tuz stresi, bitkinin gövde ile kök uzunluğunda ve ağırlığında azalmaya, yapraklarda küçülme ve incelmeye, yaprak sayısında azalmaya; aynı zamanda yaprak yüzeyindeki mumsu tabaka ile kutikula tabakasında incelmeye ve vasküler doku farklılaşması ile gelişiminde azalmaya neden olmaktadır. Ek olarak, erken dönemde kökte lignifikasyon oluşumu da gözlemlenebilmektedir. Tuz stresi köklerde doğrudan etki oluştururken, sürgün ve yapraklar ise tuz stresine daha duyarlı olmaktadır. Tuz stresi bitkinin bütün gelişim evrelerini etkilemektedir. Ancak en çok etkilendiği safha tohum üretim safhası olmaktadır. Hücre zarı yapısında bulunan lipid kompozisyonuna zarar vermektedir. Bu durum zarın akışkanlığını, geçirgenliğini ve zar proteinlerinin aktivitesini etkilemektedir. Tuz stresi, lipidlerin parçalanma ve modifikasyonunda görev alan lipoksigenaz enzim aktivitesinin artmasına da neden olmaktadır ve bu artış hücre zarında yer alan fosfolipidlerin miktarının azalmasını tetiklemektedir. Tuz stresi, hücredeki iyon dengesini bozarak da bitki gelişimini etkilemektedir. Yüksek miktarda tuz alımı hücrede Na^+ ve Cl^- düzeyinin yükselmesine, Ca^{+2} K^+ ve Mg^{+2} konsantrasyonlarının ise azalmasına sebep olmaktadır (Tuteja 2007). Tuz stresi kloroplastta da tilakoidlerin ve stomanın şişmesi ile değişim meydana getirmektedir. Kloroplast tilakoidleri, ROT üretiminde önemli rol oynamaktadır. Tuz stresinin bulunduğu koşullarda kloroplastların ürettiği ROT'lar oksidatif stres oluşumunu tetikleyerek oluşan OH^- (hidroksil radikali) ile H_2O_2 (hidrojen peroksit) tilakoidlerin şişmesine ve dalgalı bir hal almasına sebep olmaktadır (Miyake *et al.* 2006).

Tuz stresinin etkisiyle mitokondride elektron transport zincirlerinden sızan elektronlar ROT'ları üreterek oksidatif stresi ortaya çıkarmaktadır (Blockhina and Fagerstedt 2010). Tuz stresi endoplazmik retikulumda kısmi şişmeler ve vakuolizasyon; tonoplastta vesikülasyon ve parçalanma ile golgi aparatında hipertrofi (aşırı büyüme) gözlenmektedir (Ahmet *et al.* 2000).

Yine, tuz stresi osmotik basıncı artırarak özellikle yapraklarda nispi su içeriğinin azalmasına sebep olmaktadır. Bu su kaybı sonucunda stomalar kapanmakta ve transpirasyon engellenmektedir. Stoma iletkenliğinin azalması ile kloroplastlara giren CO₂ miktarı sınırlanarak asimilasyon oranı azalmakta, aynı zamanda klorofil ve karotenoid (fotosentetik pigmentler) miktarının azalmasına sebep olmaktadır (Degl'Innocenti *et al.* 2009).

Tahıl bitkileri, tuz stresinin etkisiyle meydana gelen hasarları önlemek ve hayatta kalabilmek için bu strese yanıt olarak karmaşık ve benzersiz bir hücresel ve moleküler yanıt mekanizması geliştirmişlerdir (Fahad *et al.* 2015). Bu mekanizmalar morfolojik, biyokimyasal ve moleküler süreçleri içerebilmektedir (Saud *et al.* 2014). Bitkiler yüksek tuz seviyelerine karşı kök sistemleri tarafından tuz alımının engellenmesi yoluyla hücrelerdeki düşük tuz seviyelerini korumaktadırlar.

Tuz stresinin etkisiyle artan ROT'ların süpürülmesinde görev alan antioksidan enzimlerinin de korunma mekanizmasında rolleri bulunmaktadır. Örneğin, Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT) ve (Askorbat peroksidaz) APX genlerinin tuz stresi altındaki regülasyonu, süperoksit radikalleri ve hidrojen peroksidin eliminasyonuna katkıda bulunmaktadır (Mittler *et al.* 2004; Hasanuzzaman *et al.* 2020). Bu antioksidan enzimler, ROT'u detoksifiye etmek için sinerjik bir şekilde çalışarak hücresel bileşenlerde meydana gelen oksidatif hasarı önlemektedir.

Bitkilerin stres koşullarında korunması ve gelişim süreçlerini tamamlayabilmesi için, transkripsiyon faktörleri hayati önem taşımaktadır. Cysteine (Cys)-rich polycomb-like protein (CPP) transkripsiyon faktörleri bitki büyümesi, gelişimi ve strese cevapta rolü olan küçük bir gen ailesi olup, CXC domainleri olarak bilinen 1 veya 2 sistince zengin domainden oluşmaktadır. CXC domainleri ve bunları bağlayan diziler neredeyse tüm türlerde yüksek oranda korunmuştur (Riechmann *et al.* 2000; Andersen *et al.* 2007). CPP transkripsiyon faktörlerinin birçok bitki türünde çeşitli işlevlere sahip olduğu bilinmektedir. İlk CPP transkripsiyon faktörü olan TSO1, *Arabidopsis thaliana* bitkisinde harita bazlı klonlama kullanılarak tanımlanmış ve fonksiyonları mutant tarama yoluyla tespit edilmiştir. (Hauser *et al.* 1998, 2000; Zhang *et al.* 2015). TSO1 geninin transkripti en fazla çiçeklerde görülmüş, ancak en yüksek seviye gelişmekte olan ovüllerde ve mikrosporlarda gözlenmiştir. TSO1 mutantları, yönlü hücresel genişlemenin kontrolünün kaybı ve bitişik hücre büyümesinin koordinasyonunun yanı sıra karyokinez ve sitokinezdeki kusurları göstermektedir (Hauser *et al.* 2000; Song *et al.* 2000). Soya fasulyesinde CPP1, gen ifadesini düzenlemek için soya fasulyesi leghemoglobin geni Gmlbc3'ün promotörü ile etkileşime girmektedir (Cvitanich *et al.* 2000). Önceki çalışmalarda, CPP gen ailesinin, bitki büyüme gelişimi ve abiyotik strese cevap

ile ilgili ifadesini düzenlemek için CXC domainleri aracılığıyla DNA'ya bağlanabildiği belirlenmiştir (Hauser *et al.* 2000).

Bitkiler, hücre zarının yapı taşları olan ve hücre metabolizmasında gereken enerjiyi sağlayan lipidlerin yanı sıra, steroller, gliserolipidler ve lipid poliestерleri gibi çeşitli yağ asitleri ve türevlerini içerirler. Bu bileşenler, bitki büyümesi, gelişimi ve stres toleransı gibi çeşitli fizyolojik ve metabolik süreçlerde önemli rol oynarlar. Lipid sentezinde birçok gen görev almaktadır. Bu genlerden Gliserol-3-fosfat açıltransferaz (GPAT) hücre zarının, tohum yağ depolarının ve epikütiküler balmumu kaplamalarının temel bileşenlerini oluşturan çeşitli gliserolipidlerin biyosentezinin ilk aşamasını katalize ederek, bitkinin büyüme ve gelişimiyle ilişkili temel hücre metabolizma süreçlerinde ve stres koşullarına karşı direnç mekanizmalarında önemli bir rol oynamaktadır (Yang *et al.* 2012). GPAT enzimleri, ya acyl-CoA ya da acyl-ACP'den alınan açıl gruplarını gliserol 3-fosfatın sn-1 pozisyonuna aktararak, hücre ve depo lipidleri ile dış lipid poliestерlerinin üretimi için kritik bir ara ürün olan lisofosfatidik asit (LPA) üretimini sağlar ve bu enzimler sn-1 tipi olarak sınıflandırılır. Diğer GPAT çeşitleri ise, LPA yerine ana ürün olarak sn-2 monoaçilgliserol (2-MAG) üretmek üzere ek fosfataz aktivitesine sahiptir ve bu tür GPAT'lar genellikle karasal bitkilerde kütin ve süberin biyosentezinde görev alır ve sn-2 tipi olarak tanımlanır (Waschburger *et al.* 2018). GPAT geninin fertilite, stres toleransı, bitkilerin yağ içerikleri ve tohum gelişimi ile ilişkili olduğu çeşitli çalışmalarda belirlenmiştir (Li *et al.* 2013)

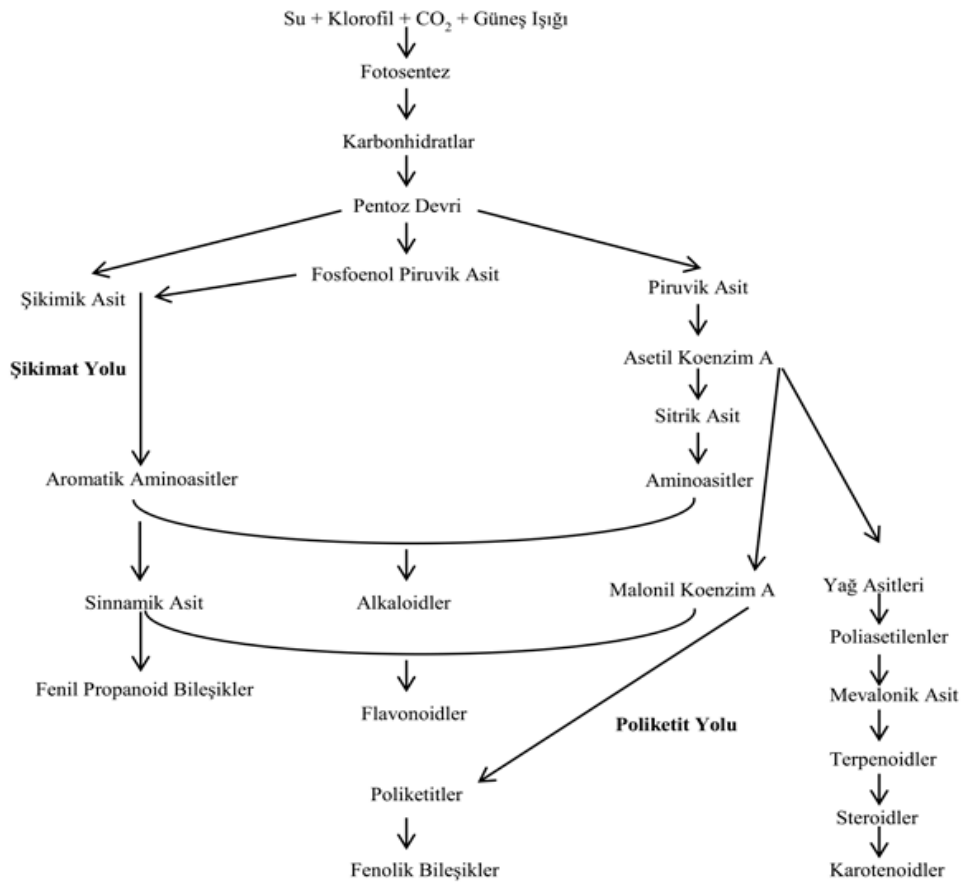
Bitkisel gelişim ve büyüme süreçlerinin sürdürülebilirliği için hücre metabolizması işlemleri gerekmektedir. ROT detoksifikasyonunda görevli antioksidan enzimlerden biri olan Glutasyon S-transferazlar (GST), oksidatif süreçler sonucunda oluşan bileşiklerin indirgenmiş glutasyon (GSH) konjugasyonunu katalize ederek metabolizmadan uzaklaştırılmasını sağlamaktadır (Dalton *et al.* 2009). GST'lerin bitkilerde, bakterilerde, mantarlarda ve hayvanlarda stres mekanizmalarının toksik etkilerini ortadan kaldırma konusunda önemli roller üstlenen enzimler olduğu bilinmektedir. Bitkisel proteinlerin yaklaşık %2'sini oluşturan bu enzimler, tripeptid glutasyon (γ -Glu-Cys-Gly, GSH) ile hidrofobik substratların konjugasyonunu katalize etmektedir. Bununla birlikte, biyotik ve abiyotik stres koşulları, bitki hormonları (oksin, etilen, sitokinin, ABA) ve ağır metaller gibi etkenler, GST aktivitesini düzenleyerek, metal detoksifikasyonunda önemli bir rol oynamakta ve çeşitli elektrofollere karşı GSH'nin afinitesini artırmaktadır (Rezaei *et al.* 2013). GST'ler, hücrede DNA, RNA veya proteinlere zarar verebilecek sitotoksik veya genotoksik bileşenleri ortadan kaldırmaktadır.

Gıdalar ile serbest oksijen arasında otooksidasyon tepkimeleri oluşmaktadır. Gıdalarda oksidasyon tepkimeleri vitamin kayıpları, renk değişimleri, yağ bozulması, besin değerinin

azalması ve tat-koku gibi durumların oluşmasından dolayı istenmemektedir. Antioksidanlar, substratın oksitlenmesini daha düşük konsantrasyonlarda geciktiren ve reaksiyon ürünlerinin oluşumunu engelleyen bileşenlerdir.

Antioksidanlar doğal veya sentetik özelliğe sahiptirler. Sentetik antioksidanlar gıdalarda bozunmaları sırasında toksik ve kanserojen bileşiklere dönüştüğü için son yıllarda doğal antioksidanlara daha çok ilgi duyulmuş ve bitkisel kaynaklı maddelerin gıdalarda antioksidan olarak kullanılabilirliği test edilmiştir (Yen *et al.* 2003). Transferrin, ferritin, miyoglobin gibi makromoleküller ile β -karoten, A vitamini, C vitamini ve türevleri, E vitamini, tokoferoller ve fenolik bileşikler doğal antioksidanlar arasında yer almaktadır.

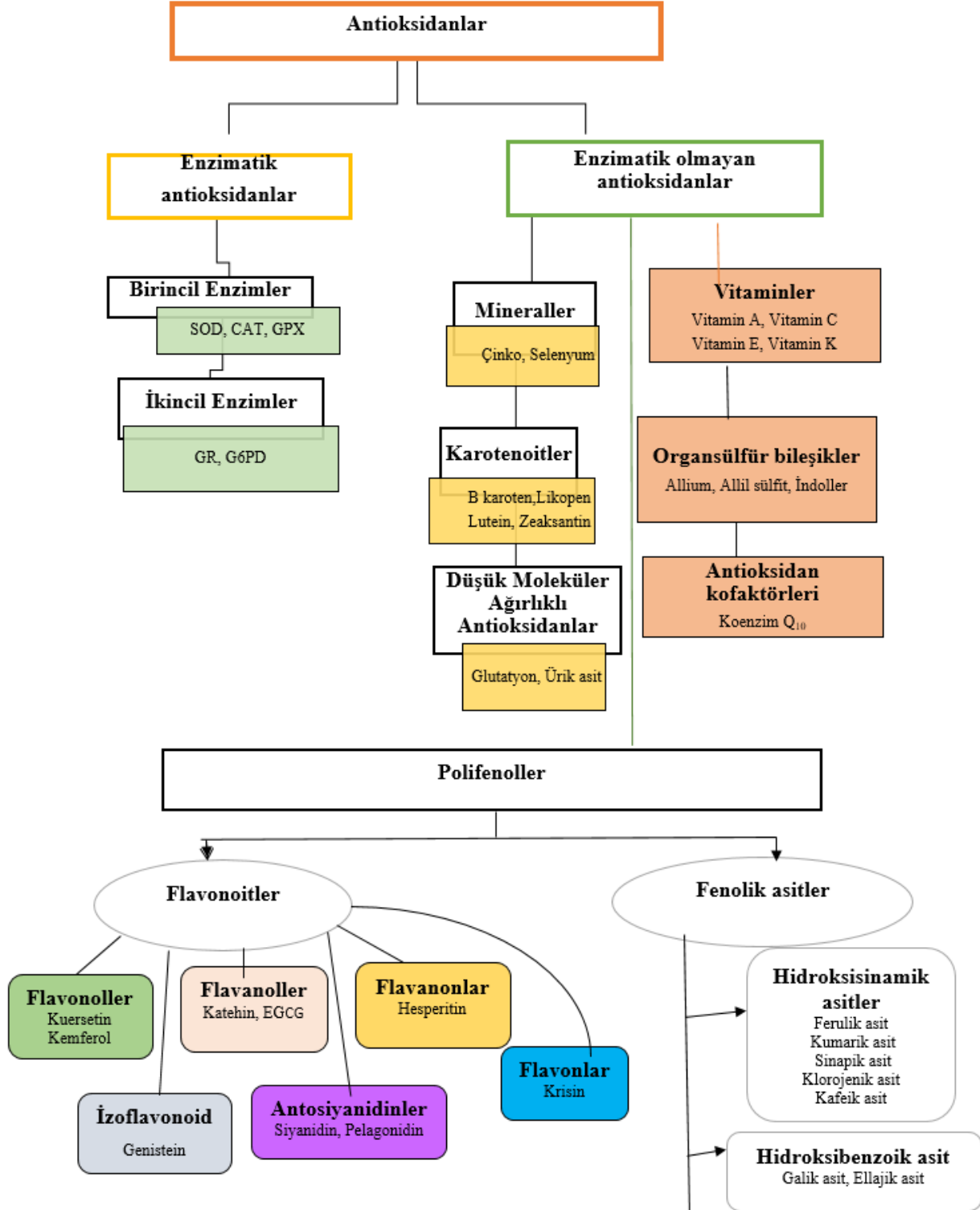
Fenolik bileşikler, bitkilerde geniş bir biyokimyasal grup içerisinde yer alan, bitkilere kokularını, rengini ve tatlarını veren doğal antioksidanlar olup, bitkilerde stres altında hücrel hasarı önleyerek stresle başa çıkma tepkilerinde önemli rol oynayan ve pentoz fosfat, şikimat ve fenilpropanoid reaksiyonları sonucunda oluşan serbest radikal temizleme yeteneklerine sahip sekonder metabolitlerdir (Şekil 5) (Alvarez-Suarez *et al.* 2010; Kalinowska *et al.* 2014).



Şekil 5. Fenolik bileşiklerin oluşum yolu (Dey and Harborne 1989).

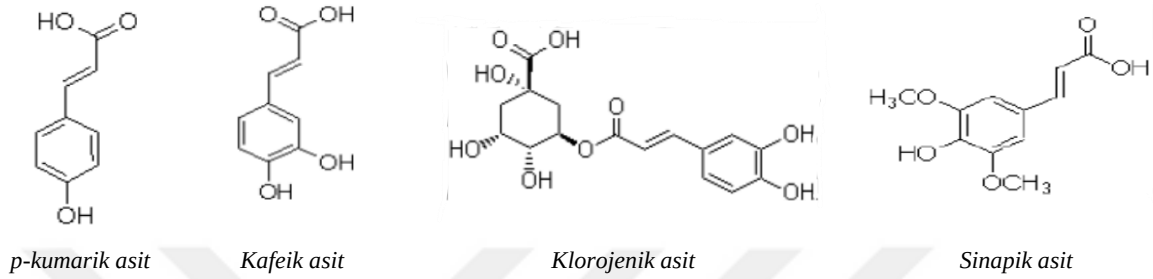
Bu bileşikler, bitki köklerinden salgılanan, ayrıca topraklarda ayrılmış bitki artıklarında bulunan bir tür allelokimyasal bileşiklerdir (Singh and Hymowitz 1999). Bitkilerde, fenolik

bileşikler büyüme ve üreme süreçlerinde önemli rol oynamaktadırlar. Bu bileşikler, bitkiler ve diğer organizmalar üzerinde çeşitli fizyolojik özelliklere sahip anti-alerjik, anti-arterojenik, anti-enflamatuar, anti-mikrobiyal, antioksidan, anti-trombotik, kardiyoprotektif ve damar genişletici etkilere sahip olabilmektedirler (Balasundram *et al.* 2006). Bitkilerde oldukça fazla miktarlarda bulunan fenolik bileşikler, fenolik asitler ve flavonoidler olarak iki gruba ayrılmaktadır (Şekil 6) (Özkan vd 2009).



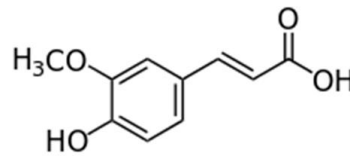
Şekil 6. Antioksidanların sınıflandırılması (Ratnam *et al.* 2006)

Fenolik asitlerin serbest radikalleri temizlemede, gen ifadesini düzenlemede, hücrel sinyal yollarının modülasyonunu sağlamada aynı zamanda DNA hasarı onarımında, hücre proliferasyonu ve apoptozda rolleri bulunmaktadır (Boz 2015). Fenolik asitler, içerdikleri -OH ve -OCH gruplarına göre, hidroksisinnamik asit ve hidroksibenzoik asit olarak iki grupta sınıflandırılır (Şekil 6) (Nizamoğlu and Nas 2010). Bu gruplardan hidroksisinnamik asitler çoğunlukla asit ve türevleri halinde bulunup, -OH grubunun alt grupları olan p-kumarik asit, kafeik asit, klorojenik asit, sinapik asit (Şekil 7) ve ferulik asit (Şekil 8) içermektedir.



Şekil 7. Hidroksisinnamik asitlerin genel yapı formülleri (Nizamoğlu ve Nas 2010)

Hidroksisinnamik asit alt gruplarından olan ferulik asit, bitkilerin hücre duvarında bulunan bir fitokimyasaldır. İlk defa *Ferula foetida*'dan izole edilen ferulik asit 4-hidroksi-3-metoksisinnamik asit yapısını sahip olup (Şekil 8), tahılların, sebzelerin ve meyvelerin hücre duvarlarında yaygın olarak bulunan ve lignin, hidrolize tanenler veya glikozitler (monosakkaritler, disakkaritler veya polisakkaritler gibi) ile kolayca birleştirilen bir fitokimyasaldır (Dülger 2012; Zhang *et al.* 2016).

