



**TUZLULUK STRESİNİN BUĞDAYDA
(*Triticum aestivum* L.) MEYDANA
GETİRMİŞ OLDUĞU RETROTRANSPOZON
POLİMORFİZMİ ÜZERİNE SALİSİLİK
ASİTİN ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

Özlem DİLMEN

**Yüksek Lisans Tezi
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı
Tahıllar ve Yemeklik Baklagiller Bilim Dalı
Yrd. Doç. Dr. Murat AYDIN
2017
Her hakkı saklıdır**

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**TUZLULUK STRESİNİN BUĞDAYDA (*Triticum aestivum* L.)
MEYDANA GETİRMİŞ OLDUĞU RETROTRANSPON
POLİMORFİZMİ ÜZERİNE SALİSİLİK ASİTİN ETKİSİNİN
BELİRLENMESİ**

Özlem DİLMEN

TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI
Tahıllar ve Yemelik Baklagiller Bilim Dalı

ERZURUM
2017

Her hakkı saklıdır



**T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



TEZ ONAY FORMU

**TUZLULUK STRESİNİN BUĞDAYDA (*Triticum aestivum* L.) MEYDANA
GETİRMİŞ OLDUĞU RETROTRANSPOZON POLİMORFİZMİ ÜZERİNE
SALİSİLİK ASİTİN ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

Yrd. Doç. Dr. Murat AYDIN danışmanlığında, Özlem DİLMEN tarafından hazırlanan bu çalışma 19/01/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Tarla Bitkileri Anabilim Dalı – Tahıllar ve Yemeklik Baklagiller Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak ~~oybirliği/oy~~
~~çokluğu (..../....)~~ ile kabul edilmiştir.

Başkan : Doç. Dr. Mahmut Sinan TAŞPINAR

İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. Murat AYDIN

İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. Emre İLHAN

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu 26./01./2017 tarih ve . 04 ./ ... 32 nolu kararı
ile onaylanmıştır.

**Prof. Dr. Cavit KAZAZ
Enstitü Müdürü**

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

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

TUZLULUK STRESİNİN BUĞDAYDA (*Triticum aestivum* L.) MEYDANA GETİRMİŞ OLDUĞU RETROTRANSPOZON POLİMORFİZMİ ÜZERİNE SALİSİLİK ASİTİN ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

Özlem DİLMEN

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı
Tahıllar ve Yemelik Baklagiller Bilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Murat AYDIN

Tüm dünya nüfusunun beslenmesinde kullanılan en önemli tahıl bitkilerinden biri buğdaydır. Bu önemli tahılın verimini sınırlandıran en önemli etkenlerden biri ise tuzluluktur.

Buğday genomunda çeşitli çevresel etmenlerden etkilenerek genomun yeniden düzenlenmesinde önemli bir role sahip olan LTR retrotranspozonlarının yüzdesi oldukça fazladır. Bu araştırmada tuzluluğa hassas Kırık ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.) çeşiti kullanılarak NaCl ile oluşturulan tuzluluk stresinde (0 mM, 100 mM, 200 mM ve 300 mM) salisilik asit uygulamasının (0 mM, 0,5 mM ve 1mM) buğdayda genomik stabilite ve LTR retrotranspozon polimorfizmi üzerine olan etkisi incelenmiştir. Uygulamada 5 IRAP primeri [N-57 (*Nikita*), *Stowaway*, *Sukkula*, *BARE-1* (0) ve E 2647 (*Nikita*)] ve retrotranspozona dayalı yöntem olan REMAP tekniğinde ISSR (UBC 811, UBC 826, 8081, 8082) primerleri kullanılmıştır. Araştırma sonucunda tuzluluğun retrotranspozon polimorfizminde artışa ve GTS oranında azalışa neden olduğu, tuzluluk stresinde uygulanan salisilik asit uygulamasının ise retrotranspozon polimorfizminde azalışa ve aynı zamanda GTS oranında artışa neden olduğu belirlenmiştir.

2016, 94 sayfa

Anahtar Kelimeler; Buğday, Tuzluluk Stresi, Salisilik Asit, IRAP, REMAP, Retrotranspozon

ABSTRACT

Master Thesis

DETERMINATION OF EFFECT OF SALICYLIC ACID ON RETROTRANSPOSON POLYMORPHISM INDUCED BY SALINITY STRESS IN WHEAT (*Triticum aestivum* L.)

Özlem DİLMEN

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Field Crops
Cereals and Pulse Crops

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Murat AYDIN

One of the most important cereal plants used in the feeding of the whole world population is wheat. One of the most important factors limiting the yield of this important grain is salinity.

The percentage of LTR retrotransposons, which play an important role in genome rearrangement by influencing various environmental factors in the wheat genome, is quite high. In this study, salicylic acid application (0 mM, 0.5 mM and 1 mM) in salinity stress (0 mM, 100 mM, 200 mM and 300 mM) induced by NaCl using Kırık bread wheat (*Triticum aestivum* L.) and the effect on LTR retrotransposon polymorphism were investigated. In the application, 5 IRAP primers [N-57 (*Nikita*), *Stowaway*, *Sukkula*, *BARE-1* (0) ve E 2647 (*Nikita*)] were used and ISSR (UBC 811, UBC 826, 8081, 8082) primers in the REMAP technique that based on the method of retrotransposons were used. As a result of research, it was determined that salinity caused an increase in retrotransposon polymorphism and a decrease in GTS value, but salicylic acid treatment caused a decrease in retrotransposon polymorphism and an increase in GTS value under salinity stress.

2016, 94 pages

Keywords: Wheat, Salinity Stres, Salicylic Acid, IRAP, REMAP, Retrotransposon

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji ve Bakteriyoloji Laboratuvarı'nda yapılmıştır.

Yüksek lisans tez çalışmam boyunca benden yardım ve katkılarını esirgemeyen tez danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Murat AYDIN'a ve yine tez çalışmam boyunca benden manevi desteğini ve yardımını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Güleray AĞAR'a bana sağladığı imkânlar için teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın planlanması, araştırılması, yürütülmesi ve oluşumu boyunca benden yardımlarını esirgemeyen, her zaman yanımda olan Sayın Arş. Gör. Esra ARSLAN'a bana ayırdığı değerli vakti ve dostluğu için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her anında, tüm zorlukları benimle göğüsleyen ve hiçbir zaman benden desteklerini esirgemeyen değerli aileme hep yanımda oldukları ve bana güvendikleri için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Özlem DİLMEN

Ocak, 2017

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ.....	1
1.1. IRAP (Inter-Retrotransposon Amplified Polymorphism)	10
1.2. REMAP (Retrotransposon-Microsatellite Amplified Polymorphism).....	10
1.3. IPBS (Inter-Primer Binding Site Amplification).....	11
1.4. S-SAP (Sequence-Spesific Amplified Polymorphism) / TD (Transposon Display)	12
1.5. RBIP (Retrotansposon Based İnsertional Polymorphizm)	13
1.6. Salisilik Asit Biyosentezi	16
1.7. Salisilik Asit Metabolizması	17
2. KAYNAK ÖZETLERİ	19
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	42
3.1. Materyal.....	42
3.1.1. Bitkisel materyal.....	42
3.1.2. Çalışmada kullanılan alet ve cihazlar	42
3.1.3. Kullanılan çözelti ve solüsyonlar	43
3.1.3.a. Besi ortamı.....	43
3.1.3.b. Tuz stresi ve tuz stresine karşı kullanılan kimyasallar ve konsantrasyonları	43
3.1.3.c. DNA izolasyonu, PCR ve elektroforez işlemleri için kullanılan kimyasallar ve çözeltiler	43
3.2. Yöntem	44
3.2.1. Kullanılan çözelti ve solüsyonların hazırlanışı	45
3.2.1.a. Besi ortamının hazırlanışı	45

3.2.1.b. Kullanılan NaCl stok solüsyonunun hazırlanışı	45
3.2.1.c. Salisilik Asit solüsyonunun hazırlanışı.....	45
3.2.1.d. DNA izolasyonu için kullanılan çözeltilerin hazırlanışı	45
3.2.1.e. PCR ve elektroforez işlemleri için kullanılan çözeltiler.....	47
3.2.2. Bitkilerin yetiştirilmesi ve NaCl ile SA uygulaması	48
3.2.3. DNA izolasyonu	49
3.2.4. IRAP yöntemi.....	50
3.2.4.a. IRAP primerleri	50
3.2.4.b. IRAP-PCR Protokolü	51
3.2.5. REMAP	52
3.2.5.a. REMAP primerleri	52
3.2.5.b. REMAP-PCR protokolü.....	53
3.2.6. Agaroz jel elektroforezi	53
3.2.7. IRAP, REMAP analizleri ve genomik kararlılık sabitliğinin (%GTS) belirlenmesi.....	54
3.2.8. Verilerin değerlendirilmesi ve istatistiksel analizi.....	54
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	55
4.1. IRAP Analizleri ve Genomik Kalıp Sabitliliği (Genomik Template Stability; GTS%)	55
4.2. REMAP Analizleri ve Genomik Kalıp Sabitliliği (Genomik Template Stability; GTS%)	59
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	65
5.1. Sonuç ve Öneriler	73
KAYNAKLAR	74
ÖZGEÇMİŞ	94

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

2,4-D	: 2,4-diklorofenoksiasetik asit
ABA	: Absisik Asit
AFLP	: Çoğaltılmış Parça Uzunluk Polimorfizmi (Amplified Fragment Length Polymorphism)
AOX	: Alternatif Oksidaz
APX	: Askorbat Peroksidaz
ASH	: Askorbik Asit
bp	: Baz çifti
C	: Sitozin
C ₂ H ₃ NaO ₂	: Sodyum Asetat
CAT	: Katalaz
cDNA	: Tamamlayıcı DNA (Complementer DNA)
Cl	: Klor
CO ₂	: Karbondioksit
CTAB	: Setil trimetil amonyum bromür (çoğaltım polimorfizmi)
Cu	: Bakır
CuCl ₂	: Bakır (II) klorür
da	: Dekar
dH ₂ O	: Distile Su
DHAR	: Dehidroaskorbat Redüktaz
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DSBs	: DNA Çift Zincir Kırılmaları
EDTA	: Etilendiamintetraasetik Asit
Fe	: Demir
g	: Gram
G	: Guanin
GAA	: Glasiyel Asetik Asit
GPX	: Glutathione Peroksidaz
GR	: Glutathione Redüktaz

GSH	: Glutatyon
GTS	: Genomik Kararlılık Sabitliği (Genomic Template Stability)
H ₂ O	: Su
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
HCl	: Hidroklorik Asit
HSPs	: Heat Shock Protein
IRAP	: İç-Retrotranspozon Çoğaltma Polimorfizmi (Inter-Retrotransposon Amplified Polymorphism)
ISSR	: Basit Dizi Tekrarı (Inter-Simple Sequence Repeat)
iPBS	: Primer Bağlanma Noktası Amplifikasyonu (Inter-Primer Binding Site Amplification)
K	: Potasyum
K ₂ O	: Potas
kb	: Kilobaz
kg	: Kilogram
L	: Litre
LEA	: Late Embryogenesis Abundant Protein
LRR	: Strese Tepki Genleri (Leucine-rich repeat)
LTR	: Uzun Uç Tekrarlar (Long terminal repeats)
MDHAR	: Monodehidroaskorbat Redüktaz
mg	: Miligram
Mg	: Magnezyum
MgCl ₂	: Magnezyum Klorür
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
Mn	: Mangan
mol	: Molekül
MPa	: Megapascal
mRNA	: Mesajcı RNA
N	: Sodyum
Na	: Sodyum
NaCl	: Sodyum Klorür

NaOH	: Sodyum Hidroksit
NH ₄ ⁺	: Amonyum
NO	: Nitrik Oksit
NO ₃ ⁻	: Nitrat
NtA-lix1	: Metilasyon-direnç geni
NtGPDL	: Gliserofosfodiesteraz-benzeri protein
O ₂	: Oksijen
O ₂ ⁻	: Süperoksit
°C	: Sıcaklık
OH ⁻	: Hidroksil
P	: Fosfor
PBS	: Primer Bağlanma Bölgesi (Primer Binding Site)
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction)
PEG	: Polietilen glikol
PO ₄ O ₃ ⁻	: Fosforik Asit
POD	: Peroksidaz
POX	: Peroksidaz
ppm	: Milyonda bir (Parts per million)
PSI	: Fotosistem I
PSII	: Fotosistem II
RBIP	: Retrotranspozon Temelli Ekleme Polimorfizmi (Retrotansposon Based Insertional Polymorphism)
REMAP	: Retrotranspozon Mikrosatellit Çoğaltma Polimorfizmi (Retrotransposon-Microsatellite Amplified Polymorphism)
RNA	: Ribonükleik asit
RO	: Alkoksi
ROO	: Peroksi
ROT	: Reaktif oksijen türleri
Rubisco	: Ribulazbifosfat karboksilaz/oksigenaz
SA	: Salisilik Asit
SAG	: Salisilik Asit-β-glukozit
SOD	: Süperoksit Dismutaz

S-SAP	: Dizi-Spesifik oğaltma Polimorfizmi (Sequence-Specific Amplified Polymorphism)
SSBs	: DNA Tek Zincir Kırılmaları
TBE	: Tris-borat-EDTA tamponu
TE	: Tris-EDTA tamponu
TPase	: Transpozaz
tRNA	: Taşıyıcı RNA
UV	: Ultraviyole Işıını
μl	: Mikrolitre
μM	: Mikromolar

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. IRAP (Inter-Retrotransposon Amplified Polymorphism)	10
Şekil 1.2. REMAP (Retrotransposon-microsatellite amplified polymorphism).....	11
Şekil 1.3. iPBS (Inter-Primer Binding Site Amplification)	12
Şekil 1.4. S-SAP (Sequence-Specific Amplified Polymorphism)	13
Şekil 1.5. RBIP (Retrotransposon based insertional polymorphism).	14
Şekil 1.6. Salisilik asit biyosentezi	17
Şekil 4.1. E 2647 (<i>Nikita</i>) primerinde oluşan IRAP amplifikasyon ürünleri.....	55
Şekil 4.2. <i>Sukkula</i> primerinde oluşan IRAP amplifikasyon ürünleri	56
Şekil 4.3. <i>BARE 1 (0)</i> + ISSR 8081 primerine karşı Kırık çeşidinde oluşan REMAP amplifikasyon ürünleri.....	60
Şekil 4.4. E 2647 (<i>Nikita</i>)+ ISSR UBC 811 primerine karşı Kırık çeşidinde oluşan REMAP amplifikasyon ürünleri	61

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. <i>Arabidopsis</i> ile diğer tahıl ürünlerinin genom karakterlerinin karşılaştırılması	3
Çizelge 1.2. Abiyotik ve biyotik stres faktörleri	4
Çizelge 3.1. Tuz stresi ve tuz stresine karşı kullanılan kimyasallar ve konsantrasyonları	43
Çizelge 3.2. IRAP-PCR’da kullanılan primer dizileri	51
Çizelge 3.3. IRAP-PCR bileşenleri ve konsantrasyonları	51
Çizelge 3.4. REMAP-PCR’da kullanılan primer dizileri.....	52
Çizelge 4.1. IRAP moleküler markır yönteminde NaCl ve SA uygulamasında kontrole göre meydana gelen yeni (+) ve kaybolan (-) bantların moleküler ağırlıkları (bp)	57
Çizelge 4.2. IRAP moleküler markır yönteminde NaCl ve SA uygulamasına göre GTS oranı (%)	58
Çizelge 4.3. REMAP moleküler markır yönteminde NaCl ve SA uygulamasında kontrole göre meydana gelen yeni (+) ve kaybolan (-) bantların moleküler ağırlıkları (bp)	63
Çizelge 4.4. REMAP moleküler markır yönteminde NaCl ve SA uygulamasına göre GTS oranı (%)	64

1. GİRİŞ

Bitkiler, canlı yaşamı için gerekli olan besini ve oksijeni üretip insan sağlığını korurlar (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu 2011). Arkeolojik kazılarda bulunan bulgulara göre insanlık tarihinin ilk zamanlarında bile besin ihtiyacının karşılanması için bitkiler kullanılmıştır (Koçyiğit *et al.* 2005).

Tüm dünyada olduğu gibi bizim ülkemizde de gerek günlük besin ihtiyacımızı karşılaması gerek ülke gelirine sağladığı katkı itibarı ile hububat ve hububat ürünlerinin önemi çok büyüktür. Hububatlar; maliyeti düşük, temin edilmesi kolay, yoğun bir enerji kaynağı olması, biyolojik değeri oldukça yüksek, tat ve aromasının arzu edilen şekilde oluşu ile insan beslenmesinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Karaoğlu ve Kotancılar 2001).

Buğday dünyadaki insan nüfusu için en önemli ve stratejik bir tahıl bitkisidir. Yaklaşık iki milyar insanın (dünya nüfusunun yaklaşık %36'sı) en önemli temel besin kaynağıdır. Buğday, dünya çapında tüketilen kaloringin %20'sini, karbonhidratların ise yaklaşık olarak %55'ini karşılamaktadır. Bu yüzden dünyanın en önemli tahıl bitkisi olarak çeşitli iklim şartlarında üretimi yapılmaktadır (Breiman and Graur 1995). Nitekim 2013 yılı verilerine göre ülkemizde kişi başına yıllık 213 kg buğday tüketilmiştir. 2014 yılı verilerine göre ülkemizde 7,9 milyon ha alanda buğday tarımı yapılmış, 22,6 milyon ton buğday üretilmiş ve dekara verimi 287 kg olarak gerçekleşmiştir (TÜİK 2015).

Buğdaygiller familyası [*Poaceae* (*Gramineae*)], en önemli tahıl bitkisi olan buğdayı (*Triticum aestivum* L.), arpayı (*Hordeum vulgare* L.), yulaı (*Avena sativa* L.), çavdarı (*Secale cereale* L.), mısırı (*Zea mays* L.) ve çeltiğı (*Oryza sativa* L.) kapsar. *Triticeae*, buğday ve arpayı da kapsayan 15'den fazla cins ve 300 türü olan en önemli oymağıdır (Simmonds 1989).

Buğdayın ilk sınıflandırması Linnaeus tarafından 1753 yılında yapılmıştır. 1918 yılında Sakamura kromozom dizisini bulmuştur. Bu buluş, *Triticum* sınıflandırmasında bir dönüm noktası olmuştur. Buğday, $2n=14$ kromozomlu Diploitler (AA), $2n=28$ kromozomlu Tetraploitler (AABB) ve $2n=42$ kromozomlu Hekzaploitler (AABBDD) olmak üzere 3 gruba ayrılır. Ekmeklik buğday, *Triticum aestivum*'dur. *T.durum* ve *T.compactum* ise diğer önemli türleridir (Briggle and Reitz 1963).

Hekzaploit buğdayın (*Triticum aestivum* L., $2n=42$, AABBDD) haploit DNA içeriği tahminen 1.7×10^{10} bp büyüklüğündedir. *Arabidopsis* genomundan 10 kat, mısır ve pirinç genomundan 6 kat daha büyüktür (Bennett and Smith 1976; Arumuganathan and Earle 1991). Ekmeklik buğday genomunun bu kadar büyük olmasının nedeni, poliploid ve tekrarlı DNA dizisindeki (genomun %85'i) fazlalıktan kaynaklanmaktadır (Flavell and Smith 1974). Ortalama bir buğday kromozomu 810 MB civarında yani ortalama bir pirinç kromozomundan 25 kat daha büyüktür. Bu büyüklük buğday genomunun orijinininden (Talbert *et al.* 1998) yani onun üçlü genom yapısından (ABD genomları) ve yüksek metillenmiş dizilerinden, yüksek oranda tekrarlı DNA dizilerine sahip olmasından kaynaklanmaktadır (Moore *et al.* 1993) (Çizelge 1.1).

Yüksek bitkilerin gen sayısı 25.000 ila 43.000 arasında değişiklik göstermektedir (Miklos and Rubin 1996). Son zamanlardaki çalışmalara göre buğdayda tahminen 30.000 gen vardır. Bunların sadece birkaç yüz tanesi tespit edilmiş, haritalanmış ve pleiotropik etkileri belirlenmiştir.

Çizelge 1.1. *Arabidopsis* ile diğer tahıl ürünlerinin genom karakterlerinin karşılaştırılması (Miklos and Rubin 1996)

Türler	DNA/ Hücre (pg)	Genom Büyükliği (bp)	Tekrar Dizi Oranı (%)	Genetik Harita Büyükliği (cM)	Kromozom Sayısı
<i>Arabidopsis thaliana</i>	0.4	0.07×10^9	37	501	5
<i>Oryza sativa</i>	-	0.45×10^9	58-66	1,700	12
<i>Hordeum vulgare</i>	13.4	5×10^9	70-76	1,096	7
<i>Zea mays</i>	11	2.7×10^9	78	1,400- 1,500	10
<i>Triticum aestivum</i>	36.2	17×10^9	83-85	3,500	7*3 (ABD)

1 pikogram= 1 pg= 0.95×10^9 bp=29 cM

Buğdayın miktar olarak verimi çevre şartlarının etkisi altındadır (Yağdı and Karan 2000). Buğdayın verimine etki eden birçok faktör bulunmaktadır. Örneğin uygun olan gübre miktarı ve çeşidi (Kettlewell *et al.* 1998), yıllık yağış miktarı ve sıcaklık (Smith and Gooding 1999), tane doldurma dönemindeki sıcaklık ve nem (Peterson *et al.* 1998) ile tarımsal yöntemler, ekim zamanı, ekilen tohumun genetik ve biyolojik özellikleri, hastalık ve zararlılarla mücadele gibi faktörler verim üzerinde etkilidirler (Tayyar 2005).

Her bitkinin özellikleri ve verdikleri tepkilere göre üretim süresi boyunca bu bitkileri etkileyen çevresel faktörler vardır. Bitkilerin gelişimi bu çevresel faktörlere vermiş oldukları tepkilere göre değişmektedir. Bitkilerin bu çevresel faktörlerden etkilenme durumlarına stres denir. Bu etmenler bitkileri değişik tür ve oranda strese sokmaktadırlar. Bitkilerin çevresel faktörlerden duydukları stres, bitkilerde önemli fizyolojik ve metabolik değişimlere yol açarak büyüme ve gelişmelerini olumsuz şekilde etkilerken, üründe de verim ve kalitenin düşmesine, hatta bitkinin veya organlarının ölümüne kadar yol açabilmektedir (Kızılaslan and Adıgüzel 2009).

Stres faktörleri biyotik ve abiyotik olarak nitelendirilmektedirler (Çizelge 1.2). Abiyotik streslerden özellikle sıcaklık, foton radyasyonu veya su ve çözünen inorganik maddelerdeki aşırı değişimler buğday (*Triticum aestivum* L.) gibi önemli tarım ürünlerinin ortalama verimini %50'den daha fazla oranda düşürmektedirler (Bray *et al.* 2000). Diğer taraftan abiyotik stres faktörlerinin en önemlilerinden biri olan tuzluluk, hem tahılların hem de yem bitkilerinin gelişimini sınırlamada giderek daha önemli hale gelmiştir (Tester and Bacic 2005).

Çizelge 1.2. Abiyotik ve biyotik stres faktörleri (Kocaçalışkan 2005)

Abiyotik Faktörler		Biyotik Faktörler
Fiziksel	Kimyasal	Hastalık etmenleri (Patojenler)
Kuraklık	Hava kirliliği	Yabani bitkiler
Sıcaklık	Tuzluluk	Böcekler
Radyasyon	Bitki besin maddeleri	Mikroorganizmalar
Işık	Pestisitler	Hayvanlar
Su baskını	Herbisitler	İnsan Tahribi
Mekanik etkiler	Toksinler	
(Rüzgar, kar, buz örtüsü)	Toprak pH'sı	

Tuzluluk, dünyanın hem sulu hem susuz bölgelerinde tarımsal üretimi büyük ölçüde azaltan kurak ve yarı kurak bölgelerde dünya çapındaki en büyük zarar sebeplerinden biridir. Yüksek tuz konsantrasyonu bitkilerin besin alımında azalmaya sebep olan iyon toksisitesini artırır (Tufail *et al.* 2013). Ayrıca toprak tuzluluğu, osmotik stresi etkiler ve su geçirimini azaltır (Kaydan *et al.* 2007).

Tuz stresi üzerine son zamanlarda; su alımı, fotosentez, osmotik ayar ve oksidatif metabolizma gibi fizyolojik yöntem konularında, tuz stresi yoğun araştırma konusu olmuştur. Tuz stresinin etkileri için yapılan çalışmalarda, çevresel strese olağanüstü duyarlılığından ötürü fotosentetik performans aydınlatıcı bir belirteç olarak bulunmuştur.

Tuz stresi, bitkiyi tohum çimlenmesinden bitki gelişimine kadar olan fizyolojik süreçlerde büyüme ve verim azalmasıyla sonuçlanan etkilerle etkiler (Arfan *et al.* 2007).

Dünyada tarımsal üretimde tuzluluk önemli bir sorun olup ekili alanların yaklaşık %20'si ve sulanan alanların %50'sinde tuzluluk sorunu bulunmaktadır (Flowers and Yeo 1995). Tuzluluk sorununun yol açtığı stresten dolayı tarımsal üretimde %50'ye varan verim kaybı yaşanmaktadır (Kreps *et al.* 2002).

Tuzluluk sorunu ve bitkilerin tuzluluktan dolayı strese girmesi Dünya'nın değişik bölgelerinde, özellikle topraktaki yılanmanın az olduğu kurak ve yarı kurak bölgelerde yetiştirilen bitkilerde görülmektedir. Tuzun topraktan uzaklaştırılmasında en önemli etkenlerden birisi yağış miktarıdır. Kurak ve yarı kurak bölgelerde yağışın az düşmesi toprakta biriken tuzun uzaklaştırılmasına yeterli olmamaktadır. Bu nedenle kurak veya yarı kurak iklim bölgelerinde tuzun yağmur aracılığıyla topraktan uzaklaştırılması yok denecek kadar azdır. Buharlaşma (evaporasyon) nedeniyle su kaybının yüksek olduğu bu tür bölgelerde toprak bünyesinde veya toprak yüzeyinde tuzlar kristal halinde birikebilir. Suyun toprak yüzeyinde akışının iyi olmaması veya toprak içerisinde alt katmanlara doğru drenajının iyi olmaması söz konusu olan topraklarda tuzluluk daha da artmaktadır (Yıldız *et al.* 2008).

Ülkemiz topraklarının yaklaşık 1.5 milyon hektarı, özellikle sulanan alanlar tuzluluk sorunuyla daha çok karşılaşmaktadır. Dünyada ise tuzluluk problemi Türkiye'dekine paralel olarak yaşanmakta ve yaklaşık 700 milyon hektardan fazla topraklarda tuzluluk problemi yaşanmaktadır. Dünyada tarımsal üretim yapılan yaklaşık 140 milyon hektar tarım arazisinin 30 milyon hektarında bir şekilde tuzluluk sorunu yaşanmaktadır. Ekilen veya ekilebilir alanlarda yaşanan bu tuzluluk sorunu küresel iklim değişikliklerinin ve çevresel olumsuzlukların etkisiyle daha da artacağı bir gerçektir. Bu sorun gelecekte tarımsal üretimde önemli ekonomik kayıplara yol açacaktır (Yılmaz vd. 2011).

Bitkiler tuzluluğa dayanıklılık düzeylerine göre iki gruba ayrılırlar. Halofit bitkiler (*Halo*; tuz) toprak tuzluğuna dayanıklı olduğundan tuzluluk problemi olan topraklarda rahatlıkla

yetişebilmektedir. Glikofit bitkiler ise tuzluluğa dayanıklı olmayıp halofit bitkiler kadar tuzluluğa toleransları yoktur. Bu nedenle tuz problemi olan topraklarda yetiştirilmesi ciddi sorunlara yol açmaktadır. Glikofit bitkiler yetiştirilirken toprakta tuza karşı tolerans sınırından daha fazla tuz birikmişse glikofit bitkilerin yetiştirilmeleri zorlamakta ve yetiştirildiğinde bu bitkilerde büyümelerinde duraklama, yapraklarında renk solgunluğu ve bitkilerin kuru ağırlıklarında azalma görülür. Hatta daha uzun süreli ve daha yüksek düzeyde tuzluluğa maruz kalınca bitkinin ölümü bile söz konusudur (Yıldız *et al.* 2008).

Tuzluluğun ilk olumsuz etkisi fizyolojik kuraklıkla kendisini göstermektedir. Fizyolojik kuraklık, kök rizosferinde tuz miktarının artmasıyla stres oluşturmakta, bitkinin topraktaki sudan yararlanması azalmaktadır. Yani tuzdan dolayı strese giren bitki toprakta su olsa bile bu sudan yeterince yararlanamamaktadır. Bu durum ilk olarak fizyolojik kuraklığa neden olmaktadır (ulha ve akırlar 2011).

Topraktaki tuzluluktan dolayı bitkilerde meydana gelen stres, hücre bölünmesini etkilemekte, hücre sayısını azaltmakta ve bitki gelişimini yavaşlatmaktadır. Bunun sonucu olarak bitkilerin gövde ve kök uzunluğu azalmaktadır. Yine bitkilerin yapraklarında küçülme, incelme ve yaprak sayılarında azalmaya yol açmaktadır. Bitkilerde meydana gelen stres, bitkilerin yapraklarının fiziki dış etkenlerden ve çeşitli hastalık ve zararlılardan korunmasını sağlayan kutikula ve mumsu tabakanın incelmesine yol açmaktadır. Bu nedenle bu tür bitkiler hastalık ve zararlılara karşı daha az dayanıklı olurlar (ulha ve akırlar 2011).

Tuzluluğun, bitkiler üzerindeki doğrudan etkisi (primer etki) osmotik ve iyon stresi şeklinde meydana gelirken, dolaylı etkisi (sekonder etki) stres faktörleri sonucu bitkilerde yapısal bozukluk görülmesi ve birçok toksik maddelerin sentezlenerek bitki bünyesinde birikmesi şeklinde görülmektedir. Tuzluluktan dolayı bitkilerde birçok fonksiyon aksamakta, fotosentez olayında aksamalar olmakta, klorofil miktarında azalma ve klorofilin zarar görmesi, potasyum ve bazı besin elementlerinin alımında sıkıntılar yaşanmaktadır (Botella *et al.* 2005; Hong *et al.* 2010). Tuz stresinin bitkiler

üzerindeki etkileri; bitkinin türüne, uygulanan sulama yöntemine ve suyun kalitesi ve miktarına, ayrıca sulama yöntemlerine bağlı olarak değişmektedir (Dajic 2006).

Tuzluluk stresi bitkilerin vejetatif ve generatif gelişim dönemlerinin tamamında etkili olmasına rağmen, daha çok generatif olgunluk döneminde özellikle tohum bağlama döneminde etkili olmaktadır. Bu nedenle bu dönemlerde sulamaya dikkat edilmeli ve tuzluluğa yol açacak olumsuz durumlardan kaçınılmalıdır (Khatun and Flowers 1995). Tuzluluk, bitkilerin çiçeklenmesini de olumsuz etkilemekte, gerek çiçek açma zamanında farklılaşma gerekse çiçek sayısında anormal düşüslere yol açmaktadır. Bu durum özellikle yabancı döllemeye ihtiyaç duyan bitkilerde meyve tutumunu olumsuz etkilemektedir (Munns 2002).

Tuz stresi, normal enzim aktivitesi ile karşılaştırıldığında, protein sentezi parçalanmasının öncül sebeplerinden biridir ve oksidatif stres sebebi bu stres, yavaş büyüme, solma, bitki ölümünde öncüdür (Li *et al.* 2013). Tuz stresi, bitki hücrelerinde reaktif oksijen türleri (ROT)'nin üretiminin artışında önemli bir role sahiptir. Reaktif oksijen türleri, DNA içeren hücresel öğeler, lipid ve proteinlere zararlı etkileri olur ve hücre ölümüne sebep olurlar. Oksidatif stres, ROT üretimi ve antioksidan etki arasında fizyolojik süreçler boyunca dengesizlikler meydana getirir. ROT konsantrasyonu bitkilerde mümkün olduğunca düşük olmalıdır fakat moleküllerin çoklu fonksiyonları bu oranı değiştirebilmektedir. Bu yüzden hücrelerin ROT konsantrasyonunun kontrolünü sağlamaya çalışırlar. Ancak, onları tamamen yok etmek mümkün değildir (Reginato *et al.* 2014; Saha *et al.* 2015).

Tuzluluk stresi yapraklardaki CO₂ alımını azalttığı, karbon katılaşmasını engellediği, kloroplastları fazla enerji salgısına maruz bıraktığı için süperoksit (O₂⁻), hidrojen peroksit (H₂O₂), hidroksil (OH⁻) radikalleri gibi duyarlı oksijen türlerinin (ROT) üretimini arttırdığı için bitkide oksidatif strese sebep olur (Parida and Das 2005; Ahmad and Sharma 2008; Ahmad *et al.* 2010,2011). Su eksikliği ROT'ların oluşmasında öncü rol oynar (Halliwell and Gutteridge 1985; Elstner 1987). Çoğu bitki üzerinde yapılan çalışmalarda tuzluluk şartları altında ROT üretimi incelenmiştir (Hasegawa *et al.* 2000)

ve çeltik, domates, bezelye, turunçgil ve hardal bitkilerinde tuzluluğun hücrel toksisiteye neden olduğu bulunmuştur (Gueta-Dahan *et al.* 1997; Mittova *et al.* 2004; Ahmad *et al.* 2009, 2010). Uzun dönem tuzluluk stresine maruz bırakılmış buğday tohumlarının hassas türleri toleranslı türlerle kıyaslandığında H_2O_2 ve lipidperoksit artışı gözlenmiştir (Sairam *et al.* 2002). ROT'lar nükleik asitler ve proteinler, lipidlerin oksidasyonu boyunca hücreleri etkiler (Pastori and Foyer 2002; Apel and Hirt 2004; Ahmad *et al.* 2010).

