

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BÜTÜNLEŞTİRİLMİŞ YÜKSEK LİSANS/DOKTORA TEZİ

**SOĞUK, KURAKLIK VE TUZ GİBİ ABİYOTİK STRES KOŞULLARI
ALTINDAKİ DOMATES BİTKİSİNDE (*Lycopersicum esculentum* L.)
SÜPEROKSİD DİSMUTAZ (SOD) GEN EKPREZYON PROFİLİNİN REAL
TİME PCR ARACILIĞI İLE ARAŞTIRILMASI**

Semra SOYDAM AYDIN

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**Ankara
2011**

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Semra SOYDAM AYDIN tarafından hazırlanan “Soğuk, kuraklık ve tuz gibi abiyotik stres koşulları altındaki domates bitkisinde (*Lycopersicum esculentum* L.) süperoksid dismutaz (SOD) gen ekspresyon profilinin real time PCR aracılığı ile araştırılması” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı’nda **BÜTÜNLEŞTİRİLMİŞ YÜKSEK LİSANS/DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. E. Sümer ARAS

Jüri Üyeleri :
Başkan : Prof. Dr. Mustafa AKÇELİK
Ankara Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Hüseyin Avni ÖKTEM
Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü

Üye : Prof. Dr. Nur Münevver PINAR
Ankara Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Ali ERGÜL
Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü

Üye :Doç. Dr. Sümer ARAS
Ankara Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr.Orhan ATAKOL

Enstitü Müdürü

ÖZET

Bütünleştirilmiş Yüksek Lisans / Doktora Tezi

SOĞUK, KURAKLIK VE TUZ GİBİ ABİYOTİK STRES KOŞULLARI ALTINDAKİ DOMATES BİTKİSİNDE (*Lycopersicum esculentum* L.) SÜPEROKSİD DİSMUTAZ (SOD) GEN EKPRESYON PROFİLİNİN REAL TİME PCR ARACILIĞI İLE ARAŞTIRILMASI

Semra SOYDAM AYDIN

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. E. Sümer ARAS

Bu çalışmada Falcon çeşidi *Lycopersicum esculentum* Mill. (domates) tohumları 25 gün süre ile çimlendirilmiş, 100mM ve 150 mM NaCl, NaCl ile eş osmotik basınçları oluşturacak şekilde kuraklık stresi ve soğuk stresi uygulanmıştır. Tuz ve kuraklık stresi uygulamalarında 0., 3., 6., 9., 12., 24., 48. saatlerde örnek alımı yapılırken, soğuk stresi örnekleri 0., 2., 4., 6., 8., 10. günlerde alınmıştır. Alınan örneklerde süperoksit dismutaz (SOD) gen ekspresyon seviyesindeki farklılıklar incelenmiştir. Çalışma sonucunda tüm stres uygulamalarının SOD gen ekspresyon profili üzerinde etkili olduğu görülmüştür.

Tuz stresleri aynı osmotik basınca sahip kuraklık streslerine göre antioksidant savunma mekanizmasını geç uyarmıştır. Genel olarak tüm stres uygulamalarında SOD gen ekspresyon seviyesi önce azalmış ve ardından stres ile dereceli olarak artmıştır. Bitki stres ile başa çıkamayacak seviyeye geldiğinde ise ekspresyon seviyesi yeniden düşmüştür. 8. günde elde edilen soğuk stresine ait gen ekspresyon verisinin (0,387) tüm stres koşulları arasında karşılaşılan en düşük seviye olduğu görülmüştür. Soğuk stresi uygulamasının 10. gününde ekspresyon seviyesinde görülen artışlar ise, muhtemelen tüm uygulamalarda görülen dereceli bir artışın başlangıcıdır. Sonuç olarak; kuraklık, tuz ve soğuk stresleri *Lycopersicum esculentum* Mill. (domates) bitkisinde SOD gen ifadesini farklı düzeylerde etkilemiş ancak benzer ifade profilleri oluşturmuşlardır. Bu durum tuz, kuraklık ve soğukun aynı yolağı aktive ederek savunma geliştirdikleri hipotezini destekler niteliktedir.

Şubat 2011, 188 sayfa

Anahtar kelimeler: Abiotik stres, süperoksit dismutaz (SOD), Real Time PCR

ABSTRACT

Bütünleştirilmiş Yüksek Lisans / Doktora Tezi

INVESTIGATION OF SUPEROXIDE DISMUTASE (SOD) GENE EXPRESSION PROFILES IN TOMATO (*Lycopersicum esculentum* L.) UNDER ABIOTIC STRESS CONDITIONS SUCH AS COLD, DROUGHT AND SALT BY REAL TIME PCR

Semra SOYDAM AYDIN

Ankara University
Graduate Scholl of Natural and Applied Science
Department of Biology

Süpervisor: Assoc. Prof. Dr. E. Sümer ARAS

In this study; Falcon type *Lycopersicum esculentum* Mill. (tomato) seedlings were germinated for 25 days, 100 mM and 150 mM NaCl, drought stress which had same osmotic pressure with NaCl and cold stresses were applied. While samples were collected at 0., 3., 6., 9., 12., 24., 48. hours in salt and drought treatments, cold stress samples were collected at 0., 2., 4., 6., 8., 10. days. Differences in superoxide dismutase (SOD) gene expression profiles were investigated in the collected samples. Results showed that; all stress applications are effective on gene expression profile of SOD.

Salt stresses were alerted antioxidant defense mechanism later than drought stress which had same osmotic pressure. Generally, SOD gene expression level was declined at first and then gradually recovered. When the plant has reached a level that could not be coped with stress, the expression level was again declined. It was shown that; the gene expression data obtained on 8th day (0,387) of cold stress is the lowest level among all stress conditions. Increases in gene expression level at 10th day of cold stress might be the beginning of a graduall recovery shown in all stress applications. As a result; drought, salt and cold stress affected SOD gene expression in different levels but generated similar expression profilesin *Lycopersicum esculentum* Mill. (tomato) plant. This circumstance is consistent with the hypothesis of dorught, salt and cold stress developped defence by activating the same patway.

Şubat, 2011, 188 pages

Key Words: Abiotic stress, superoxide dismutase (SOD), Real Time PCR

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımı yönlendiren, araştırmalarımın her aşamasında bilgi, öneri ve yardımlarını esirgemeyerek akademik ortamda olduğu kadar beşeri ilişkilerde de engin fikirleriyle yetiştirme ve gelişmeye katkıda bulunan değerli danışmanım sayın Doç. Dr. E. Sümer ARAS'a (Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü), hem tez hem de tez dışı bilimsel çalışmalarımın her aşamasında yardımcı olan sayın Prof. Dr. Ali ERGÜL'e (Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Merkez Laboratuvarı), çalışmalarım sırasında önemli katkılarda bulunan sayın Doç. Dr. İrfan KANDEMİR (Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü) ve çeşitli projeler kapsamında birlikte çalıştığım Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Merkez Laboratuvarı Bitki Biyoteknolojisi Ekibinden ve Ankara Üniversitesi Bitki Moleküler Biyolojisi Laboratuvarından çok değerli arkadaşlarıma, çalışmalarım süresince birçok fedakârlıklar göstererek beni destekleyen sevgili aileme özellikle annem Bahar SOYDAM, ablam Hülya SOYDAM ve sevgili eşim Aykut AYDIN'a en derin duygularla teşekkür ederim.

Bu tez çalışması için “Gen ekspresyon profilleri belirlenmiş domates bitkilerinde, sağlıklı ve bazı kanserli dokularda süperoksit radikallerinin tayini için jelatin-karboksimetil sellüloz-süperoksit dismutaz biyosensörünün geliştirilmesi” başlık ve 108T131 proje numarası ile kısmi destekte bulunan Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK)'a teşekkür ederim.