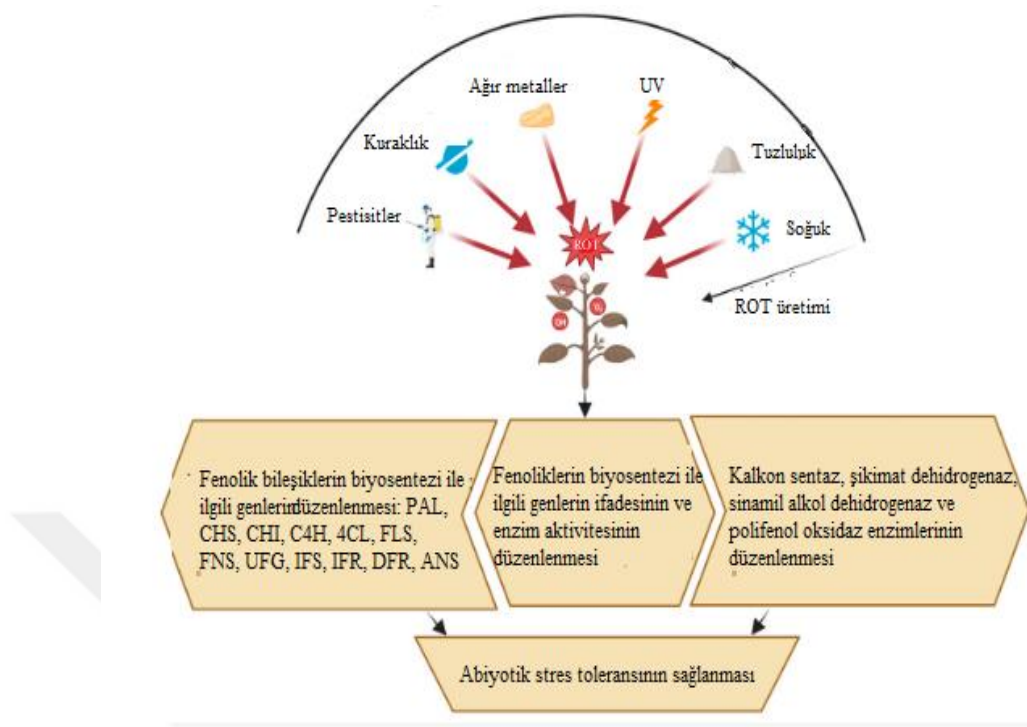


Şekil 8. Ferulik asitin yapısı (Kiokias *et al.* 2020)

Ferulik asit bitkilerde kafeat O- metiltransferaz enziminin etkisiyle kafeik asitten biyosentezlenmektedir. Fenilpropanoid yolağında üretilen ferulik asit, lignin ve hücre duvarındaki diğer yapısal proteinler gibi ferulik asit türevleri ile oksidatif etkileşime girmektedir (Carpita *et al.* 2001). Ferulik asit lignin ve proteinlere eter bağlarıyla, polisakkaritlere ise ester bağlarıyla kovalent olarak bağlanarak hücre duvarındaki polimerler arasında bir bağlayıcı rol oynamaktadır.

Bitkilerde ferulik asit ile ilgili yapılan çalışmalarda ferulik asitin çeşitli stres koşulları altında bitki büyüme ve gelişmesinde önemli rollerinin olduğu tespit edilmiştir. Ferulik asit ile ilgili yapılan çalışmalarda nükleik asitlere ve hücre duvarına zarar veren, süper oksit, nitrik oksit ve hidroksil radikali gibi serbest radikalleri yok ettiği ve sitoprotektif sistemlerin

düzenlenmesi ile stres altında hücre stresi tepkisini artırarak güçlü bir antioksidan görevi yaptığı gösterilmiştir (Mancuso and Santangelo 2014).



Şekil 9. Bitkilerde abiyotik stres toleransına karşı fenolik bileşiklerin biyosentezinde yer alan genlerin ifadelerinin ve enzim aktivitelerinin düzenlenmesinin şematik diyagramı (Kumar et al. 2023)

Tuzluluk stresi bitkilere en çok zarar veren abiyotik streslerden biridir ve fizyolojik, biyokimyasal ve metabolik süreçlerde bozulmalara neden olmaktadır. Doğal metabolitlerin dışarıdan uygulanması, stresin bitkiler üzerindeki olumsuz etkilerini azaltmak için yararlı stratejilerden biridir. Araştırma konusu son yıllarda dünya çapında mevcut olan küresel iklim değişikliği ile birlikte artan kuraklıkla ilişkili olarak ortaya çıkan tuzluluk stresinin, ülkemizde ekonomik yönden zengin olan ve sıklıkla tüketilen fasulyede oluşturduğu fizyo-biyokimyasal ve moleküler etkileri belirlemesi açısından oldukça önemlidir. Bu çalışmada, fasulyede ferulik asitin tuz stresi altında bazı fizyo-biyokimyasal ve metabolizmada etkin rol aldıkları bilinen bazı stres ve antioksidan genleri üzerine etkileri belirlenerek fasulye ıslahına yön verilmesi hedeflenmiştir.

KURAMSAL TEMELLER

Fasulye, yüksek protein ve yağ içeriği ile stratejik öneme sahip bir bitkidir. Tuz stresi fasulye gibi önemli tarım ürünlerinin gelişimini ve verimini olumsuz yönde etkileyebilmektedir.

Canavar *et al.* (2023), soya fasulyesinde uyguladıkları tuz stresi koşullarında (0, 3, 6 dS m⁻¹) özellikle 6 dS m⁻¹ dozunun bitki boyu, taze ve kuru ağırlık, klorofil a, klorofil b içeriği, yaprak kısımlarında bulunan su miktarı üzerinde önemli negatif etkiler yarattığını, ayrıca hücre membranında da ciddi hasarların meydana geldiğini gözlemlemişlerdir.

Özkorkmaz ve Yılmaz (2017), fasulye ve börülcede tuz stresi (50, 100, 150 ve 200 mM) koşullarının çimlenme oranı, radikula uzunluğu, plumula uzunluğu, radikula yaş ve kuru ağırlığı ve plumula yaş ve kuru ağırlığında önemli düşüslere sebep olduğunu gözlemlemişlerdir.

Azeem *et al.* (2023), *Moringa oleifera* bitkisine NaCl (50 ve 100 mM) uygulamasında NaCl miktarı arttıkça büyüme parametrelerinde önemli ölçüde azalmanın görüldüğünü, ayrıca yüksek tuzluluğun H₂O₂ ve MDA miktarını artırdığını belirtmişlerdir.

Oral vd (2020), fasulyede farklı NaCl dozlarının (50, 100 ve 150 mM) kök ve gövde uzunluğu, kök ve gövde yaş ağırlığı, kök ve gövde kuru ağırlığı, yaprak alan indeksi, SPAD indeksi, yaprak dokularında iyon sızıntısı, yaprak dokularında membran dayanıklılık indeksi ve MDA düzeyi gibi çeşitli fizyo-biyokimyasal parametreleri incelemişlerdir. Araştırma sonuçları, tuz stresinin incelenen tüm parametreler üzerinde istatistiksel olarak önemli bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Tuz stresi koşullarının, yaprak dokularında iyon sızıntısı ve MDA dışındaki tüm parametrelerde azalmalara neden olduğu belirlenmiştir.

Buğdayın toleranslı Sakha93 çeşidinde yapılan bir çalışmada 150 mM NaCl stresi altında kontrole kıyasla klorofil pigment içeriğinde azalamaların meydana geldiği gözlemlenmiştir (Al-Ashkar *et al.* 2021). Yapılan başka bir çalışmada ise NaCl stresine maruz bırakılan fasulyede klorofil içeriğinin kontrole kıyasla %42,6 oranında azaldığını belirlemişlerdir (Oral *et al.* 2020).

Peña Calzada *et al.* (2022), soya fasulyesinde NaCl stresi (50 ve 100 mmol L⁻¹) uygulamasında NSİ, transpirasyon oranı, prolin ve osmolit birikimlerinin azaldığını, ayrıca MDA değerinin ciddi ölçüde arttığını belirlemişlerdir.

Dugasa *et al.* (2019), kuraklık (%4 toprak nemi) ve tuz stresi (100 mM NaCl) uygulanan buğdayın bitki büyümesini, biyokütleyi ve fotosentetik oranı ciddi şekilde azalttığını

gözlemlemişlerdir. Ayrıca kuraklık ve tuz stres toleransının kök uzunluğunun artması, yüksek MDA içeriği ve gelişmiş SOD, POD, CAT ve APX kapasiteleri ile yakından ilişkili olduğunu belirlemişlerdir.

Kurt *vd* (2023), tuz stresi uyguladıkları soya fasulyesinde tuz uygulamasının (150 ve 300 mM) bitki gövde uzunluğu, kök, gövde yaş ve kuru ağırlıklarını, yaprak alanını ve klorofil oranını azalttığını, MDA içeriğinin ise arttığını belirlemişlerdir.

Zhu *et al.* (2008), yaptıkları çalışmalarında, tuz stresine hassas olan hıyar bitkisinin yapraklarında NaCl uygulaması ile MDA miktarının arttığını belirlemişlerdir.

Ouertani *et al.* (2022), 200 mM NaCl tuz stresi uyguladıkları arpada SOD, APX, GPX ve GR aktivitelerinin oksidatif hasara karşı yüksek aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir.

Butt *et al.* (2021), biberde NaCl stresi uygulaması ile tuzluluğun bitki taze ve kuru ağırlığını, bağıl su içeriğini, su kullanım verimliliğini, yaprak ozmotik potansiyelini, glisin betain içeriğini, fotosentetik hızı, terleme oranını, stoma iletkenliğini ve klorofil içeriğini önemli ölçüde azalttığı ve MDA ile SOD, POD ve CAT aktivitelerinin önemli ölçüde arttığını belirlemişlerdir.

Dawood *et al.* (2022), 75 ve 150 mM NaCl uyguladıkları fasulyede Cu-Zn SOD, CAT ve GST enzim aktivitelerinin ve genlerinin stres dozu arttıkça arttığını belirlemişlerdir.

Hameid *et al.* (2020), NaCl stresi uygulanan ayçiçeğinde prolin, bazı antioksidan enzim aktivitelerinin ve bazı mineral içeriklerinin azaldığını, H₂O₂, MDA ve sodyum elementinin önemli ölçüde arttığını belirlemişlerdir.

Kaur *et al.* (2016), çeltikte tuza duyarlı ve tuza toleranslı genotiplerin ROT analizinde tuza toleranslı çeşitlerde daha yüksek düzeyde H₂O₂ ve daha düşük düzeyde O₂ içerdiğini gözlemlemişlerdir. ROT üreten enzim olan NADPH oksidazın spesifik aktivitesinin de toleranslı çeşitlerde daha fazla olduğu bulunmuştur. Ayrıca enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sisteminde yer alan çeşitli enzimlerin aktivitelerinin çoğunlukla toleranslı çeşitlerde daha yüksek olduğu görülmüştür. Antioksidan enzimlerin transkript seviyesi analizinin, enzimatik aktivite ile uyumlu olduğu, toleranslı çeşitlerde prolin gibi diğer stres belirteçlerinin daha yüksek olduğu gözlenirken, MDA düzeyinin ve klorofil içeriğinin daha duyarlı olduğu tahmin edilmiştir.

Kaur *et al.* (2017), NaCl stresine (10 dS/m) maruz kalan buğday fidelerine (HD2329 ve Kharchia local) uyguladıkları çeşitli fenolik asitlerin (20 ppm ferulik, 10 ppm kafeik, 10 ppm p-kumarik, 5 ppm salisilik ve 15 ppm sinapik asit) antioksidatif savunma sistemi üzerindeki etkisini belirlemişlerdir. NaCl stresinin daha az toleranslı HD2329 çeşidinde membran

stabilitesini azalttığı, H₂O₂ ve MDA içeriğinin yüksek oranda ROT birikimi ile uyumluluk gösterdiğini belirlemişlerdir. Fenolik asit uygulamalarında ise her iki çeşidin NaCl stresi altındaki buğday fidelerinde elektrolit sızıntısını, H₂O₂ ve MDA içeriğini azalttığı tespit edilmiştir. Ayrıca, CAT ve APX aktivitelerinin, ferulik, kafeik ve sinapik asit uygulamalarında tuz stresi altında ROT kaynaklı oksidatif hasarı önlemede farklı fenolik asitler arasında en etkili oldukları gözlemlenmiştir.

Aydoğan *et al.* (2015), yüksek sıcaklık (46-48 °C) ve NaCl stresinin (0,4 M) fasulyedeki (*P. vulgaris*) etkilerini, özellikle antioksidan enzim aktiviteleri açısından değerlendirmişlerdir. Her iki stres te bitkide benzer tepkilere yol açmıştır. H₂O₂, TBARS, glutatyon, askorbik asit, prolin ve POX gibi oksidatif stres göstergeleri önemli ölçüde artış göstermiştir. Ancak, sıcaklık stresinde azalan glutatyon redüktaz ve CAT üzerindeki etkilerle tuz stresindeki artış arasında kontrast gözlemlenmiştir. POX ve CAT izoformlarında herhangi bir değişiklik tespit edilmemiştir. Büyüme hızı ve taze kütlesi, ilgili kontrollerine göre aynı ölçüde etkilenmiştir. DNA hasarı, tuz stresine kıyasla sıcaklık stresi altında daha belirgin bir şekilde gözlenmiştir. Fasulye bitkisinin tepki mekanizması, her iki stres için ortak olan bazı bileşenleri ve bireysel streslere özgü birkaç bileşeni içermektedir.

Linic *et al.* (2021), çalışmalarında salisilik asit (SA) ve ferulik asidin (FA) (10-100 µM) kısa süreli tuz stresine maruz kalmış (150 mM NaCl, 72 saat) Çin lahanası üzerindeki bazı biyokimyasal etkilerini incelemişlerdir. Tuz stresi, SA ve prolin içeriğinde önemli bir artışa, fenolik bileşenlerde, antioksidan aktivitede ve özellikle PSI fonksiyonunun bozulmasından kaynaklanan fotosentetik performansta azalmaya neden olmuştur. 10 µM konsantrasyondaki SA ve FA uygulamalarının, tuz stresine maruz kalmış bitkilerde yüksek doza kıyasla daha etkili olduğu belirlenmiş, aynı zamanda FA uygulamasının SA'ya kıyasla tuz stresine karşı daha iyi bir iyileştirici etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Yıldızıtugat *et al.* (2019), hidroponik kültürde yetiştirilen buğday fidelerine FA (25 ve 75 µM) ve/veya bor (B) (4 ve 8 mM) ile birlikte uyguladıkları çalışmalarında Bor'un RWC osmotik potansiyel ve prolin içeriğinde azalmaya neden olduğu, FA uygulamasının ise bu parametrelerdeki azalmaları önlediğini gözlemlenmiştir. Ayrıca, FA'nın SOD, CAT ve POX aktivitelerini artırarak stres altında O₂ içeriğini başarılı bir şekilde azalttığı belirlenmiştir. FA uygulamasıyla stresle indüklenen H₂O₂ içeriğini azaltarak lipid peroksidasyonunu önlediği belirlenmiştir.

Shu *et al.* (2021), domateste *Botrytis cinerea* enfeksiyonuna karşı FA uygulamasının etkisini ve potansiyel etki mekanizmalarını araştırdıkları çalışmalarında 100 µM FA ile muamele edilen domatesin *B. cinerea*'ya karşı direnci arttırdığını belirlemişlerdir. Ayrıca, 100

μ M FA ile muamele edilen domatestede fenilalanin amonyalizaz (PAL), polifenol oksidaz (PPO), kitinaz (CHI) ve β -1,3-glukanaz (GLU) aktiviteleri belirgin derecede artış göstermiştir. Ayrıca, FA uygulaması ile nitrik oksit içeriği artırdığı ve bu durumun nitrik oksit sinyal yolu ile bağlı olabileceğini göstermişlerdir.

Shu *et al.* (2022), domatesde yapılan çalışmada soğuğa karşı toleransda etkisine bakılmış ve eksojen FA'nın soğuk hasarın şiddetini azalttığını gözlemlemişlerdir. FA'nın osmotik düzenleyici madde ve antioksidan enzimlerin (APX, POD, SOD ve CAT) aktivitelerini azaltığının, H₂O₂ miktarında artış meydana geldiği belirlenmiştir.

Haloppa and Blum (1991), domates (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. "Ailsa Craig"), salatalık (*Cucumis sativus* L. cv. "Early Green Cluster") ve fasulye (*P.vulgaris* cv. "Oregon 91") dışarıdan uygulanan FA (0,2, 0,4, 0,8 mM) dozları uygulanmış ve domates ve salatalıkta yaprak büyümesini ve su kullanımını inhibe ederken, fasulyede etki meydana getirmediğini belirlemişlerdir.

Rama Devi and Prasad (1996), mısır (*Zea mays* L. cv. Ganga-5) fidelerini FA'nın (0,5 – 3,0 mM) varlığında 8 gün boyunca yetiştirmişlerdir. FA uygulaması ile, sürgün ve kök uzunluğunda ve antioksidan enzim aktivitelerinde (POD, CAT ve IAA) artış gözlemlenmiştir.

Li *et al.* (2013), salatalık fidelerini eksojen olarak uyguladıkları 0,5 mM FA ve %10 polietilen glikol 6000 tarafından indüklenen kuraklık stresine maruz bırakmışlardır. FA uygulaması yapılan salatalık fidelerinde sadece kuraklık stresine maruz kalmış olanlara kıyasla enzim aktivitesinin (CAT, SOD ve guayakol peroksidaz) arttığı, bu durumun ilgili genlerin artan transkript seviyeleri ile uyumlu olduğunu gözlemlemişlerdir. Ayrıca FA uygulaması ile MDA ve H₂O₂ miktarında azalma meydana geldiği gözlemlenmiştir.

Cheng *et al.* (2018), FA uygulamasının yaban mersini (*Vaccinium corymbosum*) bitkisine uygulanarak sıcaklık stresine karşı koruyucu etkisinin olup olmadığını ve bu korumanın potansiyel mekanizmalarını incelemişlerdir. Çalışmada, yaban mersini fideleri 0,6 mM FA ile 1 gün süreyle ön işleme tabi tutulmuş ve sonrasında normal (25/20 °C) veya yüksek (39/30 °C) sıcaklıklara 3 gün boyunca maruz bırakılmıştır. FA uygulaması çeşitli antioksidan genlerin (Fe-SOD, Zn-SOD, Cu-SOD, APX, CAT, guaiacol peroksidaz, glutatyon peroksidaz, monodehidroaskorbat redüktaz, dehidroaskorbat redüktaz ve glutatyon redüktaz) transkripsiyon seviyelerini artırmış, prolin ve çözünür şeker içeriğini yükseltmiş, ayrıca askorbat ve glutatyon seviyelerini artırmıştır. Bu genlerin transkripsiyonları ve metabolit içerikleri, FA uygulanmış bitkilerde sıcaklık stresi altında daha da artmıştır. Ayrıca, FA uygulaması yaban mersinlerinde endojen FA içeriğini yükseltmiş, ROT (süperoksit anyonu, hidrojen peroksit) ve MDA içeriğini azaltmış, NSİ ve osmotik potansiyeli iyileştirmiştir. Sonuç

olarak, FA'nın yaban mersinlerinde sıcaklık stresine karşı koruyucu bir etki gösterdiği ve bu korumanın, antioksidan savunma sistemini güçlendirerek ve osmotik ayarlamalar yaparak gerçekleştiği gösterilmiştir.

Gautier *et al.* (2020), hidroksisinnamik asitlerin, özellikle ferulik asit, kafeik asit ve p-kumarik asitlerin *Fusarium avenaceum*'un büyümesi ve enniatin mikotoksinlerinin (ENN'er) üretimi üzerine inhibe edici etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada, bu bileşiklerin 0,5 mM konsantrasyonda pH 4 ortamında ENN sentezini önemli ölçüde azalttığı gözlemlenmiştir. Ferulik asit, bu asitler içinde en güçlü inhibe edici etkiye sahip olup, bu etki ENN biosentez yollarındaki genlerin ifade düzeylerinin düşük olması ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca, *F. avenaceum* tarafından FA'nın metabolize edilme yolu incelenmiş ve fungal organizmanın bu bileşiği C2-klavuz tipi parçalanma yoluyla metabolize etme kapasitesi ortaya konmuştur. Bu bulgular, ferulik asidin tarım ürünlerinde ENN kontaminasyonunu azaltma potansiyeline sahip çevre dostu bir kontrol stratejisi olarak veya bitki direncinin biyobelirteci olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Li *et al.* (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, FA'nın bitkilerin tuz stresine olan toleransını artırmada olumlu bir etkisi olduğunu, FA'nın tuz stresine maruz kalmış buğday (*Triticum aestivum*) fidelerine uygulanması ile bitkilerin büyüme parametrelerini iyileştirdiği, oksidatif hasarı azalttığı ve antioksidan enzim aktivitelerini artırdığı belirlenmiştir. Bulgular, FA uygulamasının antioksidan savunma sistemini güçlendirebileceğini ve bitkilerin tuz kaynaklı oksidatif stresle başa çıkmasına yardımcı olabileceğini göstermektedir.

Khan *et al.* (2023) tarafından yürütülen bir çalışmada, mısırda tuzlu koşullar altında FA'nın etkileri incelenmiştir. Araştırmacılar, FA uygulamasının, iyon homeostazını düzenleyerek, lipid peroksidasyonunu azaltarak ve hücrel bütünlüğünü koruduğunu, tuz stresinin olumsuz etkilerini hafiflettiğini gözlemlemişlerdir. Çalışma, FA'nın, muhtemelen ROT'ları temizleme rolü aracılığıyla, tuz kaynaklı hasara karşı bir koruyucu madde olarak işlev gördüğünü kanıtlamaktadır.