Çevresel stres etmenlerine karşı bitki hücresinde meydana gelen moleküler düzeydeki değişimlerden biri de; bir kromozomdan diğerine, aynı kromozom üzerinde bir bölgeden başka bir bölgeye, kromozom ile plazmid veya iki plazmid arasında kendinin transferini sağlayabilen küçük, lineer, çift iplikçikli ve hareketli DNA sekanslarının diğer bir ifadeyle transpozonların yer değiştirmesi olmuştur. Transpozonlar (genetik mobil elemanlar) ilk defa mısır bitkisinde Barbara McClintock tarafından 1948 yılında keşfedilmiştir (McClintock 1948). Transpozonların bugün ki sınıflandırılmasının temeli, Finnegan tarafından ilk defa 1989 yılında yapılmıştır. Bu sistem transpozonları, kullandıkları transpozisyon araçlarına göre ikiye ayırmaktadır. Bunlardan ilki RNA ara ürünü aracılığıyla hareket eden Sınıf I elementleri olan retrotranspozonlardır (Wicker *et al.* 2007). Retrotranspozonlar, hücre içinde RNA'larının reverz transkripsiyonu sonucu oluşan cDNA'nın genom içinde farklı bir bölgeye integrasyonu vasıtasıyla çoğalırlar. Bu mekanizma yaygın olarak kopyala-yapıştır ('copy-paste') mekanizması olarak bilinir (Casacuberta and Santiago 2003; Marco and Marín 2005; Wicker *et al.* 2007; Huang *et al.* 2009). İkincisi ise; transpozisyon aracı olarak RNA'yı kullanmayan, bulundukları kromozomal bölgeden çıkarak yeni hedef bölgeye insersiyon yapan Sınıf II transpozonları yani DNA transpozonlarıdır. DNA transpozonlarının bu hareket mekanizması yaygın olarak kes-yapıştır ('cut-paste') mekanizması olarak bilinir (Wicker *et al.* 2007; Huang *et al.* 2009).

Retrotranspozonlar, bitkiler alemi boyunca geniş yayılım göstermekte ve bol miktarda bulunmaktadır. Neredeyse tüm bilinen bitki retrotranspozonları normal büyüme ve gelişme boyunca inaktif durumda olup farklı abiyotik ve biyotik stres faktörleri

tarafından aktive edilebilir ve harekete geçirilebilirler. Böylelikle bu hareketlilikleri mutasyon oranını artırmakta ve yeni genetik çeşitliliği ortaya çıkarmaktadır. Retrotranspozonlar pek çok genomik lokus içine girebilmekte ve böylelikle mutasyonları ve yeni özellikleri içeren bireyler arasında insersiyonel polimorfizm oluşturmaktadırlar (Kumar and Bennetzen 1999). Bu durum yaralanma, patojen atakları, melezleme, protoplast izolasyonu ya da *in vitro* hücre veya doku kültürü gibi faktörler tarafından da uyarılmaktadır (Grandbastien *et al.* 2005).

Retrotranspozonlara bağlı olarak meydana gelen polimorfizmin belirlenmesinde IRAP (Inter-Retrotransposons Amplified Polymorphisms), REMAP (Retrotransposon-Microsatellite Amplified Polymorphism), RIBP (Retrotransposon Based Insertional Polymorphism) ve S-SAP (Sequence-Specific Amplified Polymorphism) gibi moleküler markırlar yaygın olarak kullanılmaktadırlar (Kalendar *et al.* 2011).

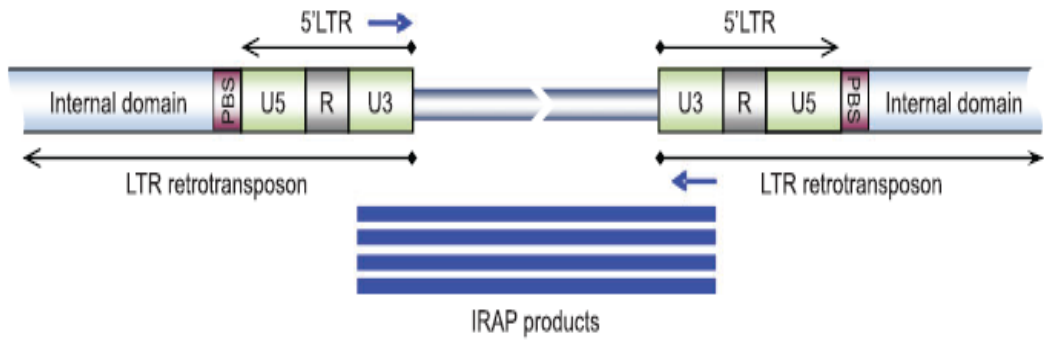
Transpozonların neden olduğu insersiyon polimorfizmleri moleküler teknikler kullanılarak belirlenmekte, böylelikle transpozonlar; DNA parmakizi, çeşitlilik filogeni araştırmaları ve genetik haritalamaya yönelik olarak birer markır olarak kullanılmaktadırlar. Bunun dışında; gen klonlama, transgenik organizmaların eldesi, mutasyon örnek algılayıcısı ve mutasyon aracı olarak da kullanılır (Queen *et al.* 2004).

Retrotranspozonlar kopyala-yapıştır mekanizması aracılığıyla hareket etmeleri nedeniyle genomda fazla sayıda bulunmaları ve primer dizaynıyla ilgili spesifik özellikleri taşıdıkları için markır sisteminin gelişimi için mükemmel bir temel sağlarlar. Transpozonların farklı spesifik özelliklere sahip olması ve hareketli bölge için kullanılan primerlerin PCR'da çoğaltılan bölgelerinin ve özelliklerinin farklı olması bu tekniklerin kullanımında büyük önem taşır. Çoğu hareketli element temelli markırlar Sınıf I Retrotranspozonlarını kullanırlar ve retrotranspozonların uzun uç tekrarlarına sahip olan sınıfında LTR bölgeleri herhangi bir proteini kodlamaz, bunun yerine transkripsiyon için promotör ve terminatör bölgelerini içerir ve bu bölgeler birçok teknik için primer bağlanma bölgelerini barındırmaktadır (Poczai *et al.* 2013).

Retrotranspozon temelli moleküler markırlarının çalışma prensipleri aşağıdaki gibidir.

1.1. IRAP (Inter-Retrotransposon Amplified Polymorphism)

DNA parmakizi oluşturmak için tanımlanmış hareketli element temelli bir markır sistemidir. 100-1500 bp büyüklüğünde değişiklik gösteren uzun uç tekrarlar (LTR) içeren retrotranspozon grubunu hedefler ve kullanılan primerler bu bölgelere bağlanarak iki uzun uç tekrar (LTR) sekansı arasındaki DNA segmentini çoğaltır (Şekil 1.1). Uzun uç tekrar bölgeleri için özel olarak tasarlanan bir veya iki primer aynı PCR'da kullanılır (Kalendar *et al.* 1999). Hedeflenen Sınıf 1 elemanları, her iki yönde de gerçekleşebilen (5'-3' veya 3'-5') kopyala-yapıştır transpozisyon metodunu kullanırlar. Bu durum baştan başa, kuyruktan kuyruğa ve baştan kuyruğa yönde bulunan farklı şekilde yönlendirilen gen (kopya) kümelerine yol açar (Poczai *et al.* 2013).

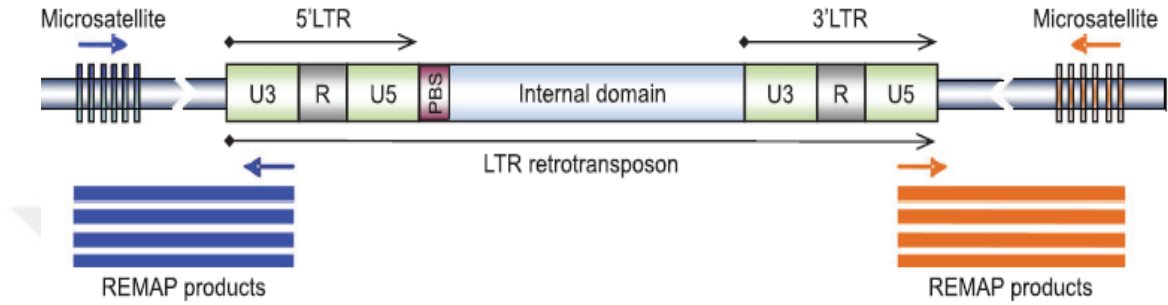


Şekil 1.1. IRAP (Inter-Retrotransposon Amplified Polymorphism) (Alzohairy *et al.* 2014).

1.2. REMAP (Retrotransposon-Microsatellite Amplified Polymorphism)

IRAP yöntemine çok benzer olan bu yöntemde iki primerden biri bir mikrosatellit motif ile eşleşir. Çoğu genomda bulunan mikrosatellitler veya basit dizi tekrarları retrotranspozonlar ile ilişkili gibi görünmektedir. REMAP, bir LTR sekansı ve adaptör takılmış tek dizi tekrarlar arasında çoğaltılmış bölgeler içindeki polimorfizmi kullanır. Özel olarak tasarlanmış bir LTR primeri diğer rastgele seçilen bir primer ile karıştırılır.

Bir REMAP reaksiyonunda primerlerden biri, bir IRAP primeri ile bağlantılı bir ISSR (Inter-Simple Sequence Repeat) primeridir (Şekil 1.2). IRAP ve REMAP güvenilir ve tekrarlanabilir bant profilleri oluşturduklarından çoğu bitki cinsinde genetik çeşitliliği belirlemede birlikte veya ayrı ayrı kullanılmaktadırlar (Poczai *et al.* 2013).



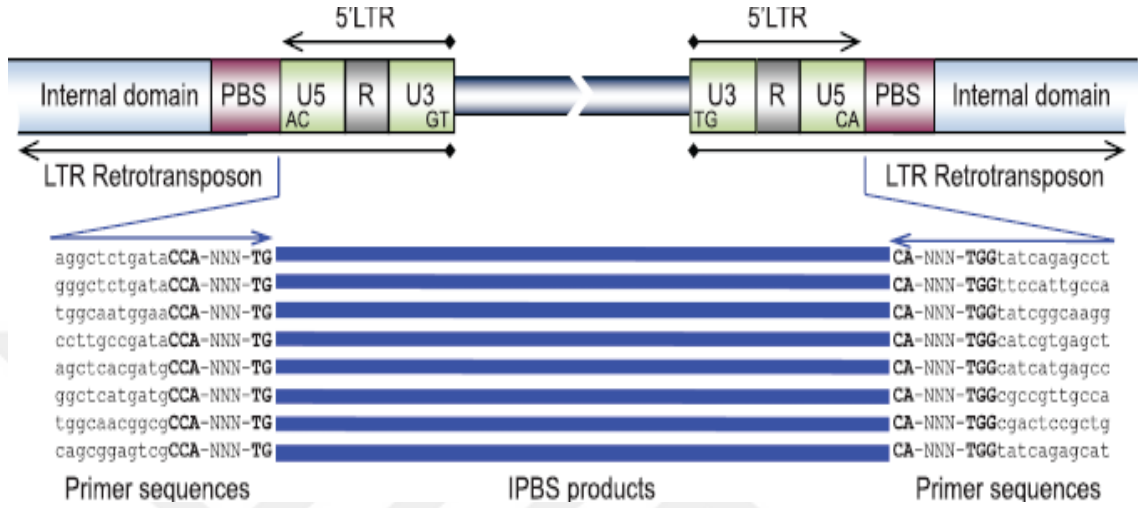
Şekil 1.2. REMAP (Retrotransposon-microsatellite amplified polymorphism) (Alzohairy *et al.* 2014)

1.3. IPBS (Inter-Primer Binding Site Amplification)

Moleküler markır olarak retrotranspozonların kullanılmasını sınırlandıran faktörlerden biri LTR bölgelerinin sekanslarının bilinmesi gerektiğidir. Eğer önceden bu bölgeye ait bir bilgi yok ise LTR bölgeleri klonlanmalı ve sekans analizi yapılmalıdır. Bu teknik Kalendar *et al.* (2010) tarafından sekans bilgisi gerekliliğini ortadan kaldırmak için geliştirilmiştir. Kalendar ve ark. IPBS tekniğinde LTR retrotranspozonları tarafından paylaşılan retrotranspozonların primer bağlanma bölgelerini kullanarak 18 nükleotidik tamamlayıcı ve sınırlı sayıda tRNA ile bu sorunu çözmüşlerdir. Geleneksel parmakizi analizi tekniklerine (IRAP ve REMAP) ihtiyaç duyulduğunda ve hatta hareketli element çeşitliliğini belirleme çalışmalarında bu teknik oldukça kullanışlı olabilmektedir (Poczai *et al.* 2013).

LTR retrotranspozonları ve tüm retrovirüsler tRNA için korunmuş bağlanma bölgeleri içerirler. Bunlar genellikle tRNA-met (metiyonin) dir. Bunun yanında tRNA-lys, tRNA-pro, tRNA-trp ve tRNA-asp de bulunmaktadır. Bu yöntem için retrotranspozonlar

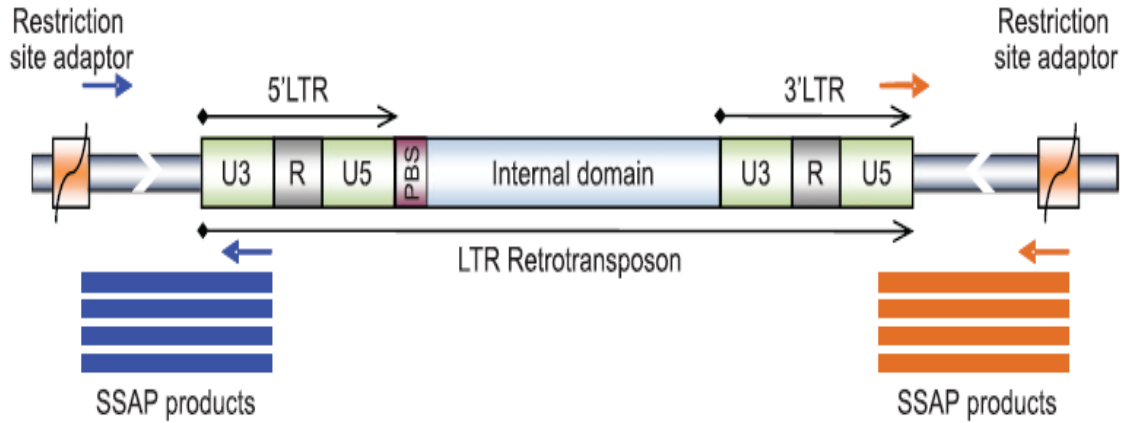
intergenik bölgeleri çoğaltmak için birbirine yeterince yakın ve ters yönlü olmalıdır (Şekil 1.3) (Alzohairy *et al.* 2014).



Şekil 1.3. iPBS (Inter-Primer Binding Site Amplification) (Alzohairy *et al.* 2014)

1.4. S-SAP (Sequence-Specific Amplified Polymorphism) / TD (Transposon Display)

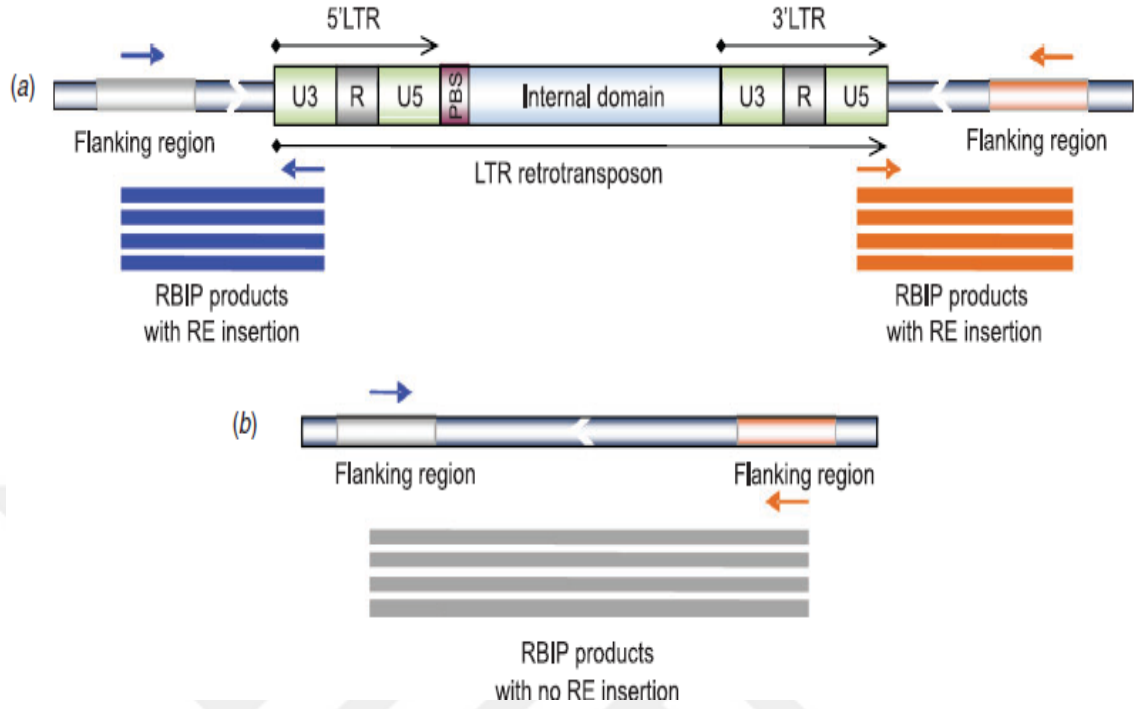
S-SAP ilk olarak arpada *BARE* 1 retrotranspozonunun yerini incelemek için kullanılmıştır. Prensip olarak, AFLP protokolünün modifikasyonudur. Genomik DNA bir kesim enzimi (*Mse1* veya *Pst1*) ile kesilir. Kesimden sonra sekansları bilinen kısa çift zincirli adaptörler kesilmiş DNA fragmentlerine bağlanır. Adaptör homolog primerlerle ön seçici bir PCR amplifikasyonu yapılır. Bunun amacı genom karmaşıklığını azaltmak ve daha yüksek bir tekrarlanabilirliktir. Bir sonraki adım adaptör primer yerine transpozona özgü bir primerle seçici bir amplifikasyondur. Primerler genellikle retrotranspozonların LTR bölgelerine veya iç kısımlarına bağlanır (Şekil 1.4) (Gutierrez *et al.* 2012).



Şekil 1.4. S-SAP (Sequence-Specific Amplified Polymorphism) (Alzohairy *et al.* 2014)

1.5. RBIP (Retrotransposon Based Insertional Polymorphism)

RBIP; retrotranspozona bağlanan bir primer ile retrotranspozonun yerleştiği genomun yavaşma bölgesine ait ikinci bir primer kullanılarak retrotranspozon insersiyonunu belirlemeye yarayan basit PCR temelli bir yöntemdir. RBIP, transpoz olabilen element insersiyonunun hem varlığını hem yokluğunu ortaya çıkarır ve tek lokuslu kodominant markırları meydana getirir. Bu yöntem, amplifikasyon için iki komşu primer kullanımıyla sonuçlanan bir dominant markır tipi de meydana getirir (Şekil 1.5). RBIP, belli bir lokusta bulunan bir hareketli element integrasyonuna yönelik polimorfizmi tespit etmek için tasarlanmış bir retrotraspozon yöntemidir. Bu yöntem aynı zamanda insersiyon sekans temelli polimorfizm olarak adlandırılmıştır. RBIP, çeltik bitkisinde çeltik çeşitlerinin evrim sorununu gidermek için kullanılmıştır. Bu teknik tüm sekans bilgisi gerektirdiği için diğer tekniklere göre çok pahalı ve karmaşıktır (Paux *et al.* 2010).



Şekil 1.5. RBIP (Retrotransposon based insertional polymorphism) (Alzohairy *et al.* 2014).

Bitkiler türlerine göre maruz kaldıkları bütün stres etkilerini azaltmak üzere bu streslere karşı bir tepki vermektedir. Bu tepki oranları bitkilerin stres faktörlerine, bunun içerisinde tuzluluk stresi için de farklılık göstermektedir. Bitkiler tuzdan dolayı yaşadıkları strese karşı ya geliştirdikleri savunma mekanizmasıyla ya da gösterdikleri tolerans doğrultusunda karşı koymakta, savunmalarını ve yaşamlarını bu şekilde idame ettirmektedirler (Kızılaslan 2004).

Antioksidan koruma mekanizması bitkileri oksidatif stres etkilerine karşı korur. Bitkiler, enzimatik [(süperoksit dismutase (SOD), katalaz (CAT), askorbat peroksidaz (APX), glutathione reductase (GR), monodehidroaskorbat reductase (MDHAR), dehidroaskorbat reductase (DHAR), glutathione peroksidaz (GPX)] ve enzimatik olmayan [(askorbik asit (ASH), glutathione (GSH), fenolik bileşenler, alkaloidler, protein olmayan aminoasitler ve α -tokoferoller)] antioksidan koruma sistemleri ile ROT'ların temizlenmesi yoluyla oksidatif etkilerden bitki hücrelerini korurlar.

Bitki türleri, çevresel streslerle baş edebilmek için çeşitli mekanizmalar geliştirmişlerdir. Örneğin; dondurucu etkinin sonuçlarını azaltmak ve mekanizmayı temizlemek için enzimatik antioksidan (süperoksit, peroksidaz, katalaz) veya askorbik asit gibi enzimatik olmayan metabolitler, salisilik asit (SA) gibi bitki büyüme düzenleyiciler ya da osmoprotektantlar gibi stres işaretleyici maddeler salgırlar. Bu kimyasallar çevresel streslerin sebep olduğu zararlı etkilerden membran ve fotosentetik maddeleri korurlar (Ahmad *et al.* 2014).

Son yıllarda, bazı bitki gelişim düzenleyicilerinin bitkilerin tuza karşı direncini artıracağı üzerinde durulmuştur. Bunlardan salisilik asit, poliaminler, absisik asit ve jasmonik asit gibi bitki gelişim düzenleyicilerinin bu konuda bitkilere uygulanabileceği üzerinde durulmakta ve uygulanmasının yararlı olacağı öne sürülmektedir (Yoon *et al.* 2009; Roychoudhury *et al.* 2011; Singh and Gautam 2013; Sripinyowanich *et al.* 2013). Bitkilerin çeşitli gelişmelerini ve biyo aktivitelerini olumsuz etkileyen stres, yukarıda belirtilen bitki gelişim düzenleyicileriyle önlenebilmektedir (Wang 2005; Ashraf and Khan 2008). Bitkilerde genel olarak, tuzluluk stresinden dolayı sentezledikleri bitki gelişim düzenleyicilerinin miktarında azalma olabilir. Bu azalma bitkilerin tuza karşı dirençlerini de azaltmakta, dışarıdan bitki gelişim düzenleyici uygulamasını gerekli kılmaktadır. Bu nedenle uygulanan bitki gelişim düzenleyicileri bitkinin tuza karşı direncini artırmakta ve tuzluluk sorununu biraz daha azaltmaktadır (Kuiper *et al.* 1988). Bütün bunlara rağmen bu çalışmalardan tam bir sonuç alınamamış, uygulamaların etkileri tam olarak bilinmemektedir (Ashraf and Khan 2008).

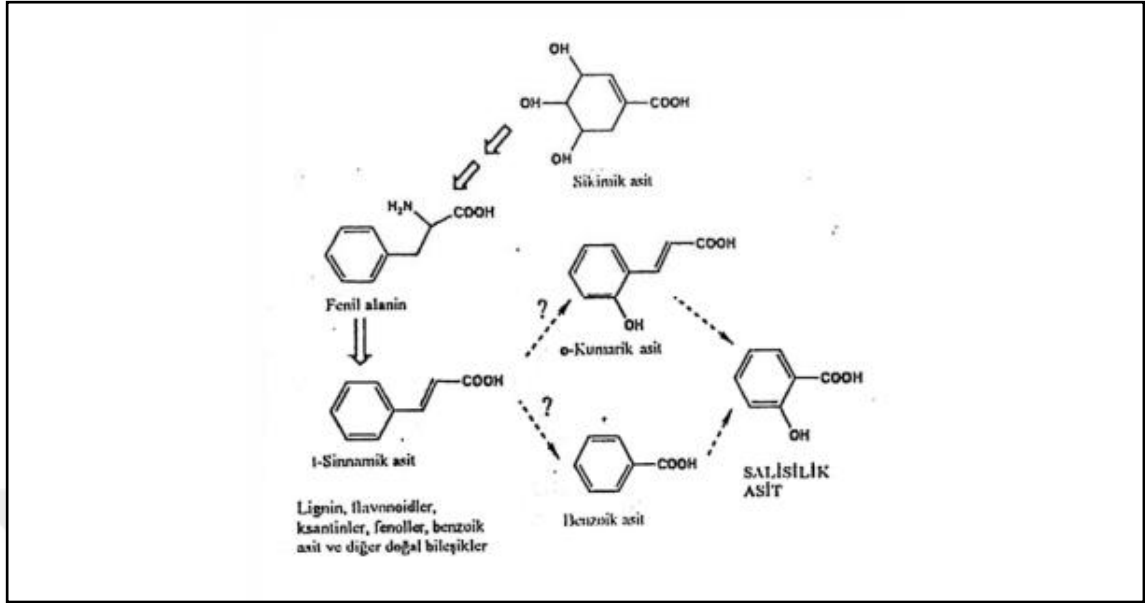
Bitki proteinleri, absisik asit (ABA) ve salisilik asit (SA) gibi fitohormonlar, biyotik ve abiyotik strese tepkiye karşı uyarıcı etkiye sahiptir. SA, birçok bitki tarafından sentezlenebilmekte ve olumsuz abiyotik faktörlerin etkisi altında tuzluluğa karşı bitkinin direncini artırmak üzere bitki bünyesinde depo edilebilmektedir (Kaydan *et al.* 2007)

Salisilik asit, birçok metabolik olayı düzenleyerek bitkinin tuza karşı toleransını artırmakta ve birçok metabolik olayı düzenleyerek bitkinin stresini azaltmakta ve normal gelişimini sağlamaktadır (Ashraf *et al.* 2010; Hussain *et al.* 2011). Bitkilere

uygulanen salisilik asit, bitkinin hastalık ve zararlılara karşı direncini de artırmakta, birçok patojene karşı koymasını artırmakta ve dayanıklılığını sağlamaktadır (Snyman and Cronjé 2008). Yine salisilik asitin tuzluluk, kuraklık, aşırı sıcaklık ve topraktaki birçok ağır metale karşı bitkinin dayanıklılığını artırmakta, uygulanması halinde sayılan bu olumsuz şartlardan bitkinin daha az etkilenmesini sağlamaktadır (Hayat *et al.* 2010). Salisilik asitin bu olumlu etkileri tek başına sağladığı gibi diğer ajanlarla etkileşim suretiyle olumlu etkilerini artırdığı da bilinmektedir (Husaaïn *et al.* 2011). SA aynı zamanda, tuzluluk, yüksek ve düşük sıcaklık, su, ağır metal, don ve kuraklık stresi gibi abiyotik stres şartlarında bitkilerin toleransını artırmaktadır. Yapılan çalışmalar, buğdayda tuz (Shakirova and Bezrukova 1997) ve su stresine (Singh and Usha 2003), çeltikte ağır metal stresi (Pál *et al.* 2002; Mishra and Choudhuri 1999), fasulye ve domateste kuraklık ve don (Senaratna *et al.* 2000) stresine salisilik asit uygulamalarının bitkilerde toleransı arttırdığı bildirilmiştir (Kaydan ve Yağmur 2006).

1.6. Salisilik Asit Biyosentezi

Bitkilerde salisilik asit (SA) oluşumu için iki yolun bulunduğu iddia edilmektedir. Bu yollarda, salisilik asidin β -oksidasyon ve orto-hidroksilasyon reaksiyonlarının meydana gelme sıralarının farklı olduğu bulunmuştur. Bu sebeple, sağlıklı ve virüs bulaştırılmış bütün bitkilerinde salisilik asitin, benzoik asit aracılığıyla sinnamik asitten meydana geldiği ispatlanmıştır. Bu sonuca göre, *Agrobacterium tumefaciens* ile enfekte olmuş genç domates fidelerinde, sinnamik asitin orto-kumarik asite orto- hidroksilasyonunun arttığı ve sonra kumarik asitin β -oksidasyonu ile salisilik asit oluştuğu bulunmuştur. Sağlıklı bitkilerde ise, salisilik asitin yaygın biyosentez yolunun, Sinnamik asit→Benzoik asit→Salisilik asit şeklinde gerçekleştiği bulunmuştur (Özeker 2005).



Şekil 1.6. Salisilik asit biyosentezi (Özeker 2005)

1.7. Salisilik Asit Metabolizması

Salisilik asit, bitkilerde aktif olan serbest formunun dışında, esterler ve glukozidler olarak bağlı formlarda da bulunabilir. SA, bitkilerde genellikle inaktif bir formda (depo formu) olan ve bir şeker bileşiği olan salisilik asit- β -glukozit (SAG) şeklinde bulunmaktadır. B-glukozidaz enzimi, bitkilerde fitohormonların sinyal aktivitelerini kontrol etmekte ve salisilik asidin bağlı formdan serbest forma geçişini katalize ederek, bitkide serbest salisilik asit düzeyini düzenlemektedir (Özeker 2005). Tütünde yapılan bir çalışmada, bitki yapraklarına dışarıdan salisilik asit uygulamasıyla, yaprakların hücrelerarası boşluklarında salisilik asit- β -glukozidaz aktivitesinin meydana geldiği bulunmuştur. SAG'ın çoğunluğu hücrelerarası boşluklarda bulunurken, salisilik asitin çoğunluğu ise hücrelerin içinde yer almıştır. Çünkü SAG'ın salisilik asitten şekillenmesi, hücrelerin içinde meydana gelmektedir. Bu durum da dışarıdan uygulanan salisilik asitinin direk olarak hücrelere girdiğini göstermektedir. Sonuçta, SAG'ın hücrelerarası boşluklar yoluyla uzak dokulara taşınan bir sinyal rolü oynayabileceği görüşü ortaya çıkmıştır. Salisilik asitinin uzun mesafeli taşınımı için uygun yolunun SAG

olduğu düşünülmektedir. Çünkü SAG hem salisilik asitten daha fazla çözünebilir, hem de daha az toksiktir (Özeker 2005).

Tuzluluk problemi yaşanan topraklarda yetiştirilen bitkiler, almış oldukları tuzu vakuollerinde biriktirip sitoplazmada elektrolit dengesini kurarlar. Nötral organik çözünür maddelerle de sitoplazmanın su potansiyelini korurlar. Sitoplazmada organik çözünür maddelerin birikimi için iki fonksiyon vardır. 1) Elektrolitler sitoplazmada vakuolden daha düşük düzeyde olduğunda ozmotik dengeye yardımcı olurlar, 2) Sitoplazmada yüksek elektrolit varlığında enzimleri korurlar (Öncel ve Keleş 2002).

Dünya nüfusunun hızla artması sonucu gıda verimliliğinin çeşitli abiyotik stres etkisi ile azalacağı belirtilmiştir. Aslında abiyotik stresler dünya çapında ürün kaybının başlıca nedeni olup; tarımsal açıdan önemli olan ürünlerin ortalama verimini %50 den daha fazla oranda düşürmektedir (Bray *et al.* 2000). Bundan dolayı biyotik ve abiyotik stres faktörlerinin bitki üzerindeki etkisinin minimize edilmesi sağlanmalıdır. Tuz stresine karşı toleransı yüksek bitkilerin üretilmesi ve geliştirilip yaygınlaştırılması gerek geleneksel seleksiyon ve ıslah yöntemleri gerekse modern moleküler biyoloji teknikleri ile sağlanabilmektedir. Bitki ıslahçıları geleneksel ıslah yöntemleri veya transgenik yaklaşımlar ile tuza toleranslı genotipler üretmiş olmasına rağmen (Ashraf and Akram 2009), abiyotik stres toleransının genetik olarak karmaşık mekanizmaları bu durumu oldukça zorlaştırmaktadır (Vinocur and Altman 2005).

Bu çalışmada, iki komşu retrotranspozon arasında kalan intergenomik bölgenin PCR ile çoğaltılmasına dayanan ve polimorfizmin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan “Inter-Retrotransposon Amplified Polymorphism” (IRAP) ve “Retrotransposon–Microsatellite Amplified Polymorphism” (REMAP) markır teknikleri kullanılarak, tuzluluğa bağlı olarak meydana gelen retrotranspozon polimorfizmi ve bu polimorfizme salisilik asit (SA) etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Artan nüfusun beslenmesinde en önemli bitkilerden biri buğdaydır. Buğday tanesi insan beslenmesinde; sapları ise hayvan beslenmesinde ve kağıt sanayinde kullanılmaktadır. Buğday üretimindeki azalma, ekmek fiyatları ve undan yapılan gıda maddelerinin fiyatlarını yükselmektedir (Süzer 2004).

Biyotik ve abiyotik çevre etmenlerinin etkisi altında bitkilerde ortaya çıkan değişimler stres olarak ifade edilirler. Stres bitkilerde büyüme ve gelişmeyi olumsuz yönde etkilerken üründe kalite ve verimin azalmasına, bitki ve bitki organlarının ölümüne neden olabilirler. Stres etmenlerinin oluşturduğu zarar bitkinin çevreye genetik adaptasyon derecesine bağlı olarak değişir (Singh and Dubey 1995).