Semra SOYDAM AYDIN

Ankara, Şubat 2011

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xvi
1 GİRİŞ	1
1. 1 Domates Bitkisinin Botanik Özellikleri	2
1.1.1 Kök.....	2
1.1.2 Gövde	2
1.1.3 Yaprak	2
1.1.4 Çiçek ve Meyve	3
1.1.5 Tohum	3
1.1.6 İklim İstekleri	4
1.2 Domates Bitkisinin Sınıflandırılması.....	4
1.3 Domates Bitkisinin Dünya ve Türkiye’deki Üretimi	7
1.4 Bitkilerde Abiotik Stres Faktörleri.....	9
1.4.1 Tuzluluk stresi	10
1.4.2 Kuraklık stresi	11
1.4.3 Soğuk stresi	11
1.5 Bitkilerin Stres Faktörlerine Karşı Verdikleri Cevaplar	12
2 KAYNAK ÖZETLERİ	17
3 MATERYAL VE YÖNTEM	26
3.1 Deney Materyalinin Eldesi.....	26
3.2 Besi Ortamının Hazırlanması.....	26
3.3 Stres Uygulamaları.....	27
3.3.1 100 mM tuz stresi.....	27
3.3.2 150 mM tuz stresi.....	27
3.3.3 100 mM tuz stresine eş PEG stresi.....	28
3.3.4 150 mM tuz stresine eş PEG stresi.....	28
3.3.5 Soğuk stresi	29

3.4 RNA İzolasyonu.....	30
3.5 RNA Pürifikasyon (Saflaştırma) Yöntemi	30
3.6 cDNA (Komplementer DNA) Sentezi	30
3.7 Real-time PCR Uygulaması	32
3.8 İstatistiksel Analizler.....	35
4 BULGULAR.....	36
4.1 Stres Uygulamaları.....	36
4.2 RNA İzolasyonu.....	45
4.3 cDNA Sentezi.....	45
4.4 Real-time PCR uygulaması.....	48
4.4.1 100 mM tuz stresi.....	51
4.4.1.1 İstatistiksel analizler.....	67
4.4.2 150 mM tuz stresi.....	75
4.4.2.1 İstatistiksel analizler.....	91
4.4.3 100 mM tuz stresine eş PEG stresi.....	99
4.4.3.1 İstatistiksel analizler.....	115
4.4.4 150 mM tuz stresine eş PEG stresi.....	123
4.4.4.1 İstatistiksel analizler.....	139
4.4.5 Soğuk stresi.....	147
4.4.5.1 İstatistiksel analizler.....	161
5 TARTIŞMA VE SONUÇ	168
KAYNAKLAR	177
ÖZGEÇMİŞ	185

SİMGELER DİZİNİ

°C	Santigrad
M	Molar
Mm	Milimolar
μM	Mikromolar
μl	Mikrolitre
G	Gram
dH ₂ O	Distile su
L	Litre
UV	Ultraviyole
CO ₂	Karbondioksit
Cl ⁻	Klor
ABA	Absisik asit
IPP	İzopentenil difosfat
FeEDTA	Demir Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
DEPC	Dietil pyrokarnonat
NCED	9' –epoksikarotenoid dioksigenaz
NADP ⁺	Nikotin amid di nükleotid fosfat
PSI	Fotosistem I
Ca ⁺²	Kalsiyum
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
OH	Hidroksil
O ₂	Oksijen
ROT	Reaktif oksijen türlerinin
ROO ⁻	Peroksil radikali
HOCI	Hipokloröz asit
NO ⁻	Nitrik oksit
ONOO ⁻	Peroksinitrit anyonu
POD	Peroksidaz
APX	Askorbat peroksidaz
GR	Glutasyon redüktaz
PPO	Polifenol Oksidaz
CAT	Katalaz
SOD	Süperoksit dismutaz
Mn-SOD	Mangan Süperoksit dismutaz
Cu/Zn SOD	Bakır/Çinko Süperoksit dismutaz
Fe SOD	Demir Süperoksit dismutaz
SA	Salisilik Asit
SSH	Eksiltici baskı hibridizasyonu
PAGE	poliakrilamid jel elektroforezi
MV	Metil Viologen
K	Potasyum
Na	Sodyum
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
K ₂ SO ₄	Potasyum Sülfat
KH ₂ PO ₄	Potasyum Hidrojen Fosfat
MgSO ₄ .7H ₂ O	Magnezyum Sülfat
Ca (NO ₃) ₂ . 4H ₂ O	Kalsiyum Nitrit

KCl	Potasyum Klorür
H ₃ BO ₃	Borik Asit
MnSO ₄	Mangan Sülfat
CuSO ₄ .5H ₂ O	Bakır Sülfat
NH ₄ Mo	Amonyum Molibdat
ZnSO ₄ .7H ₂ O	Çinko Sülfat
NaCl	Sodyum Klorür
PEG	Polietilen Glikol
RNA	Ribonükleik Asit
EtOH	Etil Alkol
cDNA	Tamamlayıcı DNA
A	Adenin
G	Guanin
C	Sitozin
T	Timin

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 Şekillerine göre başlıca domates tipleri	5
Şekil 1.2 Dünya domates yetiştiriciliğinde Türkiye'nin yeri	7
Şekil 1.3 Abiyotik stres koşullarında antioksidant enzim aktivitesinin uyarılmasında ABA, Ca ²⁺ ve H ₂ O ₂ 'in rolü	13
Şekil 3.1 Bitki iklim ve büyütme odası	26
Şekil 3.2 Veisacor marka Vapro (Vapor Pressure Osmometer) 5520 cihazı, standartları... ve kullanımı	28
Şekil 3.3 Real Time PCR (Light Cycler 480) cihaz ve ekipmanları	34
Şekil 4.1 100 mM NaCl stresi kontrol bitkisinin görüntüsü	36
Şekil 4.2 100 mM NaCl stresi 3. saat bitkisinin görüntüsü	36
Şekil 4.3 100 mM NaCl stresi 6. saat bitkisinin görüntüsü	36
Şekil 4.4 100 mM NaCl stresi 9. saat bitkisinin görüntüsü	36
Şekil 4.5 100 mM NaCl stresi 12. saat bitkisinin görüntüsü	37
Şekil 4.6 100 mM NaCl stresi 24. saat bitkisinin görüntüsü	37
Şekil 4.7 100 mM NaCl stresi 48. saat bitkisinin görüntüsü	37
Şekil 4.8 150 mM NaCl stresi kontrol bitkisinin görüntüsü	38
Şekil 4.9 150 mM NaCl stresi 3. saat bitkisinin görüntüsü	38
Şekil 4.10 150 mM NaCl stresi 6. saat bitkisinin görüntüsü	38
Şekil 4.11 150 mM NaCl stresi 9. saat bitkisinin görüntüsü	38
Şekil 4.12 150 mM NaCl stresi 12. saat bitkisinin görüntüsü	39
Şekil 4.13 150 mM NaCl stresi 24. saat bitkisinin görüntüsü	39
Şekil 4.14 150 mM NaCl stresi 48. saat bitkisinin görüntüsü	39
Şekil 4.15 100 mM Tuz stresine eş PEG stresi kontrol bitkisinin görüntüsü	40
Şekil 4.16 100 mM Tuz stresine eş PEG stresi 3. saat bitkisinin görüntüsü	40
Şekil 4.17 100 mM Tuz stresine eş PEG stresi 6. saat bitkisinin görüntüsü	40
Şekil 4.18 100 mM Tuz stresine eş PEG stresi 9. saat bitkisinin görüntüsü	40
Şekil 4.19 100 mM Tuz stresine eş PEG stresi 12. saat bitkisinin görüntüsü	41
Şekil 4.20 100 mM Tuz stresine eş PEG stresi 24. saat bitkisinin görüntüsü	41
Şekil 4.21 100 mM Tuz stresine eş PEG stresi 48. saat bitkisinin görüntüsü	41
Şekil 4.22 150 mM Tuz stresine eş PEG stresi kontrol bitkisinin görüntüsü	42
Şekil 4.23 150 mM Tuz stresine eş PEG stresi 3. saat bitkisinin görüntüsü	42

Şekil 4.24 150 mM Tuz stresine eş PEG stresi 6. saat bitkisinin görüntüsü.....	42
Şekil 4.25 150 mM Tuz stresine eş PEG stresi 9. saat bitkisinin görüntüsü.....	42
Şekil 4.26 150 mM Tuz stresine eş PEG stresi 12. saat bitkisinin görüntüsü.....	43
Şekil 4.27 150 mM Tuz stresine eş PEG stresi 24. saat bitkisinin görüntüsü.....	43
Şekil 4.28 150 mM Tuz stresine eş PEG stresi 48. saat bitkisinin görüntüsü.....	43
Şekil 4.29 Soğuk stresi kontrol bitkisinin görüntüsü	44
Şekil 4.30 Soğuk stresi 2. gün bitkisinin görüntüsü.....	44
Şekil 4.31 Soğuk stresi 4. gün bitkisinin görüntüsü.....	44
Şekil 4.32 Soğuk stresi 6. gün bitkisinin görüntüsü.....	44
Şekil 4.33 Soğuk stresi 8. gün bitkisinin görüntüsü.....	45
Şekil 4.34 Soğuk stresi 10. gün bitkisinin görüntüsü.....	45
Şekil 4.35 İzole edilen RNA'lara ait örnek agaroz jel görüntüsü	45
Şekil 4.36 Süperoksid Dismutase (SOD) standart eğri grafiği oluşturmak üzere	
PCR'ı yapılan cDNA seri dilüsyonları pik görüntüsü	49
Şekil 4.37 Real- time PCR cihazından alınan Süperoksid Dismutaz	
(SOD) standart eğri grafiği görüntüsü	49
Şekil 4.38 Actin (ACT) standart eğri grafiği oluşturmak üzere PCR'ı yapılan	
cDNA seri dilüsyonları pik görüntüsü	50
Şekil 4.39 Real- time PCR cihazından alınan Actin(ACT) standart eğri grafiği	
görüntüsü.....	51
Şekil 4.40 100 mM NaCl stresi, kontrol bitkisi SOD real time PCR pik profili.....	52
Şekil 4.41 100 mM NaCl stresi, kontrol bitkisi SOD real time PCR pik profili	
2. uygulama.....	52
Şekil 4.42 100 mM NaCl stresi, 3 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili	53
Şekil 4.43 100 mM NaCl stresi, 3 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili	
2. uygulama	53
Şekil 4.44 100 mM NaCl stresi, 6 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili	54
Şekil 4.45 100 mM NaCl stresi, 6 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili	
2. uygulama	54
Şekil 4.46 100 mM NaCl stresi, 9 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili	55
Şekil 4.47 100 mM NaCl stresi, 9 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili	
2. uygulama	55
Şekil 4.48 100 mM tuz stresi, 12 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili.....	56