Ulah *et al.* (2022) tarafından yapılan bir çalışmada buğday ve çeltikte CPP (CXC domain-containing proteins) transkripsiyon faktörleri ailesinin genom çapında tanımlanması, karakterizasyonu ve ekspresyon analizini araştırılmıştır. Toplamda, buğdayda 37 ve çeltikte 11 CPP geni tespit edilmiş ve bu genler yapısal özelliklerine göre beş alt aileye ayrılmıştır. qRT-PCR analizleri kullanılarak, bu genlerin farklı dokularda çeşitli ifade profilleri gösterdiği ve bitki büyüme ve gelişiminde önemli roller üstlenebileceği belirlenmiştir. Ayrıca, sıcaklık, kuraklık ve NaCl gibi abiyotik stres koşulları altında *TaCPP* genlerinin ekspresyon seviyelerinde zamanla değişimler gözlemlenmiştir. CPP proteinlerinin, stres koşulları altında

diğer CPP proteinlerini hedef alarak bitki gelişim süreçlerini teşvik edebileceği sonucuna varılmıştır. Bu bulgular, CPP proteinlerinin abiyotik streslere yanıtta ve bitki gelişiminde kritik rol oynadığını göstermektedir.

Nan *et al.* (2021), üç çay ağacı genomundaki CPP (CXC domain-containing proteins) genlerini tanımlamış, bu genlerin yapılarını, evrimsel farklılıklarını ve ifade modellerini analiz etmişlerdir. *CPP* genlerinin bitki büyümesi, gelişimi ve stres tepkileri üzerinde potansiyel roller oynayabileceği belirlenmiş, ve qPCR deneyleri ile bu genlerin çeşitli dokularda farklı ekspresyon profilleri sergilediği doğrulanmıştır. Bu bulgular, *CPP* gen ailesinin çay bitkilerinin büyüme ve gelişme süreçlerindeki evrimsel ve işlevsel önemini ortaya koymuştur, böylece daha detaylı fonksiyonel karakterizasyonu için temel oluşturmuştur.

Kar (2018), fasulye (*P. vulgaris*) ve nohut (*C. arietinum*) bitkilerinde kadmiyum (Cd) maruziyeti ile indüklenen oksidatif stresin antioksidan savunma mekanizmaları üzerindeki etkilerini incelemiştir. Hidroponik koşullarda yetiştirilen bitkilere farklı konsantrasyonlarda ve sürelerde Cd uygulanarak, hücre içi H₂O₂ ve MDA düzeyleri ölçülmüş, ayrıca metallothionein (MT2), (Cu/Zn-SOD), glutatyon glutatyon redüktaz, CAT ve glutatyon-S-transferaz (GST) gibi antioksidan enzimlerin mRNA ifade düzeyleri analiz edilmiştir. Araştırma sonuçları, Cd maruziyetinin H₂O₂ konsantrasyonunu artırdığını, ancak bu artışın antioksidan gen ekspresyonları üzerindeki etkilerinin zamana ve doza bağlı olarak farklılık gösterdiğini ortaya koymuştur. Özellikle, yüksek H₂O₂ konsantrasyonlarında gen ifadelerinde düşüş gözlemlenmiş, bu durum hücrenin oksidatif durumu ile gen ifade düzeyleri arasındaki ilişkiyi desteklemektedir.

Rezaei *et al.* (2013), arpa (*Hordeum vulgare*) bitkisinde glutatyon S-transferazlar (GST'ler) adlı çok işlevli enzimlerin genetik çeşitliliğini ve kuraklık stresine yanıtını araştırmışlardır. Araştırma kapsamında, arpada 84 GST geni tanımlanmış ve bu genler filogenetik analizlerle sekiz farklı sınıfa ayrılmıştır. Ayrıca, *Arabidopsis* ve çeltikle yapılan karşılaştırmalı analizler, GST'lerin işlevsel çeşitliliğinin monokot ve dikot ayrımından önce evrimleştiğini göstermiştir. Üç farklı arpa genotipi (Yusof, Moroc9-75 ve HS1) üzerinde yapılan deneylerde, kuraklık stresi altında özellikle Phi ve Tau sınıfı GST genlerinin anlamlı düzeyde yukarı regüle olduğu ve Yusof genotipinde GST aktivitesinin diğerlerine göre daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Bu genotip ayrıca lipid peroksidasyonunun en düşük olduğu çeşit olarak belirlenmiş, bu da GST'lerin kuraklık koşullarına tolerans göstermede önemli bir rol oynadığını desteklemiştir. Sonuçlar, GST'lerin arpa bitkisinde detoksifikasyon ve antioksidan savunma mekanizmaları üzerindeki etkilerini ve kuraklık toleransına olan katkılarını vurgulamaktadır.

Yokoi *et al.* (1998), *Arabidopsis* gliserol-3-fosfat O-asiltransferaz (GPAT) genini soğuk direncini artırmak için *Agrobacterium* aracılı gen transfer yöntemi ile çeltik (*Oryza sativa* L.) bitkilerine aktardıkları çalışmalarında, kloroplast membranlarındaki fosfatidilgliserolde doymamış yağ asitleri seviyesinin kontrollere göre %28, fotosentez oranının ise %20 oranında artış gösterdiğini belirlemişlerdir. Bu bulgular, GPAT geninin soğuğa karşı direncin artırılmasında kritik bir rol oynadığını ve çeltikte fotosentez kapasitesinin iyileştirilmesine katkıda bulunduğunu göstermektedir.

Zhu *et al.* (2019), mısırdaki bazı *ZmGPAT* genlerinin özellikle anter gelişiminde bazı önemli roller oynayabileceğini belirlemişlerdir. Özellikle, *ZmGPAT6* geninin fonksiyon kaybının mısırdaki erkek kısırlılığa yol açan anter kütikülü bozuklukları ve anter duvar katmanlarının dejenerasyonu gibi morfolojik değişikliklere sebep olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgular, GPAT gen ailesinin mısırın üreme biyolojisi ve gelişimi üzerindeki etkilerini vurgulamaktadır.

ElSayed *et al.* (2021), 14 gün boyunca 200 mM NaCl ve 150 μ M melatonin uyguladıkları fasulyede (*P. vulgaris* cv. “Royal Nel”) antioksidan enzim genlerinin ifade düzeylerini araştırmışlar ve *Cu/ZnSOD1*, *CAT1* ve *APX* genlerinin ifadelerinin hem melatonin hem NaCl uygulamalarında arttığını, her iki uygulama birlikte yapıldığında ise bu artışın daha fazla olduğunu belirlemişlerdir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Bitki materyali

Çalışmamızda *Phaseolus vulgaris* cv. “Gina” çeşidi bitki materyali olarak kullanılmıştır. Çalışma, Atatürk Üniversitesi Tarımsal Biyoteknoloji Laboratuvarları Koordinatörlüğü Stres Odası’nda hidroponik ortamda yürütülmüştür.

Kullanılan cihazlar ve aletler

Çalışmamızda kullanılan cihazlar ve aletler Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. Çalışmada Kullanılan Cihazlar ve Aletler

Malzeme	Marka
PCR	Thermo Scientific 5020
qPCR	QIAGEN Rotor-Gene Q
pH Metre	Ohaus Starter 3000
Hassas Terazı	Electronic Balance BL-320 H
Steril Kabin	Hedlab X-Pro EN 14175
Derin Dondurucu (-80 °C)	NUAIRE
Derin Dondurucu (-20 °C)	Uğur
Mikropipet Takımı	Eppendorf G15519D
Elektroforez Tankı (Yatay)	Thermo
Elektroforez Akım Sağlayıcı	Thermo
Otoklav	WiseClave WAC-47
Jel Görüntüleme Sistemi	PopBio Vü-F Floresans
Destile Su Cihazı	Milipore
Santrifüj	Beckman Coulter Allegra X-30R
Su Banyosu	Memmert WB-14
Mikrodalga Fırın	Arçelik, MD 891 I
Isıtmalı Manyetik Karıştırıcı	Heidolph MR-Hei Standart
Buzdolabı (2-8°C)	Arçelik 2395 CNMY
NanoDrop Spektrofotometre	Thermo Multiskan Go
Kuru Hava Sterilizatörü	Memmert UN55
Mini Santrifüj	Labnet C1301

Araştırmada kullanılan çözeltiler ve kimyasallar

Sterilizasyon aşamalarında kullanılan kimyasallar

- %70'lik Etil alkol (EtOH)
- %10'luk Sodyum hipoklorit (NaOCl)
- %0,1'lik Dietilprokarbonat (DEPC)

Bitkinin büyüme ve çimlendirilme aşamasında kullanılan kimyasal

Bitkinin büyüme ve çimlenmesinde ¼ oranında Hoagland and Arnon (1938) besin ortamı (Sigma, H2395) kullanılmıştır.

Stres ajanı ve iyileştirici olarak kullanılan kimyasallar

- 200 mM Sodyum klorit (NaCl)
- 0,5 mM, 1 mM ve 2 mM ferulik asit (FA)

Enzim aktivitelerini belirlemede kullanılan kimyasallar

Enzim aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan kimyasallar aşağıda verilmiştir.

- L-metiyonin (Isolab)
- Guaicol (Acros Organics)
- Disodyum fosfat (Na₂HPO₄) (Introgen)
- Nitro mavi tetrazolyum klorür (Sigma)
- Riboflavin (BLDpharm)
- Trikloroasetik asit (Isolab)
- 2-Tiyobarbitürik asit (Isolab)
- Potasyum hidroksit (KOH) (Isolab)
- Potasyum fosfat monobazik (KH₂PO₄) (Sigma)
- Potasyum iyodid (KI) (Sigma)
- Polivinilpirolidon (PVP) (Sigma)
- Potasyum fosfat dibazik (K₂HPO₄) (Sigma)
- Etilendiamin tetra asetik asit (EDTA) (Sigma)
- L-askorbik asit (Sigma)
- Hidrojen peroksit (H₂O₂) (Isolab)

mRNA ifade seviyelerinin belirlenmesinde kullanılan çözeltiler ve kimyasallar

mRNA ifade seviyelerinin belirlenme aşamalarında kullanılan çözeltiler ve kimyasallar Tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 2. mRNA İfade Seviyelerinin Belirlenmesinde Kullanılan Çözeltiler ve Kimyasallar

<i>RNA izolasyonu aşamasında</i>
Trizol reagent (Ambion)
Isopropanol (Sigma)
Kloroform (Amresco)
Nuclease free water (Alfa Easar)
DEPC (Sigma)
Sodyum hipoklorit (NaOCl)
Etanol (Isolab)
<i>cDNA sentezi aşamasında</i>
High-Capacity cDNA Reverse Transcription Sentez Kiti (Thermo)
Nuclease free water
DEPC (Sigma)
Sodyum hipoklorit (NaOCl)
Etanol (Isolab)
<i>qPCR’ da uygulanan kimyasal ve çözeltiler</i>
CYBR Green master mix(Qiagen)
İleri-geri primer
Nuclease free water
DEPC (Sigma)
Sodyum hipoklorit
Etanol

Yöntem

Çalışmada kullanılan parametrelere uygun aşamalar aşağıda belirtilmiştir.

Sterilizasyon aşamalarında kullanılan çözeltilerin hazırlanışı

%1’lik Sodyum hipoklorit (NaOCl) çözeltisinin hazırlanışı

Ticari ACE® marka çamaşır suyu içinde bulunan % 10’luk NaOCl’den 20 ml alınıp, son hacim saf su eklenerek 100 ml’ye tamamlanmıştır.

%70’lik etanol (EtOH) hazırlanışı

%100’lük etanol (EtOH) içerisinden 70 ml alınıp, son hacim saf su eklenerek 100 ml’ye tamamlanmıştır.

%0,1'lik DEPC solüsyonu hazırlanışı

DEPC'den 1ml alınıp son hacim distile su ile 1000 ml'ye tamamlanmış, ardından 20 dk 121°C'de otoklavlanmıştır.

Çalışma ortamının ve kullanılan aletlerin sterilizasyonu

Laboratuvar ortamında çalışmalara başlamadan 15 dk önce kullanılan tüm yüzeylerin (canlı bitki metaryalleri hariç) ve alet ve ekipmanların sterilizasyonu %70'lik etanol ile yapılmıştır. Steril edilen alet ve ekipmanlar steril kabin içine alınıp UV lambası çalıştırılmıştır

Tohumların yüzey sterilizasyonu

Eşit boyutlarda seçilen fasulye tohumlarının yüzey sterilizasyonunu yapmak üzere musluk suyunda yıkanan tohumlar %70'lik etanolde 1 dk bekletilmiş, 3 defa steril saf suda durulanmıştır. Daha sonra tohumlar %1'lik NaOCl'de 10 dk bekletilip, steril saf su ile tamamen NaOCl'dan arınana kadar yıkanmıştır

Bitki çimlendirme ortamlarının hazırlanması

Tohumların çimlendirilmesi için ticari olarak temin edilen Hoagland ve Arnon temel besin ortamı üreticinin protokolü doğrultusunda hazırlanarak kullanılmıştır

Tuz stresi (NaCl) ve iyileştirici olarak kullanılan Trans-ferulik asit (FA) kimyasalının hazırlanışı

NaCl stok çözeltisinin hazırlanışı

Tuz stresi oluşturmak için Hoagland ve Arnon besin ortamına 1 litre için 11,688 g/mol NaCl eklenerek 200 mM NaCl çözeltisi hazırlanmıştır.

Trans-ferulik Asit (C₁₀H₁₀O₄) stok çözeltisi hazırlanışı

0,5, 1 ve 2 mM trans-ferulik asit (FA) çözeltileri hazırlamak için ilk olarak 5 mM FA stok çözeltisi hazırlanmıştır. Bunun için 2,91 g FA tartılmış ve 300 ml sıcak suda çözdürülmüş ve daha sonra toplam hacmi 3 lt'ye tamamlanmıştır. Bu stok solüsyonundan 0,5, 1 ve 2 mM FA çözeltileri hazırlamak için alınan miktarlar tablo 3'de verilmiştir.

Tablo 3. FA Çözeltilerinin Hazırlaması

FA (mM)	5 mM FA çözeltisinden alınan miktar (ml)
0,5	300ml
1	600ml
2	1200ml

Biyokimyasal analizlerde kullanılan çözeltilerin hazırlanışı

Potasyum Hidroksit (KOH) çözeltisini hazırlanışı

0,2 M KOH çözeltisi hazırlamak için 11,12 gr KOH tartılmış ve 1000 ml saf suda kontrollü bir şekilde çözdürülmüştür.

KH₂PO₄ tampon çözeltisinin hazırlanışı

50 ml çözelti için 0,68 gr KH₂PO₄ tartılmış ve suda çözdürülmüştür. Çözelti KOH(0,2 M) ile pH: 6,75'e ayarlanarak 0,15 gr PVP ve 0,014 gr EDTA ilave edilerek hepsi çözdürülmüştür. Tüm maddeler çözüldükten sonra hacim 50 ml'ye tamamlanmıştır.

MDA ve H₂O₂ buffer çözeltisinin hazırlanışı

5 gr Trikloroasetik asit(TCA) bir miktar suda çözdürülmüş ve hacim 100 ml'ye tamamlanmıştır.

MDA buffer çözeltisinin hazırlanışı

0,5 gr TBA ve 20 gr TCA 100 ml son hacim olacak şekilde saf suda çözdürülmüştür.

SOD enzim buffer çözeltisi hazırlanışı

50 mM K₂HPO₄ 2,61 gr tartılmış ve bir miktar suda çözdürülmüş ve pH:7,8'e ayarlanmıştır. 13 mM Metiyonin 0,58 gr, 75 µM NBT 0,018 gr ve 0,1 mM EDTA 0,0087 gr sırasıyla karışıma eklenerek toplam hacim 300 ml'ye tamamlanmıştır. Çözelti ışık almayacak şekilde alüminyum folyo ile kapatılarak +4 °C'de saklanmıştır.

Riboflavin çözeltisinin hazırlanışı

0,038 gr riboflavin bir miktar suda çözdürülmüş ve son hacim 1 L'ye tamamlanmıştır. Çözelti ışıktan etkilendiği için alüminyum folyo ile kaplanarak +4 °C'de saklanmıştır.

APX buffer çözeltisinin hazırlanışı

100 mM K₂HPO₄ 0,87 gr tartılıp bir miktar suda çözdürülmüş ve pH:7'ye ayarlanmıştır. 0,5 mM Askorbik Asit 0,0044 gr ve 0,1 mM EDTA 0,0029 gr ilave edilerek son hacim 50 ml'ye tamamlanmıştır. Enzim ölçümü yapılacağı zaman 2,5 Mm %35'lik H₂O₂ dan 50 ml çözelti için 45 µl eklenmiştir.

H₂O₂ buffer çözeltisinin hazırlanışı

10 mM KH₂PO₄ 0,0272 gr az miktar bir su ile çözündürölüp pH:7'ye ayarlanmıştır. Üzerine 1 M KI 3,32 gr eklenmiş son hacim 10 ml'ye tamamlanmıştır.

H₂O₂ blank (standart) konsantrasyonları hazırlanışı

290 µM H₂O₂ için 2,5 µl H₂O₂ 100 ml'ye tamamlanmıştır.

580 µM H₂O₂ için 5 µl H₂O₂ 100 ml'ye tamamlanmıştır.

870 µM H₂O₂ için 7,5 µl H₂O₂ 100 ml'ye tamamlanmıştır.

POD buffer çözeltisinin hazırlanışı

0,89 gr Na₂HPO₄ tartılmış ve bir miktar suda çözündürölerek pH 5,5'e ayarlanmıştır. Son hacim 50 ml'ye tamamlanlanmıştır. Ölçüm yapılmadan önce 21 µl H₂O₂ ve 30 µl Guaicol eklenmiştir.

Tohum büyüme, gelişim aşamaları ve kimyasalların uygulanması

Steril edilen tohumları çimlendirmek amacıyla içinde perlit bulunan kağıt kaplar içerisine 3'er adet gelecek şekilde tohum ekimi yapılmıştır (Şekil 10). Tohumlar iklimlendirme oda koşullarında 16 saat ışık 8 saat karanlık periyodunda 25±1°C'de 15 gün boyunca çimlendirilmiştir. Kullanılan ışık kaynağı floresan lambası olup ışık yoğunluğu 300 µmol/m²s olarak ayarlanmıştır. Fasulye fidelerinin kotiledon yaprakları büyüyüp yatay bir konuma geldikten sonra ve ilk gerçek yapraklar görölmeye başladığında, hidroponik sistemde yetiştirmek üzere fideler saksılara aktarılmıştır.

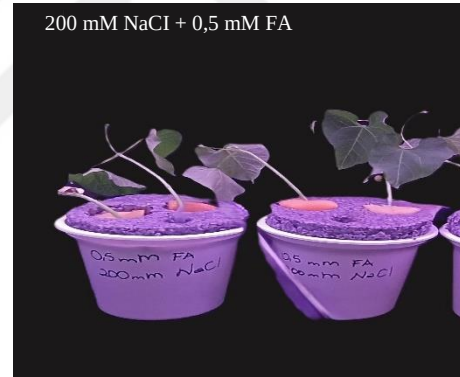
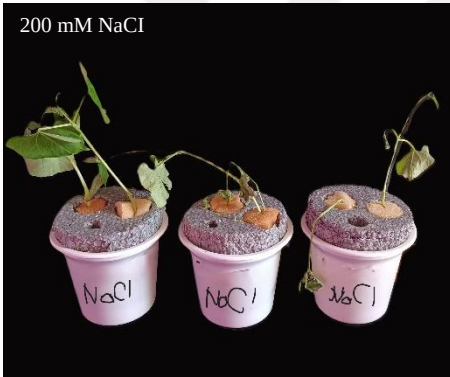
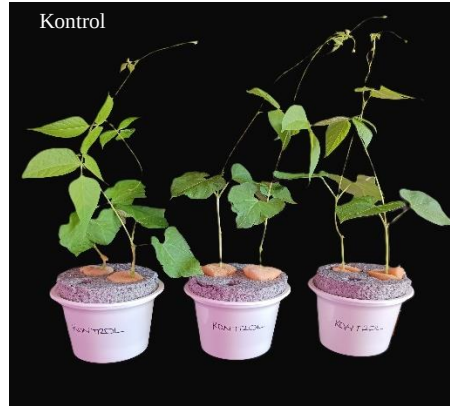


Şekil 10. Fasulye fidelerinin perlitte gelişim aşamaları

Araştırmada oksijen desteği sağlamak için hava pompa sisteminden yararlanılmıştır. Fasulye fidelerine hoagland besin çözeltisi içerisinde hazırlanan 200 mM NaCl ve 0,5, 1 ve 2 mM FA dozlarının kombinasyonlarını içeren solüsyonlar uygulanmıştır. Herhangi bir uygulama yapılmayan grup ise kontrol grubu olarak adlandırılmıştır. Bu gruba sadece su verilmiştir. Fasulye fideleri 7 gün boyunca belirtilen solüsyonlarda büyütülmüştür (Şekil 11). Araştırmamız, tamamen rastgele deneme planına uygun olarak, her biri 3 bitki içeren 3 tekerrürlü toplam 8 uygulama ile kurulmuş olup 24 adet saksı oluşturulmuş ve çalışmada kullanılan kombinasyonlar aşağıda (Tablo 4) verilmiştir. Araştırma örnekleri toplam 22. gün sonunda hasat edilmiştir (Şekil 12).



Şekil 11. Hidroponik ortamdaki fasulye fideleri



Şekil 12. 0,5, 1 ve 2 mM FA ve 200 mM NaCl doz uygulamaları

Tablo 4. Çalışmada Uygulanan Kombinasyonlar

	Kontrol	0.5 mM FA	1 mM FA	2 mM FA
Kontrol	Kontrol	0.5 mM FA	1 mM FA	2 mM FA
200 mM NaCl	200 mM NaCl	200 mM NaCl + 0.5 mM FA	200 mM NaCl + 1 mM FA	200 mM NaCl + 2 mM FA

Araştırmada incelenen konular***Morfolojik parametreler***

Araştırmada aşağıda ayrıntıları verilen morfolojik parametreler incelenmiştir.