Tohum çimlenmesi, bitki büyüme döngüsünün en temel ve en hayati safhasıdır. Birçok bitki üzerinde yapılan çalışmalar tuzluluğun tohum çimlenmesi üzerine olumsuz etkisinin olduğunu göstermiştir (Essa 2002; Ibrar *et al.* 2003; Jabeen *et al.* 2003; Ulfat *et al.* 2007; Mutlu and Bozcuk 2007; Çarpıcı 2009; Xu *et al.* 2011; Akbari *et al.* 2011; Khodarahmpour *et al.* 2012). Tuzluluk, çok farklı yollarla çimlenme sürecini etkiler. Tuz, çimlenme ortamının osmotik potansiyelini etkileyerek tohumun su emilimini etkiler (Khan and Weber 2006), nükleik asit metabolizmasının enzim aktivitesini değiştiren toksisiteye neden olur (Gomes-Filho *et al.* 2008), protein metabolizmasını değiştirir (Yupsains *et al.* 1994; Dantas *et al.* 2007), hormonal dengeyi bozar (Khan and Rizvi 1994) ve bitkinin tohum bağlama oranını azaltır (Promila and Kumar 2000; Othman *et al.* 2006).

Arfan *et al.* (2007) buğdaya uygulanan 150 mM NaCl konsantrasyonunun tohum çimlenmesinden bitki gelişimine kadar olan fizyolojik süreçte yaş ağırlık, kuru ağırlık ve yaprak miktarında azalmaya sebep olarak bitkinin yıllık tane ve tahıl veriminde düşüşe sebep olduğu sonucunu bulmuşlardır.

Sayar *et al.* (2010) tuz ve kuraklık streslerinin makarnalık buğday gelişimi üzerine olan etkisini incelemek için yaptıkları bir çalışmada tuzluluğa ve kuraklığa toleranslı olan iki makarnalık buğday (*Triticum durum* L.) çeşidini (BD290273 ve Omrabia) kullanmışlardır. NaCl ve PEG 8000 ile oluşturulan farklı osmotik potansiyellerin (-0.2, -0.4, -0.6 ve -0.8 MPa) çimlenme, çimlenme gücü ve çim gelişimi üzerine olan etkisini incelemişlerdir. NaCl'nin, çimlenme ve sürme hızına olumsuz yönde etkisinin olduğunu bildirmişlerdir.

Kumar *et al.* (2012) tuzluluğun buğdayda çimlenme, büyüme, verim ve verim öğeleri üzerine olan etkisini çalışmışlardır. Bu çalışmada 8 buğday genotipinin (KRL1-4, K8434, K88, K9644, K9465, K9006, HD 2733 ve HD 2329) tuza tolerans (3, 6, 9 ve 12 dSm⁻¹) düzeyleri incelenmiştir. En düşük tuz konsantrasyonun (3 dSm⁻¹), çimlenme, büyüme ve verim parametrelerini etkilemediği daha yüksek tuz konsantrasyonları çimlenme, büyüme ve verimi azalttığını belirlemişlerdir. K9644 ve K9465 genotiplerinin tuz stresine hassas, K9006, K8434, KRL1-4, K88 ve HD2733 genotiplerinin ise daha yüksek tuz konsantrasyonlarına karşı dayanıklılık göstermişlerdir.

Yine diğer bitki türlerinde yapılan çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir. *Solanum lycopersicum* (domates) üzerinde yapılan bir çalışmada tuzun yüksek konsantrasyonunun (150 mM NaCl) çimlenme oranını azalttığı bildirilmiştir (Foolad and Lin 1997, 1998). Yine *S. lycopersicum* üzerinde yapılan bir başka çalışmada tuzluluk ve bitkideki çimlenme yüzdesi arasında olumsuz yönde bir ilişkinin olduğu gösterilmiştir (Kaveh *et al.* 2011). Yine aynı bitkide Cuartero and Fernandez-Munoz (1999) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise tuz konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak çimlenme için gerekli olan sürenin arttığı belirlenmiştir. Neamatollahi *et al.* (2009), *Foeniculum vulgare* bitkisinde NaCl konsantrasyonundaki artışın çimlenme yüzdesini azalttığını bildirmişlerdir. Lombardi and Lupi (2006) tarafından yürütülen bir çalışmada arpa (*Hordeum secalinum*) bitkisine 10 gün boyunca uygulanan 400 ve 500 mM NaCl konsantrasyonları, sırasıyla çimlenme oranını %38 ve %40 azaltmıştır. Bordi (2010) tarafından yapılan bir çalışmada 150 ve 200 mM NaCl uygulaması kanola

(*Brassica napus* L.) bitkisinin çimlenmesinde önemli oranda azalmaya sebep olmuştur. Bu çalışmalara göre tuzluluk konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak çimlenme oranında azalış olduğu görülmektedir. Bu azalmanın sebebi olarak iyon dengesizliği, ozmotik düzensizlik ve tohumlar tarafından alınan suyun azlığından kaynaklandığını bildirmişlerdir.

Dört çeltik çeşidi kullanılarak yapılan bir çalışmaya göre çeşitli tuz konsantrasyonlarına (30-150 mM) maruz bırakılan bitkilerin çimlenme oranlarında önemli miktarda azalışlar görülmüştür. Hassas çeşitlerin tuzluluk şartları altında çimlenme oranında daha fazla azalma görülmüştür (Hasanuzzaman *et al.* 2009). *Vigna radiata*'da 250 mM NaCl uygulamasıyla çimlenme yüzdesi %55 azalmıştır (Nahar and Hasanuzzaman 2009). 240 mM NaCl uygulaması yapılan mısır bitkisinde ise çimlenme oranı %32, kök uzunluğu %80, fide boyu %78 ve tohum canlılığı %98 azalma göstermiştir (Khodarahmpour *et al.* 2012).

Tuz stresinin bitki üzerindeki en önemli etkilerinden biri de büyüme hızını azaltmasıdır. Tuzluluk bitki büyümesini çeşitli şekillerle etkiler. Gelişmenin ilk safhasındaki bu tepkinin nedeni tuz içeren toprak solüsyonunun ozmotik etkisindendir. Bu etki su stresinin neden olduğu etkiyle aynıdır (Munns 2002). Bir bitkinin büyümesine tuzluluğun etkisi, bitkiyi tuzluluğa maruz bırakma süresine bağlıdır. Munns (2002)'ye göre tuzluluğa maruz bırakılan bitkilerin ilk birkaç saniye ve dakikasında hücrelerden su kaybedilir ve hücre küçülür. Saatler sonra hücreler orijinal hacmine kavuşmasına rağmen tuz stresi hücrelerin uzama oranını azaltır ve bu da kök ve yaprak büyümesinin azalmasına neden olur. Günler sonra hücre bölünmesi safhaları da etkilenir. Haftalar sonra vejetatif gelişme değişir ve aylar sonra ise bu değişim üreme döneminde görülür. Munns (2005) tuzluluğun bitkiler üzerindeki etkisini iki farklı süreçte incelemiştir. Bunlardan birincisi, osmotik etki nedeniyle ortaya çıkan hızlı süreç (ozmotik stres), diğeri ise bitkilerde tuz toksisitesine neden olan yapraklarda tuz birikimi nedeniyle oluşan yavaş süreç (tuza spesifik stres)'tir. Bu süreçler sonunda yaprak ölümü, toplam fotosentetik yeşil alan azalması ve nihayetinde verimde düşüş meydana gelmektedir (Munns 2002).

Yüksek tuz konsantrasyonuna uzun süre maruz kalan bitkilerde Na^+ ve Cl^- birikimi yaprak ölümlerine neden olur. Yaprak hasarı ve ölümü vakuollerde biriken tuz miktarının üstündeki yüksek tuz konsantrasyona bağlıdır. Çok sayıda yapılan çalışmalarda bitkilerin özellikle çimlenme ve erken vejetatif gelişme dönemlerinin tuz stresine çok daha hassas olduğu bildirilmiştir (Munns 2002, 2005). Khatun and Flowers (1995) tarafından yapılan bir çalışmaya göre tuzluluğa (10 mM NaCl) maruz bırakılan çeltik (*O. sativa*) bitkisinde tohum tutma oranında %38 azalma olduğu gözlenmiştir. Yine *Suaeda salsa* bitkisinde yapılan çalışmada sürgün çapının, dal uzunluğunun, dal sayısının ve bitki boyunun önemli şekilde tuz stresinden etkilendiği belirlenmiştir (Guan *et al.* 2011). Yine *Glycine max* bitkisinde yapılan bir çalışmada Dolatabadian *et al.* (2011) tuz stresinin sürgün ve kök ağırlığını, bitki boyunu ve yaprak sayısını önemli derecede azalttığını ancak yaprak alanını etkilemediğini belirlemişlerdir.

Kaydan ve Yağmur (2006) buğday bitkisine uyguladıkları 8 dSm^{-1} tuz dozunun fidelerin çıkış oranı, fotosentetik pigment içerikleri, toprak altı ve toprak üstü kuru ağırlıklarını azalttığını bulmuşlardır.

Moud and Maghsoudi (2008) ekmeklik buğdayda yaptıkları bir çalışmada iki farklı tuz konsantrasyonunun (9 ve 15 dSm^{-1} NaCl) koleoptil ve kök gelişimi üzerine olan etkisini incelemişlerdir. Araştırma sonucunda tuz stresinin koleoptil ve kök gelişimini azalttığını belirlemişlerdir.

El-lethy *et al.* (2013) tuzluluk stresi altında makarnalık buğday çeşitlerine potasyum uygulamasının etkisini incelemek için 3 farklı konsantrasyonda NaCl (40, 80, 120 mM NaCl) ve 2 dozda potasyum (25, 150 mg $\text{K}_2\text{O/kg}$) uygulamışlardır. Çalışma sonunda elde edilen verilere göre 120 mM NaCl uygulaması yapılan bitkilerde kuru ve yaş ağırlık ve bitki boyu özelliklerinde önemli azalışlar görülmüştür.

Akhtar *et al.* (2015), tuz stresi altında buğdayın verim, fizyolojik özellikler ve büyüme gelişimi üzerine olan etkisini incelemek için yürüttükleri bir çalışmada bitkiler 3 farklı tuz konsantrasyonuna (0, 25, 50 mM NaCl) maruz bırakılmıştır. Çalışma sonunda en

yüksek tuz konsantrasyonu ile (50 mM NaCl) sulaması yapılan tüm bitkilerin öldüğü görülmüştür.

Tuz şartları altındaki bitkilerin fotosentezindeki azalma su potansiyeli azalmasından kaynaklanmaktadır. Fotosentez, kloroplastlarda yüksek Na^+ ve Cl^- birikimiyle kısıtlanır. Fotosentetik elektron taşınımı, tuz stresine nispeten duyarsız olduğu için ya karbon metabolizması yada fotofosforilasyon tuzluluk stresinden daha fazla etkilenebilmektedir (Sudhir and Murthy 2004). Fotosentez ve verim arasında pozitif bir ilişki vardır (Pettigrew and Meredith 1994). Fisarakis *et al.* (2001) tarafından yapılan bir çalışmada tuz stresinin fotosentezde azalmaya neden olduğu bildirilmiştir. Tuzluluğun bitki üzerindeki etkisi tuz konsantrasyonuna, bitki türüne ve genotipe bağlıdır. Düşük tuz konsantrasyonlarının fotosentezi teşvik edici etkisinin olduğunu gösteren çalışmalar da vardır. Örneğin; Parida *et al.* (2004)'ün *Bruguiera parviflora* bitkisi üzerinde yaptıkları bir çalışmada düşük tuz konsantrasyonları stoma iletkenliğini arttırmaktadır. Tuzluluğun; bitki yaşlılığını hızlandırıcı, enzim aktivitesini değiştirici ve stoplazmik yapının değişmesi yönünde etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Iyengar and Reddy 1996). Tuz stresi şartları altındaki stoma iletkenliğindeki azalma karboksilasyon döngüsü için kullanılabilir CO_2 kısıtlamasıyla sonuçlanır (Brugnoli and Björkman 1992). Bu da stomal kapanmayla sonuçlanır ve terleme boyunca atılması gereken su atılamaz ve kloroplast aktivitesi değişir. Bitkilerdeki yüksek stoma kapanması, yapraklarda CO_2 tutulumu artışına sebep olur ve bu da fotosentetik döngüyü zorlaştırır (Maxwell and Johnson 2000). Çeltik (*Oryza sativa*) bitkisinde yapılan bir çalışmada tuzun (200 mM NaCl) yapraklardaki Klorofil (b) içeriğini %41, Klorofil (a) içeriğini ise %33 azalttığı belirlenmiştir (Amirjani 2011). Yine çeltik üzerinde yapılan başka bir çalışmaya göre 100 mM NaCl uygulaması yapılan bitkilerde kontrolle karşılaştırıldığında Klorofil(a), (b) ve Karotenoid (Car) içeriklerinde sırasıyla %30, %45 ve %36 azalma gözlenmiştir (Chutipaijit *et al.* 2011).

Romero-Aranda *et al.* (2001)'e göre köklerdeki tuz oranındaki artış yapraklardaki su potansiyeli azalışına neden olur ve bu da çoğu bitki büyüme aşamasını etkiler. Tuzluluğun bitkiler üzerindeki ozmotik etkisi bitkinin kök bölgesinde çözünmüş

konsantrasyon artışı yoluyla topraktan alınan su miktarının azalmasına sebep olur. Düşük tuz konsantrasyonları, çözünmüş madde emilimini ve bitki su alımını etkiler. Şeker pancarı varyetelerinde tuz uygulamaları nispi su içeriğinde önemli azalmalara sebep olmuştur (Ghoulam *et al.* 2002). Katerji *et al.* (1997)'ye göre nispi su içeriği oranındaki azalma turgor kaybına neden olur.

Çoğu araştırmaya göre tuzluluk, bitkilerde besin elementi dengesizliğine yol açmaktadır. Ancak tuzluluk ile mineral besinler arasındaki ilişki çok karmaşıktır (Grattan and Grieve 1999). Besin elementi dengesizliğinin muhtemel sebebi tuz stresinin besin elementlerinin alımına, elverişliliğine ve bitki içerisindeki taşınımına ve dağılımı üzerine olan olumsuz etkisinden kaynaklanmaktadır. Birçok araştırmaya göre tuzluluk, bitkiye besin alımı ve besin birikimini azaltmaktadır (Rogers *et al.* 2003; Hu and Schmidhalter 2005). Bu azalma, ürün cinsine ve çevresel şartlara bağlı olarak ürün verimi ve kalitesini azaltmaktadır. Çalışmalar tuzluluğun, bitkide N birikiminde azalmaya neden olduğunu göstermiştir. Tuzluluk şartları altında N alımındaki azalma Cl^- ve NO_3^- ve/veya Na^+ ve NH_4^+ arasındaki etkileşim yoluyla ürün verim ve büyümesinde azalmaya sebep olur. Özellikle NO_3^- ve Cl^- arasında antagonistik bir etki olup tuzlu koşullar altında su alımını da azaltmaktadır (Rozeff 1995). PO_4O_3^- 'ün aktivitesini azaltan iyonik kuvvet etkisi, toprak solüsyonundaki sorbsiyon tarafından sıkı bir şekilde kontrol edilmesi ve Ca-P minerallerinin düşük çözünürlüğü nedeniyle tuzlu topraklarda fosfor yarıyışlılığı azalmaktadır (Qadir and Schubert 2002). Farklı bitki türlerinde yapılan çalışmalar ekstra Na^+ 'nın yüksek seviyesinin hem K hem de Ca^{++} 'nın bitki dokularında konsantrasyonunda azalmalara neden olduğu belirlenmiştir (Asch *et al.* 2000; Hu and Schmidhalter 1997, 2005). Bitki dokularındaki K konsantrasyonundaki azalmanın ana nedeni köklerin alım bölgelerindeki Na ve K'nın antagonistik etkisi nedeniyle meydana gelmektedir. Yine Hu and Schmidhalter (1997) *Triticum aestivum* L. yapraklarında tuz stresinin Mg konsantrasyonunda azalmalara neden olduğunu bildirmişlerdir. Tuzlu topraklarda mikro elementlerin yarıyışlılığı, mikro elementlerin çözünabilirliğine, toprak solüsyonun redoks potansiyeline ve organik ve inorganik parçacık yüzeylerindeki bağlanma bölgelerinin doğasına bağlıdır. Ayrıca bitki türüne ve tuz stresinin seviyesine bağlı olarak tuz stresi mikro element

konsantrasyonunu farklı bir şekilde etkileyebilir (Oertli 1991). Mikro besin elementi eksikliği yüksek pH nedeniyle tuz stresi altında çok yaygındır (Zhu *et al.* 2004).

Akbari Ghogdi *et al.* (2012) ekmeklik buğdayda tuzluluğun bazı fizyolojik özelliklerine olan etkisini incelemek için yürüttükleri çalışmada tuz stresi bitkiye, kalsiyum klorid ve sodyum kalsiyum (1:10) yoluyla, 4 dozda (kontrol 1,3 dSm⁻¹ ve 5, 10, 15 dSm⁻¹) uygulanmıştır. Araştırmada bitki materyali olarak tuza toleranslı Sistani ve Neishabour çeşitleri ve tuza hassas olan Tajan ve Bahar çeşitleri kullanılmıştır. Klorofil (b) içeriği, yaprak su içeriği, sodyum ve potasyum içerikleri ve K⁺/Na⁺ oranı, toplam tane verimi ve tanelerin kimyasal içerikleri belirlenmiştir. Tuz stresi su içeriği, K⁺ içeriği, K⁺/Na⁺ oranı ve tane verimini azaltmış ancak Na⁺ içeriğini tüm genotiplerde sürgün oluşumu ve çiçeklenme safhalarının her ikisinde de artırmıştır. Çiçeklenme oranı düşüş göstermesine rağmen klorofil içeriği artış göstermiştir. Sistani ve Neishabour çeşitlerinde tuz şartları altında K⁺ içeriği, K⁺/Na⁺ oranı ve su içeriği daha fazla bulunmuştur. Bahar ve Tajan çeşitlerinde ise her iki safhada da klorofil b ve sodyum içerikleri daha fazla gözlenmiştir.

Eker *et al.* (2006) tuz stresinin hibrit mısır çeşitlerinde kuru madde üretimi ve iyon birikimi üzerine etkisini incelemek için yürüttükleri çalışmada toplam 19 adet hibrit mısır çeşidini büyümenin erken döneminde tuz stresine maruz bırakmışlardır. Besin çözeltisine 250 mM NaCl uygulanmış ve bu uygulama hasattan 6 gün önce yapılmıştır. Ardından 17 günlük yetiştirme süresinden sonra yeşil aksam ve kuru kök madde verimi, yaprak zarar oranı, yeşil aksam ve kökte potasyum, sodyum ve kalsiyum konsantrasyonları belirlenmiştir. Yaprak zarar şiddetine göre Maverik en toleranslı, C.7993 ise en duyarlı çeşitler olmuştur. Toleransı en düşük olan C.7993 hattı, en dayanıklı olan Maverik çeşidine göre yeşil aksamında 4 kat daha fazla Na konsantrasyonuna sahip olmuştur.

Akram and Ashraf (2011) ayçiçeğinde yaptıkları bir çalışmada yüksek tuz (NaCl) konsantrasyonunun iyon toksisitesine neden olduğunu bildirmişlerdir. Yine, Tufail *et al.* (2013) yaptıkları bir çalışmada mısır bitkisine uygulanan 120 mM'lık tuz (NaCl)

konsantrasyonunun bitkilerin besin alımında azalmaya sebep olarak iyon toksisitesini arttırdığını belirlemişlerdir.

Li *et al.* (2013) buğday fideleri üzerinde tuz konsantrasyonuyla (250 mM) yaptıkları bir çalışmada tuzluluğun fide yapraklarında akrilonitril stiren akrilat ve glutatyon bileşenleri birikiminin artmasına ve bitkide su ve iyon toksisitesi düşüşüne sebep olduğunu bildirmişlerdir.

Tarımda tuzluluğun sayılabilir önemli etkilerinden biri de ürün verimi üzerine olan etkisidir. Bazı halofitler dışında tuz stresinden dolayı bitkilerin ürün veriminde önemli azalmalar olmaktadır. Tolerans ve verim stabiliteyi çokgenli bir özellik olup tolerans oluşumu karmaşık bir olaydır (Yokoi *et al.* 2002). Ürün tür ve çeşidi tuzluluğa karşı çeşitli toleranslar oluşturmaktadır. Tuz toleransı, elektriksel iletkenlik eşik değeri ile bu değerin üzerindeki her elektrik iletkenlik değeri için verimdeki yüzde azalışla belirlenir. Yapılan çalışmalar verimdeki çeşitliliğin tolerans derecesi ve tuz konsantrasyonuna bağlı olduğunu göstermiştir (Mass 1986). Nahar and Hasanuzzaman (2009) tarafından yapılan bir çalışmaya göre *V. radiata* bitkisinin tüm verim öğeleri üzerine tuzluluğun olumsuz etkisinin olduğu bildirilmiştir. 250 mM NaCl uygulaması *V. radiata* bitkisinde kontrolle karşılaştırıldığında BARI mung-2, BARI mung-5 ve BARI mung-6 çeşitlerinin veriminde sırasıyla %77, %73 ve %66 azalmaya sebep olmuştur (Nahar and Hasanuzzaman 2009). Tuzluluk şartları altında verimdeki bu azalmanın nedeni, yaşlanma ve çimlenmedeki fizyolojik aktivitelerdeki azalmaya bağlıdır (Wahid and Rasul 1997), *O. sativa* L. çeşitlerinde verim kaybı 150 mM NaCl uygulamasından sonra kontrolle karşılaştırıldığında BR11, BRRI dhan41, BRRI dhan44 ve BRRI dhan46 çeşitlerinde sırasıyla %50, %38, %44 ve %36 olmuştur (Hasannuzzaman *et al.* 2009). Greenway and Munns (1980) tarafından yürütülen bir çalışmada tuza toleranslı bir şeker pancarı türüne uygulanan 200 mM NaCl, bitki kuru ağırlığında %20 azalmaya sebep olmuştur. Tuza toleranslı pamuk bitkisi türüne uygulanan 200 mM NaCl ile verimde %60 azalma olurken aynı dozun hassas soya bitkisi türlerine uygulanması sonucu tüm bitkiler ölmüştür (Flowers and Yeo 1986).

Akram *et al.* (2002) farklı tuz konsantrasyonlarının (2, 5, 10, 15, 20 dSm⁻¹) buğdayda verim ve verim öğeleri üzerine olan etkisini incelemek için yürüttükleri çalışmada tuzluluğun başak boyunu, başaktaki çiçek sayısını, tane sayısını, bin tane ağırlığını ve tane verimini azalttığını belirlemişlerdir. Yine aynı çalışmada bu azalma oranının tuz konsantrasyonu ve genotipe göre farklılık gösterdiğini bildirmişlerdir.

Qados (2009) tarafından yapılan bir çalışmada tuz stresi şartlarında Sakha61 buğday genotipinin kimyasal bileşeni ve verimi üzerine Arjinin etkisinin çalışıldığı bir çalışmada ekim toprakları 4 farklı tuz konsantrasyonu (2000, 4000, 6000 ve 8000 ppm) içeren su ile sulanmıştır. 8000 ppm'lik uygulama yapılan bitkilerde kuru ve yaş ağırlıkları önemli ölçüde azalma göstermiştir. 6000 ve 8000 ppm'lik konsantrasyonlarla uygulama yapılan bitkilerin tüm verim öğelerinde kontrol bitkileri ile karşılaştırıldığında önemli azalmalar görülmüştür.

Zheng *et al.* (2010) ekmeklik buğdayda tuza toleranslı (DK961) ve tuza hassas (JN17) çeşitlerini kullanarak yaptıkları bir çalışmada, tuz stresinin (0, 50, 100 ve 150 mM NaCl) tane verimine ve kaliteye olan etkisini incelemişlerdir. Araştırma sonunda, JN17 genotipinin tane verimi ve bin tane ağırlığı kontrol uygulamasına göre 150 mM NaCl'de tane veriminde %79,6, bin tane ağırlığında %28,3 azalış belirlenirken, DK961 genotipinde 150 mM NaCl'de tane veriminde %40,0, bin tane ağırlığında ise %11,96 azalış olduğu belirlenmiştir. Yine aynı çalışmada, kalitenin tuz stresinden etkilendiği bildirilmiştir.

Turki *et al.* (2012), 39 tane yazlık, 16 tane kışlık olmak üzere toplam 55 adet makarnalık buğday genotipi kullanarak tuz stresinin tane verimine ve kaliteye olan etkisini incelemiştir. Araştırma sonunda tuz stresine bağlı olarak 45 genotipin veriminde ve kalitesinde önemli oranda azalışlar gözlemlenirken, 10 tanesinin ise tuz stresine toleranslı olduğunu bildirmişlerdir. Yine aynı çalışmada, kışlık çeşitlerin yazlık çeşitlere göre tuz stresine daha toleranslı olduğunu bildirmişlerdir.

Nia *et al.* (2012), tuzlu (0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 ve 0.6 mol/L) ve tuzsuz topraklarda tuzluluğun etkisinin buğday verim ve verim öğeleri üzerine olan etkisini incelemek için yaptıkları bir çalışmada tuz stresinin bitkilerin saman ağırlığı, tane verimi, bitki ve başak boyu, kök ve kardeşlenme sayısı, başak ağırlığı, tohum sayısı ve bin tane ağırlığı gibi özellikleri azalttığını gözlemlemişlerdir.

Shamsi and Kobraee (2013) yaptıkları bir çalışmada üç buğday çeşidinin (Chamran, Marvdasht ve Shakryar) tuz stresine karşı verdiği biyokimyasal ve fizyolojik tepkiyi çalışmışlardır. Üç dozda yürütülen (0, 6, 8 ve 16 dSm⁻¹) tuz stresi faktörlerine karşı alınan sonuçlara göre tuzluluk konsantrasyonundaki artış başaktaki yüzde tane oranını, bitkideki yüzde tane oranını, döl veren bitki sayısını ve kardeşlenme sayısını, bin tane ağırlığını, bitki boyunu, tane verimini, biyolojik verimi, ürün indeksini ve bitkideki su içeriğini azaltmıştır. Fakat prolin ve suda çözünen karbonhidrat oranını arttırmıştır. Tuzluluğun bitkideki olumsuz etkilerinden biri olarak ise Na⁺ içeriğindeki artışa karşı yapraklardaki K⁺ bileşenlerinin azalması olmuştur.

Tuz stresi; iyonik dengenin bozulması, enzimatik aktivasyonun engellenmesi, osmotik dengesizlik, membran hasarı, hücre bölünmesinin engellenmesi, fotosentezde azalmanın yanı sıra reaktif oksijen türleri (ROT)'nin üretimine neden olurlar (Mahajan and Tuteja 2005). ROT'lar oksidatif etki yoluyla nükleik asitleri etkiler. DNA'da baz modifikasyonun DNA'nın tek veya çift ipliğinde kırılmalara ve sitozin metilasyonuna neden olurlar (Demirkıran *et al.* 2013).

Tuzluluk stresinin yanı sıra diğer abiyotik stresler de oksidatif stresle sonuçlanan DNA, karbonhidrat, lipid ve proteinin olumsuz etkilenmesine sebep olan reaktif oksijen türleri (ROT)'nin fazla üretimine sebep olur. ROT'lar iki serbest radikal (O₂^{•-}, süperoksit anyon radikalleri; OH⁻, hidroksil radikali; HO₂[•], perhidroksi radikali ve RO[•], alkoksi radikalleri) ve radikal olmayan moleküler formlar (H₂O₂, hidrojen peroksit ve ¹O₂, tekli oksijen) içerirler. Kloroplastlarda, fotosistem I ve II (PSI ve PSII)'de ¹O₂ ve O₂^{•-}'nin büyük çoğunluğu üretilir. Mitokondride, elektron taşıma zincirinde, O₂^{•-} üretimi yapılır (Gill and Tuteja 2010).

ROT'lar gen ifadesini de etkiler ve bu yüzden büyüme, hücre çeperi, programlanmış hücre ölümü, abiyotik stres tepkileri, patojen etkileri, sistematik sinyal ve gelişme gibi çoğu süreci kontrol ederler (Gill and Tuteja 2010).

Tuz stresinin genetik modifikasyonu uyarıcı ve NaCl konsantrasyonuna bağlı DNA hasarına neden olduğu bilinmektedir. Yine tuzluluğun bitkilerde DNA metilasyonunun hipermetilasyon ve hipometilasyon evrelerinin her ikisinin de değişimine neden olduğu bilinmektedir (Demirkıran *et al.* 2013).

Stres faktörleri DNA'yı etkileyerek DNA kalıbının oksidasyon ve alkilleşmesine, pirimidin dimerleri ve abazik kısımların oluşmasına, DNA'da tek ve çift zincir kırılmalarına (SSBs ve DSBs), DNA iplikleri arası çapraz değişimlere neden olurlar ve bu yüzden bitki genomu ciddi bir tehlike altına girer. DNA'nın fiziksel ve kimyasal yapısındaki hasarların bir sonucu olarak çeşitli zararlı ajanlar tarafından meydana gelen DNA hasarları, DNA'nın fiziksel ve kimyasal yapısındaki değişimlere neden olur. Böylece bitki büyümesi ve gelişmesini olumsuz etkileyen sitotoksik ve genotoksik etkiler meydana gelir (Balestrazzi *et al.* 2011). Bitkiler bu nedenle ekstrem çevresel stres koşulları altında yaşamlarını sürdürebilmek için, bitki hücreleri genom stabilitelerini devam ettirmek için ve genetik değişimleri elemine etmek için DNA hasarının tamirini yapmak ve belirlemek için yaygın ve etkili mekanizmalara sahiptir (Roy 2014).

Agar *et al.* (2016) tarafından buğdayda tuz stresinin genomik kalıp kararlılığı (GTS)'na olan etkisini belirlemek için yaptıkları bir çalışmada tuz konsantrasyonundaki artışın genomik stabiliteyi azalttığını belirlemişlerdir. NaCl'nin en düşük (50 mM) dozunda GTS değeri %37.8 iken en yüksek (150 mM) dozunda GTS'nin en düşük değeri %29.3 olarak tespit edilmiştir. Yine, arpada (*Hordeum vulgare* L. cv. Tokak) *in vitro* şartlar altında tuz stresinin bitkide meydana getirdiği morfolojik, fizyolojik ve moleküler özelliklerine olan etkisi incelenmiştir. Murashige ve Skoog (1962) ortamında kültüre alınan olgun embriyolara 20 gün boyunca 0 (kontrol), 50 ve 100 mM NaCl konsantrasyonları uygulanmıştır. Her iki konsantrasyonda da sürgün büyümesi

kısıtlanmış, protein içeriği azalmış ve SOD miktarı tuzun konsantrasyonuna göre değişim gösterdiği tespit edilmiştir. Yine aynı çalışmada, tuzluluk, köklerde başlıca hipermetilasyon olmak üzere metilasyon değişimlerine sebep olduğu belirlenmiştir (Demirkıran *et al.* 2013).

DNA metilasyonu stres adaptasyonunda kritik bir rol oynar (Mirouze and Paszkowski 2011). DNA metilasyonundaki değişimler hem dokuya spesifik hem de populasyon basamaklarında tek bir gen ifadesindeki kalıbın öncülüğünde olur. Bu değişimler özellikle bireysel organizmaların çevresel şartlara karşı tepkisinde geçici çeşitlilik meydana getirdiği zaman populasyon seviyesinde oldukça önemlidir. Bazı çevresel kanıtlar genomun yeniden düzenlenmesini kolaylaştıran spesifik mahallerin hipometilasyon olduğunu göstermektedir ve yeni gen fonksiyonlarının gelişimi ve uyumsuzluk geni öncülük etmektedir (Boyko *et al.* 2007; Bassing *et al.* 2002; Chen and Ni 2006). Somatik dokularda DNA metilasyonundaki azalma ile strese spesifik genlerin hazırlığında çoğunlukla ilişki bulunmaktadır. İki bağımsız çalışma demetilasyon süreçlerinin aktivasyonu ile biyotik ve abiyotik stres teşvikli kopya birikiminin birbirine bağlı olduğunu göstermiştir. Tütün bitkilerinin alüminyuma maruz bırakılması demetilasyon ile sonuçlandığı gibi (bir saat civarında maruz kalmıştır) transkripsiyonel aktivasyonda görülen tütün mozaik virüsü ile tütün bitkilerinde enfeksiyona sebep olan *NtGPD*L geninin transkripsiyonel aktivasyonu ve spesifik patojen duyarlı *NtA-lix1* geninin metilasyonunda azalmaya neden olmuştur (Wada *et al.* 2004; Choi and Sano 2007).

DNA metilasyonunda transgenerasyonel değişimlerinin anlatılması strese tepkide oldukça zordur. Boyko *et al.* (2010) genomdaki DNA metilasyon kalıplarındaki değişimler ve tekrar eden elementlerin DNA hipermetilasyonunu içeren tuz stresine tepki transgenerasyonunu anlatmıştır. DNA metilasyonundaki değişimler strese toleranstaki artışla DNA transkripsiyonu ve onarımında geliştirilen genlerin ekspresyonunda görülen önemli bir artış tarafından olur. Strese maruz bırakılan apomiktik karahindiba popülasyonunda biyotik stres ve tuz stresini de içeren çeşitli abiyotik strese DNA metilasyon kalıplarında önemli değişimler görülmüştür. Çoğu

modifikasyonlara karşın strese maruz kalan bitkilerin soylarında meydana gelen metilasyona ek olarak bunların döllere iletiminde değişimler gözlenmiştir.