Şekil 4.49 100 mM NaCl stresi, 12 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili	
2. uygulama	56
Şekil 4.50 100 mM NaCl stresi, 24 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili	57
Şekil 4.51 100 mM NaCl stresi, 24 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili	
2. uygulama	57
Şekil 4.52 100 mM NaCl stresi, 48 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili	58
Şekil 4.53 100 mM NaCl stresi, 48 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili	
2. uygulama	58
Şekil 4.54 100 mM NaCl stresi, kontrol bitkisi ACT real time PCR pik profili	60
Şekil 4.55 100 mM NaCl stresi, kontrol bitkisi ACT real time PCR pik profili	
2. uygulama	60
Şekil 4.56 100 mM NaCl stresi, 3 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili	61
Şekil 4.57 100 mM NaCl stresi, 3 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili	
2. uygulama	61
Şekil 4.58 100 mM NaCl stresi, 6 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili	62
Şekil 4.59 100 mM NaCl stresi, 6 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili	
2. uygulama	62
Şekil 4.60 100 mM NaCl stresi, 9 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili	63
Şekil 4.61 100 mM NaCl stresi, 9 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili	
2. uygulama	63
Şekil 4.62 100 mM tuz stresi, 12 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili	64
Şekil 4.63 100 mM NaCl stresi, 12 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili	
2. uygulama	64
Şekil 4.64 100 mM NaCl stresi, 24 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili	65
Şekil 4.65 100 mM NaCl stresi, 24 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili	
2. uygulama	65
Şekil 4.66 100 mM NaCl stresi, 48 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili	66
Şekil 4.67 100 mM NaCl stresi, 48 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili	
2. uygulama	66
Şekil 4.68 100 mM NaCl stresi, zamana bağlı gen ekspresyon seviyesi	70
Şekil 4.69 150 mM NaCl stresi, kontrol bitkisi SOD real time PCR pik profili	76
Şekil 4.70 150 mM NaCl stresi, kontrol bitkisi SOD real time PCR pik profili	
2. uygulama	76

Şekil 4.71 150 mM NaCl stresi, 3 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili	77
Şekil 4.72 150 mM NaCl stresi, 3 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili	
2. uygulama	77
Şekil 4.73 150 mM NaCl stresi, 6 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili	78
Şekil 4.74 150 mM NaCl stresi, 6 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili	
2. uygulama	78
Şekil 4.75 150 mM NaCl stresi, 9 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili	79
Şekil 4.76 150 mM NaCl stresi, 9 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili	
2. uygulama	79
Şekil 4.77 150 mM tuz stresi, 12 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili.....	80
Şekil 4.78 150 mM NaCl stresi, 12 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili	
2. uygulama	80
Şekil 4.79 150 mM NaCl stresi,24 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili	81
Şekil 4.80 150 mM NaCl stresi, 24 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili	
2. uygulama	81
Şekil 4.81 150 mM NaCl stresi, 48 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili	82
Şekil 4.82 150 mM NaCl stresi, 48 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili	
2. uygulama	82
Şekil 4.83 150 mM NaCl stresi, kontrol bitkisi ACT real time PCR pik profili.....	84
Şekil 4.84 150 mM NaCl stresi, kontrol bitkisi ACT real time PCR pik profili	
2. uygulama	84
Şekil 4.85 150 mM NaCl stresi, 3 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili	85
Şekil 4.86 150 mM NaCl stresi, 3 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili	
2. uygulama	85
Şekil 4.87 150 mM NaCl stresi, 6 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili	86
Şekil 4.88 150 mM NaCl stresi, 6 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili	
2. uygulama	86
Şekil 4.89 150 mM NaCl stresi, 9 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili	87
Şekil 4.90 150 mM NaCl stresi, 9 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili	
2. uygulama	87
Şekil 4.91 150 mM tuz stresi, 12 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili.....	88
Şekil 4.92 150 mM NaCl stresi, 12 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili	
2. uygulama	88

Şekil 4.93 150 mM NaCl stresi, 24 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili.....	89
Şekil 4.94 150 mM NaCl stresi, 24 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili	
2. uygulama.....	89
Şekil 4.95 150 mM NaCl stresi, 48 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili.....	90
Şekil. 4.96 150 mM NaCl stresi, 48 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili.....	
2. uygulama.....	90
Şekil 4.97 150 mM NaCl stresi, zamana bağlı gen ekspresyon seviyesi	94
Şekil 4.98 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, kontrol bitkisi SOD	
real time PCR pik profili	100
Şekil 4.99 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, kontrol bitkisi SOD	
real time PCR pik profili 2. uygulama	100
Şekil 4.100 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 3 saat bitkisi SOD.....	
real time PCR pik profili	101
Şekil 4.101 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 3 saat bitkisi SOD.....	
real time PCR pik profili 2. uygulama	101
Şekil 4.102 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 6 saat bitkisi SOD.....	
real time PCR pik profili	102
Şekil 4.103 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 6 saat bitkisi SOD.....	
real time PCR pik profili 2. uygulama	102
Şekil 4.104 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 9 saat bitkisi SOD.....	
real time PCR pik	103
Şekil 4.105 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 9 saat bitkisi SOD	
real time PCR pik profili 2. uygulama	103
Şekil 4.106 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 12 saat bitkisi SOD	
real time PCR pik profili	104
Şekil 4.107 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 12 saat bitkisi SOD.....	
real time PCR pik profili 2. uygulama	104
Şekil 4.108 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi,24 saat bitkisi SOD.....	
real time PCR pik profili	105
Şekil 4.109 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 24 saat bitkisi SOD	
real time PCR pik profili 2. uygulama	105
Şekil 4.110 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 48 saat bitkisi SOD.....	
real time PCR pik profili	106

Şekil 4.111 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 48 saat bitkisi SOD.....	
real time PCR pik profili 2. uygulama	106
Şekil 4.112 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, kontrol bitkisi ACT	
real time PCR pik profili	108
Şekil 4.113 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, kontrol bitkisi ACT	
real time PCR pik profili 2. uygulama	108
Şekil 4.114 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 3 saat bitkisi ACT	
real time PCR pik profili	109
Şekil 4.115 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 3 saat bitkisi ACT.....	
real time PCR pik profili 2. uygulama	109
Şekil 4.116 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 6 saat bitkisi ACT	
real time PCR pik profili	110
Şekil 4.117 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 6 saat bitkisi ACT	
real time PCR pik profili 2. uygulama	110
Şekil 4.118 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 9 saat bitkisi ACT	
real time PCR pik profili	111
Şekil 4.119 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 9 saat bitkisi ACT	
real time PCR pik profili 2. uygulama	111
Şekil 4.120 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 12 saat bitkisi ACT.....	
real time PCR pik profili	112
Şekil 4.121 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 12 saat bitkisi ACT	
real time PCR pik profili 2. uygulama	112
Şekil 4.122 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi,24 saat bitkisi ACT	
real time PCR pik profili	113
Şekil 4.123 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 24 saat bitkisi ACT	
real time PCR pik profili 2. uygulama	113
Şekil 4.124 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 48 saat bitkisi ACT	
real time PCR pik profili	114
Şekil 4.125 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 48 saat bitkisi ACT	
real time PCR pik profili 2. uygulama	114
Şekil 4.126 100 mM Tuz Stresi ile eş PEG stresi, zamana bağlı gen	
ekspresyon seviyesi	118
Şekil 4.127 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, kontrol bitkisi SOD	