Kök uzunluğu (cm)

Her bir uygulamaya ait bitki örneklerinden rastgele seçilen her tekerrürden 3 bitkinin kök başlangıcından kök ucuna kadar olan kısım metrik cetvel ile ölçülmüştür. Sonuçlar santimetrik olarak kaydedilmiştir.

Sürgün uzunluğu (cm)

Her bir uygulamaya ait bitki örneklerinden rastgele seçilen her tekerrürden 3 bitkinin sürgün başlangıcından sürgün büyüme ucuna kadar olan kısım metrik cetvel ile ölçülmüş ve sonuçlar santimetrik olarak kaydedilmiştir.

Kök yaş ve kuru ağırlığı (g)

Uygulamaların yapıldığı her tekerrürden alınan rastgele 3 bitki çeşme suyu altında yıkanmış ve kök kısımlarının ağırlıkları hassas terazide ölçülmüş ve yaş ağırlıkları belirlenmiştir. Köklerin yaş ağırlığı ölçüldükten sonra 72°C’de 48 saat süreyle kurutularak nem olmayan ortamda ağırlıkları ölçülerek g olarak kuru ağırlığı belirlenmiştir.

Sürgün yaş ve kuru ağırlığı (g)

Uygulamaların yapıldığı her tekerrürden alınan rastgele 3 bitki sürgünleri köklerinden ayrılmış yaş ağırlıkları hassas terazide ölçülerek belirlenmiştir. Sürgünlerin yaş ağırlığı ölçüldükten sonra 72°C’de 48 saat süreyle kurutularak nem olmayan ortamda ağırlıkları ölçülerek g olarak kuru ağırlığı belirlenmiştir.

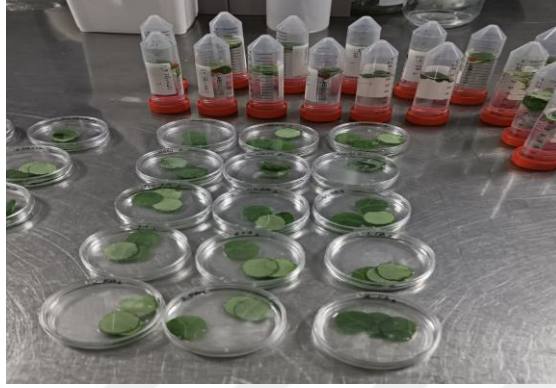
Biyokimyasal analizler***Yaprak nispi su içeriği (YNSİ) (%)***

Uygulamaların yapıldığı her tekerrürden alınan yaprak örneklerinin hassas terazide gr olarak yaş ağırlıkları (YA) ölçülmüştür. Ardından aynı örnekler 4 saat boyunca petri kaplarında

saf su içerisinde bekletilmiş (Şekil 13) ve süre sonunda yeniden tartılarak turgor ağırlıkları (TA) belirlenmiştir. Yine aynı örnekler 80°C'de etüvde 48 saat boyunca kurutulduktan sonra tekrar ölçümleri yapılarak kuru ağırlığı (KA) bulunmuştur.

Yaprak nispi su içeriğinin formülü aşağıdaki gibidir (Barr and Weatheriey 1962).

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



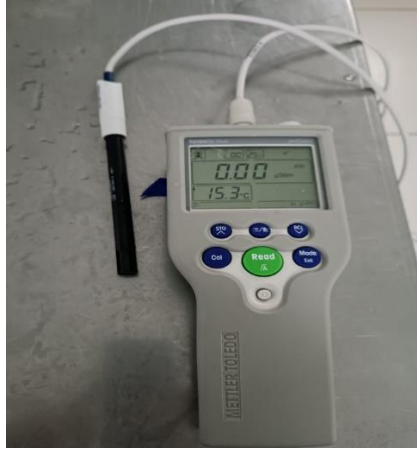
Şekil 13. Yaprak nispi su içeriği için alınan örnekler

Hücre membran hasarı (%) (HMH)

Yaprak örnekleri, 1 cm çapında kesilerek içinde 40 ml steril saf su bulunan falkon tüplerine transfer edilip 25°C'de 24 saat boyunca bekletilmiştir. Bu işlemin ardından, EC₁ değeri, Mettler-Toledo marka EC metre (Şekil 14) ile hesaplanmıştır. Daha sonra bitki örnekleri, otoklava konularak (121°C'de 20 dk) soğuma miktarı 25°C'ye geldikten sonra, EC metre ile bu defa EC₂ değeri ölçülmüştür (Lutts *et al.* 1996).

Hücre membran hasarı; ölçülen EC₁ ve EC₂ değerlerinden yararlanılarak aşağıda formül ile hesaplanmıştır.

$$\text{HMH (\%)} = (EC_1/EC_2) \times 100$$



Şekil 14. EC metre cihazı

Klorofil içeriği (SPAD)

Her uygulama için rastgele seçilen her bitkinin tekerrüründe, en üst yaprağın orta damarına gelmeyecek şekilde tam orta kısımları, klorofil miktarını belirlemek amacıyla SPAD-502 Plus cihazı (Şekil 15) kullanılarak SPAD değeri olarak ölçülmüştür



Şekil 16. SPAD-502 Plus cihazı

Lipid peroksidasyonu (Malondialdehit- MDA) ölçümü

Lipid peroksidasyonun son aşaması MDA miktarı olarak adlandırılır. MDA ölçümü için her tekerrürden 0,2 gr bitki örneği soğutulmuş havana alınarak iyice sıvı azot ile toz haline getirilerek 5 ml olacak şekilde %0,1 TCA ile homojenize edilmiştir. Ardından homojenize edilen örnekler 2 ml'lik mikrosantrifüj tüplere alınarak 4°C 15.000 rpm'de 15 dk süreyle santrifüj edilmiştir. Örneklerin süpernatant kısımlarından 1 ml alınarak cam tüplere aktarılmıştır. Santrifüj işleminden sonra tüplere 4 ml olacak şekilde %20 TCA bulunan %0,5 TBA solüsyonu örnekler içerisine ilave edilmiştir. Tüplerde bulunan örnekler daha sonra su banyosunda 95-100°C'ye konularak 45 dk bekletilmiştir. Ardından örnekler 1-2 dk oda

sıcaklığında, 10 dk buzlu su içerisinde soğutularak ependorf tüplere alınmıştır. Örnekler oda sıcaklığına getirildikten sonra plate kuyularına yüklenerek nanodrop spektrofotometre cihazında dalga boylarında absorbansları okunmuştur (Shams 2019).

Hidrojen peroksit (H_2O_2) ölçümü

H_2O_2 ölçümü için her tekerrürden toplam 0,2 g bitki örneği alınarak soğuk havan içinde sıvı azot ile öğütülmüş ve ardından 5 mL TCA (%1) çözeltisi ile homojenize edilmiştir. Daha sonra homojenize edilen örnekler yeni 2 mL'lik ependorf tüplere alınarak 4°C 15.000 rpm'de 15 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda üst faz yeni 2 mL'lik ependorf tüplere aktarılacak +4°C'de birkaç dk bekletilmiştir. Daha sonra plate kuyularına yüklenerek 390 nm dalga boyunda absorbans değeri okunmuştur.

Süperoksit dismutaz (SOD) ölçümü

SOD ölçümü için her tekerrürden 0,2 gr taze bitki örnekleri önceden soğutulmuş havan içine alınarak iyice sıvı azot ile örnekler ezilerek soğuk zincir bozulmadan örnekler içerisine 2 ml KH_2PO_4 tamponu ilave edilmiştir. Ezilen örnekler sıvı hale gelince 2 ml'lik steril ependorf tüplere aktarılmış ve -20°C'de saklanmıştır. Tüm örneklerin ezme işlemi bitirildikten sonra örnekler oda sıcaklığında çözündürülmüş +4 °C'de 15000 rpm'de 15 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüjlenen örneklerin üst fazı (supernatant) yeni ependorf tüplere aktarılmıştır. Daha sonra plate yüklemesi yapılmıştır. Riboflavin buffer ışık olmayan ortamda en son eklenmiş daha sonra 10 dk ışık kaynağı altında tutularak 560 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülmüştür.

Peroksidaz (POD) ölçümü

POD ölçümü için her tekerrürden 0,2 gr taze bitki örnekleri önceden soğutulmuş havan içine alınarak iyice sıvı azot ile örnekler ezilerek soğuk zincir bozulmadan örnekler içerisine 2 ml KH_2PO_4 tamponu ilave edilmiştir. Ezilen örnekler sıvı hale gelince 2 ml'lik steril ependorf tüplere aktarılmış ve -20°C'de saklanmıştır. Tüm örneklerin ezme işlemi bitirildikten sonra örnekler oda sıcaklığında çözündürülmüş +4°C'de 15000 rpm'de 15 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüjlenen örneklerin üst fazı (supernatant) yeni ependorf tüplere aktarılmıştır. Örnekler plate kuyularına yüklenerek 470 nm absorbans değerinde 1 dk boyunca 15 sn aralıklarla absorbans değerleri ölçülmüştür.

Askorbat peroksidaz (APX) ölçümü

APX ölçümü için her tekerrürden 0,2 gr taze bitki örnekleri önceden soğutulmuş havan içine alınarak iyice sıvı azot ile örnekler ezilmiş, soğuk zincir bozulmadan örnekler içerisine 2 ml KH_2PO_4 tamponu ilave edilmiştir. Ezilen örnekler sıvı hale gelince 2 ml'lik steril ependorf

tüplere aktarılmış ve -20°C’de saklanmıştır. Tüm örneklerin ezme işlemi bitirildikten sonra örnekler oda sıcaklığında çözündürülmüş +4°C’de 15000 rpm’de 15 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüjlenen örneklerin üst fazı (supernatant) yeni ependorf tüplere aktarılmıştır. Örnekler plate kuyularına yüklenerek 290 nm absorbands değerinde 3 dk boyunca 30 sn aralıklarla absorbands değerleri ölçülmüştür.

Moleküler analizler

RNA İzolasyonu

NaCl stresi ve 0,5, 1 ve 2 mM FA uygulanan bitki örneklerinin yaprak kısımlarından RNA izolasyonları TRI reagent® (Sigma, T9424) üretici firmasının talimatları kullanılarak yapılmıştır.

İşlemlere başlamadan önce kullanılacak tüm ortam ve ekipmanlar %70’lik EtOH ve DEPC ile steril edilmiştir. 50-100 mg tartılan bitki örnekleri porselen havan içerisinde sıvı azot içerisinde soğuk zincirin bozulmamasına dikkat edilerek ezilmiş ve 2 m’lik ependorf tüplerin içerisine koyularak sıvı azota bırakılmıştır. Tüpler sıvı azot içerisinden alınarak 1 ml Trizol reaktifi ilave edilmiştir. Trizol reaktifi örneklerle eklendikten sonra örnekler nükleoprotein komplekslerinin tamamen ayrışmasını sağlamak için vortekslenerek oda sıcaklığında 5 dk bekletilerek 30 saniye süresince bekletilmiştir. Mikrosantrifüj tüpleri içerisinde bulunan her bir bitki örneği içerisine 200 µl kloroform eklenmiştir. Kapaklar sıkıca kapatılarak hızlı bir şekilde elle 15 saniye karıştırılarak oda sıcaklığında 2-3 dakika bekletilmiştir. Bu işlem sonunda tüpler 20 dk 4 °C’de 15000 rpm’de santrifüj edilmiştir. Üstte kalan faz steril 2 ml mikrosantrifüj tüplerine aktarılmıştır. RNA’nın çökmesi için mikrosantrifüj tüplerine 500 µl izopropanol eklenmiştir. Daha sonra bitki örnekleri 20 dk -20°C’de muhafaza edildikten sonra oda sıcaklığında 10 dakika boyunca inkübe edilmiştir. Bitki örnekleri 10 dk 4 °C’de 15000 rpm’de santrifüj edilmiştir. Santrifüj edilen örneklerin üst fazı atılarak tüpün dibinde kalan RNA peleti üzerine 1 ml EtOH (%75) ilave edilip yıkama işlemi yapılmıştır. Bitki örnekleri 1000 rpm’de 4 °C’de 5 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi bittikten sonra mikrosantrifüj tüpleri üzerinde kalan üst faz dökülüp EtOH’ın uzaklaşması için oda sıcaklığında yaklaşık 45 dk kurumaya bırakılmıştır. RNA örnekleri kuruduktan sonra 30 µl RNase Free Water ile çözündürülmüş ve 10 dk 55-60°C’de bekletildikten sonra çalışma yapıncaya kadar -80 °C’de saklanmıştır. Nanodrop’ta A_{260/280} O.D. değerleri kullanılarak elde edilen RNA miktarları belirlenmiştir.

cDNA Analizi

cDNA sentezi için üretici firma High-Capacity cDNA Reverse Transcription cDNA Sentez Kiti (K1621, Thermo Scientific) protokolüne göre şu işlemler uygulanmıştır. Steril PCR

tüplerine 1 µg RNA konsantrasyonuna karşılık gelen µl değerlerinde hesaplanan RNA miktarları konulmuştur. RNA örneklerinin miktarı son hacim 10 µl olacak şekilde RNase free water ilave edilmiştir. Bir örnek için sentez kiti içeriğindeki 10X RT Buffer'dan 2 µl, 25 X dNTP Mix'ten 0,8 µl, 10 X RT Random Primers'den 2 µl, MultiScribe™ Reverse Transcriptase'dan 1 µl ve RNase free water'dan 4,2 µl olacak şekilde mix hazırlanmış ve RNA içeren tüplere ilave edilmiştir. PCR cihazına yerleştirilen örneklerle Tablo 10'da verilen PCR döngü basamakları uygulanmıştır. PCR ürünleri eşit miktarlarda 10 mM Tris-HCl (pH:8.0) ve 0,1 mM EDTA çözeltileri kullanılarak qPCR işlemleri için seyreltilmiş ve -20 °C'de saklanmıştır.

Tablo 5. cDNA Sentezi PCR Döngü Basamakları

PCR Döngü Basamakları	İşlem
25 °C / 10 dk	Primer bağlanması
37°C / 120 dk	Ters transkripsiyon
85 °C / 5dk	İnaktivasyon
4 °C	Soğutma

qPCR (Kantitatif PCR) analizi

qPCR işlemleri için RT2 qPCR SYBR Green Mastermix Kiti (Qiagen) kullanılmıştır. Üretici firmanın protokolüne göre hazırlanmış master mix reaktif karışımı Tablo 6'daki gibidir.

Tablo 6. qPCR Analizinde Kullanılan Kimyasallar

Reaktif bileşenleri	Miktarları
SYBR Green Mastermix	12,5 µl
İleri Primer (0,3 µM)	1 µl
Geri Primer (0,3 µM)	1 µl
cDNA	5 µl
Son Hacim	20 µl

Karışım, PCR tüplerine transfer edildikten sonra Qiagen Rotor Gene cihazına yerleştirilmiştir. 95°C'de 5 dk başlangıç denatürasyonu ardından, 50 döngü boyunca sırasıyla 95°C'de 5 saniye, primerlerin bağlanma sıcaklıklarına göre 55°C'de 10 saniye ve 72°C'de 1saniye tutulmuştur.

Primerlerin hazırlanması

Çalışmamızda ifade analizini belirlemek üzere seçtiğimiz genlerden *PvCPP5* (Rakhimzhanova *et al.* 2023), *PvGSTU3*(Muslu *et al.* 2023), *PvGPAT9*(Kasapoğlu *et al.*

2024), *PvSOD* ve *PvAPX* (El-Sayed *et al.* 2021) genlerine ait ileri ve geri primer baz dizilimleri belirtilen kaynaklardan alınmıştır. Referans gen olarak *actin*(*ACT*) geni kullanılmıştır.



Tablo 7. Primerlerin Dizilimi

Genler	Primerler	Baz Dizilimleri (5' -> 3')
<i>PvCPP5</i>	İleri primer	GAGAAGACTGTGGCTGATGATT
	Geri primer	GGAGACATTGGCCTTCCTTT
<i>PvGSTU3</i>	İleri primer	TCAGGGTTGGTTCAAGGTTTAG
	Geri primer	CAGTGTGACTCCCTCTTCTTATTC
<i>PvGPAT9</i>	İleri primer	ACAACCGTTTCAAGACCCGA
	Geri primer	AGTGGGTCAAGCAAGGTTCT
<i>PvSOD</i>	İleri primer	GGTGGAGGATCTCGTGCTTAC
	Geri primer	GTTGGGCCATTTCCCTCCTG
<i>PvAPX</i>	İleri primer	TTCAGCCTGCCCTCTGACAAG
	Geri primer	ATTGGGCAAACACACCCTCA
<i>Actin(ACT)</i>	İleri primer	ACCTTCAGTTGCCAGCAAT
	Geri primer	GTCATAACACGAGCTGAGAC

Verilerin değerlendirilmesi ve analizi

Araştırmada incelenen bitki büyüme, fizyo-biyokimyasal karakterlere ait veriler tam şansa bağlı deneme planına göre 3 tekerrür x 8 kombinasyon faktöriyel düzeninde SAS 9.3 genel linear modelde tek yönlü varyans analizine tabi tutulmuştur. Ortalamalar arasındaki farklar %5 önem seviyesinde Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir. Ayrıca *PvCPP5*, *PvGSTU3*, *PvGPAT9*, *PvSOD* ve *PvAPX* genlerine ait ifade profilleri ile kontrol profilleri, *Actin* kullanılarak karşılaştırılmıştır. Gen ifadesi analizi sonucunda, örneklerin eşik (threshold) değerleri belirlenmiştir. qPCR veri sonuçlarına göre örneklerin Ct değerlerine ait standart sapmalar, Microsoft Excel programı yardımıyla hesaplanmıştır. İstatistiksel olarak belirlenen veriler, $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (Livak and Schmittgen 2001) yöntemi kullanılarak oransal hesaplama algoritması ile belirlenmiştir.

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Dünyada protein içeren gıdaların tüketimi artan nüfusa paralel olarak artmaktadır. Baklagil grubunun bir üyesi olan fasulye, mineral maddeler, vitaminler, protein, karbonhidrat, antioksidan ve lif kaynağı bakımından oldukça zengindir (Didinger *et al.* 2022). Fasulye yetiştiriciliği nemli hava koşullarında daha etkili bir şekilde yapılabilmekte iken küresel iklim değişikliği sebebiyle su kaynaklarının azalması kuraklık oluşumunu tetiklemekte ve fasulye üretiminin azalmasına neden olmaktadır. Kurak ve yarı kurak alanlarda osmotik stresin etkisiyle tuzluluk stresi ortaya çıkmaktadır. Tuzluluk stresi bitkilerde bir takım morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler değişimlere neden olmaktadır (Balasubramaniam *et al.* 2023). Son yıllarda yapılan çalışmalarda abiyotik stresin olumsuz etkilerini hafifletebilecek doğal metabolitlerin bitkilere uygulanmasına yönelik çalışmalar önem kazanmaktadır. Bu metabolitlerden biri olan ferulik asitin eksojen uygulamasının, bitkilerde stresin olumsuz etkisini azaltarak iyileştirici bir etkiye sahip olduğu bilinmektedir.

Çalışmamızda *P.vulgaris* cv “Gina” çeşidinde tuz (200 mM NaCl) stresi altında FA farklı dozlarının (0,5 mM, 1 mM ve 2 mM) kök ve yaprak dokularında fizyo-biyokimyasal ve moleküler değişimler üzerine etkileri incelenmiştir. Araştırma sonucunda çalışmada incelenen tüm karakterler üzerine uygulamanın etkisinin önemli ($p<0,01$) olduğu tespit edilmiştir (Tablo 8). Elde edilen veriler aşağıda ayrıntılı olarak açıklanmıştır.

Tablo 8. Varyasyon Analiz Tablosu

Karakterler	Kareler Ortalaması	
	Uygulama (SD=7)	Hata (SD=16)
Kök Uzunluğu	11,3180**	0,052
Kök Ağırlığı	0,0990**	0,004
Sürgün Uzunluğu	146,700**	0,296
Sürgün Ağırlığı	0,763**	0,035
YNSİ	1345,456**	0,769
SPAD	17,589**	0,106
HMH	1318,478**	0,112
SOD	665,747**	6,886
POD	36,757**	0,020
APX	10,819**	0,004
H ₂ O ₂	429039,047**	416,094
MDA	0,175**	0,002

** : önemli ($p<0,01$)

Morfolojik Parametreler

Kök ve sürgün uzunluğu (cm) / ağırlığının belirlenmesi (g)

Fasulye, tuz stresi altında köklerinden su alımının engellenerek büyüme ve gelişiminin azalma göstermesi ile tuz stresine duyarlı baklagiller arasında yer almaktadır. Çalışmamızda, NaCl uygulaması ile bitki büyüme parametrelerinde (kök ve sürgün uzunluğu/ağırlığı) belirgin bir azalmanın meydana geldiği belirlenmiştir (Tablo 14). NaCl stresi altında kök uzunluğunda kontrole kıyasla %5,69'luk bir azalma meydana gelirken, sürgün uzunluğunda ise %41,52 oranında bir azalma gözlemlenmiştir. Yine, stres altında kök ağırlığında %41,40 oranında bir azalma, sürgün ağırlığında ise %60,65'lik bir azalma meydana gelmiştir (Tablo 14). El-Flaah *et al.* (2021), tuz stresine maruz kalan bakla bitkilerinde yaptıkları çalışmalarında, kök ve sürgün uzunluğunun önemli ölçüde azaldığını belirtmişlerdir. Farhangi *et al.* (2017), 6 ve 12 dSm⁻¹ NaCl stresi altında fasulyenin (*P.vulgaris* cv. "Derakhshan") kök ve sürgün kuru ağırlıklarının stres dozu arttıkça azaldığını gözlemlemişlerdir. Tuzluluğun kök/gövde oranını olumsuz etkilediği ve toprak üstü kısımlarının köklerden daha fazla etkilendiği bilinmektedir (Munns and Tester 2008). Nitekim çalışmamızda NaCl stresi altında sürgün uzunluğunun kök uzunluğuna göre daha yüksek oranda azaldığı tespit edilmiştir.