Stres şartları altında metiltransferaz tarafından yapılan DNA metilasyonu, RNA interferans gibi mekanizmalara bağlıdır ve bitki DNA genomunu hızlı ve ters çevrilebilir şekilde değiştirebilme özelliğine sahiptir. Bu modifikasyon çeşidi DNA'nın karışık çevreye adaptasyonunu sağlar. Bitki strese uğradıktan sonra somatik hücreler stres tecrübesini epigenetik mekanizmaları tarafından hatırlar. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, anlamlı GC dizilerinin çoğu epigenetik mekanizmanın merkezini oluşturduğunu ve bitki için hafıza rolü oynadığını göstermektedir (Peng and Zhang 2009).

Biyotik ve abiyotik stresler bitki ve alglerde epigenetik reaktivatörler gibi rol alarak bitki LTR (Long Terminal Repeat) retrotranspozonlarının üretimini teşvik ederler (Mansour 2007, 2008; Alzohairy *et al.* 2012, 2013). *In vitro* doku kültürlerinde; sıcaklık, kuraklık ve tuz stresi, hibridizasyon, double haploidlerin üretimi ve X-ray ışınları bu retrotranspozon hareketlerine neden olabilmektedirler (Hirochika 1995; Hagan and Rudin 2002; Hagan *et al.* 2003; Grandbastien 2003; Grandbastien *et al.* 2005; Cheng *et al.* 2006; Mansour 2007, 2008, 2009; Salazar *et al.* 2007, Alzohairy *et al.* 2012; Butelli *et al.* 2012; Karan *et al.* 2012; Novikov *et al.* 2012). Genomun yeniden düzenlenmesinde gen kopya sayısındaki varyasyon genetik farklılığa neden olur. De Bolt'un çalışmaları biyotik ve abiyotik stresin gen kopya sayısını değiştirdiğini göstermiştir. Gen varyasyon sayısı başlatma bölgelerinin çoğunlukla transpozable elementler içerisine yerleşmiş ve strese tepki genleri LRR (leucine-rich repeat-lösince zengin tekrar) proteinlerine sahiptir (Boyko and Kovalchuk 2011).

Biyotik ve abiyotik strese neden olan bazı çevresel nedenler DNA demetilasyonu yoluyla transpozonları harekete geçirebilir (Chinnusamy and Zhu 2003). *Antirrhinum majus* bitkisinde soğuk stresi DNA hipometilasyonuna ve Tam-3 transpozonunun taranspozisyonuna neden olduğu bildirilmiştir. Araştırıcılar, Tam3 transpozonunun 15°C'de hareketli olduğunu ve bu sıcaklıkta Tam 3 transpozaz (TPase)'ın transpozonun

subterminal bölgesine bağlanarak metilasyon oranını düşürdüğünü sıcaklığın 25°C'ye çıkarılmasıyla oluşturulan stres ile transpozonun hareketinin baskılandığını gözlemlemişlerdir (Hashida *et al.* 2006). Steward *et al.* (2000), Ac/Ds retrotranspozonun soğuk stresinin etkisiyle DNA metiltransferazı baskılayarak transpozonda hipometilasyona yol açtığını bildirmişlerdir. Mısır bitkisinde yapılan bir çalışmada (Tan 2010), uygulanan NaCl'ün oluşturduğu osmotik stresin retrotranspozonların metillenmesine yol açtığı bildirilmiştir.

Özellikle birçok bitki türünde bulunan uzun uç tekrarlı (LTR) retrotranspozonlar, transkripsiyonda rol oynayan LTR dizilerindeki yüksek değişkenlik derecesi ile karakterize edilirler ve farklı stres uyarılarına cevap vermekle ilişkili yeni ifade şekilleri kazanarak evrimleşmişlerdir. Bitki LTR retrotranspozonlarının birçoğu, biyotik ve abiyotik stres uyarılarına cevap olarak daha geniş transkript havuzları üretirler (Mansour 2007).

Tüm bilinen bitki retrotranspozonları normal büyüme ve gelişme boyunca inaktif durumda olup farklı abiyotik ve biyotik stres faktörleri tarafından aktive edilebilir ve harekete geçirilebilirler. Böylelikle bu hareketlilikleri mutasyon oranını arttırmakta ve yeni genetik çeşitliliği ortaya çıkarmaktadır. Retrotranspozonlar pek çok genomik lokus içine girebilmekte ve mutasyonlara ve yeni özellikleri içeren bireyler arasında insersiyonel polimorfizm oluşturmaktadırlar (Kumar and Bennetzen 1999). Bu durum soğuk, yaralanma, patojen atakları, mekanik hasar, melezleme, protoplast izolasyonu ya da in vitro regenerasyon, gibi faktörler tarafından uyarılmaktadır (Hirochika 1995; Grandbastien *et al.* 2005; Salazar *et al.* 2007). Mısırdaki ZmM11, soğukta aslanağzı bitkisinde görülen PAL/Tam3 (Harrison and Fincham 1964; Hashida *et al.* 2006), limonda tuz stresi veya yaralanmada görülen CLCoil elementleri (De Felice *et al.* 2009) ve son zamanlarda *Arabidopsis*'te sıcaklık stresi tarafından ortaya çıkan ONSN diye adlandırılan LTR retrotranspozon familyasından (ATCOPIA78), Ty1/copia çeşidi bir retrotranspozon bulunmuştur (Pecinka *et al.* 2010; Tittel-Elmer *et al.* 2010)

Hirochika and Hirochika (1993), tütünde doku kültüründe meydana gelen yaralanmalara bağlı olarak oluşan Tto1, Tto2 ve Tnt1 retrotranspozonlarının hareket ederek genom üzerinde yeni yerlere lokalize olduklarını ve mutajenik etkiye sebep olduğunu göstermiştir. Yine Tnt1 retrotranspozonun fungal uygulamalarda aktivitesinin arttığı belirlenmiştir (Melayah *et al.* 2001). Grandbastien *et al.* 1997, Tnt 1a retrotranspozonunun promotorünün çeşitli stres faktörleri tarafından aktive edildiğini bildirmişlerdir. Woodrow *et al.* (2010) yaptıkları çalışmada, *Triticum durum* L. bitkisine uyguladıkları tuz ve ışık stresinin Ttd1a retrotranspozonunun aktivitesini artırarak direnç geninin yanına yerleşmesine neden olduğunu ve bu şekilde bitkiyi strese karşı koruduğunu bildirilmişlerdir.

Diğer bir retrotranspozon olan TLC1 yaralanma, protoplast izalasyonu, yüksek tuz konsantrasyonunda aktive olduğu bildirilmiştir (Mansour 2007). Ayrıca, *TLC1.1* retrotranspozonunun stresle ilgili bazı sinyal moleküllerine (etilen, metil jasmonat, salisilik asit ve 2,4-diklorofenoksasetik asit) cevap olarak aktive olduğu bildirilmiştir (Salazar *et al.* 2007) .

Monokotiledonlarda Tos17 retrotraspozonunun doku kültürü, sitozin demetilasyonu, gelişim ve patogen girişi gibi farklı biyotik ve abiyotik stres faktörleri tarafından aktive edildiği bildirilmiştir (Liu *et al.* 2004; Sha *et al.* 2005). Yine buğdayda Wis 2-1aA retrotranspozonunun buğday evriminde önemli bir retrotraspozon olduğu belirlenmiştir (Kashkush *et al.* 2002; 2003).

BARE-1, *Copia* benzeri retrotranspozondur. Standart bir *BARE-1* elementi 8.9 kb uzunluğundadır (Vicient *et al.* 2000). Çeşitli streslerin *BARE-1*'in hareketini uyardığı bilinmektedir (Grandbastien 1998; Kalendar *et al.* 2000; Mansour 2008, 2009; Alzohairy *et al.* 2012). *BARE-1*'in aktivasyonu RNAi, antisens RNA, hücre döngüsü ve DNA metilasyonu tarafından epigenetik sessizleştirme gibi mekanizmalar tarafından kontrol edilmektedir (Liu *et al.* 2004; Shi *et al.* 2007; Matsuda and Garfinkel 2009; Mirouze *et al.* 2009; La *et al.* 2011).

Moleküler markırlar teknolojisi; DNA parmakizi analizi, genetik haritalama, moleküler bitki ıslahı ve filogenetik çalışmalarda hayati role sahiptir.

Bitki genomlarının büyük bölümünde retrotranspozon molekülleri bulunur (Queen *et al.* 2004). Retrotranspozonlar yoğunluklarından dolayı her zaman bulunabilmeleri, genom içerisinde yayılmış olmaları ve buradaki dağılımlarından dolayı markır sistemlerinde etkin bir rol oynarlar (Flavell *et al.* 1998). Retrotranspozonlara bağlı olarak meydana gelen polimorfizmin belirlenmesinde IRAP, REMAP, RBIP, IPBS ve S-SAP gibi moleküler markırlar yaygın olarak kullanılmaktadırlar (Kalendar *et al.* 2011).

IRAP tekniği, önemli retrotranspozon temelli markır sistemlerinden biridir (Kalendar *et al.* 1999). PCR temelli moleküler markır sistemlerinden IRAP yöntemi, iki retroelement arasında bulunan DNA parçasının çoğaltılması ile insersiyonal polimorfizmi tespit etmektedir (Kalendar *et al.* 2011).

Alaçam *et al.* (2014), kültüre alınmaş olgun embriyolardan elde edilen 40 ve 80 günlük kalluslardan meydana gelen retrotranspozon kaynaklı polimorfizm tespitinde IRAP ve iPBS teknikleri ile *Sukkula*'ya özel iki farklı primer kullanılması sureti ile gerçekleştirilmiştir. Araştırma sonunda, doku kültürü şartları ve kallus yaşlarının *Sukkula* retrotranspozon hareketlerinde etkili olduğunu ve tüm bireyler üzerinde aynı etkiyi göstermediğini ortaya koymuştur.

Sığmaz (2015) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, buğday 4 ayrı tuz konsantrasyonuna maruz bırakılmıştır. Tuz stresi ile aktif hale gelen bazı retrotranspozonların (E-2647 (*Nikita*), *Sukkula*, *Stowaway*, WLTR2105 ve 5'LTR) polimorfizmi ile bu polimorfizme farklı dozlarda (0.01, 0,1 ve 1 mM) *putresinin* etkisi incelenmiştir. Çalışma sonunda tuz stresi altında retrotranspozon kaynaklı polimorfizmin oranının arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca, *Sukkula* retrotranspozonunda görülen polimorfizmin yüksek olduğu ve en yüksek putresin dozunda (1 mM) en iyi korunan retrotranspozon olarak belirlenmiştir.

Yaprak (2015) tarafından yapılan çalışmada, sentetik oksinlerden içerisindeki 2,4-D ve dikambanın 4 farklı konsantrasyon (250, 500, 750 ve 1000 ppm) ile aktive olan bazı retrotranspozon (WLTR2105, N-57 (*Nikita*), *Sukkula*, E2647 (*Nikita*), *Stowaway*, *BARE-1(0)*) polimorfizmi ve oluşan DNA hasarları araştırılmıştır. Retrotranspozonların polimorfizminin ve DNA hasarının belirlenmesi için IRAP ve REMAP teknikleri kullanılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda, sentetik oksin uygulamasıyla retrotranspozon polimorfizminin arttığı ve DNA hasarının oluştuğunu gözlemiştir. Bunun dışında polimorfizm göstergesi olan GTS oranının artan sentetik oksin konsantrasyonuna bağlı olarak düştüğü belirlenmiştir.

Yağcı (2015) buğday 4 ayrı tuz konsantrasyonda strese (0, 200, 300 ve 400 mM NaCl) maruz bırakmıştır. Stres şartlarına maruz kalmış bitkilerde retrotranspozon kaynaklı polimorfizmi belirlemek için IRAP ile REMAP tekniklerini kullanmıştır. Çalışma sonucunda, tuz stresi uygulamasıyla retrotranspozon kaynaklı polimorfizmde yükselme meydana gelmiş ve DNA hasarının oluştuğu belirlenmiştir. Polimorfizm göstergesi olan genomik kararlılık sabitliliği'nin (GTS) tuz konsantrasyonu arttıkça düştüğü belirlenmiştir.

Retrotranspozon kaynaklı moleküler markırlar biyoçeşitlilik çalışmalarında başarılı bir şekilde kullanılmaktadırlar. Nitekim; Nemli *et al.* (2015) tarafından yapılan çalışmada, Ülkemiz ve Dünyada kullanılan 67 ayrı fasulye çeşidine LTR-retrotranspozon kaynaklı IPBS markır teknikleri uygulanmış, moleküler düzeyde tanımlama yapılmıştır. IPBS markır analiz yönteminde, 47 primerden 180 tane polimorfik bant oluşturulmuştur. Bu yöntemle elde edilen en yüksek PIC değeri IPBS-2394 primeri kullanıldığında 0.94 bulunmuş, en düşük PIC değeri ise IPBS-2375 primeri kullanıldığında 0.03 tespit edilmiştir.

Bitkiler, tuzun etkilerinden sakınmasına rağmen tuzlu habitatlarda yetişebilirler ve bunu tuzluluğa karşı geliştirdikleri çeşitli biyokimyasal ve moleküler tolerans mekanizmaları ile gerçekleştirirler. Bu biyokimyasal mekanizmaları; seçici olarak iyonların biriktirilmesi veya atımı, kökten iyon alımının ve sürgüne iletiminin kontrolü, tüm

bitkide ve hücrelerde iyonların belirli bölümlerde biriktirilmesi ve osmotik düzenleyicilerin sentezi ile antioksidan sistemler oluşturur (Parida and Das 2005; Dajic 2006).

Bitki türleri çevresel stresle baş edebilmek için çeşitli mekanizmalar geliştirmişlerdir. Örneğin; dondurucu etkinin sonuçlarını azaltmak için, mekanizmayı temizlemek için enzimatik antioksidan (süperoksit, peroksidaz, katalaz) veya askorbik asit gibi enzimatik olmayan metabolitler, salisilik asit (SA) gibi bitki büyüme düzenleyiciler ya da osmoprotektantlar gibi stres işaretleyici maddeler salgırlar. Bu kimyasallar çevresel streslerin sebep olduğu zararlı etkilerden membran ve fotosentetik maddeleri korurlar (Ahmad *et al.* 2014).

Salisilik asit (SA), biyotik ve abiyotik strese tepki olarak bitkiler tarafından doğal olarak sentezlenen (Tufail and Arfan 2013); bitki büyümesi, gelişmesi ve olgunlaşmasında rol oynayan önemli bir fenolik bileşen (Kang *et al.* 2012) ve bitki sinyal molekülüdür (Cameron 2000). Salisilik asit (SA), tohum çimlenmesini etkileyen, iyon akışını, membran geçirgenliğini ve fotosentezi etkileyen hormon benzeri bir bitki düzenleyicidir. SA, fizyolojik ve biyokimyasal süreçlerin düzenlenmesi için abiyotik ve biyotik streslere karşı bitki savunma aktivasyonunda kritik önemli role sahiptir. SA'nın bitkilerdeki etkisi konsantrasyona, işlem sürekliliğine, bitki türüne, bitki yaşına bağlıdır (Alavi *et al.* 2015). SA özellikle soğuk, sıcak, tuz, kuraklık, UV ve diğer abiyotik streslere karşı bitki toleransını arttırmaktadır (Arfan *et al.* 2007; Kang *et al.* 2012).

Tuzluluk stresi şartları altında çeltik bitkisi üzerinde yürütülen bir çalışmada (Sawada *et al.* 2006) bitki fidelerinde içsel salisilik asit dozlarındaki artış biyosentetik enzim aktivitesinde de artışa neden olmuştur. *Arabidopsis* bitkisinin tuzluluğa olan direncinin çalışıldığı bir çalışmada (Jayakannan *et al.* 2013) SA, membran stabilitesine ve K⁺ kanalı yoluyla hücre dışına doğru olan K⁺ kaybını önlediği görülmüştür. Arpa bitkisi üzerinde tuzluluk toleransının çalışıldığı bir çalışmada SA uygulamasının klorofil II ve karotenoid içeriğinde artışa sebep olduğu ve membran yapısını sağlamlaştırdığı

görülmüştür (El-Tayeb 2005). Ashraf *et al.* (2010), brassinosteroidler ve SA'nın bitkide birlikte bulunmasının tuzluluk stresinin zararlı etkisini azalttıklarını bildirmişlerdir.

SA antioksidan enzimlerin aktivitesini değiştirmesi yoluyla bitkilerin antioksidan kapasiteyi teşvik edici role sahiptir. Çoğu fizyolojik çalışmalar SA tarafından meydana gelen abiotik stres korumasının gelişmiş bir antioksidan sistemi, ozmolit birikimi (örneğin; prolin, glütation), mineral besin artırımı (azot, fosfor, potasyum, kükürt asimilasyonu) ve diğer hormonlara olan (örneğin etilen) hassaslığı artırmasıyla ilgili olduğunu göstermiştir (Horváth *et al.* 2007; Ashraf *et al.* 2010; Hayat *et al.* 2010; Khan *et al.* 2010, 2013; Syeed *et al.* 2011). Enzimatik (SOD, CAT ve Peroksidaz) ve enzimatik olmayan (ASA ve GSH) antioksidant sistemleri ROT'lara karşı bitki savunmasında etkilidirler (Mittler 2002). Fizyolojik olarak SA uygulamasının antioksidant enzimlerinin aktivitesini ve enzimatik olmayan bileşiklerin miktarını artırdığı ve malondialdehit konsantrasyonu azalttığı ve abiyotik stres toleransını önemli oranda artırdığı bulunmuştur (Ashraf *et al.* 2010; Hayat *et al.* 2010).

Tufail *et al.* (2013), mısır bitkisi üzerinde yaptıkları bir çalışmayla SA'nın katalaz (CAT), peroksidaz (POD) ve süperoksit dismutaz (SOD) gibi antioksidan enzim aktivitelerinin artışına neden olarak tuz toleransını arttırdığını bulmuşlardır. Li *et al.* (2013), buğday fideleri üzerinde yaptıkları bir çalışmayla tuz stresi şartları altında SA'nın buğday fidelerinin yapraklarında askorbat (ASA) ve glutatyon (GSH) bileşenlerini arttırdığını bulmuşlardır. Moleküler seviyede Chen and Murata (2011), Kang *et al.* (2013) ve Li *et al.* (2013) soğukta, kurakta ve tuz stresindeki bitkilerde SA ön uygulamasının ASA-GSH döngüsü enzimlerini (GSH-transferaz, fosfolipid hidroperoksit GSH peroksidaz, GSH sentetaz, monodehidro-askorbat redüktaz, GSH redüktaz ve dehidroaskorbat redüktaz) kodlayan genlerin zamansal transkripsiyonunu düzenlediğini göstermişlerdir. Araştırma sonuçlarına göre SA tarafından geliştirilen abiotik toleransın ASA ve GSH ile ilgili olabileceği belirlenmiştir. Yine, Li *et al.* (2013) buğdayda, 250 mM NaCl stresinde 0,5 mM SA uygulamasının askorbik asit ve glutatyon döngüsü enzimlerini kodlayan genlerin transkript seviyeleri ile askorbik asit ve glutatyon içeriklerinin arttığını bildirmişlerdir. Diğer taraftan Ding *et al.* (2002) 10

μ M SA uygulamasının domates meyvelerinde soğuk zararını azalttığı CAT mRNA seviyesinin SA uygulanan bitkilerde kontrol bitkilerine göre daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir.

Nazar *et al.* (2011) *Vigna radiata* bitkisinde tuz stresinde SA uygulamasının (0,5 mM) azot ve sülfür asimilasyonunu, glutatyon miktarını, askorbat peroksidaz ve glutatyon redüktaz aktivitesini arttırdığını tespit etmişlerdir.

Liu *et al.* (2014), tarafından yürütülen bir çalışmada 100 mM tuz (NaCl) stresi altında nitrik oksit (NO) ve salisilik asit (SA) uygulamalarının pamuk (*Gossypium hirsutum* L.) fidelerinde büyüme, fotosentetik performans ve antioksidatif enzim aktivitesini iyileştirici ve koruyucu etkisinin olduğu bulunmuştur.

Triticum polonicum L. üzerinde yapılan bir çalışmada (Sheng *et al.* 2015) SA'nın patojen düzenleyici genlerinin uyarılması, antioksidan enzimlerin uyarımı ve farklı stres türleri altında membran dengesini sağlamada önemli rolünün olduğu kanıtlanmıştır. Bu çalışma sonucunda, SA bitkileri oksidatif stresten koruduğu belirlenmiştir.

Isı şok proteinleri (HSPs: Heat Shock Protein) prokaryotlarda ve ökaryotlarda çoğu çevresel faktörlere tepki olarak uyarılan ve ifade olan korunmuş proteinlerdir. HSP'ler zarar görmüş ve olgunlaşmamış proteinlerin birleşiminde ve katlanmasında şaperon işlevleri aracılığıyla hücrel homeostasisin korunmasında önemli bir rol oynarlar (Boston *et al.* 1996). HSPs moleküler ağırlıklarına göre HSP60, HSP70, HSP90, HSP100 ve sHSP gibi sınıflandırılabilirler. Soğuk stresi altında SA, HSP100 ekspresyonunu uyarılmış ve şeftali meyvelerinde HSP73 mRNA miktarında artışa neden olduğu belirlenmiştir (Wang *et al.* 2006). HSP ekspresyonu ısı şok faktörleri tarafından yönetilmektedir. Domatesde yüksek sıcaklık stresinde yapılan çalışmada SA uygulamasının Hsf-DNA bağlanmasını, HSP70 transkripsiyonunu ve hsfA1, hsfA2 ve hsfB1 ekspresyonunu arttırdığı belirlenmiştir (Snyman and Cronje ' 2008).

LEA (late embryogenesis abundant protein) ilk olarak tohum embriyolarında tanımlanmış LEA proteinlerinin de bitkilerde stres savunmasında koruyucu etkilere sahip olduğu düşünülmektedir. Stres altında LEA genleri tarafından ifade edilen hidrofilik LEA proteinleri suyu bağlama kapasiteleri dolayısıyla su eksikliği etkilerini azaltmada ve hücrel bütünlüğün korunmasında etkin rol oynamaktadırlar (Xu *et al.* 1996; Chinnusamy *et al.* 2006). *Arabidopsiste* tuz stresinde yapılan çalışmalarda SA ön uygulamasının LEA ve stresle ilgili diğer proteinlerin miktarında artışa neden olduğu belirlenmiştir (Rajjou *et al.* 2006; Kang *et al.* 2012).

Histon proteinleri histonların modifikasyonunda ve kromatitlerin paketlenmesinde önemli bir role sahiptir. SET domain proteinleri hayvanlarda histon metilasyonu tarafından gen ekspresyonunun transkripsiyonel düzenlemesinde görev almaktadır. Yüksek bitkilerde onun fonksiyonu tam olarak belirlenmemesine rağmen SET domain proteinleri abiotik stres altında aktive olmaktadır (Slotkin and Martienssen 2007). Buğdayda kuraklık stresinde yapılan bir çalışmada kuraklık + SA uygulanan bitkilerde sadece kuraklık stresi uygulananlara göre bir tane SET domain transkripsiyonel düzenleme fazlalığı belirlenmiştir (Kang *et al.* 2012).

Salisilik asit bitkilerde tuz stresinde büyüme ve gelişme, çiçeklenme, stoma düzenlemesi, fotosentez, solunum, ozmolit düzenleme (glukoz, fruktoz, sorbitol ve prolin), senesens ve iyon alımında önemli rollere sahiptir (Vicente and Plasencia 2011).

Tuz stresinde uygulana SA'nın buğdayda oksin ve sitokinin miktarının değişmemesine, kök apikal meristeminde hücre bölünmesinin ve verimliliğin artmasına neden olduğu belirlenmiştir (Shakirova *et al.* 2003).

Mısır (Khodary 2004) ve Ayçiçeğinde (Noreen and Ashraf 2008) yapılan çalışmalarda SA uygulamasının tuzun zararlı etkisine karşı bitkiyi koruduğu ve fotosentetik kapasite, fotosentetik etkinlik, RuBisco aktivitesi ve büyümede artışa neden olduğu belirlenmiştir.

Gunes *et al.* (2005) mısır bitkisinde tuz stresinde uyguladıkları SA'nın N, Mg^{+2} , Fe^{+2} , Cu^{+2} ve Mn^{+2} birikimini arttırdığını, Na^{+} ve Cl^{-} birikimini ise azalttığını belirlemişlerdir.

Kaydan ve Yağmur (2006), farklı salisilik asit dozları ve uygulama şekillerinin buğday (*Triticum aestivum* L.) ve mercimekte (*Lens culinaris* Medik.) verim üzerine etkilerini incelemişlerdir. Yapılan çalışmaya göre salisilik asitin 12.810 g/da^{-1} dozunun buğdayda bitki boyu, başak uzunluğu, başakta tane sayısı, başakta tane verimi ve birim alan tane verimini arttırdığı bulunmuştur. Mercimekte ise yaprağa püskürtme şeklinde yine aynı dozda aynı değerlerin arttığı gözlenmiştir. Yine, Kaydan *et al.* (2007), tuz stresi altındaki buğday fidelerinde salisilik asit uygulaması ile çıkış oranı, osmotik potansiyel, toprak altı ve toprak üstü kuru ağırlıkları, K^{+}/Na^{+} oranı ve fotosentetik pigmentlerin içeriğini olumlu yönde etkilediğini bildirmişlerdir.

Iqbal and Ashraf (2006) buğdayda tuz stresinde SA uygulamasının klorofil içeriğinde artışa neden olduğunu bildirmişlerdir.

Tohma (2007) çilekte yapmış olduğu çalışmada tuz stresinde uygulanan SA'nın membran stabilitesini, protein, prolin ve klorofil miktarında artışa neden olduğunu belirlemişlerdir. Gautam and Singh (2009) Mısırdaki tuz stresinde SA uygulamasının prolin miktarını arttırdığını bildirmişlerdir.

Ahmad *et al.* (2009) tuz stresinde domates bitkilerine uygulanan SA'nın membran stabilitesi ve fotosentetik pigment içeriğini koruduğu belirlenmiştir. Yine aynı araştırmacılar, K^{+} , Ca^{+2} ve Mg^{+2} alımında artışa ve Na^{+} ve Cl^{-} alımında ise bir azalışa neden olduğunu belirlemişlerdir.

Barakat *et al.* (2013) yaptıkları bir çalışmada buğdayda tuz stresinde SA uygulamasının antioksidant kapasiteyi, fotosentetik pigment biyosentezini, bitki karbonhidrat miktarını ve toksik olmayan metabolitlerin birikimini arttırdığını belirlemişlerdir.

Baran ve Doğan (2014) soyada tuz stresine karşı uygulanan SA'nın klorofil miktarında artışa neden olduğunu göstermişlerdir

Liu *et al.* (2014), tarafından yürütölen bir çalışmada salisilik asit (SA)'ın 0.1 mM'lık dozunun tuz stresinde pamuk bitkisine yapraktan uygulanması sonucu, büyüme ve fotosentez net fotosentez ve transpirasyon oranında artışa ve H₂O₂ birikiminde azalmaya sebep olduğu bulunmuştur.



3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Bitkisel materyal

Araştırmada bitki materyali olarak Doğu Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen tuza hassas olduğu bilinen (Şenay vd. 2005) Kırık ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.) çeşidi kullanılmıştır.

3.1.2. Çalışmada kullanılan alet ve cihazlar

Çalışma esnasında aşağıdaki alet ve cihazlar kullanılmıştır.

- Otoklav (Hirayama, JAPAN, HVE 50, SN 030787253)
- Soğutmalı Santrifüj (Hettich, Mikro 22R, M10, SN 0001279–03–00)
- Santrifüj (Hettich, GERMANY, EBA–20)
- PCR (Sensoquest GmbH, Labcycler Gradient, GERMANY)
- Elektroforez Tankı (Yatay) (OWL B2, U.S.A.)
- Elektroforez Akım Sağlayıcı (OWL OSP300-2Q, U.S.A.)
- Jel Görüntüleme Sistemi (DNR BioImaging Systems MiniBis Pro, ISRAEL)
- Su Banyosu (Memmert WNB14, GERMANY)
- Otomatik Pipetler (Eppendorf, GERMANY)
- Nanodrop (Qiagen, Qiaxpert Instrument, GERMANY)
- Magnetik Karıştırıcı (Daihan Scientific MSH 20A, KOREA)
- pH Metre (InoLab pH730 wtw Series, GERMANY)
- Derin Dondurucu (Nuairie, U.S.A. , -86 Ultralow Freezer, SN P07K–476316-PK)
- Hassas Terazı (Mettler Toledo AL204, CHINA)
- Buzdolabı (Arçelik, TÜRKİYE, 8190NF)
- Saf Su Cihazı (GFL 2004, GERMANY)

- Steril Kabin (Esco AC2-4E1, SINGAPORE)
- Mikrodalga Fırın (Arçelik, TÜRKİYE, MD 592)
- Kar makinesi (Scotsman, U.S.A. , AH 19828 5)

3.1.3. Kullanılan çözelti ve solüsyonlar

Çalışma süresince kullanılan çözeltilerin kimyasal içerikleri aşağıda belirtilmiştir

3.1.3.a. Besi ortamı

Denemede besi ortamı olarak Hoagland ve Arnon (1938) (Sigma H2395) solüsyonu kullanılmıştır.

3.1.3.b. Tuz stresi ve tuz stresine karşı kullanılan kimyasallar ve konsantrasyonları

Tuz stresini oluşturmak için sodyum klorür (NaCl) ve tuz stresine karşı salisilik asit kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan kimyasalların konsantrasyonları Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Tuz stresi ve tuz stresine karşı kullanılan kimyasallar ve konsantrasyonları

Kullanılan Kimyasallar	Konsantrasyonlar
Sodyum Klorür (NaCl)	0 mM, 100 mM, 200 mM ve 300 mM
Salisilik Asit (SA) (Sigma S6271)	0 mM, 0,5 mM ve 1,0 mM

3.1.3.c. DNA izolasyonu, PCR ve elektroforez işlemleri için kullanılan kimyasallar ve çözeltiler

- 1M Tris-HCl
- 0.5 M EDTA

- 5 M NaCl
- 10X TE Buffer
- 1X TE Buffer
- 3 M Sodyum Asetat (PH= 5.2)
- 10 M Amonyum Asetat
- CTAB (Setil trimetil amonyum bromür) (Sigma 855820)
- β -merkaptoetanol (v/v) (Sigma M6250)
- Kloroform: İzooamil alkol (Sigma 288306)
- 2-propanol (izopropanol) (Sigma I9516)
- Proteinaz K (Sigma P2308)
- Ribonükleaz (RNaz) (Sigma R5503)
- Sodyum bisülfid (Sigma S8890)
- %70'lik Etil Alkol
- Etidyum Bromür (Sigma E1510)
- 1X TBE tamponu
- 10 X PCR tamponu ($MgCl_2$) içermeyen
- 25 mM $MgCl_2$ (Sigma M8266)
- Primer
- 10 mM dNTP (Sigma D7295)
- Tag-DNA polimeraz (5 U/ μ l; Sigma, D 6677)
- Agaroz (Sigma A9539)
- Loading buffer (6X) (yükleme buffer) (Thermo Fisher, R0611)
- Marker (BioLab N3231)

3.2. Yöntem

Bu çalışmanın yürütülmesi sırasında aşağıda belirtilen işlemler uygulanmıştır.

3.2.1. Kullanılan çözelti ve solüsyonların hazırlanışı

3.2.1.a. Besi ortamının hazırlanışı

Denemede besi ortamı olarak hazır olarak sağlanan Hoagland ve Arnon (1938) (Sigma H2395-10L) tuzu 10L saf su içerisinde çözülmüştür.

3.2.1.b. Kullanılan NaCl stok solüsyonunun hazırlanışı

Tuz stresi oluşturmak için NaCl deneme planına göre tartılmış ve Hoagland ve Arnon (1938) sıvı kültür ortamına eklenmiştir.

NaCl Konsantrasyonu	Miktar (g/L)
0 mM	0,0
100 mM	5,8443
200 mM	11,6886
300 mM	17,5323

3.2.1.c. Salisilik Asit solüsyonunun hazırlanışı

Öncelikle 1 M salisilik asit stok solüsyonu hazırlanmıştır. Bunun için 10 ml saf etil alkolde 1,3812 gram salisilik asit çözülmüştür. Bu stok solüsyondan 0,5 mM SA için 125µL, 1mM için 250 µL alınarak toplam hacim 250 mL tamamlanmıştır (pH=5,8).

3.2.1.d. DNA izolasyonu için kullanılan çözeltilerin hazırlanışı

1M Tris-HCl (1000 ml)

121,1 g Tris-base

700 ml dH₂O

42 ml konsantre HCl (%37,2-12,1 M)

700 ml su içersine 121,1 g Tris-base eritilmiş ve üzerine 42 ml konsantre HCl eklenerek toplam hacim 1 litreye tamamlanarak otoklavlanmıştır.

0.5 M EDTA PH=0.8 (1000 ml)

136,1 g EDTA

20 g NaOH

800 ml dH₂O

800 ml su içersine 136,1 g EDTA eritilip, üzerine 20 g NaOH eklenerek pH=8.0 olarak ayarlanmıştır. Filtreden geçirilerek otoklavlanmıştır.

5 M NaCl (500 ml)

146,1 g NaCl

450 ml dH₂O

146,1 g NaCl 450 ml suda eritilmiştir. Toplam hacim 500 ml'ye tamamlanıp ve oda sıcaklığında saklanmıştır.