real time PCR pik profili	124
Şekil 4.128 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, kontrol bitkisi SOD	
real time PCR pik profili 2. uygulama	124
Şekil 4.129 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 3 saat bitkisi SOD	
real time PCR pik profili	125
Şekil 4.130 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 3 saat bitkisi SOD.....	
real time PCR pik profili 2. uygulama	125
Şekil 4.131 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 6 saat bitkisi SOD.....	
real time PCR pik profili	126
Şekil 4.132 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 6 saat bitkisi SOD.....	
real time PCR pik profili 2. uygulama	126
Şekil 4.133 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 9 saat bitkisi SOD.....	
real time PCR pik profili	127
Şekil 4.134 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 9 saat bitkisi SOD.....	
real time PCR pik profili 2. uygulama	127
Şekil 4.135 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 12 saat bitkisi SOD.....	
real time PCR pik profili	128
Şekil 4.136 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 12 saat bitkisi SOD.....	
real time PCR pik profili 2. uygulama	128
Şekil 4.137 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi,24 saat bitkisi SOD.....	
real time PCR pik profili	129
Şekil 4.138 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 24 saat bitkisi SOD.....	
real time PCR pik profili 2. uygulama	129
Şekil 4.139 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 48 saat bitkisi SOD.....	
real time PCR pik profili	130
Şekil 4.140 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 48 saat bitkisi SOD	
real time PCR pik profili 2. uygulama	130
Şekil 4.141 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, kontrol bitkisi ACT	
real time PCR pik profili	132
Şekil 4.142 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, kontrol bitkisi ACT	
real time PCR pik profili 2. uygulama	132
Şekil 4.143 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 3 saat bitkisi ACT.....	
real time PCR pik profili	133

Şekil 4.144 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 3 saat bitkisi ACT.....	
real time PCR pik profili 2. uygulama	133
Şekil 4.145 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 6 saat bitkisi ACT.....	
real time PCR pik profili	134
Şekil 4.146 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 6 saat bitkisi ACT.....	
real time PCR pik profili 2. uygulama	134
Şekil 4.147 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 9 saat bitkisi ACT.....	
real time PCR pik profili	135
Şekil 4.148 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 9 saat bitkisi ACT	
real time PCR pik profili 2. uygulama	135
Şekil 4.149 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 12 saat bitkisi ACT	
real time PCR pik profili	136
Şekil 4.150 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 12 saat bitkisi ACT	
real time PCR pik profili 2. uygulama	136
Şekil 4.151 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi,24 saat bitkisi ACT	
real time PCR pik profili	137
Şekil 4.152 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 24 saat bitkisi ACT.....	
real time PCR pik profili 2. uygulama	137
Şekil 4.153 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 48 saat bitkisi ACT.....	
real time PCR pik profili	138
Şekil 4.154 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 48 saat bitkisi ACT.....	
real time PCR pik profili 2. uygulama	138
Şekil 4.155 150 mM Tuz Stresi ile eş PEG stresi, zamana bağlı gen ekspresyon	
seviyesi.....	142
Şekil 4.156 Soğuk Stresi, kontrol bitkisi SOD real time PCR pik profili.....	148
Şekil 4.157 Soğuk Stresi, kontrol bitkisi SOD real time PCR pik profili.....	
2. uygulama	148
Şekil 4.158 Soğuk Stresi, 2 g bitkisi SOD real time PCR pik profili	149
Şekil 4.159 Soğuk Stresi, 2 g bitkisi SOD real time PCR pik profili 2. uygulama.....	149
Şekil 4.160 Soğuk Stresi, 4 g bitkisi SOD real time PCR pik profili	150
Şekil 4.161 Soğuk Stresi, 4 g bitkisi SOD real time PCR pik profili 2. uygulama.....	150
Şekil 4.162 Soğuk Stresi, 6 g bitkisi SOD real time PCR pik profili	151
Şekil 4.163 Soğuk Stresi, 6 g bitkisi SOD real time PCR pik profili 2. uygulama.....	151

Şekil 4.164 Soğuk Stresi, 8 g bitkisi SOD real time PCR pik profili	152
Şekil 4.165 Soğuk Stresi, 8 g bitkisi SOD real time PCR pik profili 2. uygulama.....	152
Şekil 4.166 Soğuk Stresi, 10 g bitkisi SOD real time PCR pik profili	153
Şekil 4.167 Soğuk Stresi, 10 g bitkisi SOD real time PCR pik profili 2. uygulama....	153
Şekil 4.168 Soğuk Stresi, kontrol bitkisi ACT real time PCR pik profili.....	155
Şekil 4.169 Soğuk Stresi, kontrol bitkisi ACT real time PCR pik profili.....	
2. uygulama	155
Şekil 4.170 Soğuk Stresi, 2 g bitkisi ACT real time PCR pik profili	156
Şekil 4.171 Soğuk Stresi, 2 g bitkisi ACT real time PCR pik profili 2. uygulama.....	156
Şekil 4.172 Soğuk Stresi, 4 g bitkisi ACT real time PCR pik profili	157
Şekil 4.173 Soğuk Stresi, 4 g bitkisi ACT real time PCR pik profili 2. uygulama.....	157
Şekil 4.174 Soğuk Stresi, 6 g bitkisi ACT real time PCR pik profili	158
Şekil 4.175 Soğuk Stresi, 6 g bitkisi ACT real time PCR pik profili 2. uygulama.....	158
Şekil 4.176 Soğuk Stresi, 8 g bitkisi ACT real time PCR pik profili	159
Şekil 4.177 Soğuk Stresi, 8 g bitkisi ACT real time PCR pik profili 2. uygulama.....	159
Şekil 4.178 Soğuk Stresi, 10 g bitkisi ACT real time PCR pik profili	160
Şekil 4.179 Soğuk Stresi, 10 g bitkisi ACT real time PCR pik profili 2. uygulama...	160
Şekil 4.180 Soğuk stresi, zamana bağlı gen ekspresyon seviyesi	164

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1 Morfolojik özelliklerine ve büyüme şekillerine göre domates tipleri	5
Çizelge 1.1 Morfolojik özelliklerine ve büyüme şekillerine göre.....	
domates tipleri (devam)	6
Çizelge 1.2 Türkiye’de iller bazında domates yetiştiriciliği	7
Çizelge 1.2 Devam. Türkiye’de iller bazında domates yetiştiriciliği.....	8
Çizelge 1.2 Devam. Türkiye’de iller bazında domates yetiştiriciliği.....	9
Çizelge 1.3 Aktif oksijen türler lokasyonları ve enzimatik temizlenme sistemleri	15
Çizelge 3.1 Stres uygulaması sonucu alınan örnek isimleri.....	29
Çizelge 3.2 Primer ve Prob Dizileri	33
Çizelge 4.1 Sentezlenen cDNA’lara ait saflık ve miktar tayinleri	46
Çizelge 4.1 Sentezlenen cDNA’lara ait saflık ve miktar tayinleri(devam).....	47
Çizelge 4.1 Sentezlenen cDNA’lara ait saflık ve miktar tayinleri (devam).....	48
Çizelge 4.2 100 mM Tuz Stresi altında geliştirilmiş örneklerde SOD	
(Süperoksid Dismutaz) gen ekspresyon verileri	59
Çizelge 4.3 100 mM Tuz Stresi altında geliştirilmiş örneklerde ACT	
(Aktin) gen ekspresyon verileri	67
Çizelge 4.4 100 mM Tuz stresi, SOD (Süperoksid dismutaz) normalize	
gen ekspresyon verileri	68
Çizelge 4.4 100 mM Tuz stresi, SOD(Süperoksid dismutaz) normalize	
gen ekspresyon verileri (devam)	69
Çizelge 4.5 100 mM Tuz Stresi altında geliştirilmiş örneklerde ortalama, ...	
standart sapma ve standart hata verileri	70
Çizelge 4.6 100 mM Tuz Stresi One Way ANOVA.....	
(Tek Yönlü Varyans Analizi) Verileri	71
Çizelge 4.7 100 mM Tuz stresi (Post Hoc Test Multiple Comparisons	
Dependent Variable: Expression Dunnett T3)	72
Çizelge 4.7 100 mM Tuz stresi (Post Hoc Test Multiple Comparisons	
Dependent Variable: Expression Dunnett T3) (devam).....	73
Çizelge 4.7 100 mM Tuz stresi (Post Hoc Test Multiple Comparisons	
Dependent Variable: Expression Dunnett T3) (devam).....	74
Çizelge 4.8 100 mM Tuz stresi (Post Hoc Test Multiple Comparisons	