Bunun yanı sıra, çalışmamızda tek başına 0,5, 1 ve 2 mM FA uygulamalarının kontrole kıyasla kök uzunluğunda sırasıyla %19,24, %43,9 ve %7,58 oranlarında artışa neden oldukları belirlenmiştir (Tablo 14). Sürgün uzunluğunun ise 0,5 mM FA uygulaması ile çok fazla etkilenmediği (%0,75), 1 ve 2 mM FA dozlarının uygulanması ile sırasıyla %8,06 ve %10,63'lük bir artışın meydana geldiği belirlenmiştir (Tablo 14). Kök ve sürgün ağırlıkları ölçümlerinde ise tek başına FA uygulamalarının tüm dozlarının kontrole kıyasla kök ve sürgün ağırlıklarını artırmada genel olarak çok fazla etkili olmadıkları, ancak 1 mM FA uygulamasının kök ağırlığının artmasında daha etkili olduğu (%26,85) belirlenmiştir. Benzer bulgular Gorni *et al.* (2021)'in domateste 1 mM L⁻¹ FA ve salisilik asit uygulamaları sonucunda elde edilerek, her iki fenolik asitinde bitki kök ve gövde boyunun uzamasında etkili oldukları ancak FA uygulamasının bitki boyunun uzamasında salisilik asitten daha etkili olduğunu, ayrıca total biyokütleyi çok fazla artırmadıkları sonucuna varılmıştır.

Yine benzer olarak, Sharma *et al.* (2015), 100 ve 150 ppm FA uygulamaları yaptıkları buğdayda kök ve sürgün uzunluklarının 100 ppm FA dozunda daha fazla arttığını, FA'nın daha yüksek dozlarında daha az oranlarda artışa sebep olduğunu belirlemişlerdir.

Çalışmamızda, NaCl ve FA uygulamalarının birlikte yapıldığı örneklerde genel olarak 1 mM FA dozunun NaCl stresinin etkisini ortadan kaldırarak kök ve sürgün uzunluklarında daha etkili bir artışa neden olduğu (sırasıyla %34,74 ve %26,21), 2 mM FA dozunun ise diğer

dozlara kıyasla kök ve sürgün uzunluklarında daha az oranda artışlara (sırasıyla %16,63 ve %14,91) neden olduğu belirlenmiştir (Tablo 14). Kök ve sürgün ağırlıkları ölçümlerinde ise NaCl ve FA uygulamalarında FA'nın tüm dozlarının kök ve sürgün ağırlıklarını artırmada çok etkili oldukları, ancak 2 mM FA uygulamasının NaCl stresinin etkisini azaltarak kök ve sürgün ağırlığının artmasında daha etkili olduğu (sırasıyla %91,30 ve %105,2) belirlenmiştir (Tablo 9).

Tablo 9. NaCl ve FA Dozları Uygulamalarının Fasulyede Kök/Sürgün Uzunlukları ve Kök/Sürgün Ağırlık Değerleri¹

Uygulama	Kök Uzunluğu (cm)	Kök ağırlığı (g)	Sürgün uzunluğu (cm)	Sürgün ağırlığı (g)
Kontrol	12,30 ^e	0,797 ^c	36,37 ^b	2,44 ^a
0,5 mM FA	14,67 ^c	0,946 ^{ab}	36,63 ^b	1,99 ^b
1 mM FA	17,70 ^a	1,011 ^a	39,30 ^a	2,44 ^a
2 mM FA	13,23 ^d	0,911 ^{ab}	32,50 ^c	2,05 ^b
NaCl	11,60 ^f	0,467 ^e	21,27 ^g	0,96 ^d
0,5 mM FA + NaCl	13,60 ^d	0,677 ^d	23,00 ^f	1,49 ^c
1 mM FA + NaCl	15,63 ^b	0,659 ^d	27,03 ^d	1,54 ^c
2 mM FA + NaCl	13,53 ^d	0,881 ^{cb}	24,43 ^e	1,97 ^b
Ortalama	14,03	0,794	30,07	1,86
VK%	1,61	7,80	1,80	10,02

¹: Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.

Biyokimyasal Parametreler

Yaprak nispi su içeriğinin belirlenmesi (YNSİ)

Bitkilerde tuz stresi ile ortaya çıkan osmotik stres, bitkinin su alımını kısıtlayarak NSİ'de azalmaya ve redoks dengesizliğine yol açmaktadır. NSİ, bitkilerde su durumunun bir ölçüsü olarak kabul edilen, dokulardaki metabolik aktiviteyi yansıtan ve dehidrasyon toleransında zıt farklılıklara sahip baklagilleri tanımlamak için kullanılan en anlamlı indekstir. Çalışmamızda NaCl uygulaması ile YNSİ'de kontrole kıyasla %26,57 oranında bir düşüş meydana geldiği belirlenmiştir. Ghogdi *et al.* (2012), tuza toleranslı ve hassas ekmeklik buğday çeşitlerine uyguladıkları 1:10 oranında kalsiyum klorit ve sodyum kloritle oluşturulmuş 4 farklı doz (1,3, 5, 10 ve 15 dSm⁻¹) ile strese maruz bırakmışlardır. Her iki çeşitte de tuz stresi NSİ'de azalmaya neden olmuş ve bu azalışın duyarlı genotiplerde daha fazla olduğu belirlenmiştir. Yine, Chahine *et al.* (2013), 100 mM NaCl stresi uyguladıkları makarnalık buğday çeşitlerinde incelenen tüm genotiplerde tuz stresinin NSİ'de düşüşe sebep olduğunu tespit etmişlerdir. Başka bir çalışmada, NaCl stresi altında, tuzluluğa ve kuraklığa dayanıklı olan *P.acutifolius* A. Gray ve hassas *P.vulgaris* fasulye çeşitlerinde artan tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak hassas

çeşidin NSİ'de azalma meydana geldiği tespit edilmiştir (Yurekli vd 2004). Su, bitki hücrelerinin önemli bir bileşenidir ve bitki büyümesine ve gelişmesine katkıda bulunan hemen hemen tüm fizyolojik ve biyokimyasal süreçleri desteklemektedir. Yüksek tuz konsantrasyonu, köklerin su iletkenliğini azaltarak (Meng *et al.* 2018) ve hücresel düzeyde nispi su içeriğini etkileyerek (Saha *et al.* 2015) suyun topraktan bitkilere hareketini engellemektedir. Çalışmamızda, tek başına FA uygulamalarında YNSİ'nin kontrole yakın değerlerde seyrettiği (yaklaşık %85) tespit edilmiştir (Tablo 10). Yine, araştırmamızda NaCl stresi altında FA uygulamalarının stresin YNSİ'de neden olduğu azalışı artırarak bu oranı ciddi şekilde etkilediği belirlenmiştir. NaCl ile birlikte uygulanan 2 mM FA uygulamasının YNSİ'de %88,49'luk bir artışa neden olduğu tespit edilmiştir (Tablo 10). FA'nın YNSİ'de iyileştirmeye neden olması bitkilerde prolin gibi osmolitlerin birikimini indükleyerek osmotik dengeyi ayarlaması ile ilişkilendirilebilir (El-soud *et al.* 2013).

Klorofil içeriğinin belirlenmesi (SPAD)

Tuz stresi bitkilerde fotosentetik aktiviteyi azaltarak fotosentetik pigmentlerin ve bitki yapraklarında total klorofil içeriğinin azalmasına neden olmaktadır (Kahn 2003). Çalışmamızda NaCl stresinin SPAD değerinde 34,46 oranında bir değere sahip olduğu tespit edilmiştir (Tablo 10). Fasulyede tuz stresi uygulamasının SPAD değerini düşürdüğü pek çok çalışmada kanıtlanmıştır (Meganid *et al.* 2015; Azimychetabi and Sabokdast 2021; Keles *et al.* 2019). Tuz stresi altındaki bitkilerde klorofil seviyelerindeki azalma, oksidatif stresin tipik bir belirtisi olarak bilinmektedir ve oksidatif stresin etkisiyle klorofilaz enziminin aktivasyonu ile klorofil sentezinin inhibisyonuna ve klorofil pigmentlerinin azalmasına neden olmaktadır (Yıldız vd. 2010; Taibi *et al.* 2016).

Bunun yanı sıra, tek başına FA uygulamalarında SPAD değeri kontrolde 41,33 iken, 0,5, 1 ve 2 mM FA uygulamalarında sırasıyla 40,23, 38,43 ve 37,60 olduğu gözlemlenmiştir. Yine çalışmamızda FA'nın NaCl ile birlikte uygulanmasında ise olumlu etki yaptığı görülmüş, NaCl stresinin etkisini ortadan kaldırarak SPAD değerinde artışa sebep olduğu (sırasıyla 35,50, 39,73 ve 40,06) belirlenmiştir (Tablo 10). Bitki hücre duvarındaki karbonhidratlara kovalent olarak bağlanan FA'nın, kuraklık koşulları altında mezofil penetrasyonunu sınırlayan bir ışık filtresi/foto koruyucu olarak görev yaptığı tespit edilmiştir (Hura *et al.* 2012). Fenolik bileşikler, kimyasal yapılarının (benzen halkalarının varlığı, çift bağların varlığı) bir sonucu olarak, fotosentetik aparatın foto koruyucuları olarak işlev görebilmektedirler (Hura *et al.* 2012). Schweiger *et al.* (2000), hücre duvarına bağlı fenoliklerin UV radyasyonunu absorbe edebildiğini ve daha sonra onu mavi floresansa dönüştürebildiğini belirlemişlerdir. Böyle bir savunma mekanizması özellikle osmotik strese maruziyette hayati öneme sahiptir, bu da

fotosentetik aparatın radyasyonun neden olduğu fotoinhibitör hasarlara karşı bitkilerin daha duyarlı olmasına neden olmaktadır (Hura *et al.* 2012).

Hücre membran hasarı (HMH) ve MDA miktarının belirlenmesi

Hücrel membranlar, bitkilerde stres faktörlerinin etkilediği ilk hedef bölge olarak tanımlanmaktadır. Stres koşullarında artan lipid peroksidasyonu sonucunda bitkilerdeki MDA seviyeleri HMH'nin belirlenmesinde kullanılan son üründür. Tuza toleransı düşük olan bitkilerde, MDA miktarı yüksek olurken, tuza toleransı yüksek olan bitkilerde ise düşük düzeyde MDA gözlemlenmektedir (Güneş *et al.* 2007). Yaptığımız çalışmada, HMH'yi belirlemek için kullandığımız EC metre ile yapraklardaki tuzluluk miktarı, çözünmüş mineral ve tuzların konsantrasyonunun bir göstergesi olan elektriksel iletkenlik başarılı bir şekilde ölçülmüştür. Çalışmamızda NaCl uygulaması ile hücre membranında kontrole kıyasla %95,32 oranında ciddi bir hasarın meydana geldiği tespit edilmiştir. Yine, MDA miktarının ise %95,37 oranında arttığı belirlenmiştir (Tablo 10). Çalışmamıza benzer olarak, Peña Calzada *et al.* (2022), soya fasulyesinde NaCl stresi (50 ve 100 mmol L⁻¹) uygulamasında MDA değeri ciddi ölçüde arttığını belirlerken, soya fasulyesinde yapılan başka bir çalışmada, Kurt vd (2023), tuz uygulamasının (150 ve 300 mM) MDA içeriğini oldukça artırdığını belirlemişlerdir. Dugasa *et al.* (2019), kuraklık (%4 toprak nemi) ve tuz stresi (100 mM NaCl) uygulanan buğdayın bitki büyümesini, biyokütleyi ve fotosentetik oranı ciddi şekilde azalttığını, aynı zamanda bu azalışın yüksek MDA içeriği ve gelişmiş SOD, POD, CAT ve APX kapasiteleri ile yakından ilişkili olduğunu belirlemişlerdir. Bitki hücre membranında meydana gelen zarar sonucu açığa çıkan iyon sızıntısı bitki türüne, stres kaynağına, stres süresi ve şiddetine bağlı olarak değişmektedir (Bat vd. 2019).

Çalışmamızda tek başına FA uygulamalarının hücre membranında kontrole kıyasla neredeyse hiç hasara yol açmadığı ve 0,5, 1 ve 2 mM FA uygulamalarının oranlarının sırasıyla %35,40, %38,59 ve %36,55 olduğu belirlenmiştir. Yine, NaCl stresi ve FA'nın birlikte uygulamalarında ise FA'nın olumlu etki yaparak NaCl stresinin hücre membranındaki etkisini azalttığı ve en iyi etkiyi 1 mM FA dozunda gösterdiği (%41,72) gözlemlenmiştir (Tablo 10). Bunun yanı sıra, çalışmamızda MDA miktarını belirlemede FA'nın tek başına uygulamalarında FA'nın tüm dozlarının kontrole göre MDA miktarında azalışa neden oldukları ve 1 mM FA'nın %18,63 oranı ile en çok azalış gösterdiği gözlemlenmiştir (Tablo 10). Yine, NaCl stresi ve FA dozlarının birlikte uygulamalarında 0,5, 1 ve 2 mM FA dozlarının NaCl stresi altında MDA miktarında olumlu etki yaptıkları görülmüş ve NaCl stresinin olumsuz etkisini ortadan kaldırarak azalışa sebep oldukları (sırasıyla %17,89, %19,35 ve %3,06) belirlenmiştir (Tablo 10).

Kaur *et al.* (2017), NaCl stresine (10 dS/m) maruz kalan buğday çeşitlerine (HD2329 ve Kharchia local) ait fidelere uyguladıkları çeşitli fenolik asitlerin (20 ppm ferulik, 10 ppm kafeik, 10 ppm p-kumarik, 5 ppm salisilik ve 15 ppm sinapik asit) antioksidatif savunma sistemi üzerindeki etkisini belirlemişlerdir. Fenolik asit uygulamalarında her iki çeşidin NaCl stresi altındaki buğday fidelerinde elektrolit sızıntısını, H₂O₂ ve MDA içeriğini azalttığını tespit etmişlerdir. Kuraklık koşullarında yapraktaki su eksikliğine tepki olarak hücre duvarına bağlı FA içeriğinde gözlenen artışın, kuraklık koşullarının neden olduğu koruyucu mekanizmalardan birinin olabileceği tahmin edilmektedir (Hura *et al.* 2012). Dolayısıyla su eksikliği şartlarında içsel FA miktarında görülen artışla birlikte çalışmamızda ekzojen FA uygulamasının bu koruyuculuğu iyice artırdığı düşünülebilir.

Tablo 10. NaCl ve FA Dozları Uygulamalarının Fasulyede Yaprak Nispi Su İçeriği (%), Klorofil İçerikleri (SPAD) ve Hücre Membran Hasarı (%) Değerleri¹

Uygulama	YNSİ %	Klorofil içeriği (SPAD)	HMH%
Kontrol	85,63 ^{cb}	41,33 ^a	35,64 ^g
0,5 mM FA	86,23 ^b	40,23 ^b	35,40 ^g
1 mM FA	82,52 ^d	38,43 ^c	38,59 ^e
2 mM FA	80,59 ^e	37,60 ^d	36,55 ^f
NaCl	26,58 ^f	34,47 ^f	95,33 ^a
0,5 mM FA + NaCl	80,85 ^e	35,50 ^e	64,41 ^b
1 mM FA + NaCl	84,55 ^c	39,73 ^b	41,72 ^d
2 mM FA + NaCl	88,49 ^a	40,07 ^b	45,36 ^c
Ortalama	76,93	38,42	49,12
VK%	1.01	0.84	0.68

¹: Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.

Hidrojen peroksit (H₂O₂) miktarının belirlenmesi

Bitkilerde stres koşullarında meydana gelen oksidatif hasarın en önemli sebeplerinden birisi serbest radikal [süperoksit radikali (O₂⁻), hidroksil radikali (OH^{*}), perhidroksi radikali (HO₂) ve alkoksi radikali (RO)] ile radikal olmayan (moleküler) [hidrojen peroksit (H₂O₂) ve tekli oksijen (¹O₂)] çeşitli ROT'lardır (Zhao *et al.* 2001). ROT, hücrede membran lipitleri, nükleik asitler, proteinler, klorofiller ve makro moleküllere zarar vermektedir (Hong *et al.* 2009). Çalışmamızda NaCl stres uygulamasında H₂O₂ miktarında kontrole kıyasla %66,91 artış gözlemlenmiştir (Tablo 11). Çalışmamıza benzer olarak, Karabay *et al.* (2021), 25 ve 50 mM NaCl uyguladıkları *P.vulgaris*'te stresin etkisiyle H₂O₂ miktarının kontrole kıyasla yaklaşık 1,6 kat arttığını belirlemişlerdir. Bunun yanı sıra çalışmamızda, FA'nın tek başına uygulamaları kontrole

kıyaslandığında kontrole yakın değerlerde bir artış gösterdiği belirlenmiştir. NaCl stresi ve FA dozlarının birlikte uygulamasında NaCl stresinin olumsuz etkisine kıyasla, H₂O₂ miktarında azalma olmuş ve 0,5, 1 ve 2 mM FA dozlarında sırasıyla %41,13, %49,01 ve %27,64 oranlarında azalış olarak belirlenmiştir (Tablo 11). Mısırdaki yapılan bir çalışmada, NaCl stresi altında FA'nın iyileştirici etkileri incelenmiş ve FA'nın iyon homeostazını düzenleyerek, lipid peroksidasyonunu azaltarak ve hücre bütünlüğü koruyarak NaCl stresinin olumsuz etkilerini hafiflettiğini gözlemlemişlerdir. FA'nın muhtemelen ROT'ları temizleme rolü aracılığıyla, tuz kaynaklı hasara karşı bir koruyucu madde olarak işlev gördüğünü öne sürmüşlerdir (Khan *et al.* 2020).

Antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesi

Bitkiler stres koşullarında serbest oksijen radikallerini etkisiz hale getiren antioksidan enzim aktivitelerine sahiptirler. Serbest oksijen radikallerinin neden olduğu hasarı önlemek için bitkiler, stres durumlarında SOD, CAT, POD, APX ve GR gibi antioksidan enzimler üretirler. Farklı bitki türlerinde tuz stresinin zararlı etkilerini minimuma indirmek için bitkilerdeki antioksidatif enzim aktivitelerinde meydana gelen değişikliklerin incelenmesi üzerine literatürde çok fazla çalışma mevcuttur.

Çalışmamızda NaCl stresi altında FA uygulamasının SOD, POD ve APX enzim aktiviteleri üzerine olan etkileri incelenmiştir. Tek başına NaCl stresi uygulamasında SOD aktivitesinin kontrole kıyasla %54,70 oranında artış gösterdiği gözlemlenmiştir (Tablo 11). Çeşitli fasulye genotipleri üzerinde yürütülen bir çalışmada, tuz stresine (2,5 ve 5,0 dS m⁻¹) maruz bırakılan *P. vulgaris* genotiplerinde SOD enzim aktivitesinde bir artış saptanmıştır. Bu artış, ROT üretiminde artması sonucunda ortaya çıkmakta olup, enzim aktiviteleri, MDA ve H₂O₂ içeriklerinde ROT'a karşı etkin bir koruma sağlandığının kanıtıdır (Jebara *et al.* 2005). Ayrıca, *P. vulgaris* genotipleri arasında tuza dayanıklı olan genotipin daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği, bu sayede tuz stresinden daha az zarar gördüğü ve SOD aktivitesinin tuz toleransı ile güçlü bir bağlantısı olduğu belirtilmiştir (Jebara *et al.* 2005). SOD, O₂⁻'nin H₂O₂'ye dönüştürülmesini sağlayan bir dismutasyon reaksiyonunu katalizlemektedir. ROT'ların zararlı etkilerine karşı bitkilerde savunma mekanizmasının ön saflarında yer alan SOD, bu nedenle bitki stres toleransı açısından büyük bir öneme sahiptir (Diego *et al.* 2003).

Çalışmamızda NaCl stres uygulamasında POD enzim aktivitesinde kontrole kıyasla %19,58 oranında artış gözlemlenmiştir (Tablo 16). Rahmana *et al.* (2003), dört farklı patates çeşidinde 50, 100 ve 150 mM NaCl stresi uygulamalarının SOD, POD ve CAT enzim aktivitelerinde artışa yol açtığını saptamışlardır. Aydın *et al.* (2010), farklı tuz çeşitlerini kullanarak stres oluşturdıkları fasulyede en yüksek antioksidan enzim aktivitesinin SOD ve POD'da 120 mM NaCl uygulamasında olduğunu belirlemişlerdir. POD'un temel işlevi,

fenoksil radikali (PhO[•]) üretmek için fenolik bileşikler (PhOH) oksitlemektir. Burada, H₂O₂ bir elektron alıcısı olarak bu reaksiyona katılmakta ve H₂O'ya dönüştürülmektedir (Hasanuzzaman *et al.* 2020). Bu enzim, hem proteini yapısına sahip olup, fenolik bileşikler, aminler, askorbik asit, indoller ve çeşitli inorganik iyonlar gibi geniş bir yelpazede hidrojen vericilerini kullanarak H₂O₂ aracılığıyla oksidasyon işlemlerini gerçekleştirmektedir (Gijzen 1993).

Araştırmamızda, NaCl stres uygulaması kontrolle karşılaştırıldığında APX enzim aktivitesinde %5,15 artış görüldüğü gözlemlenmiştir (Tablo 11). Yaşar *et al.* (2008), fasulyede 4F-89 ve GS57 çeşitlerini 7 gün boyunca 50 ve 100 mM NaCl stresine maruz bırakmışlar ve CAT ve APX aktivitelerinin her iki çeşitte de tuz stresi arttıkça arttığını ancak tuza hassas 4F-89 çeşidinin tuza toleranslı GS57 çeşidine kıyasla daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Farhangi *et al.* (2017), 6 ve 12 dSm⁻¹ NaCl stresi altında fasulyede (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Derakhshan) CAT, APX, POD, SOD ve polifenol oksidaz aktivitelerinin ve yaprak ve köklerde MDA, O₂^{•-} ve H₂O₂ içeriğinin kontrol grubuna kıyasla artırdığı belirlenmiştir.