10X TE Buffer (1000 ml)

100 ml 1 M Tris-HCl pH=8.0

20 ml 0.5 M EDTA

880 ml dH₂O kullanılarak hazırlanmıştır.

1X TE Buffer (1000 ml)

10X TE Buffer'dan 100 ml alınıp 900 ml saf suyla 1000 ml'ye tamamlanmıştır.

(DNA 1X TE'de çözülür).

3 M Sodyum Asetat (PH= 5.2)(100 ml)

40.8 g Sodyum Asetat (NaOAc.3H₂O) 80 ml ultra saf suda iyice eritilmiş ve pH= 5.2 oluncaya kadar glasiyel asetik asit eklemiş ve toplam hacim 100 ml'ye tamamlanmıştır.

10 M Amonyum Asetat

77 g Amonyum asetat

800 ml dH₂O

77 g Amonyum asetat 800 ml distile su içerisinde çözülmüştür. Distile su kullanarak hacmi 1 litreye tamamlanarak stok hazırlanmıştır. Çalışmada 250 mM olacak şekilde seyreltilerek +4°C’de muhafaza edilmiştir.

DNA ekstraksiyon tamponu (50 örnek için):

1 g toz CTAB (Setil trimetil amonyum bromür)

0.5 g (%0,1) Sodyum bisüfit (NaHS₃ ve Na₂S₂O₅ karışımı)(Sigma, 243973)

5 ml Tris-HCl (1 M)

14 ml NaCl (5 M)

2 ml EDTA (0.5 M)

0.1 ml (%0.2) β-merkaptoetanol (v/v)

Kloroform: İzooamil alkol:

24: 1 oranında hazır olarak kullanılmıştır (Fluka, 25666).

2-propanol (izopropanol)

Hazır olarak kullanılmıştır (Sigma, I9516).

Proteinaz K

Mililitrede 10 mg olacak şekilde hazırlanmıştır (Sigma, P2308).

3.2.1.e. PCR ve elektroforez işlemleri için kullanılan çözeltiler

Etidyum Bromür Çözeltisi:

500 ml 0,5X TBE tamponu içerisine 300 µl etidyum bromür ilave edilerek hazırlanmış ve karanlık ortamda oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

10X TBE tamponu:

108 g Tris-base

55 g Borik asit

40 ml 0,5 M EDTA

700 ml dH₂O

700 ml distile su içerisinde 108 g Tris-base, 55 g Borik asit ve 40 ml 0,5 M EDTA çözülmüş ve toplam hacim 1000 ml'ye tamamlanmış ve otoklavlanmıştır.

1X TBE tamponu:

Bu araştırmada kullanılan TBE tamponu 10X TBE olarak hazırlanmış ve seyreltilerek (100 ml 10X TBE Tamponu + 900 ml saf su) 1X TBE tamponu hazırlanmıştır.

Primerlerin Hazırlanması:

Kullanılan primerler firmanın önerdiği miktarda sulandırılarak stok solüsyonu, daha sonra da uygun hesaplamalar ile 5 µM olacak şekilde çalışma solüsyonları hazırlanmıştır.

Ribonükleaz (RNaz)

Mililitrede 10 mg olacak şekilde hazırlanmıştır. (Sigma, R6513).

%70'lik Etil Alkol:

70 ml saf etil alkolün hacmi steril distile su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır.

3.2.2. Bitkilerin yetiştirilmesi ve NaCl ile SA uygulaması

Bitkilerin yetiştirilmesi ve NaCl ve SA uygulaması hidroponik sistemde yürütülmüştür. 3 L kapasiteli plastik kapların kapakları 51 mm çapındaki file saksıların gireceği şekilde 6 tane delik açılmış ve file saksıların içerisine hidroton eklenmiştir. Hidrotonun solüsyonla temas edecek şekilde plastik kaplara solüsyon eklenmiştir. Hidroponik sistem kesintisiz bir şekilde elektrikli hava motoru kullanılarak havalandırılmıştır.

Her NaCl ve SA uygulaması için 1 plastik kap kullanılmış ve her saksı 1 tekerrür olarak kabul edilmiştir (toplam 12 plastik kutu). Tohumlar %10'luk çamaşır suyunda 10 dakika süreyle steril edildikten sonra steril saf su ile 3 kez yıkanmış ve steril safsu ile nemlendirilmiş çimlendirme kağıdı içeren petri kutularına bırakılarak homojen bir çimlenme sağlamak için +4°C'de 48 saat süreyle bekletilmiştir. Bu tohumlardan ½ dozda Hoogland and Arnon (1938) solüsyonu içeren (pH=5,5-5,7) plastik kaplar üzerindeki her saksıya 10 tane olacak şekilde bırakılmış ve 20±1°C'de 16 saat ışık (Floresans lambası-300 $\text{lmol/ m}^2\text{s}^{-1}$) 8 saat karanlık şartlarda 14 gün süreyle büyütülmüştür. Çimlenen tohumlardan gelişen fidelerden her saksıda 5 tane kalacak şekilde homojen büyüme gösteren fideler bırakılarak bu fidelere NaCl ve SA uygulaması yapılmıştır. 14 günlük fidelere yapraktan spreyle SA uygulamasını (0, 0,5 ve 1,0 mM) mütakiben iki gün sonra NaCl ile hazırlanan biri kontrol olmak üzere dört farklı NaCl konsantrasyonu içeren (0, 100, 200 ve 300 mM) ½ Hoogland and Arnon (1938) solüsyonuna aktarılmış ve yine aynı kültür şartlarında 10 gün süreyle tuz stresine maruz bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda bitki örnekleri alınarak -80°C'de çalışma yapılacağı güne kadar bekletilmiştir.

3.2.3. DNA izolasyonu

DNA izolasyon protokolü için Yağcı (2015) esas alınmış ve birkaç maddesinde değişiklik yapılmıştır.

a. Taze olarak hazırlanan DNA İzolasyon tamponu önceden 65°C'ye ısıtılmış su banyosunda bekletilmiştir. Bitki materyaline ilave edilmeden önce izolasyon tamponuna %0.2 (v/v) oranında β -merkaptoetanol eklenmiştir.

b. Sıvı azotta parçalanmış 0.3 g bitki materyali 2 ml'lik tüplere alınarak üzerine 1000 μl DNA ekstraksiyon tamponu eklenmiş, alt üst edilerek karıştırılmış ve önceden 65°C'ye ısıtılmış su banyosunda her 10 dk'da bir alt üst edilip karıştırılarak 60 dk süre ile bekletilmiştir.

c. Süre sonunda örnekler 10 dk oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır. Ardından her örneğe 750 μl fenol kloroform izoamil alkol eklenip 15 dk alt üst ederek karıştırılmıştır.

- d.** 14000 g ve 24°C’de 20 dk santrifüj edilen örneklerin üst fazları 2 ml’lik yeni tüplere aktarılmıştır.
- e.** 1000 µl Kloroform izoamil alkol eklenerek birkaç kez alt üst edilerek karıştırılmıştır. 14000 g ve 4°C’de 20 dk santrifüj edilip üst faz dikkatli bir şekilde yeni tüplere aktarılmıştır.
- f.** 2,5 µl RNaz ve 8 µl proteinaz K ilave edilmiş ve 45 dk 37°C’de bekletilmiştir.
- g.** Her tüpe 100 µl amonyum asetat, 100 µl sodyum asetat, 800 µl soğuk izopropanol eklenerek DNA’nın çöktürülmesi sağlanmıştır.
- h.** 14000 g ve 4°C’de 20 dk santrifüj edilerek üst faz atılmıştır.
- i.** Pelet önce %100’lük sonra %70’lik soğuk etanol ile yıkanmıştır.
- j.** Yıkanan pelet 37°C’de 15 dk bekletilerek kurutulmuştur.
- k.** Kurutulan DNA 100 µl TE tamponunda fingerprint yapılarak çözülmüştür.
- l.** 24 saat +4°C’de dinlendirildikten sonra kullanılıncaya kadar -20°C’de saklanmıştır.

Elde edilen DNA nanodropta spektrofotometrede 260 ve 280 nm dalga boylarında okunmuştur. OD (okuma değeri) 260/280 değeri 1,1–1,8 arasında olması DNA’nın saf olduğunu göstermektedir. 50 (DNA için multifikasyon katsayısı) x 250 (seyreltme katsayısı) x OD₂₆₀ (260nm’de okuma değeri) formülünden faydalanılarak stoktaki DNA miktarı hesaplanmıştır. Stok DNA’dan 50 ng/µl DNA içeren çalışma solüsyonu hazırlanmıştır.

3.2.4. IRAP yöntemi

3.2.4.a. IRAP primerleri

Çalışmada kullanılan IRAP primerlerinin (Metabion International AG Lena-Christ-Strasse 44/I D-82152 Martinsried, Deutschland) baz dizileri Çizelge 3.1’de verilmiştir.

3.2.4.b. IRAP-PCR Protokolü

Çizelge 3.2. IRAP-PCR’da kullanılan primer dizileri

No	Primer adı	RTA	Tm	Dizisi (5’→3’)	Kaynak
1	WLTR2105	WLTR	61.0	(ACTCCATAGATGGATCTTGGTGA)	Alavi <i>et al.</i> 2008
2	Nikita-57 (N57)	Nikita	60.0	(CGCATTTGTTCAAGCCTAAACC)	Alavi <i>et al.</i> 2008
3	Sukkula	Sukkula	71.0	(GATAGGGTCGCATCTTGGGCGTGAC)	Alavi <i>et al.</i> 2008
4	Nikita-E2647	Nikita	62.0	(ACCCCTCTAGGCGACATCC)	Alavi <i>et al.</i> 2008
5	Bare1(0)	Bare 1	53.0	(CTAGGGCATAATTCCAACA)	Evrensel <i>et al.</i> 2011
6	Stowaway	Stowaway	62.0	(CTTATATTAGGAACGGAGGGAGT)	Baumel <i>et al.</i> 2002
7	5’LTR	Bare 1	63.0	(ATCATTGCCTCTAGGGCATAATTC)	Alavi <i>et al.</i> 2008
8	6149	Bare 1	61.0	(CTCGCTCGCCCACTACATCAACCGGTTTATT)	Alavi <i>et al.</i> 2008
9	6150	Bare 1	62.0	(CTGGTTCGGCCCATGTCTATGTATCCACACATGTA)	Alavi <i>et al.</i> 2008
10	LTR7286	Bare 1	66.0	(GGAATTCATAGCATGGATAATAAACGATTATC)	Kalendar <i>et al.</i> 1999

IRAP-PCR işlemi için gerekli olan bileşenler ve miktarları Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.3. IRAP-PCR bileşenleri ve konsantrasyonları

Bileşenin Adı	Miktarı (µl)	Son konsantrasyonu
Steril distile su	13µl	-
10X PCR tamponu (MgCl ₂ içermeyen)	2µl	1X
25 mM MgCl ₂	2µl	2,5mM
5 µM primer	1µl	0,25µM
10 mM dNTP	0,5µl	0,25mM
50 ng/µl Kalıp DNA	1µl	50ng
5 U/µl Taq-DNA polimeraz (Sigma, D6677)	0,3µl	1,5 U
Toplam	20µl	

Yukarıda verilen standart değerlere göre her bir örnekten izole edilen genomik DNA ve Çizelge 3.2’de verilen IRAP primerleri ile her bir örnek için ayrı PCR tüpü hazırlanmıştır.

Bu işlemlerin ardından örnekler PCR otomatik termodöngü aletine (Sensoquest GmbH, Labcycler Gradient, GERMANY) yerleştirilmiş ve aşağıdaki döngüye tabi tutulmuştur.

- 1) PCR aleti otomatik olarak 5 dakika 95°C tutmuş (ön denatürasyon için tutulmuştur),
- 2) 42 döngü olacak şekilde sırasıyla,
 - a. 1 dakika 94°C
 - b. 1 dakika bağlanma sıcaklığı (Değişken)
 - c. 2 dakika 72°C
- 3) 15 dakika 72°C
- 4) Son olarak 10 dakika 4°C tutulmuş, PCR aletinden çıkarılan örnekler +4°C’de saklanmıştır.

3.2.5. REMAP

3.2.5.a. REMAP primerleri

Çalışmada REMAP ve (Metabion International AG Lena-Christ-Strasse 44/I D-82152 Martinsried, Deutschland) ISSR primerleri (UBC 811-UBC 826-8081-8082) ile kombinlenerek kullanılmıştır. Bu primerlerin baz dizileri Çizelge 3.3’de verilmiştir.

Çizelge 3.4. REMAP-PCR’da kullanılan primer dizileri

No	Primer adı	Dizisi (5' → 3')
1	E 2647 (<i>Nikita</i>) + ISSR UBC 826	(ACCCCTCTAGGCGACATCC)+ (ACACACACACACACACC)
2	<i>BARE 1 (0)</i> + ISSR UBC 811	(CTAGGGCATAATTCCAACA)+ (GAGAGAGAGAGAGAGAC)
3	<i>BARE 1(0)</i> + ISSR 8081	(CTAGGGCATAATTCCAACA)+ (GAGAGAGAGAGAGAGAGAC)
4	E 2647 (<i>Nikita</i>) + ISSR UBC 811	(ACCCCTCTAGGCGACATCC)+ (GAGAGAGAGAGAGAGAC)

Çizelge 3.4. (devam)

5	N-57 (<i>Nikita</i>) + ISSR UBC 811	(CGCATTTGTTCAAGCCTAAACC)+ (GAGAGAGAGAGAGAGAC)
6	N-57 (<i>Nikita</i>) + ISSR 8082	(CGCATTTGTTCAAGCCTAAACC)+ (CTCTCTCTCTCTCTCTG)
7	<i>Sukkula</i> + ISSR UBC 826	(GATAGGGTCGCATCTTGGGCGTGAC)+ (ACACACACACACACACC)
8	<i>Sukkula</i> + ISSR 8082	(GATAGGGTCGCATCTTGGGCGTGAC)+ (CTCTCTCTCTCTCTCTG)
9	<i>Stowaway</i> + ISSR UBC 811	(CTTATATTTAGGAACGGAGGGAGT)+ (GAGAGAGAGAGAGAGAC)
10	<i>Stowaway</i> + ISSR 8082	(CTTATATTTAGGAACGGAGGGAGT)+ (CTCTCTCTCTCTCTCTG)

3.2.5.b. REMAP-PCR protokolü

REMAP-PCR işlemi için gerekli olan bileşenler (Çizelge 3.2) ve miktarları ile PCR döngü işlemleri IRAP tekniğindeki ile aynıdır.

3.2.6. Agaroz jel elektroforezi

PCR işlemi tamamlandıktan sonra örnekler agaroz jel elektroforezinde yürütülmüş ve oluşan bantlara göre primerlerin hibridize olup olmadığı tespit edilmeye çalışılmıştır. İşlem sırası aşağıdaki gibidir;

- Jel içerisinde agaroz kimyasalının konsantrasyonu %2.0 konsantrasyon olacak şekilde agaroz tartılıp sonrasında 0,5X TBE tamponu içerisinde mikrodalga fırında hazırlanmıştır.
- Mikrodalga fırından çıkarılan 0,5X TBE + agaroz çözeltisi içerisine 1.0 µg/mL olacak miktarda etidyum bromür eklenmiştir.

- c. Hazırlanan jel katılaşmadan elektroforez tankına dökülmüş ve donmadan önce jel üzerine tarak konularak örneklerin yükleneceği kuyucuklar oluşturulmuştur.
- d. Jel donduktan sonra her bir kuyucuğa ayrı bir örnek (3 μ L Loading buffer +5 μ L PCR ürünü) yüklenmiştir.
- e. Elektrik akımı verilerek 60 V–180 dk. süre ile PCR ürünleri elektroforez işlemine tabi tutulmuştur. Süre sonunda elektrik akımı kesilmiştir.
- f. Elektroforez tankından çıkarılan jel UV ışık altında incelenmiş ve değerlendirilmek üzere fotoğrafları çekilmiştir.

3.2.7. IRAP, REMAP analizleri ve genomik kararlılık sabitliğinin (%GTS) belirlenmesi

Çalışmada kullanılan her bir primer için tüm örneklerde amplifiye olan DNA bantlarının varlığı ve yokluğu, negatif kontrol IRAP ve REMAP profillerine göre bant yoğunluklarındaki azalma ve artmalar temin edilmiş olan agaroz jel görüntüleme cihazı ile belirlenmiştir. Ortaya çıkan bu jel görüntüleri TotalLab TL120 programı ile değerlendirilmiştir. GTS değerleri yani genomik kararlılık sabitliliği (%) her bir primer ürünü için Atienzar (1999)'a göre $100-(100*a/n)$ formülünden yararlanılarak hesaplanmıştır. Formüldeki a her bir uygulama örneği için tespit edilen IRAP ve REMAP polimorfik profillerinin ise ilgili primerle negatif kontrol grubunda elde edilen DNA toplam bantı sayısını göstermektedir. Uygulama gruplarına ait IRAP ve REMAP profillerinde gözlenen polimorfizm negatif kontrol grubuna göre yeni bir bantın ortaya çıkması veya mevcut bir bantın kaybolmasını kapsamıştır.

3.2.8. Verilerin değerlendirilmesi ve istatistiksel analizi

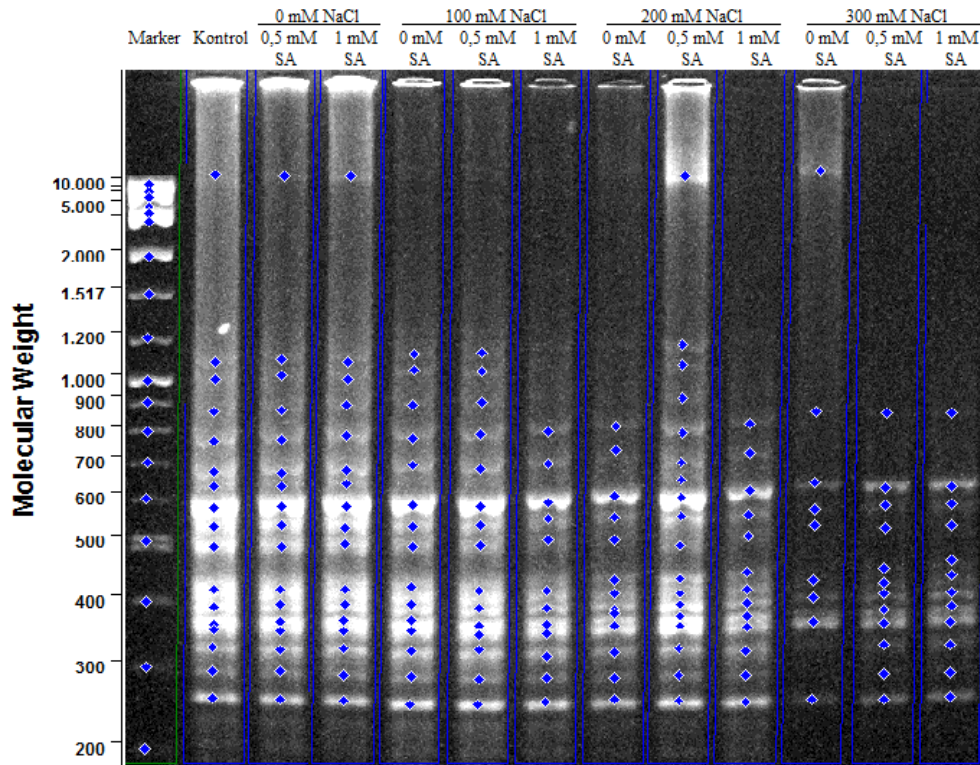
PCR ürünlerinin değerlendirilmesi aşamasında her bir bireyde her primer için bantların varlığı (1) ya da yokluğu (0) şeklinde ifade edilmiştir. Oluşan bu bantlara göre de primerlerin hibridize olup olmadığı tespit edilmeye çalışılmıştır. Bantların var olması durumu primerlerin hibridize olduğu anlamına Değerlendirme aşaması TotalLab TL120 kullanılarak tamamlanmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

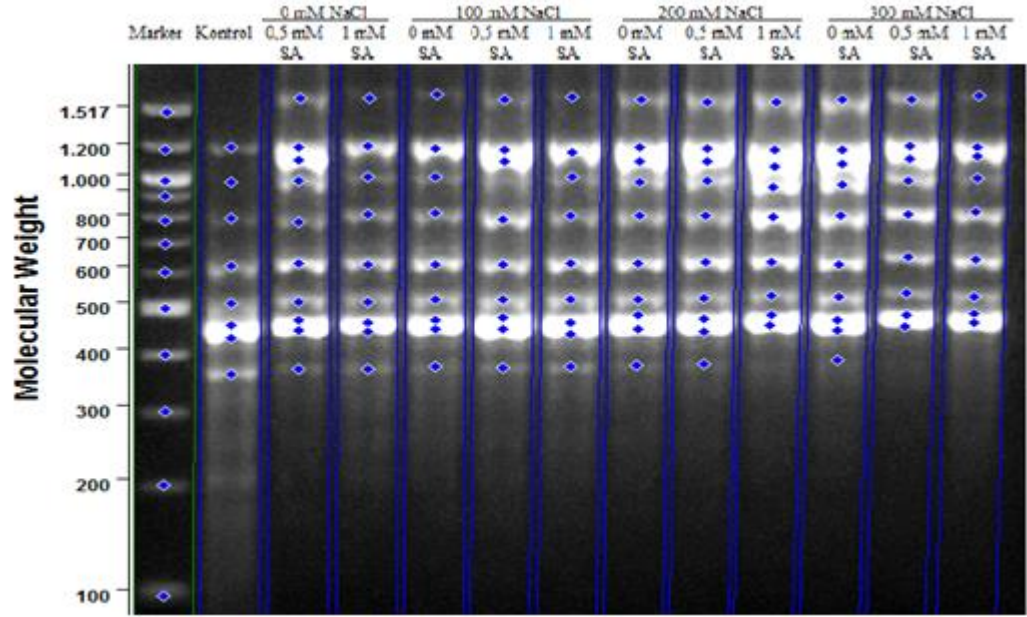
Bu araştırmada NaCl ile oluşturulan tuzluluk stresinde salisilik asit uygulamasının retrotranspozon temelli polimorfizme olan etkisi IRAP ve REMAP teknikleri kullanılarak belirlenmiştir. Bu tekniklerden elde edilen bulgular aşağıda verilmiştir.

4.1. IRAP Analizleri ve Genomik Kalıp Sabitliliği (Genomik Template Stability; GTS%)

Kırık ekmeklik buğday çeşidinde NaCl ile oluşturulan tuzluluk stresinde salisilik asit uygulamasının genom üzerindeki genetiksel etkilerini test etmek için hesaplanan GTS değerleri için toplam 10 IRAP primeri (Çizelge 3.1) denenmiş ve bunlar arasından en iyi amplifikasyon veren 5 primer (N-57 (*Nikita*), *Stowaway*, *Sukkula*, *BARE-1* (0) ve E 2647 (*Nikita*)) seçilerek değerlendirilmeye alınmıştır (Şekil 4.1 ve Şekil 4.2).



Şekil 4.1. E 2647 (*Nikita*) primerinde oluşan IRAP amplifikasyon ürünleri



Şekil 4.2. *Sukkula* primerinde oluşan IRAP amplifikasyon ürünleri

Kontrole göre tuzluluk stresi ve salisilik asit uygulamasında yeni oluşan bantların moleküler aralığı 396 bp ile 13714 bp (E2647-*Nikita*) (Çizelge 4.1) arasında; kaybolan bantların moleküler ağırlığı ise 384 bp (*Stowaway*) ile 12571 bp (E2647) arasında değişim göstermiştir. Primerlerin tuzluluk stresi ve salisilik asit uygulamasına göre yeni oluşan ve kaybolan bantların moleküler ağırlığı kontrolle kıyaslandığında N57 (*Nikita*) primerinde 574 bp (kaybolan bant)-1517 bp (yeni oluşan bant), *Stowaway* primerinde 384 bp (kaybolan bant)-1298 bp (yeni oluşan bant), *Sukkula* primerinde hiç kaybolan bant bulunmazken yeni oluşan bantlar 1095 bp ile 1675 bp, *BARE-1* (0) primerinde 1336 bp (yeni oluşan bant)-1829 bp (yeni oluşan bant) ve E2647-(*Nikita*) primerinde 396 bp (yeni oluşan bant)-13714 bp (yeni oluşan bant) arasında değişim göstermiştir (Çizelge 4.1).

TotalLab TL120 programının kullanılmasıyla alınan verilere dayanarak (Çizelge 4.2) GTS oranında tuzluluk stresinin şiddetine bağlı olarak bir azalış gözlemlenmiş ve yine salisilik asit uygulamasının her iki dozunda da (0,5 mM ve 1 mM salisilik asit) GTS oranında azalış görülmüştür.

Çizelge 4.1. IRAP moleküler markır yönteminde NaCl ve SA uygulamasında kontrole göre meydana gelen yeni (+) ve kaybolan (-) bantların moleküler ağırlıkları (bp)

Primerler (5'→3')	Kontrol	+/-	0 mM NaCl		100 mM NaCl			200 mM NaCl			300 mM NaCl		
			0,5 mM SA	1 mM SA	0 mM SA	0,5 mM SA	1 mM SA	0 mM SA	0,5 mM SA	1 mM SA	0 mM SA	0,5 mM SA	1 mM SA
N-57 (Nikita)	13	+	-	-	1429	1479	-	1461	-	-	1005	1479	1517
		-	-	-	1145 965	779	965 779	1314 1200 965	574 779	965	1145 965 779 693	1206 779 620	1206 965
Stowaway	9	+	-	-	1162 749	1200	668	1278	713 594	1278	1288	1248 778	1298 713
		-	915	915	1048	1048 733	-	1048 915 733	-	1048	1048 639 426 384	915	915
Sukkula	8	+	1635	1635	1675	1625	1655	1625 1130	1606 1130	1606 1095	1625 1109	1625 1145	1665 1159
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
BARE 1(0)	4	+	-	-	1336	1809	-	1768	1788	1587	1809	1829	1829
		-	-	-	-	-	-	1665	-	-	1665	-	-
E 2647 (Nikita)	17	+	-	-	1133	-	-	-	1172 396	-	13714	-	-
		-	-	-	12571 1000 489	12571 867 631	12571 1091 1005	12571 1091 1005 673	1005	12571 1091 1005	12571 1091 1005	12571 1091 1005 771 673	12571 1091 1005 771

Çizelge 4.2. IRAP moleküler markır yönteminde NaCl ve SA uygulamasına göre GTS oranı (%)

Primerler (5'→3')	Kontrol	0 mM NaCl		100 mM NaCl			200 mM NaCl			300 mM NaCl		
		0,5 mM SA	1 mM SA	0 mM SA	0,5 mM SA	1 mM SA	0 mM SA	0,5 mM SA	1 mM SA	0 mM SA	0,5 mM SA	1 mM SA
N-57 (<i>Nikita</i>)	100	100	100	76,9	84,6	84,6	69,2	84,6	92,3	61,5	69,2	76,9
<i>Stowaway</i>	100	88,8	88,8	66,6	66,6	88,8	55,5	77,7	77,7	44,4	66,6	66,6
<i>Sukkula</i>	100	87,5	87,5	87,5	87,5	87,5	75	75	75	75	75	75
<i>BARE 1(0)</i>	100	100	100	75	75	100	50	75	75	50	75	75
E 2647 (<i>Nikita</i>)	100	100	100	76,4	82,3	82,3	76,4	82,3	82,3	64,7	76,4	76,4
GTS %	100	95,2	95,2	76,4	79,2	88,6	65,2	78,9	80,4	59,2	72,4	73,9
Polimorfizm %	0	4,8	4,8	23,5	20,8	11,3	34,7	21,0	19,5	40,8	27,5	26,0

Kontrole kıyasla en düşük GTS değeri %59,2 ile salisilik asit uygulamasının yapılmadığı 300 mM NaCl stresinde belirlenirken en yüksek GTS oranı ise %95,2 ile 0,5 mM ve 1mM salisilik asitin uygulandığı stressiz şartlarda belirlenmiştir. Salisilik asitin uygulanmadığı 100 mM NaCl, 200 mM NaCl ve 300 mM NaCl uygulamasındaki GTS oranları sırasıyla %76,4, %65,2 ve %59,2 iken; bu değer 0,5 mM salisilik asit uygulamasında %79,2, %78,9 ve %72,4 olup, 1 mM salisilik asit uygulamasında ise %88,6, %80,4 ve %73,9 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2). Polimorfizm oranları ise tuzluluk stresinin uygulanmadığı (0 mM NaCl) ve 0,5 mM ve 1 mM salisilik asit konsantrasyonlarında en düşük (%4,8) iken, tuzluluk stresinin en yüksek (300 mM NaCl) ve salisilik asit uygulamasının yapılmadığı (0 mM) konsantrasyonda ise polimorfizm oranı en yüksektir (%40,8) (Çizelge 4.2).

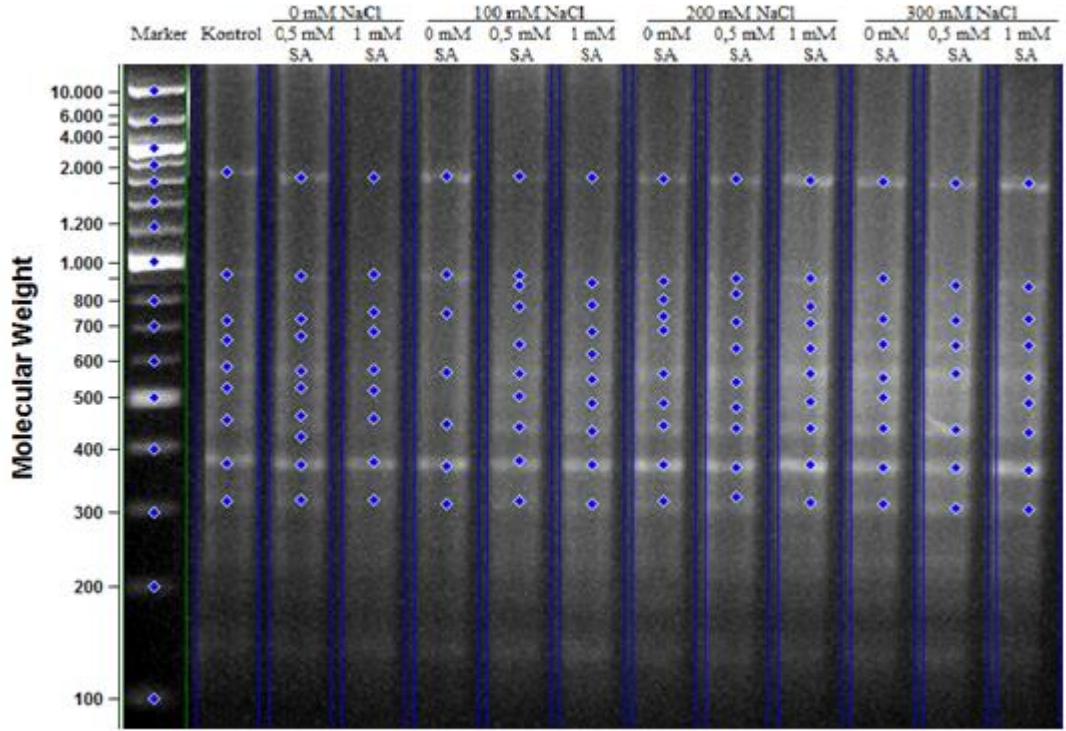
Çalışmada kullanılan IRAP primerleri dikkate alındığında Kırık çeşidinde en yüksek polimorfizm Stowaway primerinde belirlenmiştir. Bunu sırasıyla Bare 1(0), Sukkula, N-57 (Nikita) ve E2647 (Nikita) primerleri izlemiştir.

4.2. REMAP Analizleri ve Genomik Kalıp Sabitliliği (Genomik Template Stability; GTS%)

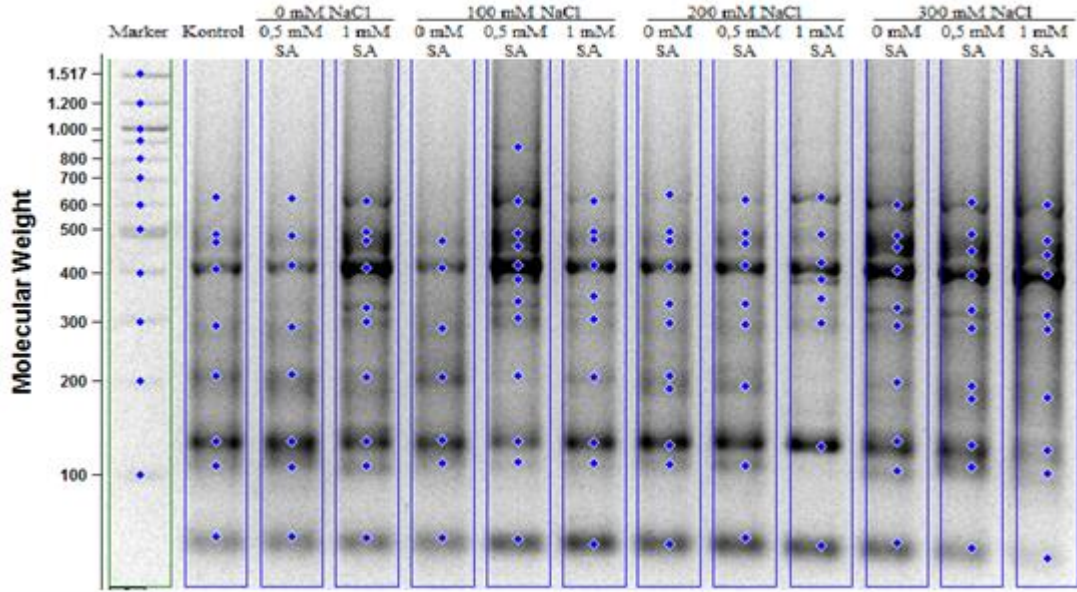
Araştırmada kullanılan retrotranspozon temelli yöntemlerden biri olan REMAP tekniğinde retrotranspozon primerleri ile ISSR primerleri kombinasyonundan oluşan 9 primerin [E 2647 (*Nikita*) + ISSR UBC 826, *BARE 1 (0)* + ISSR UBC 811, *BARE 1(0)* + ISSR 8081, E 2647 (*Nikita*) + ISSR UBC 811, N-57 (*Nikita*) + ISSR UBC 811, N-57 (*Nikita*) + ISSR 8082, *Sukkula* + ISSR UBC 826, *Sukkula* + ISSR 8082, *Stowaway* + ISSR UBC 811] sonuçları değerlendirmeye alınmıştır (Şekil 4.3 ve Şekil 4.4).