Dependent Variable: Expression Dunnett T3) Değerlendirmesi	75
Çizelge 4.9 150 mM Tuz Stresi altında geliştirilmiş örneklerde SOD	
(Süperoksid Dismutaz) gen ekspresyon verileri	83
Çizelge 4.10 150 mM Tuz Stresi altında geliştirilmiş örneklerde ACT	
(Aktin) gen ekspresyon verileri	91
Çizelge 4.11 150 mM Tuz stresi, SOD(Süperoksid dismutaz) normalize	
gen ekspresyon verileri	92
Çizelge 4.11 150 mM Tuz stresi, SOD(Süperoksid dismutaz) normalize	
gen ekspresyon verileri (devam)	93
Çizelge 4.12 150 mM Tuz Stresi altında geliştirilmiş örneklerde ortalama, ...	
standart sapma ve standart hata verileri	94
Çizelge 4.13 150 mM Tuz Stresi One Way ANOVA	
(Tek Yönlü Varyans Analizi) Verileri	95
Çizelge 4.14 150 mM Tuz stresi (Post Hoc Test Multiple Comparisons	
Dependent Variable: Expression Dunnett T3)	96
Çizelge 4.14 150 mM Tuz stresi (Post Hoc Test Multiple Comparisons	
Dependent Variable: Expression Dunnett T3) (devam).....	97
Çizelge 4.14 150 mM Tuz stresi (Post Hoc Test Multiple Comparisons	
Dependent Variable: Expression Dunnett T3) (devam).....	98
Çizelge 4.15 150 mM Tuz stresi (Post Hoc Test Multiple Comparisons	
Dependent Variable: Expression Dunnett T3) Değerlendirmesi	99
Çizelge 4.16 100 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi	
altında geliştirilmiş örneklerde SOD (Süperoksid dismutaz)	
gen ekspresyon verileri	107
Çizelge 4.17. 100 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi.....	
altında geliştirilmiş örneklerde ACT (Aktin) gen ekspresyon verileri .	115
Çizelge 4.18. 100 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi.....	
altında geliştirilmiş örneklerde, SOD(Süperoksid dismutaz)	
normalize gen ekspresyon verileri	116
Çizelge 4.18 100 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi.....	
altında geliştirilmiş örneklerde, SOD(Süperoksid dismutaz).....	
normalize gen ekspresyon verileri (devam)	117

Çizelge 4.19. 100 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi.....	
altında geliştirilmiş örneklerde ortalama, standart sapma ve	
standart hata verileri	117
Çizelge 4.19 100 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi.....	
altında geliştirilmiş örneklerde ortalama, standart sapma ve	
standart hata verileri (devam).....	118
Çizelge 4.20 100 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi.....	
altında geliştirilmiş örneklerde One Way ANOVA	
(Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	119
Çizelge 4.21. 100 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi.....	
altında geliştirilmiş örneklerde Post Hoc Test Multiple	
Comparisons Dependent Variable: Expression Dunnett T3 verileri.....	120
Çizelge 4.21 100 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında	
geliştirilmiş örneklerde Post Hoc Test Multiple Comparisons	
Dependent Variable: Expression Dunnett T3 verileri (devam).....	121
Çizelge 4.21 100 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında	
geliştirilmiş örneklerde Post Hoc Test Multiple Comparisons	
Dependent Variable: Expression Dunnett T3 verileri (devam).....	122
Çizelge 4.22 100 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında	
geliştirilmiş örneklerde Post Hoc Test Multiple Comparisons	
Dependent Variable: Expression, Dunnett T3 Değerlendirmesi.....	123
Çizelge 4.23 150 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında	
geliştirilmiş örneklerde SOD (Süperoksit dismutaz) gen.....	
ekspresyon verileri	131
Çizelge 4.24 150 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında	
geliştirilmiş örneklerde ACT (Aktin) gen ekspresyon verileri	139
Çizelge 4.25 150 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında	
geliştirilmiş örneklerde, SOD(Süperoksit dismutaz) normalize gen.....	
ekspresyon verileri	140
Çizelge 4.25 150 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında	
geliştirilmiş örneklerde, SOD(Süperoksit dismutaz) normalize gen.....	
ekspresyon verileri	141

Çizelge 4.26 150 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında	
geliştirilmiş örneklerde ortalama, standart sapma ve standart hata.....	
verileri	141
Çizelge 4.26 150 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında	
geliştirilmiş örneklerde ortalama, standart sapma ve standart hata.....	
verileri	142
Çizelge 4.27 150 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında	
geliştirilmiş örneklerde One Way ANOVA.....	
(Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	143
Çizelge 4.28 150 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında	
geliştirilmiş örneklerde Post Hoc Test Multiple Comparisons	
Dependent Variable: Expression Dunnett T3 verileri.....	144
Çizelge 4.28 150 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında	
geliştirilmiş örneklerde Post Hoc Test Multiple Comparisons	
Dependent Variable: Expression Dunnett T3 verileri.....	145
Çizelge 4.28 150 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında	
geliştirilmiş örneklerde Post Hoc Test Multiple Comparisons	
Dependent Variable: Expression Dunnett T3 verileri.....	146
Çizelge 4.29 150 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında	
geliştirilmiş örneklerde Post Hoc Test Multiple Comparisons	
Dependent Variable: Expression, Dunnett T3 Değerlendirmesi.....	147
Çizelge 4.30 Soğuk Stresi altında geliştirilmiş örneklerde SOD	
(Süperoksid Dismutaz) gen ekspresyon verileri	154
Çizelge 4.31 Soğuk Stresi altında geliştirilmiş örneklerde ACT (Aktin)	
gen ekspresyon verileri	161
Çizelge 4.32 Soğuk Stresi, ACT(Süperoksid dismutaz) normalize gen	
ekspresyon verileri	162
Çizelge 4.32 Soğuk Stresi, ACT(Süperoksid dismutaz) normalize gen	
ekspresyon verileri ekspresyon verileri.....	163
Çizelge 4.33 Soğuk stresi altında geliştirilmiş örneklerde ortalama,.....	
standart sapma ve standart hata verileri	163
Çizelge 4.34 Soğuk stresi altında geliştirilmiş örneklerde One Way ANOVA	

(Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	164
Çizelge 4.35 Soğuk stresi altında geliştirilmiş örneklerde Post Hoc Test Multiple	
Comparisons Dependent Variable: Expression Dunnett T3 verileri.....	165
Çizelge 4.35 Soğuk stresi altında geliştirilmiş örneklerde Post Hoc Test Multiple.....	
Comparisons Dependent Variable: Expression Dunnett T3	
verileri (devam).....	166
Çizelge 4.36. Soğuk stresi altında geliştirilmiş örneklerde Post Hoc Test Multiple	
Comparisons Dependent Variable: Expression,.....	
Dunnett T3 Değerlendirme	167

1 GİRİŞ

Domates (*Lycopersicum esculentum* Mill, *Solanum lycopersicum* L., *Lycopersicum lycopersicum* Karst) Angiospermae (kapalı tohumlular) kısmının, Dicotyledone (çift çenekliler) sınıfının Sympetale (bitişik taç yapraklılar) alt sınıfının farklı görüşlere göre Tubiflora veya Personatae takımının Solanaceae (Patlıcangiller) familyasının Lycopersicon cinsinin önemli bir türü olup, ana vatanı Orta ve Güney Amerika olan tek yıllık bir kültür bitkisidir (Badga 1954, Lubban 1959). Amerikanın K. Kolomb tarafından keşfinden önce yerliler tarafından besin olarak değerlendirilen domates, Meksikalı kızıl derililer tarafından "tomati" olarak da isimlendirilmekteydi. Aşk meyvesi olarak da adlandırılan domatesin Dilligen 1956'ya göre Almanya'da 1700'lü yıllarda süs bitkisi olarak yetiştirilmekte ve zehirli olduğu düşünülen meyveleri nedeniyle yiyenlerin kara sevdaya tutulacakları sanılmaktadır. Oysa yine aynı yıllarda domates meyvesi İngiltere, İtalya, Macaristan ve Avustralya gibi ülkelerde besin olarak tüketilmektedir. 1950'li yıllarda Avrupa'ya getirilmesinin ardından besin değeri anlaşılmış ve Almanya ve Fransa'da Tomate, İngiltere'de Tomato, İtalya'da Pomodoro, Rusya'da Pomidor isimleri ile yetiştiriciliği yapılmıştır (Günay 1992).