Çalışmamızda FA'nın tek başına uygulamalarının SOD, POD ve APX enzim aktivitelerinde kontrole kıyasla genel olarak artış gösterdiği belirlenmiştir. SOD aktivitesinde en fazla artış 0,5 mM FA uygulamasında görülürken, POD ve APX aktivitelerinde 1 mM FA uygulamasında olmuştur (Tablo 16). NaCl stresi ve FA dozlarının birlikte uygulamasında ise FA dozlarının NaCl stresinin olumsuz etkisini azaltarak SOD aktivitesinde 0,5, 1 ve 2 mM FA dozlarında sırasıyla %6,06, %7,77 ve %4,16 oranlarında; POD aktivitesinde %6,12, %15,33 ve %0,30 oranlarında ve APX aktivitesinde %15,20, %40,41 ve %21,28 oranlarında azalış gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 11). Li *et al.* (2013), kuraklık stresi ve FA uyguladıkları salatalık fidelerinde FA uygulaması ile CAT, SOD ve GR aktivitelerinin oldukça artış gösterdiğini belirlemişlerdir. Shu *et al.* (2022), domatesde soğuğa karşı toleransta eksojen FA'nın soğuk hasarının şiddetini azalttığını, FA'nın osmotik düzenleyici madde ve antioksidan enzimlerin (APX, POD, SOD ve CAT) aktivitelerini artırdığını, H₂O₂ miktarını ise azalttığını belirlemişlerdir. Yine çalışmamıza benzer olarak, Dos Santoz *et al.* (2008), soya fasulyesinde yapılan FA uygulamasında POD aktivitesinin arttığını, H₂O₂ içeriğinde azalmanın meydana geldiğini, kök uzunluklarında ise genel olarak değişimin meydana gelmediğini gözlemlemişlerdir.

Bu çalışmalar, FA'nın eksojen olarak uygulanmasının bitkilerin tuz stresine toleransını artırma potansiyelini vurgulamaktadır. FA'nın antioksidan ve serbest radikal temizleme özellikleri, bitkilerde tuz stresinin yaygın bir sonucu olan oksidatif stresi hafifletmedeki etkinliğine katkıda bulunmaktadır. FA yapısal olarak benzen halkasında (3-metoksi ve 4-

hidroksil) elektron veren bir gruba sahiptir ve bu durum FA'ya serbest radikal zincir reaksiyonunu sonlandırma konusunda ek bir özellik sağlamaktadır (Teixeira *et al.* 2013). Bunun yanı sıra, Srinivasan *et al.* (2007), FA'nın güçlü bir antioksidan olarak görev yapabilme yeteneğinin, fenolik çekirdeği ve genişletilmiş yan zincir konjugasyonundan kaynaklandığını ispatlamışlardır. Çalışmamızda FA'nın antioksidan enzim aktivitelerini genel olarak kontrole kıyasla artırması bu yapısal özelliğinden kaynaklı olabilmektedir.

Tablo 11. NaCl ve FA Dozları Uygulamalarının Fasulyede Antioksidan Enzim Aktiviteleri (SOD, POD, APX) H₂O₂ Ve MDA Değerleri¹

Uygulama	SOD (EU/gTA)	POD (EU/gTA)	APX (EU/gTA)	H ₂ O ₂ (nmol/kg)	MDA (nmol/kg)
Kontrol	49,14 ^{dc}	13,37 ^f	2,09 ^h	1351,01 ^d	0,735 ^e
0,5 mM FA	59,69 ^b	14,77 ^e	2,33 ^g	1222,68 ^e	1,122 ^b
1 mM FA	46,70 ^d	17,69 ^d	4,29 ^e	1054,00 ^g	0,872 ^d
2 mM FA	51,53 ^c	13,45 ^f	3,18 ^f	1419,97 ^c	0,977 ^c
NaCl	76,02 ^a	19,5 ^{9c}	5,15 ^d	2255,09 ^a	1,436 ^a
0,5 mM FA + NaCl	79,57 ^a	20,78 ^b	5,93 ^c	1327,55 ^d	1,179 ^b
1 mM FA + NaCl	80,85 ^a	22,59 ^a	7,23 ^a	1149,67 ^f	1,161 ^b
2 mM FA + NaCl	78,14 ^a	19,52 ^c	6,25 ^b	1631,58 ^b	1,392 ^a
Ortalama	65,20	17,72	4,56	1426,44	1,109
VK%	4,02	0,79	1.45	1.43	4.16

¹: Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.

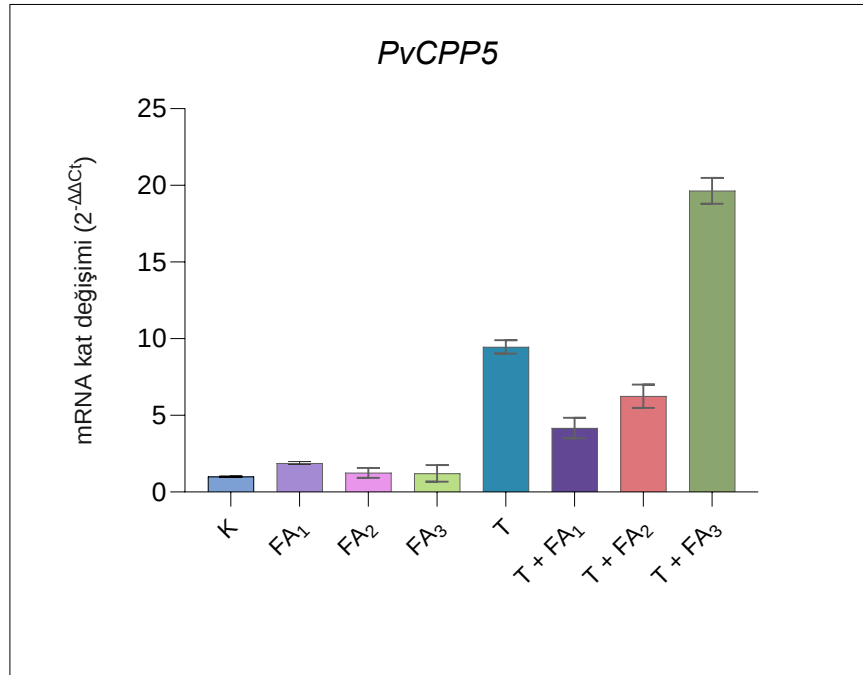
PvCPP5, PvGSTU3, PvGPAT9, PvSOD ve PvAPX gen ifadelerinin belirlenmesi

Bitkilerin stres faktörlerine karşı moleküler düzeyde geliştirdikleri savunma mekanizmalarından biri de gen ifadesinin düzenlenmesidir. Çalışmamızda tuz stresi ve üç farklı dozda FA uygulamalarının *PvCPP5*, *PvGSTU3*, *PvGPAT9*, *PvSOD* ve *PvAPX* genlerinin ifade seviyelerine olan etkileri incelenmiştir.

Bitkilerin stres koşullarında korunması ve gelişim süreçlerini tamamlayabilmesi için, transkripsiyon faktörleri hayati önem taşımaktadır. Bitkilerde ve hayvanlarda yaygın olarak bulunan ancak prokaryotlarda ve mantarlarda bulunmayan sisteince zengin Cysteine (Cys)-rich polycomb-like protein (CPP) transkripsiyon faktörleri, çeşitli abiyotik streslere yanıt mekanizmasında, bitkilerde hücre bölünmesinin ve üreme dokularının gelişiminin düzenlenmesinde ve çoklu hormonların uyarılması gibi süreçlerde önemli rol oynamaktadır (Riechmann *et al.* 2000; Andersen *et al.* 2007; Zhou *et al.* 2018). Çalışmamızda NaCl stresinin tek başına uygulamasında *PvCPP5* geninin ifadesini kontrole kıyasla oldukça artırdığı (9,47) belirlenmiştir (Şekil 16). Önceki çalışmalarda *CPP* gen ailesinin tuz, kuraklık, sıcak gibi stres faktörlerinden etkilenerek ifadesini değiştirdiği *Glycine max* (Cvitanich *et al.* 2000), *Zea mays*

(Brzeska *et al.* 2010), *Cucumis sativus* L., (Zhou *et al.* 2018), *Camellia sinensis* L. Kuntze (Nan *et al.* 2021) ve *Arabidopsis thaliana* (Andersen *et al.* 2007; Hauser *et al.* 2000; Hauser *et al.* 1998; Liu *et al.* 1997; Song *et al.* 2000) gibi çeşitli bitki türlerinde tespit edilmiştir. *CPP* gen ailesi farklı *CPP* genlerinden oluşmakta olup, bu genlerin ifadesinin bitki çeşidine, bitkinin organlarına, stresin çeşidine, şiddetine ve etki süresine bağlı olarak değişkenlik gösterdiği çeşitli çalışmalarda kanıtlanmıştır. Örneğin, hıyarda yapılan bir çalışmada *CsCPP1*, *CsCPP2*, *CsCPP3*, *CsCPP4* ve *CsCPP5* genlerinin ifadesi tuz stresi altında düşüş gösterirken (Zhou *et al.* 2018), fasulyede ise *PvCPP3*, *PvCPP4* ve *PvCPP5* genlerinin ifadesi çalışmamıza paralel olarak artış göstermiştir (Rakhimzhanova *et al.* 2023).

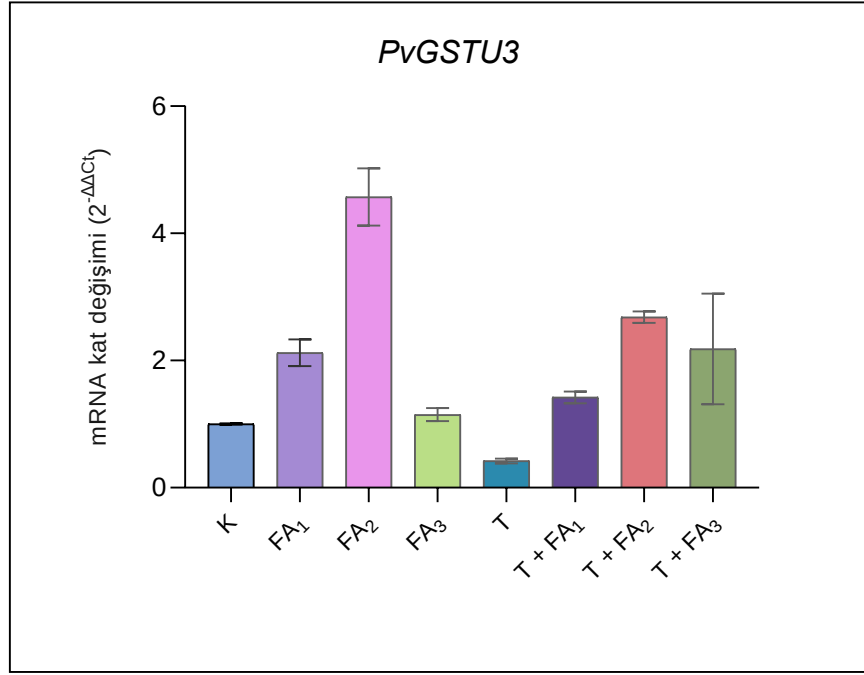
Tek başına 0,5, 1 ve 2 mM FA uygulamalarında ise *PvCPP5* geninin ifadesinin kontrole yakın değerlerde oldukları ve çok değişkenlik göstermediği (sırasıyla 1,89, 1,25 ve 1,22) belirlenmiştir. NaCl ile birlikte yapılan FA uygulamalarında ise gen ifadesinin oldukça artış gösterdiği, en yüksek artışın ise 2 mM FA uygulamasında olduğu (19,65) belirlenmiştir (Şekil 16). CPP transkripsiyon faktörünün CXC domaini DNA sekanslarına bağlanarak hedef gen ifadesini düzenlemektedir. Bu gen ailesinin bitkilerde başka genlerle etkileşime geçerek strese toleransın kazanıldığı Sun *et al.* (2023) tarafından gösterilmiştir. Çalışmamızda FA uygulamasının içsel FA miktarının artışı induklenmesi ile bu genin ifadesini indükleyerek artışa neden olması ile açıklanabilir.



Şekil 17. NaCl ve FA uygulamalarına göre *P.vulgaris* L. “Gina” çeşidinde *PvCPP5* mRNA ifade seviyeleri ($2^{-\Delta\Delta C_t}$)

PvGSTU3 geninin ifadesinin NaCl ve FA uygulamaları altındaki değişimini incelediğimiz çalışmamızda, tek başına NaCl uygulamasının kontrole kıyasla genin ifadesini düşürdüğü (0,42) belirlenmiştir (Şekil 17). GST'ler bir izozim ailesinin üyeleri olup, indirgenmiş tripeptit glutatyonun çeşitli hidrofobik ve elektrofilik substratlara konjugasyonunu katalize ederler (Cummins *et al.* 2011; Kim *et al.* 2011). Stres esnasında miktarları artan ROT'ların düzenlenmesinde ve oksidatif strese karşı hücre redoksunun sağlanmasında antioksidan enzimler kadar GST gibi düzenleyici proteinlere de ihtiyaç vardır. Bazı çalışmalar, soya fasulyesi kök nodüllerinin, ROT'a yanıt veren, ROT homeostazisini düzenleyen ve aynı zamanda oksidatif bozunma ürünlerini uzaklaştırmak üzere antioksidan olarak görev yapan bol miktarda GST içerdiğini göstermiştir. GST'ler ayrıca peroksitleri doğrudan temizlemek için glutatyon peroksidazlar (GPX'ler) olarak da görev yapmaktadırlar (Dixon *et al.* 2002; Frova 2003). Bazı çalışmalarda, GST gen ailesinin farklı stresler altında farklı bitki türlerinde ifadesinin arttığı (Ji *et al.* 2010; Yang *et al.* 2014) belirlenirken, bazı çalışmalarda ise araştırmamızda olduğu gibi azaldığı görülmüştür (Muslu *et al.* 2023; Csiszár *et al.* 2014). Yapılan bir çalışmada, *AtGSTF2* ve *AtGST6*'nın bağımsız olarak farklı streslere karşı farklı transkript seviyeleri gösterdiği, bu, GST süper ailesinin transkript düzenlemesinin birden fazla mekanizma tarafından kontrol edildiğini göstermiştir (Jiang *et al.* 2007).

Ayrıca, tek başına FA dozlarının *PvGSTU3* geninin ifadesini artırdığı, en yüksek ifade oranının 1 mM FA dozunda olduğu (4,57) tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra, NaCl ve FA uygulamalarının birlikte yapıldığı örneklerde, *PvGSTU3* geninin ifadesi artış göstermekle birlikte, en yüksek ifade oranı NaCl + 1 mM FA uygulamasında (2,68) belirlenmiştir (Şekil 17). Nitekim, FA'nın GST ve karboksilesteraz detoksifikasyon enzimleri arasındaki ilişkiyi belirleyebilmek için çeltikte yapılan bir çalışmada, düşük miktardaki FA'nın *NIGSTD1* and *NIGSTE1* genlerinin ifadesini artırmada daha etkili olduğunu, yüksek doz FA'nın toksik etki yaptığını göstermişlerdir (Yang *et al.* 2017). FA'nın bu genin ifadesini artırması, ROT detoksifikasyonuna karşı FA'nın savunma mekanizmasında rol aldığının göstergesi olabilmektedir.



Şekil 18. NaCl ve FA uygulamalarına göre *P. vulgaris* cv. “Gina” çeşidinde *PvGSTU3* mRNA ifade seviyeleri ($2^{-\Delta\Delta C_t}$)

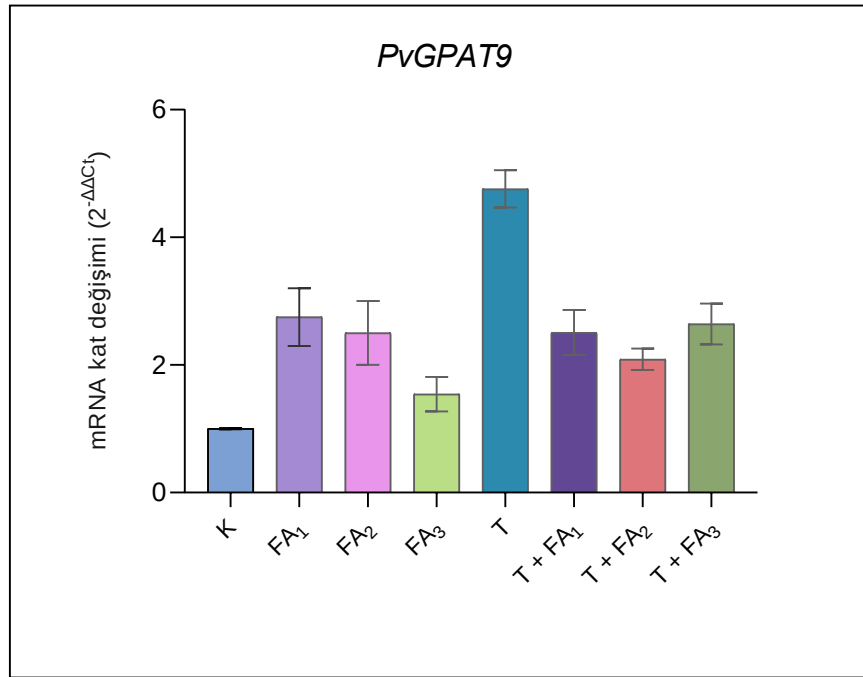
Çalışmamızda *PvGPAT9* geninin ifadesinin tek başına NaCl uygulamasında kontrole kıyasla arttığı (4,76) belirlenmiştir (Şekil 18). GPAT, membran lipidlerinin biyosentezinde rol alan anahtar bir enzimdir. Bitkiler, bitki lipidleri, steroller, gliserol lipidleri ve lipid polyeşterleri dahil olmak üzere çeşitli yağ asitleri ve türevlerini içermektedir. Hücre dışı koruyucu katmanların ve sinyal moleküllerinin temel bileşenleri olan lipidler, hücre zarının oluşturulmasına yardımcı olmakta ve hücre metabolizması için gereken enerjiyi sağlamaktadır. Ayrıca, bitki büyümesi, gelişimi ve stres toleransı gibi çeşitli fizyolojik ve metabolik süreçlerde önemli bir rol oynamaktadır (Gidda *et al.* 2009; Okazaki and Saito 2014; Nakamura 2017). Lipit sentezinde rol alan genlerden biri olan GPAT gliserolipid üretimi için gereklidir. Aynı zamanda çeşitli metabolik ve fizyolojik süreçlerde de görev almaktadır. Daha önce yapılan bir çalışmada GPAT geninin stres toleransı ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Paya-Milans *et al.* 2016).

Domates yapraklarında GPAT geninin (*LeGPAT*) ifadesinin düşük sıcaklıklarda arttığı, yüksek sıcaklıklarda azaldığı rapor edilmiştir. *LeGPAT* geninin aşırı ifadesi, fosfatidilgliserolün doymamış yağ asidi içeriğini arttırarak donma toleransını artırmıştır (Sui *et al.* 2007b). Benzer şekilde, domateste *LeGPAT*'ın aşırı ekspresyonu donmayı (Sui ve ark. 2007a) ve tuz toleransını (Sun ve ark. 2010) teşvik ederken, Arabidopsis'te Suaeda salsa GPAT geninin (*SsGPAT*) aşırı ekspresyonu tuz toleransını geliştirmiştir (*SsGPAT*). Sui ve diğerleri (2017). Çalışmamıza benzer şekilde tuz stresinin GPAT geninin ifadesindeki etkilerini belirlemek üzere yaptıkları çalışmalarında Kasapoglu *et al.* (2024), 150 mM NaCl stresinin *PvGPAT5*, *PvGPAT7* ve

PvGPAT9 genlerinin ifadesinde kontrole kıyasla arttığı belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar çalışmamıza paralellik göstermekle birlikte, *PvGPAT9* geninin stres toleranslı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Tek başına FA uygulamalarında kontrole kıyasla *PvGPAT9* geninin ifadesinin arttığı, ancak doza bağlı olarak azalış gösterdiği saptanmıştır. Bu oranlar 0,5, 1 ve 2 mM FA uygulamaları için sırasıyla 2,75, 2,50 ve 1,54 olmuştur (Şekil 18). NaCl ve FA dozlarının birlikte uygulamalarında ise *PvGPAT9* geninin ifadesinin kontrole kıyasla artış gösterdiği belirlenmiştir. NaCl uygulaması ile birlikte en yüksek gen ifade artışı NaCl + 2 mM FA uygulamasında (2,64) olmuştur (Şekil 18).