Tuzluluk stresi ve salisilik asit uygulamasında REMAP markırında kontrole göre yeni oluşan bantların moleküler ağırlığı 88 bp ile *Stowaway* + ISSR UBC 811 primerinde ve 1731 bp olarak *BARE-1 (0)* + ISSR 8081 primerinde, kaybolan bantların moleküler ağırlıkları ise 207 bp ile E 2647 (*Nikita*) + ISSR UBC 811 ve 1833 bp ile *BARE-1 (0)* + ISSR 8081 primerinde gözlenmiştir. Primerlerin tuzluluk stresi ve salisilik asit

uygulamasına göre yeni oluşan ve kaybolan bantların moleküler ağırlığı karşılaştırıldığında E 2647 (*Nikita*) + ISSR UBC 826 primerinde 379 bp ile 1405 bp büyüklüğünde kaybolan bant gözlenirken yeni oluşan bant gözlenmemiştir (Çizelge 4.3).



Şekil 4.3. *BARE 1 (0)* + ISSR 8081 primerine karşı Kırık çeşidinde oluşan REMAP amplifikasyon ürünleri



Şekil 4.4. E 2647 (*Nikita*) + ISSR UBC 811 primerine karşı Kırık çeşidinde oluşan REMAP amplifikasyon ürünleri

BARE-1 (0) + ISSR UBC 811 primerinde 268 bp (kaybolan ve yeni oluşan bant)-600 bp (kaybolan bant), *BARE-1* (0) + ISSR 8081 primerinde 488 bp (yeni oluşan bant)-1833 bp (kaybolan bant), E 2647 (*Nikita*) + ISSR UBC 811 primerinde 190 bp (yeni oluşan bant)-860 bp (yeni oluşan bant), N-57 (*Nikita*) + ISSR UBC 811 primerinde hiç kaybolan bant gözlenmemişken 222 bp-402 bp büyüklüğünde yeni oluşan bant gözlenmiştir. Yine N-57 (*Nikita*) + ISSR 8082 primerinde 396 bp (kaybolan bant)-715 bp (kaybolan bant), *Sukkula* + ISSR UBC 826 primerinde 243 bp (kaybolan bant)-853 bp (kaybolan bant), *Sukkula* + ISSR 8082 primerinde 451 bp (kaybolan bant)-1041 bp (yeni oluşan bant) ve *Stowaway* + ISSR UBC 811 primerinde 88 bp (yeni oluşan bant)-574 bp (yeni oluşan bant) arasında değişim göstermiştir (Çizelge 4.3).

Total/Lab TL120 programında elde edilen verilere göre salisilik asitin uygulanmadığı 100 mM NaCl, 200 mM NaCl ve 300 mM NaCl uygulamasındaki GTS oranları sırasıyla %83,3, %72,7 ve %64,9 iken; bu değer 0,5 mM salisilik asit uygulamasında %83,6, %81,1 ve %83 olup 1 mM salisilik asit uygulamasında ise %86,6, %87,2 ve %85,5 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.4). Polimorfizm oranları ise tuzluluk stresinin uygulanmadığı 0,5 mM ve 1 mM salisilik asit konsantrasyonlarında en düşük %5,7 ve

%3,7 iken tuz stresinin en yüksek (300 mM NaCl) ve salisilik asit uygulamasının yapılmadığı konsantrasyonda polimorfizm oranı en yüksektir (%35,1) (Çizelge 4.4).

Kontrole kıyasla en düşük GTS değeri %69,7 ile *BARE-1* (0) + ISSR 8081 primerinde gözlenirken en yüksek GTS değeri %95 ile N-57 (*Nikita*) + ISSR UBC 811 primerinde gözlenmiştir. Çalışmada kullanılan tüm REMAP primerleri dikkate alındığında Kırık çeşidinde en yüksek polimorfizm *BARE 1*(0) + ISSR 8081 primerinde belirlenmiştir. Bunu sırasıyla E 2647 (*Nikita*) + ISSR UBC 826, *Stowaway* + ISSR UBC 811, *BARE 1*(0) + ISSR UBC 811, *Sukkula* + ISSR UBC 826, E 2647 (*Nikita*) + ISSR UBC 811, *Sukkula* + ISSR 8082, N-57 (*Nikita*) + ISSR 8082 ve N-57 (*Nikita*) + ISSR UBC 811 primerleri izlemiştir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.3. REMAP moleküler markır yönteminde NaCl ve SA uygulamasında kontrole göre meydana gelen yeni (+) ve kaybolan (-) bantların moleküler ağırlıkları (bp)

REMAP Primerleri (5'→3')	Kontrol	+/-	0 mM SA			0,5 mM SA				1 mM SA			
			100 mM NaCl	200 mM NaCl	300 mM NaCl	0 mM NaCl	100 mM NaCl	200 mM NaCl	300 mM NaCl	0 mM NaCl	100 mM NaCl	200 mM NaCl	300 mM NaCl
E 2647 (<i>Nikita</i>)+ ISSR UBC 826	10	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		-	857; 750; 673	857; 750; 471; 379	1405; 857; 750; 673	857	857; 750	1405; 857	857; 623	-	857; 750	1405; 857	1405; 857
BARE 1(0) + ISSR UBC 811	13	+	-	-	-	268	434	-	-	-	404	-	-
		-	600	470;306; 268	600;434; 404;306; 268	-	600	470	600; 470; 434	-	600	600; 470	600; 470; 434
BARE 1(0) + ISSR 8081	9	+	1554;	1731;	1638; 816; 488	-	1731; 867	1638; 832	1517;	1683	1683	1594	1517
		-	1833; 529	1833; 659; 529	1833; 529	-	1833	1833; 586	1833 529	1833	1833	1833	1833
E 2647 (<i>Nikita</i>)+ ISSR UBC 811	9	+	-	336 190	330;	-	860; 388	336	396	330	354	388	-
		-	625; 482	-	-	482	-	207	-	-	-	-	482
N-57 (<i>Nikita</i>) + ISSR UBC 811	9	+	243	222	236	-	252	402	-	-	-	-	-
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
N-57 (<i>Nikita</i>) + ISSR 8082	6	+	-	426	442	-	-	-	-	-	-	-	-
		-	715	715	396	715	715	715	-	-	715	-	-
Sukkula + ISSR UBC 826	16	+	-	550; 484	336	-	-	-	-	-	-	-	-
		-	762	336; 322	762;690; 397;243	853	853;762; 690;	853;762; 690;397	762;690; 322	-	336;322	853;762	853;762; 690
Sukkula + ISSR 8082	9	+	-	1037 757	1032; 937; 781	-	703	1028	1041; 768	-	742	1037; 955	1032
		-	451	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Çizelge 4.3. (devam)

<i>Stowaway</i> + ISSR UBC 811	8	+	88	-	544;506	-	-	574	566	-	477	350	544; 506
		-	-	314; 230	350;314; 282	-	-	-	350	-	-	-	-

Çizelge 4.4. REMAP moleküler markır yönteminde NaCl ve SA uygulamasına göre GTS oranı (%)

Primerler (5'→3')	Kontrol	0 mM SA			0,5 mM SA				1 mM SA			
		100 mM NaCl	200 mM NaCl	300 mM NaCl	0 mM NaCl	100 mM NaCl	200 mM NaCl	300 mM NaCl	0 mM NaCl	100 mM NaCl	200 mM NaCl	300 mM NaCl
E 2647 (<i>Nikita</i>) + ISSR UBC 826	100	70	60	60	90	80	80	80	100	80	80	80
<i>BARE 1(0)</i> + ISSR UBC 811	100	92,4	77	61,6	92,4	84,7	92,4	77	100	84,7	84,7	77
<i>BARE 1(0)</i> + ISSR 8081	100	66,7	55,6	44,5	100	66,7	55,6	66,7	77,8	77,8	77,8	77,8
E 2647 (<i>Nikita</i>) + ISSR UBC 811	100	77,8	77,8	88,9	88,9	77,8	77,8	88,9	88,9	88,9	88,9	88,9
N-57 (<i>Nikita</i>) + ISSR UBC 811	100	88,9	88,9	88,9	100	88,9	88,9	100	100	100	100	100
N-57 (<i>Nikita</i>) + ISSR 8082	100	83,4	66,7	66,7	83,4	83,4	83,4	100	100	83,4	100	100
<i>Sukkula</i> + ISSR UBC 826	100	93,8	75	68,8	93,8	81,3	75	81,3	100	87,5	87,5	81,3
<i>Sukkula</i> + ISSR 8082	100	88,9	77,8	66,7	100	88,9	88,9	77,8	100	88,9	77,8	88,9
<i>Stowaway</i> + ISSR UBC 811	100	87,5	75	37,5	100	100	87,5	75	100	87,5	87,5	75
GTS	100	83,3	72,7	64,9	94,3	83,6	81,1	83	96,3	86,6	87,2	85,5
Polimorfizm %	0	16,7	27,3	35,1	5,7	16,4	18,9	17	3,7	13,4	12,8	14,5

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Buğday dünyada olduğu gibi ülkemizde de en fazla üretimi yapılan tarım ürünüdür. Dünyada besinlerden sağlanan kalorisinin %20'si buğdaya aittir. Tarımının kolay ve tamamen makineye dayalı oluşu, yetiştiricileri buğday tarımına yöneltmektedir (Süzer 2004).

Buğday tüm dünya üzerinde tarımı yapılan tahıllar içerisinde ekiliş ve tüketim miktarı açısından ilk sıralarda bulunduğundan, bitkiden alınacak verimde stres kaynaklı olabilecek bir düşüş ekonomik anlamda da büyük bir düşüşe sebep olacaktır (Süzer 2004).

Doğadaki çok çeşitli biyotik ve abiyotik çevre etmenleri bitkilerde strese neden olabilmektedir. Stres, önemli fizyolojik ve metabolik değişimlere yol açarak bitkilerde büyüme ve gelişmeyi olumsuz şekilde etkilerken, üründe nitelik ve nicelik kaybına (ürün kalitesinin ve miktarının azalmasına), bitkinin veya organlarının ölümüne yol açabilmektedir (Munns 2002).

En önemli stres faktörlerinden biri olan tuzluluk stresi; özellikle kurak ve yarı kurak iklim bölgelerinde yıkanarak yer altı sularına karışan çözünebilir tuzların yüksek taban suyuyla birlikte kapillarite yoluyla toprak yüzeyine çıkması ve buharlaşması sonucu suyun uçmasıyla toprak yüzeyinde birikmesinden dolayı bitkilerde yarattıkları strestir (Levitt 1980).

Kültür bitkilerinin çoğu topraktaki yüksek tuz konsantrasyonlarının sebep olduğu tuzluluk stresine duyarlı olduğu için tuzluluk verimi sınırlandıran en önemli çevre faktörlerinden biridir. Dünyadaki önemli miktarda tarım arazileri her geçen gün artan tuzluluktan etkilenmektedir (Pitman and Läuchli 2002; Munns and Tester 2008). Diğer taraftan tarım arazilerinde artan tuzluluğun kullanılabilir topraklarda %50'ye varan kayba neden olması beklenmektedir (Mahajan and Tuteja 2005). Yapılan çalışmaların

çoğunda tuzluluğun farklı bitkilerde bitkinin hayatta kalması için kritik koşullara neden olan Na^+ ve Cl^- artışına neden olduğu bildirilmiştir. Hem Na^+ hem de Cl^- 'deki bu artış bitkilerde birçok fizyolojik bozukluğa neden olmasına rağmen bunların en tehlikelisi Cl^- 'dir (Tavakkoli *et al.* 2010). Yüksek seviyedeki tuzluluk hem hiperiyonik hem de hiperozmotik strese neden olur. Tuzun bu etkileri membran hasarına, besin dengesizliğine, bitki büyüme düzenleyicilerinin seviyelerinin değişmesine, enzimatik inhibisyona ve metabolik işlev bozukluğuna ayrıca fotosentezde azalmaya ve hatta bitki ölümüne neden olur (Mahajan and Tuteja 2005; Hasanuzzaman *et al.* 2012). Topraktaki veya sulama suyundaki yüksek tuz konsantrasyonu, bitki metabolizması üzerinde yıkıcı bir etkiye sahip olup, fizyolojik ve biyokimyasal süreçleri birbirinden ayırarak hücrel homeostazi bozabilir. Biyokimyasal ve moleküler çalışmalar tuz stresinin süperoksit ($\text{O}_2^{\cdot -}$), tekli oksijen ($^1\text{O}_2$), hidroksil radikali ($\text{OH}^{\cdot}$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi bazı ROT çeşitlerinin artışına neden olduğu bildirilmiştir (Tanou *et al.* 2009; Ahmad *et al.* 2010, 2012; Ahmad and Umar 2011). Ancak, tuz stresinin bitkiler üzerindeki etkisi tuz konsantrasyonu ve maruz kalma süresine, bitki genotipine ve çevresel faktörlere bağlıdır.

Tuz tolerans mekanizmaları, henüz tam olarak açıklanamamakla birlikte iyon homeostazisi, ozmolit biyosentezi, toksik radikal temizleme ve su taşınması gibi bazı stres efektörleri ile bir dereceye kadar açıklanabilmektedir (Hasegawa *et al.* 2000). Bununla birlikte, stres koşulları altında bitki gelişimiyle verimi artırmaya yönelik çalışmalar adaptif tepkilerin çoklu gen orjinli olması nedeniyle büyük ölçüde başarısız olmuştur. Bu nedenle, tuz toleransının moleküler, fizyolojik, biyokimyasal ve metabolik yönlerini birleştiren iyi odaklanmış bir yaklaşım kullanılarak tuza dayanıklı bitki çeşitleri geliştirmek esastır.

Tuz stresine karşı uygun iyileştiricileri (ameliorant) ve/veya hafifleticileri (alleviant) araştırmak bitki biyologlarının görevlerinden biridir. Son yıllarda yapılan çalışmalara göre osmoprotektanlar (prolin, glisin betain, trehaloz vb.), bitki hormonları (giberellik asitler, jasmonik asitler, brasinosteroidler, salisilik asit vb.), antioksidanlar (askorbik asit, glutatyon, tokoferol vb.), bitki sinyal molekülleri (nitrik oksit, hidrojen peroksit,

salisilik asit vb.), poliaminler (spermidin, spermin, putresin) ve iz elementlerin (selenyum, silikon vb.) bitkide tuz kaynaklı hasarı hafifletilmede etkili olduğu bulunmuştur (Hoque *et al.* 2007; Ahmad *et al.* 2010, 2012; Azzedine *et al.* 2011; Hasanuzzaman *et al.* 2011; Hayat *et al.* 2010; Hossain *et al.* 2011; Poór *et al.* 2011; Ioannidis *et al.* 2012; Nounjan *et al.* 2012; Rawia *et al.* 2011; Iqbal and Ashraf 2013; Tahir *et al.* 2012; Yusuf *et al.* 2012). Bu koruyucular, bitki büyüme ve verimin yansıra stres toleransını arttırmaktadır.

Bitkiler etkisinde kalmış oldukları tuzluluk stresinin olumsuz etkilerine karşı biyokimyasal ve moleküler düzeyde uyum, dayanıklılık ve tolerans mekanizması geliştirmişlerdir. Biyokimyasal düzeyde meydana gelen değişimleri; kökte iyon alınımları ve iletiminin kontrollü bir şekilde yapılması, alınan iyonların seçici olarak biriktirilmesi veya atılımı yolları ile iyon dengesinin sağlanması, ozmolit ve antioksidan enzimlerin sentezlerinin artırılması, endojen bitki hormon sentezinin uyarımı, fotosentetik yolun ve hücrel membran yapısının değişimi ve fonksiyonel ve düzenleyici proteinlerin sentezi şeklinde sıralayabiliriz. Moleküler düzeyde meydana gelen değişimler ise tuz toleransı ile ilgili genlerin aktive edilmesi (Mirouze and Paszkowski 2011).

Tuzluluğa direnç genlerinin aktive edilmesinin yanı sıra moleküler düzeyde meydana gelen değişimlerden biri de normal büyüme dönemlerinde inaktif halde bulunan bitki retrotranspozonlarının farklı stres etkenleriyle aktif hale geçmesidir (Grandbastien 1998).

LTR retrotranspozonları, bitki genomunda en fazla aktif halde bulunan hareketli elementlerdir. *Arabidopsis thaliana* genomunun yaklaşık %15'ini, buğdaygiller genomunun %50-%80'nini, zambakgiller genomunun ise %90'nını oluşturmaktadırlar (Feschotte *et al.* 2002; Sabot and Schulman 2006).

Bu bilgiler doğrultusunda bu araştırmada tuzluluk (NaCl) stresinin ve SA uygulamasının retrotranspozon kaynaklı polimorfizme olan etkisi IRAP ve REMAP moleküler yöntemleri kullanılarak araştırılmıştır. Araştırmada, her iki yöntemde de

kontrole göre stressiz şartlarda SA uygulamasının retrotranspozonları aktive ettiği belirlenmiştir. Araştırmamızdaki bu bulguya benzer olarak Salazar *et al.* (2007) *TLC1.1* retrotranspozonunun stresle ilgili çeşitli sinyal molekülleri (SA, ABA, MeJA, H₂O₂ ve sentetik oksin 2,4-D) tarafından aktive edildiğini bildirmişlerdir. SA'nın buradaki etkisi H₂O₂ konsantrasyonunda bir artışa sebep olması olabilir. Bir ROT türü olan H₂O₂ düşük konsantrasyonlarda, birçok biyotik ve abiyotik strese karşı tolerans uyandıran bir sinyal molekülü gibi davranır, ancak yüksek konsantrasyonlarda apoptoz benzeri ve otofajik hücre ölümünü tetiklemektedir (Love *et al.* 2008; Quan *et al.* 2008). Çeşitli abiyotik ve biyotik streslerde SA ve H₂O₂ arasındaki etkileşim "kendi kendini yükselten geribildirim döngüsü-self-amplifying feedback loop" ile açıklanmaktadır. Buna göre H₂O₂, SA'nın birikmesine neden olur ve SA, H₂O₂ konsantrasyonunu artırır (Shirasu *et al.* 1997; Harfouche *et al.* 2008). Endojen SA konsantrasyonunda H₂O₂ aracılı artış, benzoik asidin SA'ya dönüştürülmesinde rol oynayan BA2H enzimi üzerindeki H₂O₂ katalitik aktivitesi ile (Dempsey and Klessig 1995); SA tarafından H₂O₂ konsantrasyonundaki artış ise SA'nın katalaz ve askorbat peroksidaz enzimlerine bağlanması yoluyla bu enzimlerin aktivitesinin engellenmesiyle açıklanmaktadır (Durner and Klessig 1995; Durner and Klessig 1996; Horváth *et al.* 2002).

Biyotik ve abiotik stres faktörleri bitki ve alglerde LTR retrotranspozonlarını uyarmada epigenetik reaktivatör olarak etki etmektedir (Flavell *et al.* 1992; Voytas *et al.* 1992; Mansour 2007, 2008, 2009; Alzohairy *et al.* 2012, 2013). Patojen enfeksiyonları, mekanik hasarlar, in vitro doku kültürü, ısı, kuraklık, tuz stresi, melezleme, doubled haploitlerin oluşumu veya X-ışını radyasyonu LTR retrotranspozonlarını harekete geçirebilmektedir (Hirochika 1995; Hagan and Rudin 2002; Hagan *et al.* 2003; Grandbastien 2004; Grandbastien *et al.* 2005; Cheng *et al.* 2006; Mansour 2007, 2008, 2009; Salazar *et al.* 2007; Alzohairy *et al.* 2012; Butelli *et al.* 2012; Karan 2012). Nitekim, çalışmamızda uygulanan 3 farklı tuz konsantrasyonuna (100 mM, 200 mM ve 300 mM NaCl) bağlı olarak retrotranspozon hareketinin arttığı ve buna bağlı olarak da uygulanan en yüksek dozda en düşük GTS oranı (%59,2) gözlenmiştir. Aynı şekilde genomdaki bu hareketli elementlerin çevresel ve populasyon faktörleri tarafından birçok organizmada stres ile uyarıldığı bildirilmiştir. Araştırmamızdaki bulgulara benzer

olarak, Alzohairy *et al.* (2012), arpada (*Hordeum vulgare* L.) LTR retrotranspozonlarının dışsal çevresel stresler (tuz, soğuk, ışık, enfeksiyon, mekanik hasar ve *in vitro* rejenerasyon) aracılığıyla uyarıldığını rapor etmişlerdir. Ayrıca, makarnalık buğdayda (*Triticum durum* L.) tuz ve ışık stresinin *Ttd1a* retrotranspozon hareketini artırdığı ve tuz stresinin insersiyonel polimorfizmi artırdığı belirlenmiştir (Woodrow *et al.* 2010). Tütün bitkisinde yapılan bir çalışmada (Grandbastien *et al.* 1997) *Tnt1* ve *Tto1* retrotranspozonlarının ifadesinin hücre kültürü, CuCl_2 ve tuz stresi altında büyük ölçüde arttığı gözlenmiştir. Yine, Beguiristain *et al.* (2001) tütün bitkisinde patojenlerin oluşturduğu stresin retrotranspozonların hareketliliğinin teşvikine neden olduğunu bildirmişlerdir. Diğer taraftan, Hirochika and Hirochika (1993), doku kültürü çalışmalarında oluşan yaralanmalara bağlı olarak meydana gelen stresle *Tto1*, *Tto2* ve *Tnt1* retrotranspozonlarının hareketinin arttığını, genom üzerinde yer değiştirerek yeni yerlere lokalize olduklarını ve bu nedenle mutajenik etkiye yol açtıklarını göstermişlerdir.

DNA metilasyonu ve kromatin paketlenme ve yoğunlaşmasındaki değişimler transpozonların yüksek mutasyon özelliklerini engellemektedirler (Grandbastien *et al.* 2005). DNA metilasyonu sitozin halkasının beşinci karbonunda meydana gelen bir modifikasyondur. Hem bitkiler hem de hayvanlarda sitozin ilk olarak CG nükleotidi durumunda metillenir. Bununla birlikte bitkilerde sitozin CG, CHG (H: A, C veya T) ve CHH durumlarında metillenir (Chen *et al.* 2010; Zemach *et al.* 2010). CG metilasyonu, DNA Metiltransferaz 1 (MET1 veya DMT1) tarafından CHG metilasyonu, bitkiye spesifik bir DNA metil transferaz olan Kromometilaz 3 (CMT3) tarafından sürdürülür (Gehring and Henikoff 2007; Law and Jacobsen 2010; Chen *et al.* 2010). DNA metilasyonunun giderilmesi, DNA replikasyonu sırasında metillenmiş sitozinlerin normal sitozinlerle değiştirilmesiyle ve DNA glikosilazlar (DME, DML2, DML3 ve ROS1) tarafından sitozinlerin metil grubunun çıkarılması yoluyla gerçekleşir (Tariq and Paszkowski 2004). Gen ekspresyonunun düzenlenmesi bitkilerin stres toleransı için önemlidir. Bu bağlamda, metilasyon aklimasyon yanıtlarında önemli bir role sahip olan genlerin ekspresyonunu düzenleyebileceği için ilgi kazanmaktadır. Buna ek olarak, transpozonların doğrudan doğruya metilasyon ile düzenlendiği ve strese bitki

tepkimesinde önemli bir rol oynayabileceği iyi bilinmektedir. Bitkiler soğuk, tuzluluk, sıcaklık, kuraklık ve patojenlere maruz kaldığında gen ekspresyonunu düzenlemek için bitki hücrelerinden çeşitli sinyaller üretilir ve yorumlanır. Genlerin düzenlenmesi, kromatin yeniden modelleme ile teşvik edilebilir. Transposonlar, tekrarlar ve genler, Kryptonite tarafından H3K9Me2'nin artışı indükleyen MET1, CMT3 ve DRM tarafından DNA sitozinlerin hipermetilasyonu yoluyla susturulabilir ve heterokromatin oluşumunu artırır (Liu *et al.* 2010). Bununla birlikte, H3K9Me2 ve CMT3'ün LHP1 tarafından etkileşimi sonucunda CNG bölgelerinde H3K9Me2 DNA metilasyonunu indükleyebilir. (Jackson *et al.* 2002; Malagnac *et al.* 2002). LHP1 proteini CHG metilasyonunu yönlendirmek ve heterokromatin oluşumunu indüklemek için H3K9Me2 ve CMT3 arasında bir köprü görevi görür (Tariq and Paszkowski 2004). Araştırmamızda tuz stresine bağlı olarak retrotranspozonların hareketinin nedeni epigenetiksel değişik kaynaklı olabilir. Epigenetik oranlar arasındaki değişim, bitki genomlarında çok miktarda bulunan DNA transpozonlarının ve retroelementlerinin hareketini teşvik edebilir (Reinders *et al.* 2009; Mirouze and Paszkowski 2011). Transposon açısından zengin bölgelerde, CHG metilasyonu ve H3K9Me bol miktarda bulunur ve transpozonların aktivasyonunu önler (Soppe *et al.* 2000; Lippman *et al.* 2003; Lisch 2009). Grandbastien *et al.* (2005) biyotik ve abiyotik strese neden bazı çevresel faktörlerin DNA demetilasyonu yoluyla transpozonları harekete geçirdiğini bildirmişlerdir.

LTR retrotranspozonlarının, biyotik ve abiyotik streslere karşı bitki adaptasyonunu düzenleyen promotörleri bulunmaktadır. Özellikle retrotranspozonların uzun uç tekrar dizilerine (LTR) sahip olan çeşitlerinin (LTR retrotranspozonları) sekansları çevresel streslere yanıt elementleri içermektedir (Niinemets and Valladares 2004). Bu transpozonlarda bulunan *cis*-düzenleyici elementlerin bitki stres yanıt genleriyle benzerlik gösterdiği ve aktivitelerinin bu nedenle arttığı ve LTR'ler ile benzer sekanslara sahip çok sayıda stres indükleyici gen promotörü belirlenmiştir (Dunn *et al.* 2006). Yine, bu hareketli elementlerin yer değiştirmeleri sonucunda genomda meydana gelen değişime bağlı olarak organizmanın strese olan tepkisinde yararlı etkiler sağlayabileceği bildirilmiştir (Capy *et al.* 2000). Nitekim, Woodrow *et al.* (2010),

makarnalık buğdayda tuz stresinde Ttd1a retrotranspozonun direnç geninin yakınına yeni bir insersiyon gerçekleştirdiğini ve bunun sonucu olarak Ttd1a retrotranspozon hareketinin çevresel streslere karşı savunma mekanizmasında önemli bir rol oynadığını bildirmişlerdir. Araştırmamızda çalışmış olduğumuz *Stowaway*, *BARE-1* (0), *Sukkula* hareketlerinin daha yüksek olmasının sebebi bu olabilir.

Araştırmamızda, tuzluluk stresine karşı bitkide meydana gelen retrotranspozon kaynaklı polimorfizm oranındaki artışın SA uygulamasıyla iyileştiği gözlenmiştir. SA'nın bu etkisi antioksidan özelliği ile açıklanabilir. Tüm biyotik ve abiyotik stresler ROT konsantrasyonu artışı ile ilişkilidir. Süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), tekli oksijen (1O_2), hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi bazı ROT çeşitlerinin üretimi tuz stresi ile artar (Parida and Das 2005). ROT'lar nükleik asitler ve proteinler, lipidlerin oksidasyonu boyunca hücreleri etkiler (Pastori and Foyer 2002; Apel and Hirt 2004; Ahmad *et al.* 2010). ROT'lar DNA sekansında değişikliğe neden olmasının yanı sıra DNA sekansında değişikliğe neden olmadan epigenetik değişikliklere neden olmaktadır (Creppy *et al.* 2002; Marnett *et al.* 2003; Valinluck *et al.* 2004).

Bitkilerdeki redoks homeostazı, ROT üretimi ve temizleme arasındaki uygun denge ile korunur (Apel and Hirt 2004). Genel olarak, düşük konsantrasyonlarda SA abiyotik streslere karşı toleransı kolaylaştırırken yüksek konsantrasyonlarda ROT çeşitlerinin artması nedeniyle oksidatif stres oluşturarak hücre ölümüne yol açar (Shirasu *et al.* 1997; Lee *et al.* 2010; Poo'r *et al.* 2011; Miura and Tada 2014).

ROT'lar bitkiyi tuz stresinden korumak için enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidantlar tarafından temizlenirler (Bose *et al.* 2014). Gerçekte de antioksidatif sistem etkinliği artışı ile tuz stresine tolerans arasında olumlu ilişki vardır (Horva'th *et al.* 2007; Munns and Tester 2008; Ashraf *et al.* 2010). Fizyolojik olarak ilgili konsantrasyonlardaki ekzojen SA uygulaması tuz stresine aklimasyon sırasında enzimatik (süperoksit dismutaz, katalaz, askorbat peroksidaz ve glutatyon peroksidaz) ve enzimatik olmayan antioksidanlar (glutatyon, askorbik asit, karotenoidler ve tokoferoller) da dâhil olmak üzere anti-oksidatif savunma sistemini indükleyen H_2O_2

üretimine neden olmaktadır (Durner and Klessig 1995; Durner and Klessig 1996; Gill and Tuteja 2010). Enzimatik antioksidan sistemleri [Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve peroksidaz] ve enzimatik olmayan [askorbat (ASA) ve glutatyon (GSH) vb] bileşikler ROT'lara karşı bitki savunmalarında yer alırlar (Mittler 2002). Fizyolojik düzeyde, ekzojen SA uygulaması, antioksidan enzimlerin ve az miktarda enzim içermeyen bileşiklerin aktivitelerini önemli ölçüde iyileştirdiği ve artmış abiyotik stres toleransı ile sonuçlanan malondialdehit (MDA) konsantrasyonlarını azalttığı olarak bulunmuştur (Ashraf *et al.* 2010; Hayat *et al.* 2010). Yine moleküler seviyede, Chen *et al.* (2011), Kang *et al.* (2013) and Li *et al.* (2013), soğuk, kuraklık ve tuz stresine maruz kalan bitkilerde, SA ön muamelesinin geçici olarak GSH-S-transferaz (GST1 ve GST2), GSH peroksidaz (GPX1), fosfolipid hidroperoksit GSH peroksidaz (GPX2), GSH sentetaz, monodehidroaskorbat redüktaz, GSH redüktaz ve dehidroaskorbat redüktaz (DHAR) içeren ASA-GSH döngüsü enzimlerini kodlayan genlerin transkripsiyonunu geçici olarak düzenlediğini ve sonuçta GSH ve ASA içeriğini artırdığı ve soğuk, kuraklık ve tuz toleranslarında iyileşme olduğunu bildirmişlerdir. Yüksek bitkilerdeki ASA-GSH döngüsü enzimlerini kodlayan genlerin aşırı ekspresyonu, GSH ve ASA'nın daha yüksek varlığını muhafaza ederek abiyotik streslere (örn., tuz, soğutma) daha fazla tolerans kazandırdığı belirlenmiştir (El-tayeb *et al.* 2005; Duan *et al.* 2012; Sultana *et al.* 2012). Diğer taraftan *OsAPX2* mutantlarının düşük askorbat peroksidaz (APX) aktivitesine sahip olduğu ve bu mutantların kuraklığa, tuza veya soğuk streslerine karşı hassas olduğu ve yine *OsAPX2*'nin fazla ekspresyonun APX aktivitesini artırdığı ve bu bitkilerin streslere toleranslarını arttırdığı bildirilmiştir (Zhang *et al.* 2013). SA tarafından geliştirilen abiyotik toleranslar, antioksidan enzimleri şifreleyen genlerin ifadesinin düzenlenmesiyle ilişkilendirilebilir. Ding *et al.* (2002) SA uygulamasının domates meyvelerinde soğuk zararını azalttığını bildirmiştir. Yine aynı çalışmada 10 μ M SA uygulanmış bitkilerde CAT mRNA seviyesinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Proteomik çalışmalar, SA ön muamelesi ile tuz stresine maruz bırakılan *Arabidopsis* fidelerinde iki SOD seviyesinin belirgin şekilde indüklendiğini veya arttığını göstermiştir. Aynı şekilde sırasıyla APX ve Peroksiredoksin (Prx)'in tuzluluğa ve kuraklığa maruz kalmış buğday fidelerinde belirgin şekilde artışı belirlenmiştir (Rajjou *et al.* 2006; Kang *et al.* 2012). Bu veriler, SA kaynaklı geliştirilmiş abiyotik stres toleransının ASA ve GSH ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

5.1. Sonuç ve Öneriler

Bu araştırmadan elde edilen sonuçlar, tuz stresinin retrotranspozonları aktive ettiği ve retrotranspozonlara bağlı olarak tuz stresinde polimorfizmin meydana geldiği, salisilik asitin tuz stresine bağlı olarak meydana gelen retrotranspozon kaynaklı polimorfizmi azaltarak genetik kararlılıkta etkili olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre salisilik asitin tuz stresi altında yetiştirilen bitkiler için adaptif bir etkiye sahip olduğu ve tarımda tuzluluğun olumsuz etkilerini önlemek amacıyla kullanılması önerilebilir. Bunun dışında retrotranspozon hareketi tespiti için IRAP, DNA hasarı ve retrotranspozon hareketinin aynı anda tespiti için REMAP moleküler tekniklerinden yararlanılabileceği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Agar, G., Taspinar, M.S., Aydin, M., Arslan, E. and Sigmaz, B., 2016. Protective Role of Putrescine on Genomic Instability Caused by Salinity Stress in *Triticum aestivum*. (ICCEES) Jan 12-13, Dubai (UAE).
- Ahmad, P. and Sharma, S., 2008. Salt stress and phyto-biochemical responses of plants. *Plant, Soil and Environment*, 54(3), 89-99.
- Ahmad, S., Ahmad, R., Ashraf, M.Y., Ashraf, M. and Waraich, E.A., 2009. Sunflower (*Helianthus annuus* L.) response to drought stress at germination and seedling growth stages. *Pak. J. Bot*, 41(2), 647-654.
- Ahmad, P., Jaleel, C.A., Salem, M.A., Nabi, G. and Sharma, S., 2010. Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. *Critical Reviews in Biotechnology*, 30(3), 161-175.
- Ahmad, P. and Umar, S., 2011. Oxidative stress: role of antioxidants in plants.
- Ahmad, P., Nabi, G. and Ashraf, M., 2011. Cadmium-induced oxidative damage in mustard [*Brassica juncea* (L.) Czern. and Coss.] plants can be alleviated by salicylic acid. *South African Journal of Botany*, 77(1), 36-44.
- Ahmad, P., John, R., Sarwat, M. and Umar, S., 2012. Responses of proline, lipid peroxidation and antioxidative enzymes in two varieties of *Pisum sativum* L. under salt stress. *International Journal of Plant Production*, 2(4), 353-366.
- Ahmad, P., Ashraf, M., Hakeem, K.R., Azooz, M.M., Rasool, S., Chandna, R. and Akram, N.A., 2014. Potassium starvation-induced oxidative stress and antioxidant defense responses in *Brassica juncea*. *Journal of Plant Interactions*, 9(1), 1-9.
- Akbari, G.A., Hojati, M., Modarres-Sanavy, S.A.M. and Ghanati, F., 2011. Exogenously applied hexaconazole ameliorates salinity stress by inducing an antioxidant defense system in *Brassica napus* L. plants. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 100(3), 244-250.
- Akbari, G.A., Izadi-Darbandi, A. and Borzouei, A., 2012. Effects of salinity on some physiological traits in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *Indian Journal of Science and Technology*, 5(1), 1901-1906.
- Akhtar, S.S., Andersen, M.N. and Liu, F., 2015. Residual effects of biochar on improving growth, physiology and yield of wheat under salt stress. *Agricultural Water Management*, 158, 61-68.
- Akram, M., Hussain, M., Akhtar, S. and Rasul, E., 2002. Impact of NaCl salinity on yield components of some wheat accessions/varieties. *International Journal of Agriculture and Biology*, 1, 156-158.
- Akram, N.A. and Ashraf, M., 2011. Improvement in growth, chlorophyll pigments and photosynthetic performance in salt-stressed plants of sunflower (*Helianthus annuus* L.) by foliar application of 5-aminolevulinic acid. *Agrochimica*, 55(2), 94-104.
- Alacam, G., Yilmaz, S., Marakli, S. and Gozukirmizi, N., 2014. Sukkula retrotransposon insertion polymorphisms in barley. *Russian Journal of Plant Physiology*, 61(6), 828-833.