Oroman 1968 ve Bayraktar 1970'e göre domates ülkemize 1800'lü yılların sonunda Adana'ya getirilişi ile girmiş ve "Frenk Patlıcanı" olarak adlandırılmış, tüketilmesinin günah olduğu gerekçesi ile kabul görmemiştir. Ancak daha sonra Hacı Derviş Ağa adında bir kişinin Mısır'a gidip bu bölgede de tüketildiğini görmesinin ve bir fetva almasının ardından kültür bitkisi olarak yetiştirilmeye başlanmış ve tüketilmiştir. Ayrıca domatesin Osmanlı İmparatorluğu döneminde İstanbul'a getirildiği bu tarihten beri de Marmara bölgesinde yetiştirildiği de varsayımlar arasındadır.

1. 1 Domates Bitkisinin Botanik Özellikleri

1.1.1 Kök

Radikula (kök taslağı) büyüyerek bitkide kazık kök sistemini meydana getirir. Kazık kökün boyuna büyümesi, genç bitkicik iki üç yapraklı hale gelinceye kadar devam eder. Aynı dönemlerde kök boğazına yakın olan kısımlardan yan kök oluşumu başlar. Yetiştiricilikte kazık kök büyümesi şaşırtma işlemi ile durdurulur ve yan köklerin büyümesi teşvik edilir. Hem kazık hem de yan kökler oldukça geç dallanırlar ki oluşan bu yeni kökler saçak kök görünümündedir. Saçak kökler zamanla irileşir ve ana köklere benzer bir görünüme sahip olur. Domates gövdesinin toprakla temas ettiği bölgelerde de köklenme meydana gelebilir (Günay 1992).

1.1.2 Gövde

Domates gövdesi otsu bir yapıya sahiptir, fide devresinde yuvarlak şekillidir ve tüylerle kaplıdır. Fide olgunlaştıkça gövde odunlaşır aynı zamanda köşeli bir hal alır. Gövdelerin otsu yapıya sahip olması, kök boğazı kısmının zayıflığı, meyve ağırlığının taşınamaması ve kök sisteminin gövdeyi destekleyecek yapıda olmaması nedenleriyle dik büyüme gerçekleşemez. Gövdede çok sayıda ve kuvvetli dallanma görülür. Domates gövdesi belirgin olmayan nod (boğum) ve internodlardan (boğum araları) oluşur. Bitkinin boyu, çeşidine ve yetiştirme koşullarına göre değişebilmektedir. Domates boyu yer veya sırik çeşidi oluşuna göre 50- 200 cm arasında değişebilmektedir. Uygun yetiştirme koşulları altında 200 cm'den boylu sırik domates çeşitlerine rastlanmaktadır (Şeniz 1992).

1.1.3 Yaprak

Bileşik tipteki yaprakları meydana getiren loplara ve rozet yaprakların şekillenışı, büyüklük, dilimlilik ve dişlilik durumları domates çeşitlerine göre farklılık gösterir.

Kotiledon yapraklar ise düz ince oval yapıda ve dişsiz üstleri ise tüylerle kaplıdır (Günay 1981).

1.1.4 Çiçek ve Meyve

Domates çiçekleri salkım şeklindedir ve salkımlar basit veya çift dallanma gösterebilirler. Çiçek salkımları hem gövde hem de yan dallar üzerinde ana yaprakların aralarında çeşit karakterine göre 2–4 yaprakta bir ve çoğunlukla üst yaprağa yakın yerlerde meydana gelir. Domateste ilk çiçek salkımının oluşumu çoğunlukla ilk 6-8 boğumdan sonra meydana gelir. Domates çiçeklerinde Solanaceae familyasının özelliği olan 5 taç ve çanak yaprak, 5 erkek ve 1 dişi organ bulunur. Çiçek salkımlarında bulunan çiçek aynı zamanda meyve sayısı çeşitlere göre değişir. Ancak çoğunlukla 5–7 arasındadır (Günay 1981, Şeniz 1992).

Meyveler üzüksü yapıdadır. Başlangıçta yeşil renklidir ve bu devrede zehirli bir alkaloid olan solanin içerir. Olgunlaştıktan sonra çeşide göre farklı renklerde olabilir. Meyve irileşip normal büyüklüğüne ulaştınca yeşil renk açılır ve karotinoitler likopen'e dönüşerek meyve gerçek rengini alır. Meyveler çoğunlukla iki karpelden oluşmakla birlikte karpel sayısının 9'a kadar ulaşabildiği de görülmektedir. Ağırlık yine 1–1000 g arasında değişmektedir (Şeniz 1992).

1.1.5 Tohum

Meyvede tohum sayısı ile karpel sayısı arasında doğru bir orantı mevcuttur. Tohum sayısı arttıkça karpel sayısı da artar. Bitkide oluşan ilk meyvelerin daha iri olması nedeniyle bu meyvelerde tohumlar da daha iri ve dolgundur. Tepe sürgününe doğru beslenme azaldığından tohum küçülür aynı zamanda ağırlıkları da azalır. Basık böbrek şeklindeki tohumların rengi beyazımtırak-kül ve üzeri tüylüdür. Tüylülük özelliği ile aynı familyada yer aldığı biber tohumlarından kolayca ayırt edilebilir. Tohumlar 2–4 cm uzunluk ve genişliğinde ve 0,5- 1 mm kalınlığındadır (Şeniz 1984).

1.1.6 İklim İstekleri

Domates ılıman ve sıcak iklim sebzesidir. Normal bir gelişim gösterebilmesi için en uygun sıcaklık 15–20 °C'dir. 14 °C'nin altındaki sıcaklıklarda bitki meyve bağlamaz, olgunlaşma gecikir ve verim azalır. Sebzenin en az altı saat doğrudan güneş ışığı alan yerlerde yetiştirilmesi uygundur. Bol ürün verebilmesi için nisbeten uzun bir yetiştirme dönemi geçirmesi gerekir (Mac Gallivary 1961, Splittstoesser 1979, Krug 1986). Işık yoğunluğunun domates meyvelerinde askorbik asit miktarı üzerinde doğrudan etkisi söz konusudur. Bu bilgi ile uyumlu olarak örtü altında yetiştirilen domateslerde, açıkta yetiştirilenlere oranla çok daha az askorbik asit olduğu belirlenmiştir (Bayraktar 1970). Toprak yönünden incelendiğinde bitki kozmopolittir. Kumlu topraklardan hafif killi topraklara kadar hemen hemen her toprak tipinde yetişebilir. Hafif ağır topraklarda verim yüksektir. Bu nedenle bitki derin, su tutma özelliği iyi, geçirgen, humus ve besin maddelerinde zengin tınlı toprakları sever. Yetiştiricilikte bol ürün eldesi önemli olduğundan tınlı, killi-tınlı, milli tınlı topraklar tercih edilmektedir. Toprak asitliğine karşı oldukça dayanıklıdır. pH 5.0- 7.0 arasında olan topraklarda en iyi gelişir. Domates derin köklü bir sebze olmasına rağmen, ağır bünyeli topraklarda saçaklı olan kökleri yüzeye yakın kalarak bitkinin su ihtiyacını karşılamaya çalışır ve bu koşullarda iyi gelişim için sık sulama gereklidir (Şeniz 1992).

1.2 Domates Bitkisinin Sınıflandırılması

Domatesler; dilimlilik durumlarına göre gruplara, şekillerine göre tiplere, morfolojik özelliklerine ve büyüme şekillerine göre çeşitlere, kalite özelliklerine göre sınıflara ve iriliklerine göre boylara ayrılır.

Dilimlilik durumlarına göre domates grupları;

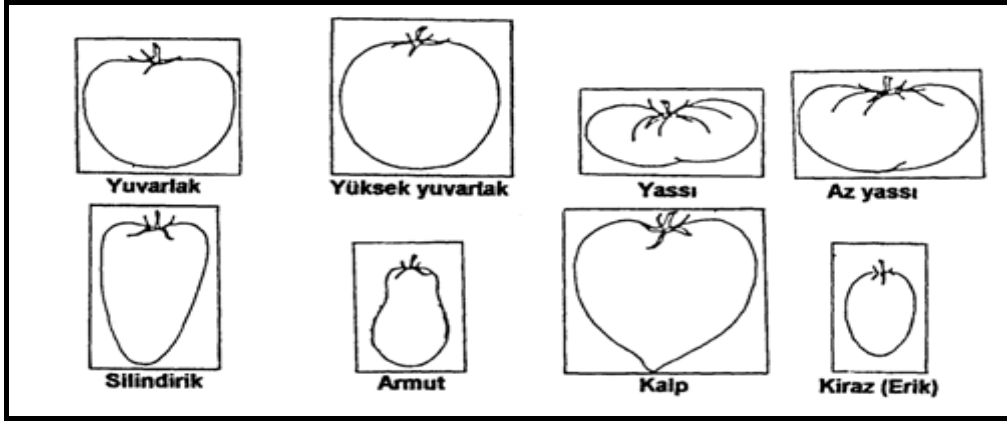
- Düz, dilimsiz,
- Az dilimli, (5'den az dilimli)
- Çok dilimli (5 ve daha fazla dilimli) olmak üzere üç gruba ayrılır.