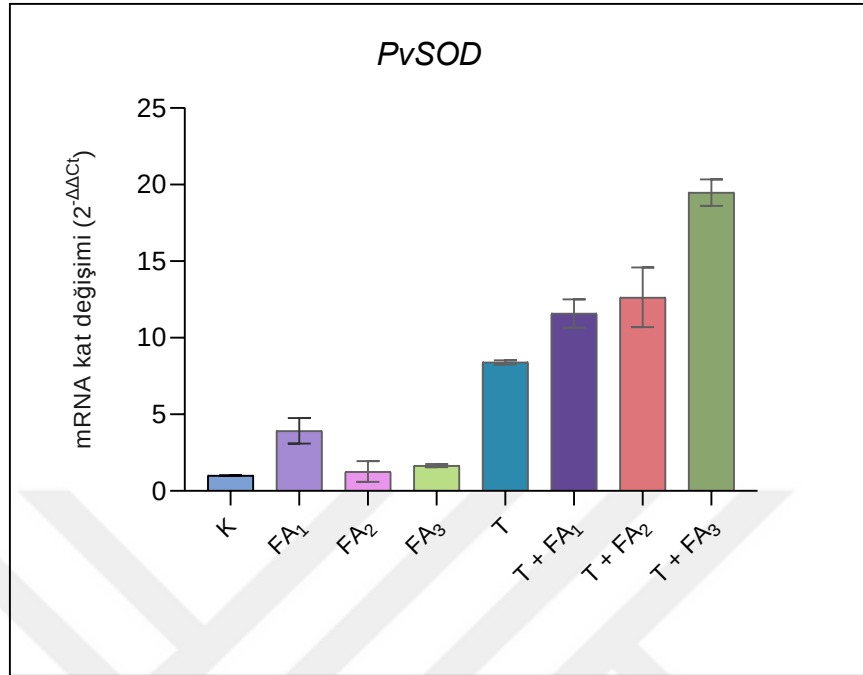
GPAT'lar bitkilerde lipid biyosentezinde yer alan, membran ve depolama lipid üretiminin ilk adımını katalize eden bir enzim sınıfıdır. Ferulik asitler bitki membranlarında yer alan ve strese karşı bariyer görevi üstlenen fenolik bir gruptur. Dolayısıyla, çalışmamızda FA'nın *PvGPAT9* geninin ifadesinin artırması strese karşı hücre membranında yer alan lipid üretimini artırarak hücreyi daha dayanıklı hale getirmesi ile ilişkilendirilebilir.



Şekil 19. NaCl ve FA uygulamalarına göre *P. vulgaris* cv. “Gina” çeşidinde *PvGPAT9* mRNA ifade seviyeleri ($2^{-\Delta\Delta C_t}$)

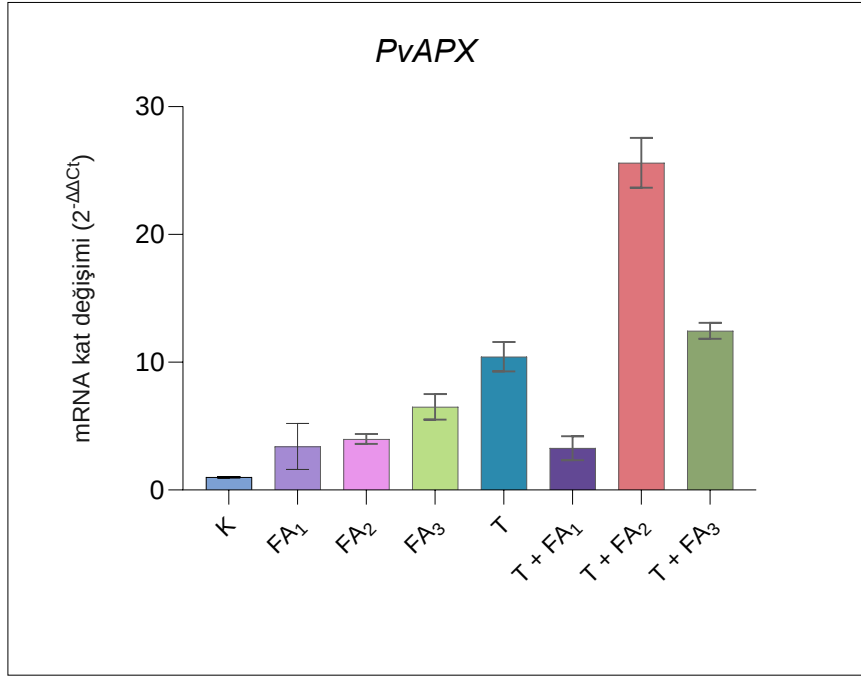
Çalışmamızda *PvSOD* geninin ifadesinin tek başına NaCl stresi altında kontrole kıyasla oldukça artış gösterdiği (8,40) belirlenmiştir (Şekil 19). Bununla birlikte tek başına 0,5, 1 ve 2 mM FA uygulamalarında *PvSOD* geninin ifadesi kontrole kıyasla artış göstermiş ve bu artış oranları sırasıyla 3,93, 1,27 ve 1,65 olmuştur (Şekil 19). Ayrıca, NaCl ve 0,5, 1 ve 2 mM FA uygulamalarında ise *PvSOD* geninin ifadesi kontrole kıyasla oldukça yüksek oranlarda artış göstermiş ve bu oranlar sırasıyla 11,59, 12,64 ve 19,48 olmuştur *PvSOD* geninin ifadesi kontrole

kıyasla oldukça yüksek oranlarda artış göstermiş ve bu oranlar sırasıyla 11,59, 12,64 ve 19,48 olmuştur (Şekil 19).



Şekil 20. NaCl ve FA uygulamalarına göre *P. vulgaris* cv. “Gina” çeşidinde *PvSOD* mRNA ifade seviyeleri ($2^{-\Delta\Delta C_t}$)

Araştırmamızda *PvAPX* geninin ifadesinin tüm uygulamalarda kontrole kıyasla artış gösterdiği belirlenmiştir. Tek başına NaCl uygulamasında *PvAPX* geninin ifadesi oldukça yüksek bir oranda artış göstermiştir (10,44) (Şekil 20). Yine, 0,5, 1 ve 2 mM FA uygulamalarının kontrole kıyasla *PvAPX* geninin ifadesini artırdığı ve bu artışın doza bağlı olarak yükseldiği tespit edilmiştir (sırasıyla 3,41, 3,99, 6,51). NaCl ve FA dozlarının birlikte uygulamalarında ise en yüksek artışın NaCl + 1 mM FA dozunda olduğu belirlenmiştir (25,62) (Şekil 20).



Şekil 21. NaCl ve FA uygulamalarına göre *P. vulgaris* cv. “Gina” çeşidinde *PvAPX* mRNA ifade seviyeleri ($2^{-\Delta\Delta C_t}$)

Çalışmamızda antioksidan parametreleri belirlemek üzere yaptığımız SOD analizinde, bu enzimin miktarındaki artış ile *PvSOD* geninin gerek tek başına NaCl stresi/FA uygulamaları, gerekse kombine uygulamalarda ifade profilleri uyumluluk göstermiştir (Şekil 19). APX analizi ise *PvAPX* geninin ifadesi ile genel olarak bir uyum göstermekle birlikte, NaCl + 1 mM FA uygulamasında tam bir uyum görülmüştür (Şekil 20). Bu uyum 1 mM FA dozunun en iyi etki yaptığının göstergesi olabileceğini düşündürmektedir. Cheng *et al.* (2018), yaban mersini bitkisinde 0,6 mM FA uygulamasının Fe-SOD, sitoplazmik Zn/Cu-SOD, APX, guaiakol peroksidaz ve glutatyon redüktazı kodlayan genlerin transkripsiyonunu artırdığını belirlemişlerdir. FA uygulaması ile birlikte sıcaklık uygulaması yapıldığında ise bu genlerin ifadelerinin daha da arttığı tespit edilmiştir. Burada FA uygulamasının içsel FA içeriğini artırarak, ROT birikimini azaltarak ve prolin ve çözünür şeker içeriğini artırarak sıcaklık stresini hafiflettiği gözlenmiştir. Yapılan bir çalışmada, *Potentilla atrosanguinea* and *Rheum australe* bitkilerinde Cu/Zn-SOD ve APX tarafından düzenlenen optimum ekstraselüler H_2O_2 seviyelerinin, tuz stresi sırasında ikincil hücre duvarı biyosentezini etkileyerek transgenik bitkilere ekstra mekanik güç ve tolerans sağladığı tespit edilmiştir. Çalışmada ayrıca H_2O_2 'nin, *PaSOD* ve *RaAPX* genlerini aşırı ifade eden transgeniklerde sinyallemeye aracılık ettiğini ve bunun da vasküler sistemde ve interfaziküler kambiyumda ağır lignin birikmesine yol açtığı rapor edilmiştir (Shafi *et al.* 2015). Çalışmamızda FA uygulamalarının yine içsel FA seviyesini artırarak hücre duvarının strese karşı koruyucu mekanizmayı artırması ve ligninleşme ile antioksidan genlerinin ifadesinin artması ilişkilendirilebilir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada elde edilen veriler ve daha sonra yapılacak araştırmalara yönelik öneriler aşağıda sıralanmıştır.

1. Tuz stresinin, bazı morfolojik ve fizyo-biyokimyasal parametreleri olumsuz etkilediği tespit edilmiştir.
2. FA uygulamalarının NaCl stresinin neden olduğu olumsuz etkileri azalttığı, 1 mM FA dozunun ise diğer dozlara kıyasla en iyi etki gösterdiği belirlenmiştir. Bununla birlikte, 2 mM FA dozunun bazı parametrelerde tuz stresi ile benzer sonuçlar vermesi FA'nın belirli bir miktardan sonra toksik etki yaptığının göstergesidir. Ancak, bu durumun ayrıntılı olarak incelenmesi gerekmektedir.
3. Araştırmada, kontrole kıyasla tuz stresi altında *PvCPP5*, *PvGPAT9*, *PvSOD* ve *PvAPX* gen ifadelerinin artış gösterdiği ancak *PvGSTU3* genin ifadesinde azalış meydana getirdiği belirlenmiştir.
4. FA uygulamalarının çalışılan tüm genlerde ifade oranlarını artırması, FA'nın stres mekanizmasında direkt olarak etkili olduğunun kanıtıdır.
5. Gerek tek başına FA uygulamalarında, gerekse tuz stresi ile birlikte uygulamalarında FA'nın iyileştirici etkisinin tespit edilmesi ile FA'nın eksojen kullanımının uygulanabilirliği ya da içsel FA miktarının çeşitli mekanizmalar veya uyarıcılar aracılığıyla biyoteknolojik yöntemlerle artırılarak bitki ıslahında yer verilmesi sonucuna varılmıştır.

KAYNAKÇA

- Abd El-Hameid, A. R., Sadak, M. S., 2020. Impact of glutathione on enhancing sunflower growth and biochemical aspects and yield to alleviate salinity stress. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 29, 101744.
- Al-Ashkar, I., Romdhane, W. B., El-Said, R. A., Ghazy, A., Attia, K., Al-Doss, A., 2021. Agro-Physiologic responses and stress-related gene expression of four doubled haploid wheat lines under salinity stress conditions. *Biology*, 10 (1), 56.
- Andersen, S. U., Algreen-Petersen, R. G., Hoedl, M., Jurkiewicz, A., Cvitanich, C., Braunschweig, U., Jensen, E. Ø., 2007. The conserved cysteine-rich domain of a tesmin/TSO1-like protein binds zinc in vitro and TSO1 is required for both male and female fertility in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Experimental Botany*, 58 (13), 3657-3670.
- Aydin, A., Kant, C., & Turan, M., 2011. Hydrogel substrate alleviates salt stress with increase antioxidant enzymes activity of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under salinity stress. *African Journal of Agricultural Research*, 6 (3), 715-724.
- Aydogan, C., & Turhan, E., 2015. Changes in morphological and physiological traits and stress-related enzyme activities of green bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes in response to waterlogging stress and recovery treatment. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 56, 391-401.
- Azeem, M., Pirjan, K., Qasim, M., Mahmood, A., Javed, T., Muh ammad, H., Rahimi, M., 2023. Salinity stress improves antioxidant potential by modulating physio-biochemical responses in *Moringa oleifera* Lam. *Scientific Reports*, 13(1), 2895.
- Azimychetabi, Z., Sabokdast, M., 2021. Physiological and biochemical responses of four genotypes of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under salt stress. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 23 (5), 1091-1103.
- Balasubramaniam, T., Shen, G., Esmaeili, N., & Zhang, H., 2023. Plants' response mechanisms to salinity stress. *Plants*, 12 (12), 2253.
- Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S., 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99 (1), 191-203.
- Barrs, H. D., & Weatherley, P. E., 1962. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. *Australian journal of biological sciences*, 15 (3), 413-428.
- Bat, M., Tunçtürk, R., Tunçtürk, M., 2019. Ekinezya (*Echinacea purpurea* L.) bitkisinde kuraklık stresi ve deniz yosunu uygulamalarının bazı fizyolojik parametreler üzerine etkisi, *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi*, 23 (1), 99-107.
- Bhat, M. A., Kumar, V., Bhat, M. A., Wani, I. A., Dar, F. L., Farooq, I., Jan, A. T., 2020. Mechanistic insights of the interaction of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) with plant roots toward enhancing plant productivity by alleviating salinity stress. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1952.
- Boz, H., 2015. Ferulic acid in cereals-a review. *Czech Journal of Food Sciences*, 33 (1), 1-7.
- Butt, M., Sattar, A., Abbas, T., Hussain, R., Ijaz, M., Sher, A., Zuan, A. T. K., 2021. Morpho-physiological and biochemical attributes of Chili (*Capsicum annum* L.) genotypes grown under varying salinity levels. *Plos one*, 16 (11), e0257893.

- Canavar, Ö., Gören, H. K., Kaya, S. K., Sümer, F. Ö., 2023. Effect of potassium humate on soybean germination traits under salinity stress conditions. *Turkish Journal of Agriculture- Food Science and Technology*, 11 (10), 1889-1891.
- Carpita, N., Tierney, M., Campbell, M., 2001. Molecular biology of the plant cell wall: searching for the genes that define structure, architecture and Dynamics. *Plant Molecular Biology*, 47 (1-2), 1-5.
- Chahine, K., Sourour, A., Youssef, T., & Hajer, S. A., 2013. Salinity effect on plant growth at the seedling stage of durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *J. Plant Breed. Crop Sci*, 5 (2), 20-25.
- Cheng, Z. Y., Sun, L., Wang, X. J., Sun, R., An, Y. Q., An, B. L., Bai, J. G., 2018. Ferulic acid pretreatment alleviates heat stress in blueberry seedlings by inducing antioxidant enzymes, proline, and soluble sugars. *Biologia Plantarum*, 62 (3), 534-542.
- Csiszár, J., Horváth, E., Váry, Z., Gallé, Á., Bela, K., Brunner, S., Tari, I., 2014. Glutathione transferase supergene family in tomato: salt stress-regulated expression of representative genes from distinct GST classes in plants primed with salicylic acid. *Plant Physiology and Biochemistry*, 78, 15-26.
- Cummins, I., Dixon, D. P., Freitag-Pohl, S., Skipsey, M., Edwards, R., 2011. Multiple roles for plant glutathione transferases in xenobiotic detoxification. *Drug Metabolism Reviews*, 43 (2), 266-280.
- Das, K., Roychoudhury, A., 2014. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. *Frontiers in Environmental Science*, 2, 53.
- Dawood, M. F., Sofy, M. R., Mohamed, H. I., Sofy, A. R., Abdel-Kader, H. A., 2022. Hydrogen sulfide modulates salinity stress in common bean plants by maintaining osmolytes and regulating nitric oxide levels and antioxidant enzyme expression. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 22 (3), 3708-3726.
- Degl'Innocenti, E., Hafsi, C., Guidi, L., Navari-Izzo, F., 2009. The effect of salinity on photosynthetic activity in potassium-deficient barley species. *Journal of Plant Physiology*, 166 (18), 1968-1981.
- Dey, P. M., Harborne, J.B., 1989. *Methods in plant biochemistry*, Vol.1, Academic Press, London, 552 pp.
- Dibaba, R., Goshu, D., 2019. Etiyopya'daki küçük çiftçilerin yüksek verimli buğday çeşitlerini benimsemesinin belirleyicileri. *Doğa Bilimleri Araştırma Dergisi*, 9 (12), 14-23
- Didinger, C., Foster, M. T., Bunning, M., & Thompson, H. J., 2022. Nutrition and human health benefits of dry beans and other pulses. *Dry Beans and pulses: Production, processing, and Nutrition*, 481-504.
- Dixon, D. P., Laphorn, A., Edwards, R., 2002. Plant glutathione transferases. *Genome Biology*, 3, 1-10.
- Dos Santos, W. D., Ferrarese, M. L. L., Nakamura, C. V., Mourão, K. S. M., Mangolin, C. A., & Ferrarese-Filho, O., 2008. Soybean (*Glycine max*) root lignification induced by ferulic acid. The possible mode of action. *Journal of Chemical Ecology*, 34, 1230-1241.
- Dugasa, M. T., Cao, F., Ibrahim, W., Wu, F., 2019. Differences in physiological and biochemical characteristics in response to single and combined drought and salinity stresses between wheat genotypes differing in salt tolerance. *Physiologia Plantarum*, 165 (2), 134-143.

- Dülger, D., 2012. *Cnicus benedictus'* un besleyici ve kimyasal özelliklerinin belirlenmesi. Doktora tezi, Bursa Uludag University, Türkiye.
- Edwards, R., Dixon, D. P., 2005, Plant glutathione transferases, *Methods enzymology*, 401, 169-86.
- El-Flaah, R. F., El-Said, R. A., Nassar, M. A., Hassan, M., & Abdelaal, K. A. A., 2021. Effect of rhizobium, nano silica and ascorbic acid on morpho-physiological characters and gene expression of POX and PPO in faba bean (*Vicia faba* L.) under salinity stress conditions. *Fresenius Environ. Bull*, 30, 5751-5764.
- El-Ramady, H., Alshaal, T., Elhawat, N., Ghazi, A., Elsakhawy, T., Omara, A. E. D., Schnug, E., 2018. Plant nutrients and their roles under saline soil conditions. *Plant Nutrients and Abiotic Stress Tolerance*, 297-324.
- ElSayed, A. I., Rafudeen, M. S., Gomaa, A. M., & Hasanuzzaman, M., 2021. Exogenous melatonin enhances the reactive oxygen species metabolism, antioxidant defense-related gene expression, and photosynthetic capacity of *Phaseolus vulgaris* L. to confer salt stress tolerance. *Physiologia plantarum*, 173 (4), 1369-1381.
- El-Soud, W. A., Hegab, M. M., Abdelgawad, H., Zinta, G., Asard, H., 2013. Ability of ellagic acid to alleviate osmotic stress on chickpea seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 71, 173-183.
- Erol, O. R. A. L., Tunçtürk, R., Tunçtürk, M., Kulaz, H., 2020. Silisyumun fasulyede (*Phaseolus vulgaris* L.) tuz (NaCl) stresini azaltmadaki etkisi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 23 (6), 1616-1625.
- Fahad, S., Hussain, S., Matloob, A., Khan, F. A., Khaliq, A., Saud, S., Huang, J., 2015. Phytohormones and plant responses to salinity stress: a review. *Plant Growth Regulation*, 75, 391-404.
- FAO., 2020. FAO Global Soil Partnership (Soil salinity), Anonymus, <http://www.fao.org/global-soil-partnership/areas-of-work/soil-salinity/en/>. (05.10.2023)
- FAO., 2022. FAO Global Soil Partnership (Soil salinity), Anonymus, <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. (19.08.2022).
- Farhangi-Abriz, S., & Torabian, S., 2017. Antioxidant enzyme and osmotic adjustment changes in bean seedlings as affected by biochar under salt stress. *Ecotoxicology and environmental safety*, 137, 64-70.
- Frova, C., 2003. The plant glutathione transferase gene family: genomic structure, functions, expression and evolution. *Physiologia Plantarum*, 119 (4), 469-479.
- Ghogdi, E. A., Izadi-Darbandi, A., & Borzouei, A., 2012. Effects of salinity on some physiological traits in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Indian journal of Science and Technology*, 1901-1906.
- Gidda, S. K., Shockey, J. M., Rothstein, S. J., Dyer, J. M., Mullen, R. T., 2009. *Arabidopsis thaliana* GPAT8 and GPAT9 are localized to the ER and possess distinct ER retrieval signals: functional divergence of the dilysine ER retrieval motif in plant cells. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47, 867-879.
- Gorni, P. H., da Silva Cornelissen, B., & Pereira, A. A., 2021. Exogenous salicylic acid and ferulic acid improve growth, phenolic and carotenoid content in tomato. *Advances in Horticultural Science*, 35 (4), 335-341.
- Gülümser, A., 2016. Dünyada ve Türkiye’de yemeklik dane baklagillerin durumu. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 25 (özel sayı-1), 292-298.

- Güneş, A., İnal, A., Bağcı, E. G. Pilbeam, D., 2007. Silicon-mediated changes of some physiological and enzymatic parameters symptomatic for oxidative stress in spinach and tomato grown in sodic-B toxic soil. *Plant and Soil*, 290 (1), 103- 114.
- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. B., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S. M., Mahmud, J. A., Fotopoulos, V., 2020. Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. *Antioxidants*, 9 (8), 681.
- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. H. M. B., Parvin, K., Bhuiyan, T. F., Anee, T. I., Nahar, K., Hossen, S., Zulfiqar, F., Alam, M., Fujita, M., 2020. Regulation of ROS metabolism in plants under environmental stress: a review of recent experimental evidence. *International Journal of Molecular Science*, 21, 8695.
- Hasanuzzaman, M., Hossain, M. A., Fujita, M., 2012. Exogenous selenium pretreatment protects rapeseed seedlings from cadmium-induced oxidative stress by upregulating antioxidant defense and methylglyoxal detoxification systems. *Biological Trace Element Research*, 149, 248-261.
- Hauser, B. A., He, J. Q., Park, S. O., Gasser, C. S., 2000. TSO1 is a novel protein that modulates cytokinesis and cell expansion in *Arabidopsis*. *Development*, 127, 2219-2226.
- Hnatuszko-Konka, K., Kowalczyk, T., Gerszberg, A., Wiktorek-Smagur, A., Kononowicz, A. K., 2014. *Phaseolus vulgaris*—Recalcitrant potential. *Biotechnology Advances*, 32 (7), 1205-1215.
- Hong, C. Y., Chao, Y. Y., Yang, M. Y., Cho, S. C., & Kao, C. H., 2009. Na⁺ but not Cl⁻ or osmotic stress is involved in NaCl-induced expression of glutathione reductase in roots of rice seedlings. *Journal of Plant Physiology*, 166 (15), 1598-1606.
- Hura, T., Hura, K., Dziurka, K., Ostrowska, A., Bączek-Kwinta, R., Grzesiak, M., 2012. An increase in the content of cell wall-bound phenolics correlates with the productivity of triticale under soil drought. *Journal of Plant Physiology*, 169 (17), 1728-1736.
- Jebara, S., Jebara, M., Limam, F., & Aouani, M. E., 2005. Changes in ascorbate peroxidase, catalase, guaiacol peroxidase and superoxide dismutase activities in common bean (*Phaseolus vulgaris*) nodules under salt stress. *Journal of plant physiology*, 162 (8), 929-936.
- Ji, W., Zhu, Y., Li, Y., Yang, L., Zhao, X., Cai, H., Bai, X., 2010. Over-expression of a glutathione S-transferase gene, GsGST, from wild soybean (*Glycine soja*) enhances drought and salt tolerance in transgenic tobacco. *Biotechnology Letters*, 32, 1173-1179.
- Jiang, Y., Yang, B., Harris, N. S., Deyholos, M. K., 2007. Comparative proteomic analysis of NaCl stress-responsive proteins in *Arabidopsis* roots. *Journal of Experimental Botany*, 58 (13), 3591-3607.
- Kalinowska, M., Bielawska, A., Lewandowska-Siwkiewicz, H., Priebe, W., Lewandowski, W., 2014. Apples: Content of phenolic compounds vs. variety, part of apple and cultivation model, extraction of phenolic compounds, biological properties. *Plant Physiology and Biochemistry*, 84, 169-188.
- Kar, M., 2018. Kadmiyum (Cd) maruziyetinin, *Phaseolus vulgaris* (L.) (fasulye) ve *Cicer arietinum* (nohut) türlerinin stres genleri üzerine etkisinin değerlendirilmesi. Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projesi.
- Karabay, U., Toptas, A., Yanik, J., & Aktas, L., 2021. Does biochar alleviate salt stress impact on growth of salt-sensitive crop common bean. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 52 (5), 456-469.