- Alavi, S.M., Mohammadi, S.A., Aharizad, S. and Moghaddam, M., 2008. Analysis of genetic diversity and phylogenetic relationships in *Crocus* genus of Iran using inter-retrotransposon amplified polymorphism. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 22(3), 795-800.
- Alavi, S.M., Kachouei, M.A. and Pirbalouti, A.G., 2015. Growth, yield, chemical composition, and antioxidant activity of essential oils from two thyme species under foliar application of jasmonic acid and water deficit conditions. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 56(4), 411-420.
- Alzohairy, A.M., Yousef, M.A., Edris, S., Kerti, B., Gyulai, G. and Bahieldin, A., 2012. Detection of LTR Retrotransposons Reactivation induced by in vitro Environmental Stresses in Barley (*Hordeum vulgare*) via RT-qPCR. *Life Science Journal*, 9(4), 5019-5026.
- Alzohairy, A.M., Gyulai, G., Jansen, R.K. and Bahieldin, A., 2013. Transposable elements domesticated and neofunctionalized by eukaryotic genomes. *Plasmid*, 69(1), 1-15.
- Alzohairy, A.M., Gyulai, G., Ramadan, M.F., Edris, S., Sabir, J.S., Jansen, R.K. and Bahieldin, A., 2014. Retrotransposon-based molecular markers for assessment of genomic diversity. *Functional Plant Biology*, 41(8), 781-789.
- Amirjani, M.R., 2011. Pigments and Enzyme Activity of Rice. *International Journal of Botany*, 7(1), 73-81.
- Apel, K. and Hirt, H., 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology*, 55, 373-399.
- Arfan, M., Athar, H.R. and Ashraf, M., 2007. Does exogenous application of salicylic acid through the rooting medium modulate growth and photosynthetic capacity in two differently adapted spring wheat cultivars under salt stress?. *Journal of Plant Physiology*, 164(6), 685-694.
- Arumuganathan, K. and Earle, E.D., 1991. Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant Molecular Biology Reporter*, 9(3), 208-218.
- Asch, F., Dingkuhn, M., Dörffling, K. and Miezan, K. 2000. Leaf K/Na ratio predicts salinity induced yield loss in irrigated rice. *Euphytica*, 113(2), 109-118.
- Ashraf, M. and Khan, A., 2008. Exogenously applied ascorbic acid alleviates salt-induced oxidative stress in wheat. *Environmental and Experimental Botany*, 63(1), 224-231.
- Ashraf, M. and Akram, N.A., 2009. Improving salinity tolerance of plants through conventional breeding and genetic engineering: an analytical comparison. *Biotechnology Advances*, 27(6), 744-752.
- Ashraf, M.A., Ashraf, M. and Ali, Q., 2010. Response of two genetically diverse wheat cultivars to salt stress at different growth stages: leaf lipid peroxidation and phenolic contents. *Pakistan Journal of Botany*, 42(1), 559-565.
- Azzedine, F., Gherroucha, H. and Baka, M., 2011. Improvement of salt tolerance in durum wheat by ascorbic acid application. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*, 7(1).
- Balestrazzi, A., Confalonieri, M., Macovei, A., Donà, M. and Carbonera, D., 2011. Genotoxic stress and DNA repair in plants: emerging functions and tools for improving crop productivity. *Plant Cell Reports*, 30(3), 287-295.

- Barakat, N.A, Laudadio, V., Cazzato, E. and Tufarelli, V., 2013. Antioxidant potential and oxidative stress markers in wheat (*Triticum aestivum*) treated with phytohormones under salt-stress condition. *International Journal of Agriculture and Biology*, 15, 843-849.
- Baran, A. and Doğan, M., 2014. Tuz Stresi Uygulanan Soyada (*Glycine max* L.) Salisilik Asidin Fizyolojik Etkisi. *SDÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 18(1).
- Bassing, C.H., Swat, W. and Alt, F.W., 2002. The mechanism and regulation of chromosomal V (D) J recombination. *Cell*, 109(2), S45-S55.
- Baumel, A., Ainouche, M., Kalendar, R. and Schulman, A.H., 2002. Retrotransposons and genomic stability in populations of the young allopolyploid species *Spartina anglica* CE Hubbard (Poaceae). *Molecular Biology and Evolution*, 19(8), 1218-1227.
- Beguiristain, T., Grandbastien, M.A., Puigdomenech, P. and Casacuberta, J.M., 2001. Three *Tnt1* subfamilies show different stress-associated patterns of expression in tobacco. Consequences for retrotransposon control and evolution in plants. *Plant Physiology*, 127 (1), 212-221.
- Bennett, M.D. and Smith, J.B., 1976. Nuclear DNA amounts in angiosperms. *philosophical Transactions of the royal Society B: Biological Sciences*, 334(1271), 309-345.
- Bordi A. 2010. The influence of salt stress on seed germination, growth and yield of canola cultivars. *Not Bot Hort Agrobot Cluj*, 38:128–133
- Bose, J., Shabala, L., Pottosin, I., Zeng, F., Velarde-Buendía, A.N.A., Massart, A. and Shabala, S., 2014. Kinetics of xylem loading, membrane potential maintenance, and sensitivity of K⁺-permeable channels to reactive oxygen species: physiological traits that differentiate salinity tolerance between pea and barley. *Plant, Cell and Environment*, 37(3), 589-600.
- Boston, R.S., Viitanen, P.V. and Vierling, E., 1996. Molecular chaperones and protein folding in plants. In *Post-transcriptional control of gene expression in plants* (pp. 191-222). Springer Netherlands.
- Botella, M.A., Rosado, A., Bressan, R.A. and Hasegawa, P.M., 2005. Plant adaptive responses to salinity stress. *Plant Abiotic Stress*, 37-70.
- Boyko, A., Kathiria, P., Zemp, F.J., Yao, Y., Pogribny, I. and Kovalchuk, I., 2007. Transgenerational changes in the genome stability and methylation in pathogen-infected plants (virus-induced plant genome instability). *Nucleic Acids Research*, 35(5), 1714-1725.
- Boyko, A., Blevins, T., Yao, Y., Golubov, A., Bilichak, A., Ilnytsky, Y. and Kovalchuk, I., 2010. Transgenerational adaptation of *Arabidopsis* to stress requires DNA methylation and the function of Dicer-like proteins. *PloS one*, 5(3), e9514.
- Boyko, A. and Kovalchuk, I., 2011. Genome instability and epigenetic modification—heritable responses to environmental stress?. *Current Opinion in Plant Biology*, 14(3), 260-266.
- Bray, E.A., Bailey-Serres, J. and Weretilnyk, E., 2000. Responses to abiotic stresses. *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, 1158, e1249.
- Breiman, A. and Graur D., 1967. Wheat evolution. *Israel Journal of Plant Sciences*, 43, 85-98

- Briggle, L.W. and Reitz, L.P., 1963. Classification of *Triticum* species and of wheat varieties grown in the United States (No. 1278). US Dept. of Agriculture.
- Brugnoli, E. and Björkman, O., 1992. Growth of cotton under continuous salinity stress: influence on allocation pattern, stomatal and non-stomatal components of photosynthesis and dissipation of excess light energy. *Planta*, 187(3), 335-347.
- Butelli, E., Licciardello, C., Zhang, Y., Liu, J., Mackay, S., Bailey, P. and Martin, C., 2012. Retrotransposons control fruit-specific, cold-dependent accumulation of anthocyanins in blood oranges. *The Plant Cell*, 24(3), 1242-1255.
- Cameron, R.K., 2000. Commentary Salicylic acid and its role in plant defense responses: what do we really know?. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 56(3), 91-93.
- Capy, P., Gasperià, G., Bieàmont, C. and Bazin, C., 2000. Stress and transposable elements: co-evolution or useful parasites?. *Heredity*, 85, 101-106.
- Casacuberta, J.M. and Santiago, N., 2003. Plant LTR-retrotransposons and MITEs: control of transposition and impact on the evolution of plant genes and genomes. *Gene*, 311, 1- 11.
- Chen, Z.J. and Ni, Z., 2006. Mechanisms of genomic rearrangements and gene expression changes in plant polyploids. *Bioessays*, 28(3), 240-252.
- Chen, M., Lv, S. and Meng, Y., 2010. Epigenetic performers in plants. *Development, Growth and Differentiation*, 52(6), 555-566.
- Chen, T.H. and Murata, N., 2011. Glycinebetaine protects plants against abiotic stress: mechanisms and biotechnological applications. *Plant, Cell and Environment*, 34(1), 1-20.
- Cheng, C., Daigen, M. and Hirochika, H., 2006. Epigenetic regulation of the rice retrotransposon Tos17. *Molecular Genetics and Genomics*, 276(4), 378-390.
- Chinnusamy, V. and Zhu, J.K., 2003. Plant salt tolerance. In *Plant responses to abiotic stress* (pp. 241-270). Springer Berlin Heidelberg.
- Chinnusamy, V., Zhu, J. and Zhu, J.K., 2006. Salt stress signaling and mechanisms of plant salt tolerance. In *Genetic Engineering* (pp. 141-177). Springer US.
- Choi, C.S. and Sano, H., 2007. Abiotic-stress induces demethylation and transcriptional activation of a gene encoding a glycerophosphodiesterase-like protein in tobacco plants. *Molecular Genetics and Genomics*, 277(5), 589-600.
- Chutipaijit, S., Cha-um, S. and Sompornpailin, K., 2011. High contents of proline and anthocyanin increase protective response to salinity in *Oryza sativa* L. spp. *indica*. *Australian Journal of Crop Science*, 5(10), 1191.
- Creppy, E.E., Traoré, A., Baudrimont, I., Cascante, M. and Carratú, M.R., 2002. Recent advances in the study of epigenetic effects induced by the phycotoxin okadaic acid. *Toxicology*, 181, 433-439.
- Cuartero, J. and Fernandez-Munoz, R., 1999. Tomato and salinity. *Scientia Horticulturae*, 125-78:83.
- Çarpıcı, E., 2009. Evaluation of the effects of plant densities and nitrogen rates on stress physiology traits in silage corn (*Zea mays* L.) production. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*, 300.
- Çulha, Ş. and Çakırlar, H., 2011. Tuzluluğun Bitkiler Üzerine Etkileri ve Tuz Tolerans Mekanizmaları (021002)(11-34). *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 11(2).

- Dajic, Z., 2006. Salt stress. In *Physiology and molecular biology of stress tolerance in plants* (pp. 41-99). Springer Netherlands.
- Dantas, B.F., Ribeiro, L.D. and Aragão, C.A., 2007. Germination, initial growth and cotyledon protein content of bean cultivars under salinity stress. *Revista Brasileira de Sementes*, 29(2), 106-110.
- De Felice, B., Wilson, R.R., Argenziano, C., Kafantaris, I. and Conicella, C., 2009. A transcriptionally active copia-like retroelement in Citrus limon. *Cellular and Molecular Biology Letters*, 14(2), 289-304.
- Demirkiran, A., Marakli, S., Temel, A. and Gozukirmizi, N., 2013. Genetic and epigenetic effects of salinity on in vitro growth of barley. *Genetics and Molecular Biology*, 36(4), 566-570.
- Dempsey, D.A. and Klessig, D.F., 1995. Signals in plant disease resistance. *Bulletin de l'Institut Pasteur*, 93(3), 167-186.
- Ding, C. K., Wang, C., Gross, K.C. and Smith, D.L., 2002. Jasmonate and salicylate induce the expression of pathogenesis-related-protein genes and increase resistance to chilling injury in tomato fruit. *Planta*, 214(6), 895-901.
- Dolatabadian, A., Sanavy, S. and Ghanati, F., 2011. Effect of salinity on growth, xylem structure and anatomical characteristics of soybean. *Notulae Scientia Biologicae*, 3(1), 41.
- Duan, M., Feng, H.L., Wang, L.Y., Li, D. and Meng, Q.W., 2012. Overexpression of thylakoidal ascorbate peroxidase shows enhanced resistance to chilling stress in tomato. *Journal of Plant Physiology*, 169(9), 867-877.
- Dunn, C.A., Romanish, M.T., Gutierrez, L.E., Lagemaat, L.N. and Mager, D.L., 2006. Transcription of two human genes from a bidirectional endogenous retrovirus promoter. *Gene*, 366 (2), 335-342.
- Durner, J. and Klessig, D.F., 1995. Inhibition of ascorbate peroxidase by salicylic acid and 2, 6-dichloroisonicotinic acid, two inducers of plant defense responses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(24), 11312-11316.
- Durner, J. and Klessig, D.F., 1996. Salicylic acid is a modulator of tobacco and mammalian catalases. *Journal of Biological Chemistry*, 271(45), 28492-28501.
- Eker, S., Cömertpay, G., Konuşkan, Ö., Ülger, A.C., Öztürk, L. and Çakmak, İ., 2006. Effect of salinity stress on dry matter production and ion accumulation in hybrid maize varieties. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 30(5), 365-373.
- El-Lethy, S.R., Abdelhamid, M.T. and Reda, F., 2013. Effect of potassium application on wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars grown under salinity stress. *World Applied Science Journal*, 26(7), 840-850.
- Elstner, E.F., 1987. Metabolism of activated oxygen species. *The Biochemistry of plants: a comprehensive treatise* (USA).
- El-Tayeb, M.A., 2005. Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regulation*, 45(3), 215-224.
- Essa, T.A., 2002. Effect of salinity stress on growth and nutrient composition of three soybean (*Glycine max* L. Merrill) cultivars. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 188(2), 86-93.
- Evrensel, C., Yilmaz, S., Temel, A. and Gozukirmizi, N., 2011. Variations in BARE-1 insertion patterns in barley callus cultures. *Genetics and Molecular Research*, 10(2), 980-987.

- Faydaoğlu, E. and Sürücüoğlu, M.S., 2011. Geçmişten günümüze tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanılması ve ekonomik önemi. Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, 11(1), 52-67.
- Feschotte, C., Jiang, N. and Wessler, S.R., 2002. Plant transposable elements: where genetics meets genomics. Nature Reviews. Genetics, 3, 329-341.
- Fisarakis, I., Chartzoulakis, K. and Stavrakas, D., 2001. Response of Sultana vines (*V. vinifera* L.) on six rootstocks to NaCl salinity exposure and recovery. Agricultural Water Management, 51(1), 13-27.
- Flavell, R.B. and Smith, D.B., 1974. Variation in nucleolar organiser rRNA gene multiplicity in wheat and rye. Chromosoma, 47(3), 327-334.
- Flavell, A.J., Dunbar, E., Anderson, R., Pearce, S.R., Hartley, R. and Kumar, A., 1992. Ty1-copia group retrotransposons are ubiquitous and heterogeneous in higher plants. Nucleic Acids Research, 20 (14), 3639-3644.
- Flavell, A.J., Knox, M.R., Pearce, S.R. and Ellis, T.H., 1998. Retrotransposon-based insertion polymorphisms (RBIP) for high throughput marker analysis. The Plant Journal, 16(5), 643-650.
- Flowers, T.J. and Yeo, A.R., 1986. Ion relations of plants under drought and salinity. Functional Plant Biology, 13(1), 75-91.
- Flowers, T.J. and Yeo, A.R., 1995. Breeding for salinity resistance in crop plants: where next?. Functional Plant Biology, 22(6), 875-884.
- Foolad, M.R. and Lin, G.Y., 1997. Genetic potential for salt tolerance during germination in *Lycopersicon* species. HortScience, 32(2), 296-300.
- Foolad, M.R. and Lin, G.Y., 1998. Genetic analysis of low-temperature tolerance during germination in tomato, *Lycopersicon esculentum* Mill. Plant breeding, 117(2), 171-176.
- Gautam, S. And Singh, P.K., 2009. Salicylic acid-induced salinity tolerance in corn grown under NaCl stress. Acta Physiologiae Plantarum, 31(6), 1185-1190.
- Gehring, M. and Henikoff, S., 2007. DNA methylation dynamics in plant genomes. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Structure and Expression, 1769(5), 276-286.
- Ghoulam, C., Foursy, A. and Fares, K., 2002. Effects of salt stress on growth, inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in five sugar beet cultivars. Environmental and Experimental Botany, 47(1), 39-50.
- Gill, S.S. and Tuteja, N., 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry, 48(12), 909-930.
- Gomes-Filho, E., Lima, C.R.F.M., Costa, J.H., Da Silva, A.C.M., Lima, M.D.G.S., De Lacerda, C.F. and Prisco, J.T., 2008. Cowpea ribonuclease: properties and effect of NaCl-salinity on its activation during seed germination and seedling establishment. Plant Cell Reports, 27(1), 147-157.
- Grandbastien, M.A., Lucas, H., Morel, J.B., Mhiri, C., Vernhettes, S. and Casacuberta, J.M., 1997. The expression of the tobacco Tnt1 retrotransposon is linked to plant defense responses. Genetica, 100(1-3), 241-252.
- Grandbastien, M.A., 1998. Activation of plant retrotransposons under stress conditions. Trends in Plant Science, 3(5), 181-187.
- Grandbastien, M.A., 2003. Stress activation and genomic impact of plant retrotransposons. Journal de la Societe de Biologie, 198(4), 425-432.

- Grandbastien, M.A., 2004. Stress activation and genomic impact of plant retrotransposons. *Journal de la Societe de Biologie*, 198 (4), 425-432.
- Grandbastien, M.A., Tam, S.M., Mhiri, C., Vogelaar, A., Kerkveld, M. and Pearce, S.R., 2005. Comparative analyses of genetic diversities within tomato and pepper collections detected by retrotransposon-based SSAP, AFLP and SSR. *Theoretical and Applied Genetics*, 110(5), 819-831.
- Grattan, S.R. and Grieve, C.M., 1999. Salinity mineral nutrient relations in horticultural crops: a review. *Scientia Horticulturae* (Netherlands).
- Greenway, H. and Munns, R., 1980. Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. *Annual Review of Plant Physiology*, 31(1), 149-190.
- Guan, B., Yu, J., Chen, X., Xie, W. and Lu, Z., 2011, June. Effects of salt stress and nitrogen application on growth and ion accumulation of *Suaeda salsa* plants. In *Remote. Environment and Transportation Engineering*. 8268-8272.
- Gueta-Dahan, Y., Yaniv, Z., Zilinskas, B.A. and Ben-Hayyim, G., 1997. Salt and oxidative stress: similar and specific responses and their relation to salt tolerance in citrus. *Planta*, 203(4), 460-469.
- Gunes, A., Inal, A., Alpaslan, M., Cicek, N., Guneri, E., Eraslan, F. and Guzelordu, T., 2005. Effects of exogenously applied salicylic acid on the induction of multiple stress tolerance and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.) (Einfluss einer Salicylsäure– Applikation auf die Induktion von Stresstoleranz sowie Nährstoffaufnahme von Mais [*Zea mays* L.]). *Archives of Agronomy and Soil Science*, 51(6), 687-695.
- Hagan, C.R. and Rudin, C.M., 2002. Mobile Genetic Element Activation and Genotoxic Cancer Therapy. *American Journal of Pharmacogenomics*, 2(1), 25-35.
- Hagan, C.R., Sheffield, R.F. and Rudin, C.M., 2003. Human Alu element retrotransposition induced by genotoxic stress. *Nature Genetics*, 35(3).
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M., 1985. Free radicals in biology and medicine.
- Harfouche, A.L., Rugini, E., Mencarelli, F., Botondi, R. and Muleo, R., 2008. Salicylic acid induces H₂O₂ production and endochitinase gene expression but not ethylene biosynthesis in *Castanea sativa* in vitro model system. *Journal of Plant Physiology*, 165(7), 734-744.
- Harrison, B.J. and Fincham, J.R.S., 1964. Instability at the Pal locus in *Antirrhinum majus*. *Heredity*, 19, 237-258.
- Hasanuzzaman, M., Fujita, M., Islam, M.N., Ahamed, K.U. and Nahar, K., 2009. Performance of four irrigated rice varieties under different levels of salinity stress. *International Journal Integrative Biology*, 6(2), 85-90.
- Hasanuzzaman, M., Hossain, M.A. and Fujita, M., 2011. Nitric oxide modulates antioxidant defense and the methylglyoxal detoxification system and reduces salinity-induced damage of wheat seedlings. *Plant Biotechnology Reports*, 5(4), 353-365.
- Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Alam, M.M. and Fujita, M., 2012. Exogenous nitric oxide alleviates high temperature induced oxidative stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings by modulating the antioxidant defense and glyoxalase system. *Australian Journal of Crop Science*, 6(8), 1314.
- Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., Zhu, J.K. and Bohnert, H.J., 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Biology*, 51(1), 463-499.

- Hashida, S.N., Uchiyama, T., Martin, C., Kishima, Y., Sano, Y. and Mikami, T., 2006. The temperature-dependent change in methylation of the Antirrhinum transposon Tam3 is controlled by the activity of its transposase. *The Plant Cell*, 18(1), 104-118.
- Hayat, Q., Hayat, S., Irfan, M. and Ahmad, A., 2010. Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: a review. *Environmental and Experimental Botany*, 68(1), 14-25.
- Hirochika, H., 1993. Activation of tobacco retrotransposons during tissue culture. *The EMBO journal*, 12(6), 2521.
- Hirochika, H., 1995. Activation of retrotransposons by stress. *Plant and Cell physiology*, 36, S2.
- Hoagland, D.R. and Arnon, D.I., 1938. The water-culture method for growing plants without soil. *Univ. Calif. Coll. Agric. Exp. Sta. Circ. Berkeley, CA.*, 347-353.
- Hong, Y., Zhang, W. and Wang, X., 2010. Phospholipase D and phosphatidic acid signalling in plant response to drought and salinity. *Plant, Cell and Environment*, 33(4), 627-635.
- Hoque, M.A., Banu, M.N.A., Okuma, E., Amako, K., Nakamura, Y., Shimoishi, Y. and Murata, Y., 2007. Exogenous proline and glycinebetaine increase NaCl-induced ascorbate-glutathione cycle enzyme activities, and proline improves salt tolerance more than glycinebetaine in tobacco Bright Yellow-2 suspension-cultured cells. *Journal of Plant Physiology*, 164(11), 1457-1468.
- Horváth, E., Szalai, G. and Janda, T., 2007. Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. *Journal of Plant Growth Regulation*, 26(3), 290-300.
- Hossain, Z., Nouri, M.Z. and Komatsu, S., 2011. Plant cell organelle proteomics in response to abiotic stress. *Journal of Proteome Research*, 11(1), 37-48.
- Hu, Y. and Schmidhalter, U., 1997. Interactive effects of salinity and macronutrient level on wheat. II. Composition. *Journal of Plant Nutrition*, 20(9), 1169-1182.
- Hu, Y. and Schmidhalter, U., 2005. Drought and salinity: a comparison of their effects on mineral nutrition of plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 168(4), 541- 549.
- Huang, S., Li, R., Zhang, Z., Li, L., Gu, X., Fan, W. and Ren, Y., 2009. The genome of the cucumber, *Cucumis sativus* L. *Nature Genetics*, 41(12), 1275-1281.
- Hussain, S.S., Ali, M., Ahmad, M. and Siddique, K.H., 2011. Polyamines: natural and engineered abiotic and biotic stress tolerance in plants. *Biotechnology Advances*, 29(3), 300-311.
- Ibrar, M., Jabeen, M., Tabassum, J., Hussain, F. and Ilahi, I., 2003. Salt tolerance potential of *Brassica juncea* Linn. *Journal of Science and Technology (Peshawar)*, 27(1-2), 79-84.
- Ioannidis, N.E., Cruz, J.A., Kotzabasis, K. and Kramer, D.M., 2012. Evidence that putrescine modulates the higher plant photosynthetic proton circuit. *PloS one*, 7(1), e29864.
- Iqbal, M. and Ashraf, M., 2006, January. Wheat seed priming in relation to salt tolerance: growth, yield and levels of free salicylic acid and polyamines. In *Annales Botanici Fennici*. Finnish Zoological and Botanical Publishing Board. 250-259.

- Iqbal, M. and Ashraf, M., 2013. Salt tolerance and regulation of gas exchange and hormonal homeostasis by auxin-priming in wheat. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 48(9), 1210-1219.
- Iyengar, E.R.R. and Reddy, M.P., 1996. Photosynthesis in highly salt tolerant plants. *Handbook of photosynthesis*. Marshal Dekar, Baten Rose, USA, 909.
- Jabeen, M., Ibrar, M., Azim, F., Hussain, F. and Ilahi, I., 2003. The effect of sodium chloride salinity on germination and productivity of Mung bean (*Vigna mungo* L.). *Journal of Science and Technology (Pakistan)*. <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=PK2004000647> (24.12.2016).
- Jackson, J.P., Lindroth, A.M., Cao, X. and Jacobsen, S.E., 2002. Control of CpNpG DNA methylation by the Kryptonite histone H3 methyltransferase. *Nature*, 416(6880), 556-560.
- Jayakannan, M., Bose, J., Babourina, O., Rengel, Z. and Shabala, S., 2013. Salicylic acid improves salinity tolerance in Arabidopsis by restoring membrane potential and preventing salt-induced K⁺ loss via a GORK channel. *Journal of Experimental Botany*, ert085.
- Kalendar, R., Grob, T., Regina, M., Suoniemi, A. and Schulman, A., 1999. IRAP and REMAP: two new retrotransposon-based DNA fingerprinting techniques. *Theoretical and Applied Genetics*, 98(5), 704-711.
- Kalendar, R., Manninen, O., Robinson, J. and Schulman, A.H., 2000. Application of BARE-1 retrotransposon markers to the mapping of a major resistance gene for net blotch in barley. *Molecular and General Genetics MGG*, 264(3), 325-334.
- Kalendar, R., Antonius, K., Smýkal, P. and Schulman, A.H., 2010. iPBS: a universal method for DNA fingerprinting and retrotransposon isolation. *Theoretical and Applied Genetics*, 121(8), 1419-1430.
- Kalendar, R., Flavell, A.J., Ellis, T.H.N., Sjakste, T., Moisy, C. and Schulman, A.H., 2011. Analysis of plant diversity with retrotransposon-based molecular markers. *Heredity*, 106(4), 520-530.
- Kang, S.M., Khan, A.L., Hamayun, M., Shinwari, Z.K., Kim, Y.H., Joo, G.J. and Lee, I.J., 2012. *Acinetobacter calcoaceticus* ameliorated plant growth and influenced gibberellins and functional biochemicals. *Pakistan Journal of Botany*, 44(1), 365-372.
- Kang, G.Z., Li, G.Z., Liu, G.Q., Xu, W., Peng, X.Q., Wang, C.Y. and Guo, T.C., 2013. Exogenous salicylic acid enhances wheat drought tolerance by influence on the expression of genes related to ascorbate-glutathione cycle. *Biologia Plantarum*, 57(4), 718-724.
- Karan, R., DeLeon, T., Biradar, H. and Subudhi, P.K., 2012. Salt stress induced variation in DNA methylation pattern and its influence on gene expression in contrasting rice genotypes. *PloS one*, 7(6), e40203.
- Karaoğlu, M.M. and Kotancılar, H.G., 2001. Tahıl ürünlerinin sağlığımız açısından önemi. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 32(1), 101-108.
- Kashkush, K., Feldman, M. and Levy, A.A., 2002. Gene loss, silencing and activation in a newly synthesized wheat allotetraploid. *Genetics*, 160(4), 1651-1659.
- Kashkush, K., Feldman, M. and Levy, A.A., 2003. Transcriptional activation of retrotransposons alters the expression of adjacent genes in wheat. *Nature Genetics*, 33(1), 102-106.

- Katerji, N., Van Hoorn, J.W., Hamdy, A., Mastrorilli, M. and Karzel, E.M., 1997. Osmotic adjustment of sugar beets in response to soil salinity and its influence on stomatal conductance, growth and yield. *Agricultural Water Management*, 34(1), 57-69.
- Kaveh, H., Nemati, H., Farsi, M. and Jartoodeh, S.V., 2011. How salinity affect germination and emergence of tomato lines. *Journal of Biological and Environmental Sciences*, 5(15).
- Kaydan, D. ve Yağmur, M., 2006. Farklı Salisilik Asit Dozları ve Uygulama Şekillerinin Buğday (*Triticum aestivum* L.) ve Mercimekte (*Lens culinaris* Medik) Verim ve Verim Öğeleri Üzerine Etkileri. *Tarım Bilimleri Dergisi*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, 12(3), 285-293.
- Kaydan, D., Yagmur, M. and Okut, N., 2007. Effects of salicylic acid on the growth and some physiological characters in salt stressed wheat (*Triticum aestivum* L.). *Tarım Bilimleri Dergisi*, 13(2), 114-119.
- Kettlewell, P.S., Griffiths, M.W., Hocking, T.J. and Wallington, D.J., 1998. Dependence of wheat dough extensibility on flour sulphur and nitrogen concentrations and the influence of foliar-applied sulphur and nitrogen fertilisers. *Journal of Cereal Science*, 28(1), 15-23.
- Khan, M.A. and Rizvi, Y., 1994. Effect of salinity, temperature, and growth regulators on the germination and early seedling growth of *Atriplex griffithii* var. *stocksii*. *Canadian Journal of Botany*, 72(4), 475-479.
- Khan, M.A. and Weber, D.J., 2006. *Ecophysiology of high salinity tolerant plants* (Vol. 40). Springer Science and Business Media.
- Khan, M.A., Syeed, S., Masood, A., Nazar, R. and Iqbal, N., 2010. Application of salicylic acid increases contents of nutrients and antioxidative metabolism in mungbean and alleviates adverse effects of salinity stress. *International Journal of Plant Biology*, 1(1), 1.
- Khan, M.A., Iqbal, N., Masood, A., Per, T.S. and Khan, N.A., 2013. Salicylic acid alleviates adverse effects of heat stress on photosynthesis through changes in proline production and ethylene formation. *Plant Signaling and Behavior*, 8(11), e26374.
- Khatun, S. and Flowers, T.J., 1995. Effects of salinity on seed set in rice. *Plant, Cell and Environment*, 18(1), 61-67.
- Khodarahmpour, Z., Ifar, M. and Motamedi, M., 2012. Effects of NaCl salinity on maize (*Zea mays* L.) at germination and early seedling stage. *African Journal of Biotechnology*, 11(2), 298-304.
- Khodary, S.E.A., 2004. Effect of salicylic acid on the growth, photosynthesis and carbohydrate metabolism in salt-stressed maize plants. *International Journal of Agriculture and Biology*, 6(1), 5-8.
- Kızılaslan, H., 2004. Dünya’da ve Türkiye’de buğday üretimi ve uygulanan politikaların karşılaştırılması, GOÜ. Ziraat Fakültesi Dergisi, 21(2), 23-38.
- Kızılaslan, H. and Adiguzel, O., 2009. Economic analysis of agricultural enterprises in Turkey according to their level of success. *Scientia Agricola*, 66(2), 164-173.
- Kocaçalışkan, İ., 2005. *Bitki Fizyolojisi*, Bizim Büro Yayınevi.
- Kocayigit, A., Keles, H., Selek, S., Guzel, S., Celik, H. and Erel, O., 2005. Increased DNA damage and oxidative stress in patients with cutaneous leishmaniasis.

- Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 585(1), 71-78.
- Kreps, J.A., Wu, Y., Chang, H.S., Zhu, T., Wang, X. and Harper, J.F., 2002. Transcriptome changes for *Arabidopsis* in response to salt, osmotic and cold stress. *Plant Physiology*, 130(4), 2129-2141.
- Kuiper, P.J., Kuiper, D. and Schuit, J., 1988. Root functioning under stress conditions: an introduction. *Plant and Soil*, 111(2), 249-253.
- Kumar, A. and Bennetzen, J.L., 1999. Plant retrotransposons. *Annual Review of Genetics*, 33(1), 479-532.
- Kumar, S., Sehgal, S.K., Kumar, U., Prasad, P.V., Joshi, A.K. and Gill, B.S., 2012. Genomic characterization of drought tolerance-related traits in spring wheat. *Euphytica*, 186(1), 265-276.
- La, H., Ding, B., Mishra, G.P., Zhou, B., Yang, H., del Rosario Bellizzi, M. and Wang, G.L., 2011. A 5-methylcytosine DNA glycosylase/lyase demethylates the retrotransposon Tos17 and promotes its transposition in rice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(37), 15498-15503.
- Law, J.A. and Jacobsen, S.E., 2010. Establishing, maintaining and modifying DNA methylation patterns in plants and animals. *Nature Reviews Genetics*, 11(3), 204-220.
- Lee, S., Kim, S.G. and Park, C.M., 2010. Salicylic acid promotes seed germination under high salinity by modulating antioxidant activity in *Arabidopsis*. *New Phytologist*, 188(2), 626-637.
- Levitt, J., 1980. Responses of plants to environmental stresses. Volume II. Water, radiation, salt, and other stresses (No. Ed. 2). Academic Press.
- Li, G., Peng, X., Wei, L. and Kang, G., 2013. Salicylic acid increases the contents of glutathione and ascorbate and temporally regulates the related gene expression in salt-stressed wheat seedlings. *Gene*, 529(2), 321-325.
- Lippman, Z., May, B., Yordan, C., Singer, T. and Martienssen, R., 2003. Distinct mechanisms determine transposon inheritance and methylation via small interfering RNA and histone modification. *PLoS Biol*, 1(3), e67.
- Lisch, D., 2009. Epigenetic regulation of transposable elements in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 60, 43-66.
- Liu, Z.L., Han, F.P., Tan, M., Shan, X.H., Dong, Y.Z., Wang, X.Z. and Liu, B., 2004. Activation of a rice endogenous retrotransposon Tos17 in tissue culture is accompanied by cytosine demethylation and causes heritable alteration in methylation pattern of flanking genomic regions. *Theoretical and Applied Genetics*, 109(1), 200-209.
- Liu, C., Lu, F., Cui, X. and Cao, X., 2010. Histone methylation in higher plants. *Annual Review of Plant Biology*, 61, 395-420.
- Liu, G., Li, X., Jin, S., Liu, X., Zhu, L., Nie, Y. and Zhang, X., 2014. Overexpression of rice NAC gene SNAC1 improves drought and salt tolerance by enhancing root development and reducing transpiration rate in transgenic cotton. *PLoS One*, 9(1), e86895.
- Lombardi, T. and Lupi, B., 2006. Effect of salinity on the germination and growth of *Hordeum secalinum* Schreber (*Poaceae*) in relation to the seeds after-ripening time. *Atti Soc tosc Sci nat Mem Serie B*, 113, 37-42.

- Love, A.J., Milner, J.J. and Sadanandom, A., 2008. Timing is everything: regulatory overlap in plant cell death. *Trends in plant science*, 13(11), 589-595.
- Mahajan, S. and Tuteja, N., 2005. Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 444(2), 139-158.
- Malagnac, F., Bartee, L. and Bender, J., 2002. An *Arabidopsis* SET domain protein required for maintenance but not establishment of DNA methylation. *The EMBO Journal*, 21(24), 6842-6852.
- Mansour, A., 2007. Epigenetic activation of genomic retrotransposons. *Journal of Cell and Molecular Biology*, 6(2), 99-107.
- Mansour, A., 2008. Utilization of genomic retrotransposons as cladistic markers. *Journal of Cell and Molecular Biology*, 7, 17-28.
- Mansour, A., 2009. Water deficit induction of Copia and Gypsy genomic retrotransposons. *Plant Stress*, 3(1), 33-39.
- Marco, A. and Marín, I., 2005. Retrovirus-like elements in plants. *Recent Research Developments in Plant Science*, 3, 15-24.
- Marnett, L.J., Riggins, J.N. and West, J.D., 2003. Endogenous generation of reactive oxidants and electrophiles and their reactions with DNA and protein. *The Journal of Clinical Investigation*, 111(5), 583-593.
- Mass, E.V., 1986. Salt tolerance of plants. *Appl Agric Res* 1:12–26
- Matsuda, E. and Garfinkel, D.J., 2009. Posttranslational interference of Ty1 retrotransposition by antisense RNAs. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(37), 15657-15662.
- Maxwell, K. and Johnson, G.N., 2000. Chlorophyll fluorescence a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 51(345), 659-668.
- McClintock, B., 1948. Mutable loci in maize. *Carnegie Inst Wash Year Book*, 47, 155-169.
- Melayah, D., Bonnivard, E., Chalhoub, B., Audeon, C. and Grandbastien, M.A., 2001. The mobility of the tobacco Tnt1 retrotransposon correlates with its transcriptional activation by fungal factors. *The Plant Journal*, 28(2), 159-168.
- Miklos, G.L.G. and Rubin, G.M., 1996. The role of the genome project in determining gene function: insights from model organisms. *Cell*, 86(4), 521-529.
- Mirouze, M., Reinders, J., Bucher, E., Nishimura, T., Schneeberger, K., Ossowski, S. and Mathieu, O., 2009. Selective epigenetic control of retrotransposition in *Arabidopsis*. *Nature*, 461(7262), 427-430.
- Mirouze, M. and Paszkowski, J., 2011. Epigenetic contribution to stress adaptation in plants. *Current opinion in Plant Biology*, 14(3), 267-274.
- Mishra, A. and Choudhuri, M.A., 1999. Effects of salicylic acid on heavy metal-induced membrane deterioration mediated by lipoxygenase in rice. *Biologia Plantarum*, 42(3), 409-415.
- Mittler, R., 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7(9), 405-410.
- Mittova, V., Guy, M., Tal, M. and Volokita, M., 2004. Salinity up-regulates the antioxidative system in root mitochondria and peroxisomes of the wild salt-tolerant tomato species *Lycopersicon pennellii*. *Journal of Experimental Botany*, 55(399), 1105-1113.
- Miura, K. and Tada, Y., 2014. Regulation of water, salinity, and cold stress responses by salicylic acid. *Frontiers in plant science*, 5, 4.

- Moore, G., Abbo, S., Cheung, W., Foote, T., Gale, M., Koebner, R. And Yano, M., 1993. Key features of cereal genome organization as revealed by the use of cytosine methylation-sensitive restriction endonucleases. *Genomics*, 15(3), 472-482.
- Moud, A.M. and Maghsoudi, K., 2008. Salt stress effects on respiration and growth of germinated seeds of different wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. *World Journal of Agricultural Sciences*, 4(3), 351-358.
- Munns, R., 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment*, 25(2), 239-250.
- Munns, R., 2005. Genes and salt tolerance: bringing them together. *New phytologist*, 167(3), 645-663.
- Munns, R. and Tester, M., 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 651-681.
- Murashige, T. and Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473-497.
- Mutlu, F. and Bozcuk, S., 2007. Salinity-induced changes of free and bound polyamine levels in sunflower (*Helianthus annuus* L.) roots differing in salt tolerance. *Pakistan Journal of Botany*, 39(4), 1097.
- Nahar, K. and Hasanuzzaman, M., 2009. Germination, growth, nodulation and yield performance of three mungbean varieties under different levels of salinity stress. *Green Farming*, 2(12), 825-829.
- Nazar, R., Iqbal, N., Syeed, S. and Khan, N.A., 2011. Salicylic acid alleviates decreases in photosynthesis under salt stress by enhancing nitrogen and sulfur assimilation and antioxidant metabolism differentially in two mungbean cultivars. *Journal of Plant Physiology*, 168(8), 807-815.
- Neamatollahi, E., Bannayan, M., Ghanbari, A., Haydari, M. and Ahmadian, A., 2009. Does hydro and osmo-priming improve fennel (*Foeniculum vulgare*) seeds germination and seedlings growth?. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 37(2), 190.
- Nemli, S., Kianoosh, T. and Tanyolac, M.B., 2015. Genetic diversity and population structure of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) accessions through retrotransposon-based interprimer binding sites (iPBSs) markers. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 39(6), 940-948.
- Nia, S.H., Zarea, M.J., Rejali, F. and Varma, A., 2012. Yield and yield components of wheat as affected by salinity and inoculation with *Azospirillum* strains from saline or non- saline soil. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 11(2), 113-121.
- Niinemets, Ü. and Valladares, F., 2004. Photosynthetic acclimation to simultaneous and interacting environmental stresses along natural light gradients: optimality and constraints. *Plant Biology*, 6, 254-268.
- Noreen, S. and Ashraf, M., 2008. Alleviation of adverse effects of salt stress on sunflower (*Helianthus annuus* L.) by exogenous application of salicylic acid: growth and photosynthesis. *Pakistan Journal of Botany*, 40(4), 1657-1663.
- Nounjan, N., Nghia, P.T. and Theerakulpisut, P., 2012. Exogenous proline and trehalose promote recovery of rice seedlings from salt-stress and differentially modulate antioxidant enzymes and expression of related genes. *Journal of Plant Physiology*, 169(6), 596-604.

- Novikov, A., Smyshlyaev, G. and Novikova, O., 2012. Evolutionary history of LTR retrotransposon chromodomains in plants. *International Journal of Plant Genomics*, 2012.
- Oertli, J.J., 1991. Nutrient management under water and salinity stress. In *Proceeding of the symposium on nutrient management for sustained productivity*. Depart. Soils Punjab Agric. Unver. Ludhiana, India (pp. 138-165).
- Othman, Y., Al-Karaki, G., Al-Tawaha, A.R. and Al-Horani, A., 2006. Variation in germination and ion uptake in barley genotypes under salinity conditions. *World Journal of Agricultural Sciences*, 2(1), 11-15.
- Öncel, I. ve Keleş, Y., 2002. Tuz stresi altındaki buğday genotiplerinde büyüme, pigment içeriği ve çözünür madde kompozisyonunda değişimler. *Fen Bilimleri Dergisi*, 23(2).
- Özeker, E., 2005. Salisilik Asit ve Bitkiler Üzerindeki Etkileri. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 42(1).
- Pál, M., Szalai, G., Horváth, E., Janda, T. and Páldi, E., 2002. Effect of salicylic acid during heavy metal stress. *Acta Biologica Szegediensis*, 46(3-4), 119-120.
- Parida, A.K., Das, A.B. and Mohanty, P., 2004. Investigations on the antioxidative defence responses to NaCl stress in a mangrove, *Bruguiera parviflora*: differential regulations of isoforms of some antioxidative enzymes. *Plant Growth Regulation*, 42(3), 213-226.
- Parida, A.K. and Das, A.B., 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60(3), 324-349.
- Pastori, G.M. and Foyer, C.H., 2002. Common components, networks, and pathways of cross-tolerance to stress. The central role of “redox” and abscisic acid-mediated controls. *Plant Physiology*, 129(2), 460-468.
- Paux, E., Faure, S., Choulet, F., Roger, D., Gauthier, V., Martinant, J.P. and Cakir, M., 2010. Insertion site-based polymorphism markers open new perspectives for genome saturation and marker-assisted selection in wheat. *Plant Biotechnology Journal*, 8(2), 196-210.
- Pecinka, A., Dinh, H.Q., Baubec, T., Rosa, M., Lettner, N. and Scheid, O.M., 2010. Epigenetic regulation of repetitive elements is attenuated by prolonged heat stress in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 22(9), 3118-3129.
- Peng, H. and Zhang, J., 2009. Plant genomic DNA methylation in response to stresses: Potential applications and challenges in plant breeding. *Progress in Natural Science*, 19(9), 1037-1045.
- Peterson, C.J., Graybosch, R.A., Shelton, D.R. and Baenziger, P.S., 1998. Baking quality of hard winter wheat: Response of cultivars to environment in the Great Plains. *Euphytica*, 100(1-3), 157-162.
- Pettigrew, W.T. and Meredith, W.R., 1994. Leaf gas exchange parameters vary among cotton genotypes. *Crop Science*, 34(3), 700-705.
- Pitman, M.G., and Läuchli, A., 2002. Global impact of salinity and agricultural ecosystems. Springer Netherlands. In *Salinity: environment-plants-molecules* (pp. 3-20).
- Poczai, P., Varga, I., Laos, M., Cseh, A., Bell, N., Valkonen, J.P. and Hyvönen, J., 2013. Advances in plant gene-targeted and functional markers: a review. *Plant Methods*, 9(1), 1.

- Poór, P., Gémes, K., Horváth, F., Szepesi, A., Simon, M.L. and Tari, I., 2011. Salicylic acid treatment via the rooting medium interferes with stomatal response, CO₂ fixation rate and carbohydrate metabolism in tomato, and decreases harmful effects of subsequent salt stress. *Plant Biology*, 13(1), 105-114.
- Promila, K. and Kumar, S., 2000. *Vigna radiata* seed germination under salinity. *Biologia Plantarum*, 43(3), 423-426.
- Qadir, M. and Schubert, S., 2002. Degradation processes and nutrient constraints in sodic soils. *Land Degradation and Development*, 13(4), 275-294.
- Qados, A.S.A., 2009. Effect of Arginine on Growth, Yield and Chemical Constituents of Wheat Grown under Salinity Condition. *Nature*, 8, 30-42.
- Quan, L.J., Zhang, B., Shi, W.W. and Li, H.Y., 2008. Hydrogen peroxide in plants: a versatile molecule of the reactive oxygen species network. *Journal of Integrative Plant Biology*, 50(1), 2-18.
- Queen, R.A., Gribbon, B.M., James, C., Jack, P. and Flavell, A.J., 2004. Retrotransposon-based molecular markers for linkage and genetic diversity analysis in wheat. *Molecular Genetics and Genomics*, 271(1), 91-97.
- Rajjou, L., Belghazi, M., Huguet, R., Robin, C., Moreau, A., Job, C. and Job, D., 2006. Proteomic investigation of the effect of salicylic acid on *Arabidopsis* seed germination and establishment of early defense mechanisms. *Plant Physiology*, 141(3), 910-923.
- Rawia, A.E., Lobna, S.T. and Soad, M.I., 2011. Alleviation of Adverse Effects of Salinity on Growth, and Chemical Constituents of Marigold Plants by Using Glutathione and Ascorbate. *Journal of Applied Sciences Research*, 7(5):714-721.
- Reginato, M.A., Castagna, A., Furlán, A., Castro, S., Ranieri, A. and Luna, V., 2014. Physiological responses of a halophytic shrub to salt stress by Na₂SO₄ and NaCl: oxidative damage and the role of polyphenols in antioxidant protection. *AoB Plants*, 6, plu042.
- Reinders, J., Wulff, B.B., Mirouze, M., Mari-Ordóñez, A., Dapp, M., Rozhon, W. And Paszkowski, J., 2009. Compromised stability of DNA methylation and transposon immobilization in mosaic *Arabidopsis* epigenomes. *Genes and Development*, 23(8), 939-950.
- Rogers, M.E., Grieve, C.M. and Shannon, M.C., 2003. Plant growth and ion relations in lucerne (*Medicago sativa* L.) in response to the combined effects of NaCl and P. *Plant and Soil*, 253(1), 187-194.
- Romero-Aranda, R., Soria, T. and Cuartero, J., 2001. Tomato plant-water uptake and plant- water relationships under saline growth conditions. *Plant Science*, 160(2), 265-272.
- Roy, S., 2014. Maintenance of genome stability in plants: repairing DNA double strand breaks and chromatin structure stability. *Frontiers in Plant Science*, 5, 487.
- Roychoudhury, A., Basu, S. and Sengupta, D.N., 2011. Amelioration of salinity stress by exogenously applied spermidine or spermine in three varieties of indica rice differing in their level of salt tolerance. *Journal of Plant Physiology*, 168(4), 317-328.
- Rozeff, N., 1995. Sugarcane and salinity a review paper. *Sugar Cane* (United Kingdom).

- Sabot, F. and Schulman, A.H., 2006. Parasitism and the retrotransposon life cycle in plants: a hitchhiker's guide to the genome. *Heredity*, 97, 381-388.
- Saha, P., Mukherjee, A. and Biswas, A.K., 2015. Modulation of NaCl induced DNA damage and oxidative stress in mungbean by pretreatment with sublethal dose. *Biologia Plantarum*, 59(1), 139-146.
- Sairam, R.K., Rao, K.V. and Srivastava, G.C., 2002. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Science*, 163(5), 1037-1046.
- Salazar, M., González, E., Casaretto, J.A., Casacuberta, J.M. and Ruiz-Lara, S., 2007. The promoter of the TLC1. 1 retrotransposon from *Solanum chilense* is activated by multiple stress-related signaling molecules. *Plant Cell Reports*, 26(10), 1861-1868.
- Sawada, H., Shim, I.S. and Usui, K., 2006. Induction of benzoic acid 2-hydroxylase and salicylic acid biosynthesis—modulation by salt stress in rice seedlings. *Plant Science*, 171(2), 263-270.
- Sayar, R., Bchini, H., Mosbahi, M. and Khemira, H., 2010. Response of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) growth to salt and drought stresses. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 46(2), 54-63.
- Senaratna, T., Touchell, D., Bunn, E. and Dixon, K., 2000. Acetyl salicylic acid (Aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. *Plant Growth Regulation*, 30(2), 157-161.
- Sha, A.H., Lin, X.H., Huang, J.B. and Zhang, D.P., 2005. Analysis of DNA methylation related to rice adult plant resistance to bacterial blight based on methylation-sensitive AFLP (MSAP) analysis. *Molecular Genetics and Genomics*, 273(6), 484-490.
- Shakirova, F.M. and Bezrukova, M.V., 1997. Induction of Wheat Resistance against Environmental Salinization by Indolylacetic Acid. *Biology Bulletin-Russian Academy of Sciences C/C of Izvestia-Rossiiskoi Akademii Nauk Seriya Biologicheskaya*, 24, 109-112.
- Shakirova, F.M., Sakhabutdinova, A.R., Bezrukova, M.V., Fatkhutdinova, R.A. and Fatkhutdinova, D.R., 2003. Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity. *Plant Science*, 164(3), 317-322.
- Shamsi, K. and Kobraee, S., 2013. Biochemical and physiological responses of three wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) to salinity stress. *Annal of Biological Research*, 4(4), 180-185.
- Sheng, H., Zeng, J., Yan, F., Wang, X., Wang, Y., Kang, H. and Zhou, Y., 2015. Effect of exogenous salicylic acid on manganese toxicity, mineral nutrients translocation and antioxidative system in polish wheat (*Triticum polonicum* L.). *Acta Physiologiae Plantarum*, 37(2), 1-11.
- Shi, X., Seluanov, A. and Gorbunova, V., 2007. Cell divisions are required for L1 retrotransposition. *Molecular and Cellular Biology*, 27(4), 1264-1270.
- Shirasu, K., Nakajima, H., Rajasekhar, V.K., Dixon, R.A. and Lamb, C., 1997. Salicylic acid potentiates an agonist-dependent gain control that amplifies pathogen signals in the activation of defense mechanisms. *The Plant Cell*, 9(2), 261-270.
- Sıgırmaz, B., 2014. Tuzluluk stresinin buğdayda (*Triticum aestivum* L.) meydana getirmiş olduğu retrotranspozon polimorfizmi üzerine putresinin etkisinin belirlenmesi. Yüksek Lisans tezi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Erzurum

- Simmonds, J., 1989. Improved androgenesis of winter cultivars of *Triticum aestivum* L. in response to low temperature treatment of donor plants. *Plant Science*, 65(2), 225-231.
- Singh, A.K. and Dubey, R.S., 1995. Changes in chlorophyll a and b contents and activities of photosystems 1 and 2 in rice seedlings induced by NaCl. *Photosynthetica* (Czech Republic).
- Singh, B. and Usha, K., 2003. Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water stress. *Plant Growth Regulation*, 39(2), 137-141.
- Singh, P.K. and Gautam, S., 2013. Role of salicylic acid on physiological and biochemical mechanism of salinity stress tolerance in plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35(8), 2345-2353.
- Slotkin, R.K. and Martienssen, R., 2007. Transposable elements and the epigenetic regulation of the genome. *Nature Reviews Genetics*, 8(4), 272-285.
- Smith, G.P. and Gooding, M.J., 1999. Models of wheat grain quality considering climate, cultivar and nitrogen effects. *Agricultural and Forest Meteorology*, 94(3), 159-170.
- Snyman, M. and Cronjé, M.J., 2008. Modulation of heat shock factors accompanies salicylic acid-mediated potentiation of Hsp70 in tomato seedlings. *Journal of Experimental Botany*, 59(8), 2125-2132.
- Soppe, W.J., Jacobsen, S.E., Alonso-Blanco, C., Jackson, J.P., Kakutani, T., Koornneef, M. and Peeters, A.J., 2000. The late flowering phenotype of fwa mutants is caused by gain-of-function epigenetic alleles of a homeodomain gene. *Molecular cell*, 6(4), 791-802.
- Sripinyowanich, S., Klomsakul, P., Boonburapong, B., Bangyeekhun, T., Asami, T., Gu, H. and Chadchawan, S., 2013. Exogenous ABA induces salt tolerance in indica rice (*Oryza sativa* L.): the role of OsP5CS1 and OsP5CR gene expression during salt stress. *Environmental and Experimental Botany*, 86, 94-105.
- Steward, N., Kusano, T. and Sano, H., 2000. Expression of ZmMET1, a gene encoding a DNA methyltransferase from maize, is associated not only with DNA replication in actively proliferating cells, but also with altered DNA methylation status in cold-stressed quiescent cells. *Nucleic Acids Research*, 28(17), 3250-3259.
- Sudhir, P. and Murthy, S.D.S., 2004. Effects of salt stress on basic processes of photosynthesis. *Photosynthetica*, 42(2), 481-486.
- Sultana, S., Khew, C.Y., Morshed, M.M., Namasivayam, P., Napis, S. and Ho, C.L., 2012. Overexpression of monodehydroascorbate reductase from a mangrove plant (AeMDHAR) confers salt tolerance on rice. *Journal of Plant Physiology*, 169(3), 311-318.
- Süzer, S., 2004. Buğday hasadının önemi. *Hasad Bitkisel Üretim Dergisi*, 289, 17-25.
- Syed, S., Anjum, N.A., Nazar, R., Iqbal, N., Masood, A. and Khan, N.A., 2011. Salicylic acid-mediated changes in photosynthesis, nutrients content and antioxidant metabolism in two mustard (*Brassica juncea* L.) cultivars differing in salt tolerance. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33(3), 877-886.
- Şenay, A., Kaya, M.D., Atak, M. and Çiftçi, C.Y., 2005. Farklı Tuz Konsantrasyonlarının Bazı Eekmeklik Buğday Çeşitlerinin Çimlenme ve Fide

- Gelişimi Üzerine Etkileri. Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi, 14(1-2).
- Tahir, M.A., Aziz, T., Farooq, M. and Sarwar, G., 2012. Silicon-induced changes in growth, ionic composition, water relations, chlorophyll contents and membrane permeability in two salt-stressed wheat genotypes. Archives of Agronomy and Soil Science, 58(3), 247-256.
- Talbert, L.E., Smith, L.Y. and Blake, N.K., 1998. More than one origin of hexaploid wheat is indicated by sequence comparison of low-copy DNA. Genome, 41(3), 402-407.
- Tan, M.P., 2010. Analysis of DNA methylation of maize in response to osmotic and salt stress based on methylation-sensitive amplified polymorphism. Plant Physiology and Biochemistry, 48(1), 21-26.
- Tanou, G., Molassiotis, A. and Diamantidis, G., 2009. Hydrogen peroxide-and nitric oxide-induced systemic antioxidant prime-like activity under NaCl-stress and stress-free conditions in citrus plants. Journal of Plant Physiology, 166(17), 1904-1913.
- Tariq, M. and Paszkowski, J., 2004. DNA and histone methylation in plants. Trends in Genetics, 20(6), 244-251.
- Tavakkoli, E., Rengasamy, P. and McDonald, G.K., 2010. High concentrations of Na⁺ and Cl⁻ ions in soil solution have simultaneous detrimental effects on growth of faba bean under salinity stress. Journal of Experimental Botany, 61(15), 4449-4459.
- Tayyar, Ş., 2005. Biga koşullarında yetiştirilen farklı ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.) çeşit ve hatlarının verim ve bazı kalite özelliklerinin saptanması. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 18(3), 405-409.
- Tester, M. and Bacic, A., 2005. Abiotic stress tolerance in grasses. From model plants to crop plants. Plant Physiology, 137(3), 791-793.
- Tittel-Elmer, M., Bucher, E., Broger, L., Mathieu, O., Paszkowski, J. and Vaillant, I., 2010. Stress-induced activation of heterochromatic transcription. PLoS Genetics, 6(10), 1001-1175.
- Tohma, Ö., 2007. The effect of salicylic acid treatment on salt stress resistance in strawberry. <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=TR2011000477> (21.12.2016)
- Tufail, A., Arfan, M., Gurmani, A.R. and Bano, A., 2013. Salicylic acid induced salinity tolerance in maize (*Zea mays*). Pakistan Journal of Botany, 45(S1), 75-82.
- Turki, N., Harrabi, M. and Okuno, K., 2012. Effect of salinity on grain yield and quality of wheat and genetic relationships among durum and common wheat. J. Arid Land Studies, 22(1), 311-314.
- TÜİK, 2015. Bitkisel Üretim İstatistikleri. <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=8470>.
- Ulfat, M., Athar, H.R., Ashraf, M., Akram, N.A. and Jamil, A., 2007. Appraisal of physiological and biochemical selection criteria for evaluation of salt tolerance in canola (*Brassica napus* L.). Pakistan Journal of Botany, 39(5): 1593-1608.
- Valinluck, V., Tsai, H.H., Rogstad, D.K., Burdzy, A., Bird, A. and Sowers, L.C., 2004. Oxidative damage to methyl-CpG sequences inhibits the binding of the methyl-CpG binding domain (MBD) of methyl-CpG binding protein 2 (MeCP2). Nucleic Acids Research, 32(14), 4100-4108.

- Vicente, Rivas-San, M. and Plasencia, J., 2011. Salicylic acid beyond defence: its role in plant growth and development. *Journal of Experimental Botany*, 62(10), 3321-3338.
- Vicient, C.M., Kalendar, R., Ananthawat-Jónsson, K., Suoniemi, A. and Schulman, A.H., 2000. Structure, functionality, and evolution of the BARE-1 retrotransposon of barley. In *Transposable Elements and Genome Evolution* (pp. 53-63). Springer Netherlands.
- Vinocur, B. and Altman, A., 2005. Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievements and limitations. *Current Opinion in Biotechnology*, 16(2), 123-132.
- Voytas, D.F., Cumming, M.P., Konieczny, A.K., Ausubel, F.M. and Rodermel, S.R., 1992. *Copia*-like retrotransposons are ubiquitous among plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89(15), 7124-7128.
- Wada, Y., Miyamoto, K., Kusano, T. and Sano, H., 2004. Association between up-regulation of stress-responsive genes and hypomethylation of genomic DNA in tobacco plants. *Molecular Genetics and Genomics*, 271(6), 658-666.
- Wahid, A. and Rasul, E., 1997. Identification of salt tolerance traits in sugarcane lines. *Field Crops Research*, 54(1), 9-17.
- Wang, X., 2005. Regulatory functions of phospholipase D and phosphatidic acid in plant growth, development and stress responses. *Plant Physiology*, 139(2), 566-573.
- Wang, X., Li, W., Li, M. and Welti, R., 2006. Profiling lipid changes in plant response to low temperatures. *Physiologia Plantarum*, 126(1), 90-96.
- Wicker, T., Sabot, F., Hua-Van, A., Bennetzen, J.L., Capy, P., Chalhoub, B. and Paux, E., 2007. A unified classification system for eukaryotic transposable elements. *Nature Reviews Genetics*, 8(12), 973-982.
- Woodrow, P., Pontecorvo, G., Fantaccione, S., Fuggi, A., Kafantaris, I., Parisi, D. and Carillo, P., 2010. Polymorphism of a new Ty1-copia retrotransposon in durum wheat under salt and light stresses. *Theoretical and Applied Genetics*, 121(2), 311-322.
- Xu, D., Duan, X., Wang, B., Hong, B., Ho, T.H.D. and Wu, R., 1996. Expression of a late embryogenesis abundant protein gene, HVA1, from barley confers tolerance to water deficit and salt stress in transgenic rice. *Plant physiology*, 110(1), 249-257.
- Xu, F.J., Jin, C.W., Liu, W.J., Zhang, Y.S. and Lin, X.Y., 2011. Pretreatment with H₂O₂ Alleviates Aluminum-induced Oxidative Stress in Wheat Seedlings. *Journal of Integrative Plant Biology*, 53(1), 44-53.
- Yağcı, S., 2015. Tuzluluk stresinin buğdayda (*Triticum aestivum* L.) meydana getirmiş olduğu retrotranspozon polimorfizmi üzerine β -östradiol'ün etkisinin belirlenmesi. Yüksek lisans tezi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Erzurum
- Yağdı, K. and Karan, S., 2000. Hybrid vigor in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 24(2), 231-236.
- Yaprak, M., 2015. Bazı sentetik oksinlerin buğdayda (*Triticum aestivum* L.) meydana getirmiş olduğu retrotranspozon polimorfizminin belirlenmesi. Yüksek lisans tezi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Erzurum

- Yildiz, K., Yasar, F. and Ellialtioglu, S., 2008. Effect of salt stress on antioxidant defense systems, lipid peroxidation, and chlorophyll content in green bean. *Russian Journal of Plant Physiology*, 55(6), 782-786.
- Yılmaz, E., Tuna, A.L. and Bürün, B., 2011. Bitki Tuz Stresi Etkilerine Karşı Geliştirdikleri Çeşitli Tolerans Stratejileri. *Celal Bayar University Journal of Science*, 7(1).
- Yokoi, S., Bressan, R.A. and Hasegawa, P.M., 2002. Salt stress tolerance of plants. *Jircas wWorking Report*, 23(01), 25-33.
- Yoon, J.Y., Hamayun, M., Lee, S.K. and Lee, I.J., 2009. Methyl jasmonate alleviated salinity stress in soybean. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 12(2), 63-68.
- Yupsains, T., Moustakas, M., Eleftheriou, P. and Damianidou, K., 1994. Protein phosphorylation-dephosphorylation in alfalfa seeds germinating under salt stress. *Journal of Plant Physiology*, 143(2), 234-240.
- Yusuf, M., Fariduddin, Q., Varshney, P. and Ahmad, A., 2012. Salicylic acid minimizes nickel and/or salinity-induced toxicity in Indian mustard (*Brassica juncea*) through an improved antioxidant system. *Environmental Science and Pollution Research*, 19(1), 8-18.
- Zemach, A., McDaniel, I.E., Silva, P. and Zilberman, D., 2010. Genome-wide evolutionary analysis of eukaryotic DNA methylation. *Science*, 328(5980), 916-919.
- Zhang, H., Niu, X., Liu, J., Xiao, F., Cao, S. and Liu, Y., 2013. RNAi-directed downregulation of vacuolar H⁺-ATPase subunit A results in enhanced stomatal aperture and density in rice. *PloS One*, 8(7), e69046 (1-18).
- Zheng, Y., Xu, X., Simmons, M., Zhang, C., Gao, F. and Li, Z., 2010. Responses of physiological parameters, grain yield, and grain quality to foliar application of potassium nitrate in two contrasting winter wheat cultivars under salinity stress. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 173(3), 444-452.
- Zhu, Z., Wei, G., Li, J., Qian, Q. and Yu, J., 2004. Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Plant Science*, 167(3), 527-533.

ÖZGEÇMİŞ

2009 yılında Iğdır Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Anabilim Dalı'nda lisans eğitimine başladı. 2013 yılında Ziraat Mühendisi ünvanı ile mezun oldu. Aynı yıl Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Anabilim Dalı Tahıllar ve Yemelik Baklagiller Bilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı.