Şekillerine göre domates tipleri;

- Yuvarlak (Yuvarlak, yüksek yuvarlak),
- Yassı (Yassı, az yassı),
- Uzun (Silindirik, armut),
- Kalp,
- Kiraz (Erik) olmak üzere beş tipe ayrılır.

Morfolojik özelliklerine ve büyüme şekillerine göre domates çeşitleri;

- Sırık,
- Yer



Şekil 1.1 Şekillerine göre başlıca domates tipleri

Çizelge 1.1 Morfolojik özelliklerine ve büyüme şekillerine göre domates tipleri

<i>Yer domatesleri</i>	<i>Sırık domatesler</i>
Texto	Monalucie 33
VC 156	Marglobe
Pearson	Wisconsin 55
Süper Marmande	Süper California
Red Top (VF)	68 VF 26
ES 24 (F)	Şencan-9
ES 58 (2889) F	GC-135(I)-184
VFN.8	Zeynep F ₁
0 3 2 7	
Roma VF	
P.378-RF17	

Çizelge 1.1 Morfolojik özelliklerine ve büyüme şekillerine göre domates tipleri (devam)

<i>Yer domatesleri</i>	<i>Sırk domatesler</i>
S.C. 2121	
SAAT. 2274	
Cal. J.	
Rio Grande	
İnvictus Lot 335	
Oval Red	
Peto-86	
Denep	
Rio Fuego	
Calimba	
Koral	
I-40 68 N-17	
Falcon	
Genç VF F ₁	
Ertekin VF F ₁	
Menemen	

Kalite özelliklerine göre domates sınıfları;

- Ekstra
- Sınıf I
- Sınıf II olmak üzere 3 sınıfa ayrılır.

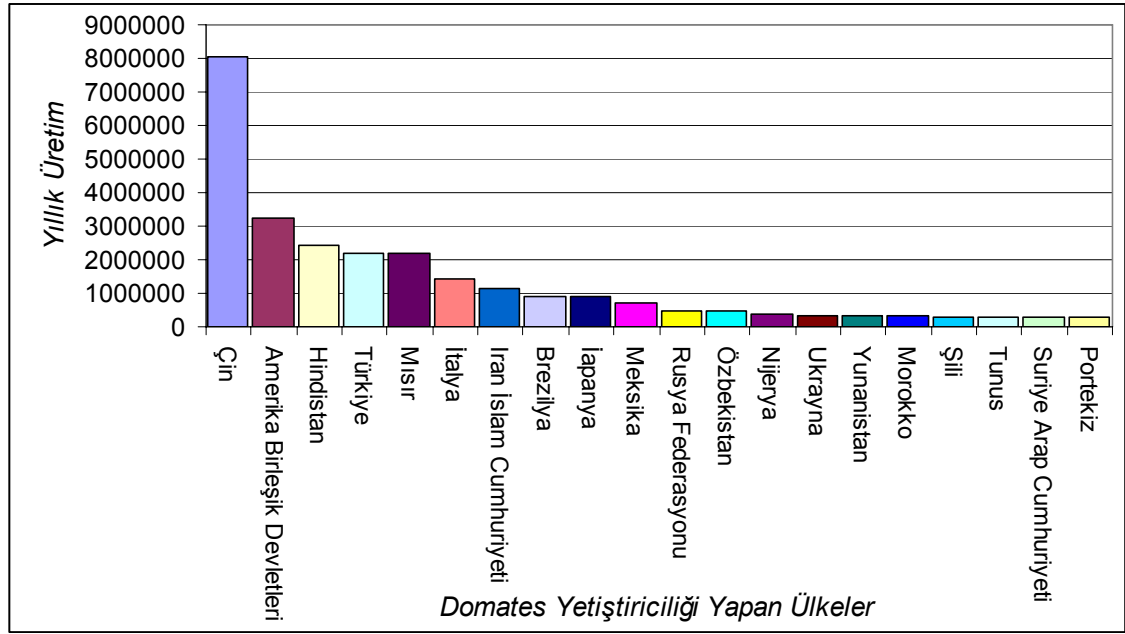
İriliklerine göre domates boyları;

- 30 mm - 35 mm
- 35 mm - 40 mm
- 40 mm - 47 mm
- 47 mm - 57 mm
- 57 mm - 67 mm
- 67 mm - 82 mm
- 82 mm - 102 mm
- 102 mm ve üstü.

olmak üzere sekiz boya ayrılır (Türk standart ICS 67.080. 20 numaralı ve TS 794-Nisan 2002 tarihli tebliği)

1.3 Dünya ve Türkiye’deki Üretimi

Günümüzde domates (*Lycopersicum esculentum* Mill.) ülkemizde buğdayın ardından yetiştiricilikte en fazla yer kaplayan bitkidir. Türkiye domates yetiştiriciliğinde Çin, Amerika Birleşik Devletleri ve Hindistan’ın ardından 2.002.837 bin tonluk üretimi ile 4. sıradadır. Türkiye üretimi dünya genelindeki toplam 25.203.341 bin tonluk üretimin % 7.95’i gibi önemli bir kısmını oluşturmaktadır (Şekil 1.2) (Anonymous 2007).



Şekil 1.2. Dünya domates yetiştiriciliğinde Türkiye’nin yeri (Anonymous, 2007)

Türkiye İstatistik Kurumu 2009 yılı verilerine göre ülkemizde 79 ilde sofralık domates üretimi gerçekleştirilmekte ve en yüksek üretim Antalya, Muğla ve Tokat illerinde gözlenmektedir (Çizelge 1.2).

Çizelge 1.2 Türkiye’de iller bazında domates yetiştiriciliği

Üretim yapılan il	Üretim(ton)	Üretim yapılan il	Üretim(ton)
Adana	180.960	Kahramanmaraş	86.281
Adıyaman	19.503	Karabük	6.135
Adana	180.960	Kahramanmaraş	86.281

Çizelge 1.2 Türkiye’de iller bazında domates yetiştiriciliği (devam)

<i>Üretim yapılan il</i>	<i>Üretim(ton)</i>	<i>Üretim yapılan il</i>	<i>Üretim(ton)</i>
Adıyaman	19.503	Karabük	6.135
Afyon	27.432	Karaman	70.843
Ağrı	118	Kastamonu	25.761
Aksaray	22.485	Kayseri	29.238
Amasya	94.513	Kırıkkale	17.471
Ankara	168.690	Kırklareli	9.604
Antalya	2.024.836	Kırşehir	15.900
Artvin	4.855	Kilis	20.448
Aydın	94.746	Kocaeli	17.274
Balıkesir	57.231	Konya	89.356
Bartın	11.713	Kütahya	35.928
Batman	2.220	Malatya	36.290
Bayburt	424	Manisa	166.722
Bilecik	120.722	Mardin	12.166
Bingöl	6.699	Mersin	805.942
Bitlis	5.483	Muğla	506.777
Bolu	2.523	Muş	6.985
Burdur	61.282	Nevşehir	10.540
Bursa	203.863	Niğde	30.344
Çanakkale	304.696	Ordu	1.826
Çankırı	23.489	Osmaniye	7.028
Çorum	32.240	Rize	89
Denizli	57.128	Sakarya	51.106
Diyarbakır	66.454	Samsun	265.083
Düzce	2.678	Siirt	7.530
Edirne	23.661	Sinop	12.557
Elazığ	10.910	Sivas	1.840
Erzincan	61.151	Şanlıurfa	73.494

Çizelge 1.2. Türkiye’de iller bazında domates yetiştiriciliği (devam)

<i>Üretim yapılan il</i>	<i>Üretim(ton)</i>	<i>Üretim yapılan il</i>	<i>Üretim(ton)</i>
Erzurum	5.024	Şırnak	7.398
Eskişehir	43.653	Tekirdağ	11.432
Gaziantep	14.625	Tokat	437.650
Giresun	1.956	Trabzon	1.803
Gümüşhane	2.124	Tunceli	1.222
Hakkâri	22.719	Uşak	27.461
Hatay	190.706	Van	10.112
Iğdır	40.863	Yalova	3.398
Isparta	38.012	Yozgat	8.946
İstanbul	20.694	Zonguldak	3.858
İzmir	199.042		

Türkiye’de üretilen domatesin yüzde bazında 25–30’u işlenmekte ve bunun dışında kalan kısmı ise taze olarak tüketilmektedir. İşlenen bölümün yarısından fazlası salça üretimi için kullanılırken, kalan kısım konserve, ketçap, domates suyu gibi ürünlerin imalatında kullanılmaktadır (Anonim 2003).