- Kasapoğlu, A. G., Muslu, S., Aygören, A. S., Öner, B. M., Güneş, E., İlhan, E., Aydın, M., 2024. Genome-wide characterization of the GPAT gene family in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and expression analysis under abiotic stress and melatonin. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 1-21.
- Kaur, H., Bhardwaj, R. D., Grewal, S. K., 2017. Mitigation of salinity-induced oxidative damage in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings by exogenous application of phenolic acids. *Acta Physiologiae Plantarum*, 39, 1-15.
- Kaur, N., Dhawan, M., Sharma, I., Pati, P. K., 2016. Interdependency of reactive oxygen species generating and scavenging system in salt sensitive and salt tolerant cultivars of rice. *BMC Plant Biology*, 16 (1), 1-13.
- Keles, R., Bayrak, H., Imriz, G., 2019. Determination of grain yield and leaf chlorophyll content of some dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties. *Journal of Global Innovations in Agricultural Sciences*, 7 (2), 53-57.
- Khan, MR, Fadlallah, S., Gallos, A., Flourat, AL, Torrieri, E. ve Allais, F., 2023. Ferulik asit türevi konsantrasyonunun farklı polimerik filmlerin salınım kinetiği, antioksidan kapasitesi ve termal davranışı üzerine etkisi. *Gıda Kimyası* , 410 , 135395.
- Khan, N. A., 2003. NaCl-inhibited chlorophyll synthesis and associated changes in ethylene evolution and antioxidative enzyme activities in wheat. *Biologia plantarum*, 47, 437-440.
- Kim, S. D., Lee, J. H., Hur, E. H., Lee, J. H., Kim, D. Y., Lim, S. N., Lee, K. H., 2011. Influence of GST gene polymorphisms on the clearance of intravenous busulfan in adult patients undergoing hematopoietic cell transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, 17 (8), 1222-1230.
- Kiokias, S., Proestos, C., Oreopoulou, V., 2020. Phenolic acids of plant origin—A review on their antioxidant activity in vitro (o/w emulsion systems) along with their in vivo health biochemical properties. *Foods*, 9 (4), 534.
- Kumar, K., Debnath, P., Singh, S., & Kumar, N., 2023. An overview of plant phenolics and their involvement in abiotic stress tolerance. *Stresses*, 3 (3), 570-585.
- Kurt, C. H., Tunçtürk, M., Tunçtürk, R., 2023. Tuzluluk stresi koşullarında yetiştirilen soya (*Glycine max* L.) bitkisinde bazı fizyolojik ve biyokimyasal değişimler üzerine salisilik asit uygulamalarının etkileri. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 60 (1), 91-101.
- Li, D. M., Nie, Y. X., Zhang, J., Yin, J. S., Li, Q., Wang, X. J., Bai, J. G., 2013. Ferulic acid pretreatment enhances dehydration-stress tolerance of cucumber seedlings. *Biologia Plantarum*, 57, 711-717.
- Li, P., Cai, J., Luo, X., Chang, T., Li, J., Zhao, Y., Xu, Y., 2019. Transformation of wheat *Triticum aestivum* with the *HvBADH1* transgene from hullless barley improves salinity-stress tolerance. *Acta Physiologiae Plantarum*, 41, 1-14.
- Linić, I., Mlinarić, S., Brkljačić, L., Pavlović, I., Smolko, A., Salopek-Sondi, B., 2021. Ferulic acid and salicylic acid foliar treatments reduce short-term salt stress in *Chinese cabbage* by increasing phenolic compounds accumulation and photosynthetic performance. *Plants*, 10 (11), 2346.
- Lutts, S., Kinet, J. M., & Bouharmont, J., 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Annals of botany*, 78 (3), 389-398.
- Mancuso, C., Santangelo, R., 2014. Ferulic acid: pharmacological and toxicological aspects. *Food and Chemical Toxicology*, 65, 185-195.

- Meganid, A. S., Al-Zahrani, H. S., El-Metwally, M. S., 2015. Effect of humic acid application on growth and chlorophyll contents of common bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.) under salinity stress conditions. *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology*, 4 (5), 2651-2660.
- Meng, X., Zhou, J., Sui, N., 2018. Mechanisms of salt tolerance in halophytes: Current understanding and recent advances. *Open Life Science*, 13, 149–154.
- Miyake, H., Mitsuya, S., Rahman, M. S., 2006. Ultrastructural effects of salinity stress in higher plants. *Abiotic Stress Tolerance in Plants*, 215-226.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M., Van Breusegem, F., 2004 . Reactive oxygen gene network of plants. *Trends in Plant Science*, 9(10), 490–498.
- Munns, R., Tester, M., 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review in Plant Biology*, 59, 651-681.
- Muslu, S., Kasapoğlu, A. G., Güneş, E., Aygören, A. S., Yiğider, E., İlhan, E., Aydın, M. (2023). Genome-wide analysis of glutathione S-transferase gene family in *P. vulgaris* under drought and salinity stress. *Plant Molecular Biology Reporter*, 1-20.
- Nakamura, Y., 2017. Plant phospholipid diversity: emerging functions in metabolism and protein–lipid interactions. *Trends Plant Science*, 22, 1027-1040.
- Nan, H., Lin, Y., Wang, X., Gao, L., 2021. Comprehensive genomic analysis and expression profiling of cysteine-rich polycomb-like transcription factor gene family in tea tree. *Horticultural Plant Journal*, 7 (5), 469-478.
- Nizamoglu, N. M., Nas, S., 2010. The phenolic compounds found in vegetables and fruit; their structure and importance. *Electronic Journal of Food Technology*, 5, 20-25.
- Okazaki, Y., Saito, K., 2014. Roles of lipids as signaling molecules and mitigators during stress response in plants. *Plant Journal*, 79, 584–596.
- Oral, E., Tunçtürk, R., Tunçtürk, M., Kulaz, H., 2020. Effect of silicium on reducing salt (NaCl) stress in beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *KSU Tarım ve Doğa Dergisi*, 23.
- Ouertani, R. N., Jardak, R., Ben Chikha, M., Ben Yaala, W., Abid, G., Karmous, C., Ghorbel, A., 2022. Genotype-specific patterns of physiological and antioxidative responses in barley under salinity stress. *Cereal Research Communications*, 1-13.
- Özkan, M., Kırca, A., Cemeroğlu, B., 2009. Siyah havuç suyu konsantresi üretimi ve depolanması sürecinde fenolik maddeler ve antosiyaninlerdeki değişimler ve bu değişimlerin antioksidan aktivite ile ilişkisi. *Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi*.
- Özkorkmaz, F., Yılmaz, N., 2017. Farklı tuz konsantrasyonlarının fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) ve börülcede (*Vigna unguiculata* L.) çimlenme üzerine etkilerinin belirlenmesi. *Ordu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 7 (2), 196-200.
- Paya-Milans, M., Aznar-Moreno, J. A., Balbuena, T. S., Haslam, R. P., Gidda, S. K., Perez-Hormaeche, J., Mullen, R. T., Thelen, J. J., Napier, J. A., Salas, J. J., Garcés, R., Martínez-Force, E., Venegas-Calero, M., 2016. Sunflower HaGPAT9-1 is the predominant GPAT during seed development. *Plant Science*, 252, 42–52.
- Peña Calzada, K., Olivera Viciedo, D., Habermann, E., Calero Hurtado, A., Lupino Gratao, P., De Mello Prado, R., Rodríguez, J. C., 2022. Exogenous application of amino acids mitigates the deleterious effects of salt stress on soybean plants. *Agronomy*, 12 (9), 2014.

- Rahnama, H., Ebrahimzadeh, H., & Ghareyazie, B. (2003). Antioxidant enzymes responses to NaCl stress in calli of four potato cultivars.
- Rakhimzhanova, A., Kasapoğlu, A. G., Sapakova, A., İlhan, E., Zharmukhametova, R., Turan, M., ... & Çiltaş, A., 2023. Expression analysis and characterization of the CPP gene family of Melatonin-treated common bean cultivars under different abiotic stresses. *South African Journal of Botany*, 160, 282-294.
- Rama Devi, S., Prasad, M. N. V., 1996. Ferulic acid mediated changes in oxidative enzymes of maize seedlings: implications in growth. *Biologia Plantarum*, 38, 387-395.
- Ratnam, D. V., Ankola, D. D., Bhardwaj, V., Sahana, D. K., & Kumar, M. R., 2006. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *Journal of controlled release*, 113 (3), 189-207.
- Rejeb, K. B., Abdelly, C., Saviouré, A., 2014. How reactive oxygen species and proline face stress together. *Plant Physiology and Biochemistry*, 80, 278-284.
- Rezaei, M. K., Shobbar, Z. S., Shahbazi, M., Abedini, R., Zare, S., 2013. Glutathione S-transferase (GST) family in barley: identification of members, enzyme activity, and gene expression pattern. *Journal of Plant Physiology*, 170 (14), 1277-1284.
- Riechmann, J. L., Heard, J., Martin, G., Reuber, L., Jiang, C. Z., Keddie, J., Yu, G., 2000. Arabidopsis transcription factors: genome-wide comparative analysis among eukaryotes. *science*, 290 (5499), 2105-2110.
- Saha, J., Brauer, E. K., Sengupta, A., Popescu, S. C., Gupta, K., Gupta, B., 2015. Polyamines as redox homeostasis regulators during salt stress in plants. *Frontiers in Environmental Science*, 3, 21.
- Saleem, M. Z., Nisar, M. A., Alshwmi, M., Din, S. R. U., Gamallat, Y., Khan, M., Ma, T., 2020. Brevilin A inhibits STAT3 signaling and induces ROS-dependent apoptosis, mitochondrial stress and endoplasmic reticulum stress in MCF-7 breast cancer cells. *OncoTargets and Therapy*, 435-450.
- Saud, S., Li, X., Chen, Y., Zhang, L., Fahad, S., Hussain, S., Chen, Y., 2014. Silicon application increases drought tolerance of Kentucky bluegrass by improving plant water relations and morphophysiological functions. *The Scientific World Journal*, 2014.
- Schweiger-Hufnagel, U., Ono, T., Izumi, K., Hufnagel, P., Morita, N., Kaga, H., ... ve Okuyama, H., 2000. Kar küfü mantarı *Microdochium nivale* tarafından üretilen hücre dışı polisakkaritin tanımlanması. *Biyoteknoloji mektupları* , 22 , 183-187.
- Shafi, A., Chauhan, R., Gill, T., Swarnkar, M. K., Sreenivasulu, Y., Kumar, S., Singh, A. K., 2015. Expression of SOD and APX genes positively regulates secondary cell wall biosynthesis and promotes plant growth and yield in Arabidopsis under salt stress. *Plant Molecular Biology*, 87, 615-631.
- Sharma, A., Bhardwaj, R. D., & Gupta, A. K., 2015. Ferulic acid: A novel inducer of antioxidant enzymes in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. *Cereal research communications*, 43 (3), 394-402.
- Shu, P., Li, Y., Li, Z., Xiang, L., Sheng, J., Shen, L., 2022. Ferulic acid enhances chilling tolerance in tomato fruit by up-regulating the gene expression of CBF transcriptional pathway in MAPK3-dependent manner. *Postharvest Biology and Technology*, 185, 111775.
- Shu, P., Li, Y., Wang, X., Yao, L., Sheng, J., Shen, L., 2021. Exogenous ferulic acid treatment increases resistance against *Botrytis cinerea* in tomato fruit by regulating nitric oxide signaling pathway. *Postharvest Biology and Technology*, 182, 111678.

- Singh, R. J., Hymowitz, T., 1999. Soybean genetic resources and crop improvement. *Genome*, 42 (4), 605-616.
- Song, J. Y., Leung, T., Ehler, L. K., Wang, C., & Liu, Z., 2000. Regulation of meristem organization and cell division by TSO1, an Arabidopsis gene with cysteine-rich repeats. *Development*, 127 (10), 2207-2217.
- Srinivasan, M., Sudheer, A. R., & Menon, V. P., 2007. Ferulic acid: therapeutic potential through its antioxidant property. *Journal of clinical biochemistry and nutrition*, 40 (2), 92-100.
- Sui, N., Li, M., Liu, X. Y., Wang, N., Fang, W., Meng, Q. W., 2007a. Response of xanthophyll cycle and chloroplastic antioxidant enzymes to chilling stress in tomato over-expressing glycerol-3-phosphate acyltransferase gene. *Photosynthetica*, 45, 447-454.
- Sui, N., Li, M., Zhao, S. J., Li, F., Liang, H., Meng, Q. W., 2007b. Overexpression of glycerol-3-phosphate acyltransferase gene improves chilling tolerance in tomato. *Planta*, 226, 1097-1108.
- Sui, N., Tian, S., Wang, W., Wang, M., Fan, H., 2017. Overexpression of glycerol-3-phosphate acyltransferase from *suaeda salsa* improves salt tolerance in Arabidopsis. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1337.
- Sun, Y. L., Li, F., Sui, N., Sun, X.L., Zhao, S.J., Meng, Q. W., 2010. The increase in unsaturation of fatty acids of phosphatidylglycerol in thylakoid membrane enhanced salt tolerance in tomato. *Photosynthetica* 48, 400-408.
- Taïbi, K., Taïbi, F., Abderrahim, L. A., Ennajah, A., Belkhodja, M., Mulet, J. M., 2016. Effect of salt stress on growth, chlorophyll content, lipid peroxidation and antioxidant defence systems in *Phaseolus vulgaris* L. *South African Journal of Botany*, 105, 306-312.
- Teixeira, J., Gaspar, A., Garrido, E. M., Garrido, J., & Borges, F., 2013. Hydroxycinnamic acid antioxidants: an electrochemical overview. *BioMed research international*, 2013.
- Tuteja, N., 2007. Mechanisms of high salinity tolerance in plants. *Methods in Enzymology*, 428, 419-438.
- TÜİK, 2022. Bitkisel Üretim İstatistikleri. Anonim. www.tuik.gov.tr (20.10.2023).
- TÜİK, 2023. Bitkisel Üretim İstatistikleri. Anonim. www.tuik.gov.tr (20.10.2023).
- Ullah, U., Buttar, Z. A., Shalmani, A., Muhammad, I., Ud-Din, A., Ali, H., 2022. Genome-wide identification and expression analysis of CPP-like gene family in *Triticum aestivum* L. under different hormone and stress conditions. *Open Life Sciences*, 17 (1), 544-562.
- Ünal, K., 2017. Farklı hayvansal yağlar ilave edilerek üretilen sucukların bazı fizikokimyasal özellikleri üzerine karanfil ve tarçının etkisi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 14 (3), 55-65.
- Wang, B., Wang, S. Q., Wang, Z. Z., 2017. Genome-wide comprehensive analysis the molecular phylogenetic evaluation and tissue-specific expression of SABATH gene family in *Salvia miltiorrhiza*. *Genes- Basel* 8 (12), 365.
- Waschburger, E., Kulcheski, F. R., Veto, N. M., 2018. Genomewide analysis of the glycerol-3-phosphate acyltransferase (GPAT) gene family reveals the evolution and diversification of plant gpts. *Genetics and Molecular Biology*, 41, 355-370.
- Yang, G., Wang, Y., Xia, D., Gao, C., Wang, C., Yang, C., 2014) Overexpression of a GST gene (*ThGSTZ1*) from *Tamarix hispida* improves drought and salinity tolerance by enhancing the ability to scavenge reactive oxygen species. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 117, 99-112.

- Yang, J., Sun, X. Q., Yan, S. Y., Pan, W. J., Zhang, M. X., Cai, Q. N., 2017. Interaction of ferulic acid with glutathione S-transferase and carboxylesterase genes in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Journal of Chemical Ecology*, 43, 693-702.
- Yang, W., Simpson, J. P., Li-Beisson, Y., Beisson, F., Pollard, M., Ohlrogge, J. B., 2012. A land-plant-specific glycerol-3-phosphate acyltransferase family in *Arabidopsis*: substrate specificity, sn-2 preference, and evolution. *Plant Physiology*, 160, 638–652.
- Yasar, F., Ellialtıoglu, S., & Yildiz, K., 2008. Effect of salt stress on antioxidant defense systems, lipid peroxidation, and chlorophyll content in green bean. *Russian journal of plant physiology*, 55, 782-786.
- Yeken, M. Z., Akpolat, H., Karaköy, T., Çiftçi, V., 2018. Assessment of mineral content variations for biofortification of the bean seed. *Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi (UTYHBD)*, 4 (2), 261-269.
- Yen, G. C., Chang, Y. C., Su, S. W., 2003. Antioxidant activity and active compounds of rice koji fermented with *Aspergillus candidus*. *Food Chemistry*, 83 (1), 49-54.
- Yıldız, M., Terzi, H., Cenkci, S., Arıkan Terzi, E. S., Urşak, B., 2010. Bitkilerde tuzluluğa toleransın fizyolojik ve biyokimyasal markörleri. *Anadolu University Journal Of Science and Technology –C Life Sciences and Biotechnology*, 1 (1), 1-33.
- Yildiztugay, E., Ozfidan-Konakci, C., Karahan, H., Kucukoduk, M., Turkan, I., 2019. Ferulic acid confers tolerance against excess boron by regulating ROS levels and inducing antioxidant system in wheat leaves (*Triticum aestivum*). *Environmental and Experimental Botany*, 161, 193-202.
- Yokoi, S., Higashi, S. I., Kishitani, S., Murata, N., Toriyama, K., 1998. Introduction of the cDNA for shape *Arabidopsis* glycerol-3-phosphate acyltransferase (GPAT) confers unsaturation of fatty acids and chilling tolerance of photosynthesis on rice. *Molecular Breeding*, 4, 269-275
- Zhang, C., Chen, X., Crandall-Stotler, B., Qian, P., Köllner, T. G., Guo, H., Chen, F., 2019. Biosynthesis of methyl (E)-cinnamate in the liverwort *Conocephalum salebrosum* and evolution of cinnamic acid methyltransferase. *Phytochemistry*, 164, 50-59.
- Zhang, L., Zhao, H. K., Wang, Y. M., Yuan, C. P., Zhang, Y. Y., Li, H. Y., 2015. Genome-wide identification and expression analysis of the CPP-like gene family in soybean. *Genetics and Molecular Research*, 14, 1260–1268.
- Zhang, X., Lin, D., Jiang, R., Li, H., Wan, J., Li, H., 2016. Ferulic acid exerts antitumor activity and inhibits metastasis in breast cancer cells by regulating epithelial to mesenchymal transition. *Oncology Reports*, 36 (1), 271-278.
- Zhao, Z., Chen, G., Zhang, C., 2001. Interaction between reactive oxygen species and nitric oxide in drought-induced abscisic acid synthesis in root tips of wheat seedlings. *Australian Journal of Plant Physiology*, 28, 1055–1060.
- Zhou, Y., Hu, L., Ye, S., Jiang, L., Liu, S., 2018. Genome-wide identification and characterization of cysteine-rich polycomb-like protein (CPP) family genes in cucumber (*Cucumis sativus*) and their roles in stress responses. *Biologia*, 73, 425-435.
- Zhu, J. K., 2016. Abiotic stress signaling and responses in plants. *Cell*, 167 (2), 313-324.
- Zhu, J., Bie, Z., & Li, Y., 2008. Physiological and growth responses of two different salt-sensitive cucumber cultivars to NaCl stress. *Soil science and plant nutrition*, 54 (3), 400-407.

Zhu, T., Wu, S., Zhang, D., Li, Z., Xie, K., An, X., Wan, X., 2019. Genome-wide analysis of maize GPAT gene family and cytological characterization and breeding application of ZmMs33/ZmGPAT6 gene. *Theoretical and Applied Genetics*, 132, 2137-2154.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler		
Adı Soyadı	:	Büşra Hilal YILMAZ
Doğum tarihi	:	
Doğum Yeri	:	
Uyruğu	:	
Adres	:	
Tel	:	
E-mail	:	
Eğitim		
Lise	:	
Lisans	:	
Yüksek lisans	:	
Doktora	:	
Yabancı Dil Bilgisi		
İngilizce	:	
Almanca	:	-
Rusça	:	-
Diğer	:	
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar		
Tezden Üretilmiş Yayınlar		