1.4 Bitkilerde Abiotik Stres Faktörleri

Çevre şartlarının bir bitkinin normal büyüme ve gelişmesini olumsuz yönde etkileyecek kadar değişmesi halinde bitkide meydana gelen duruma stres denir. Bir başka deyişle bitki üzerinde negatif etkileri olan dış faktörler olarak tanımlanır. Birçok durumda, stres gelişme ile ilişkili olup bitkinin canlı kalabilmesi, ürün verebilmesi, biyomas birikimi ve özümleme ile ilişki kurarak açıklanması gereken bir kavramdır. Bitkiler yaşamları sürecinde birçok stres faktörü ile karşılaşmaktadırlar. Bitki üzerinde ender olarak tek başlarına etki yapabilen bu stres faktörleri, genellikle etkilerini eş zamanlı olarak gerçekleştirmektedirler. Lichenthaler stres faktörlerini doğal ve antropojenik olmak üzere ikiye ayırmıştır. Doğal faktörleri sıcaklık, donma, su eksikliği ve fazlalığı, mineral yetersizliği, böcekler ve patojenler oluştururken, antropojenik faktörleri ise; herbisit,

pestisit, fungusit, hava kirleticileri, ozon, fotooksidantlar, asit yağmurları, yüksek azot konsantrasyonu, ağır metaller, UV radyasyonu ve karbondioksit (CO₂) düzeyi oluşturur. Stres faktörleri Levitt'e göre ise biyotik ve fizikokimyasal olmak üzere ikiye ayrılır. Biyotik faktörler, mikroorganizmaların (fungus, bakteri ve virüs) enfeksiyonu ve zararlı hayvanların saldırıları sonucu oluşan stres faktörleridir. Fizikokimyasal (abiyotik) faktörler ise; su, sıcaklık, radyasyon, kimyasallar, manyetik ve elektriksel alanlar gibi çevre faktörleridir (Özen ve Onay 2007).

Bu bölümde araştırma kapsamında konu olan abiyotik stres faktörlerinden tuz, kuraklık, soğuk stresi ve bu stres faktörlerinin bitkiler üzerindeki etkilerinden bahsedilecektir.

1.4.1 Tuzluluk stresi

Doğal koşullar altında, yüksek kara bitkileri deniz kıyısına yakın yerler ile delta ve koylarda yüksek yoğunlukta tuza maruz kalırlar. Kara içlerindeki topraklardaki tuz jeolojik kaynaklı tuzdur ve bu topraklar tarımsal üretim için uygun alanlar değildir (Akman vd. 2001). Köklerin çevresindeki toprak çözeltisinin içerdiği iyon konsantrasyonunda eksiklik ya da fazlalık anlamında meydana gelen değişiklikler bitkide stres unsuru olabilirler. Pratikte tuz stresi kavramı, özellikle sodyum (Na⁺) ve klor (Cl⁻) iyonlarının fazlalığı olarak tanımlanır (Özen ve Onay 2007). Tarım için kullanılan alanlarda meydana gelen tuzluluk durumu evaporasyon ve transpirasyonun saf suyu topraktan uzaklaştırması ve bu kaybın toprakta çözünen madde miktarını artırmasından kaynaklanır. Sulama sularındaki çözülmüş madde miktarı ve bir drenaj sistemi ile iyi yıkanmıyor ise, tuzluluk hızla duyarlı olan bitkilere zarar verecek seviyeye ulaşır. Dünya üzerindeki sulanan alanların yaklaşık üçte birinin tuzdan etkilendiği düşünülmektedir (Taiz ve Zeiger 2008). Yoğun tuzluluk belirli alanlarda bitki yayılışını etkileyen ve sınırlayan, dünyada geniş alanlarda ciddi tarımsal problemler oluşturan bir faktördür. Tuzlu habitatlarda bitki üzerinde önemli etkileri olan dört temel tehlikenin olduğu düşünülmektedir. Bunlar; kök ortamının düşük su potansiyeli, yüksek osmotik basınçtan kaynaklanan su stresi, aşırı Na⁺ ve Cl⁻ alımından kaynaklanan özel iyon toksisitesi ve translokasyon süreçlerinde tuz iyonlarının temel besleyicilere karışmasından kaynaklanan beslenme dengesizliğidir (Gökçek 2005). Bu

etkiler hücrede fizyolojik aktiviteleri bozabilir ve bu yolla hücre ölümüne neden olabilir. Bitkiler yüksek yoğunluktaki tuza karşı gösterdikleri tepkilere göre halofitler (tuzcul bitkiler) ve glikofitler olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Glikofitler normal topraklarda yaşayan ve tuza halofitler kadar direnç gösteremeyen bitkilerdir (Akman vd. 2001).

1.4.2 Kuraklık stresi

Su stresi, suyun fazlalığı veya eksikliği olmak üzere iki şekilde görülür. Su fazlalığında kökler oksijen alamadıklarından bitki oksijen stresine girer. Su eksikliğinden kaynaklanan stres ise kuraklık stresi olarak tanımlanır ve belirsiz zamanlarda ortaya çıkan kıtlık durumudur. Su eksikliği durumunda protoplazmada suyun azalması nedeniyle birim alandaki çözünür madde miktarında bir artış meydana gelir. Zarlardan protoplazmaya doğru bir su akışı meydana gelir ve bu nedenle hücre zarının çift tabakalı yapısında deformasyon oluşur. Kuraklık stresine karşı bitkide meydana gelen en belirgin yanıt hücre büyümesinde meydana gelen yavaşlamadır. Hücredeki turgor ve su potansiyeli dehidrasyon ile doğru orantılı olarak azalır. Hücrede meydana gelen yavaşlamanın ardından stoma hareketleri, gaz alış veriş, fotosentez ve solunumda fizyolojik değişiklikler meydana gelir. Yapraktaki intrasellüler alanlara CO₂ girişinin azalması sonucu stomalar kapanır, fotosentez hızı azalır (Levitt 1980, Özen ve Onay 2007). Su kıtlığı durumunda yapraklarda absisyon (dökülme) uyarılır, bitki kökleri toprağın derinliklerindeki nemli bölgelere doğru uzanır (Taiz ve Zeiger 2008).

Bitkiler bu etkilerden korunabilmek için ya kuraklıktan kaçır ya da tolere edebilir. Kuraklıktan kaçır genotipler yüksek su potansiyeline sahiptir veya kuraklık öncesi yaşam döngülerini tamamlarlar. Toleranslı genotiplerin ise su potansiyellerindeki herhangi bir değişmeden etkilenmezler (Levitt 1980).

1.4.3 Soğuk stresi

Üşütücü sıcaklıklar normal büyüme için çok düşük olmakla birlikte donma ve buz oluşturma için yeterli olmayan sıcaklıklardır. Kültür bitkileri arasında mısır, fasülye,

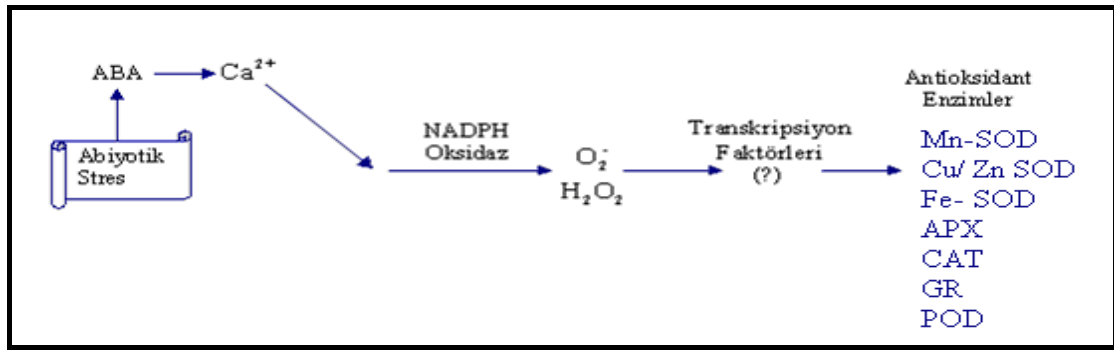
pirinç, domates, salatalık, tatlı patates ve pamuk düşük sıcaklıklara duyarlıdır (Taiz ve Zeiger 2008). Düşük sıcaklık stresi domatestede çoğunlukla 15 °C altında ortaya çıkmakta ve bitkilerde stresin şiddetine bağlı olarak ciddi boyutlarda büyüme bozukluklarına ve verim azalmasına neden olmaktadır. Bitkilerin düşük sıcaklıktan etkilenme dereceleri bitkinin yaşına, düşük sıcaklığa tabi kalma süresine ve bitkinin türüne ve genotipik özelliklerine göre değişiklik gösterebilir (Gökmen 2006).

Soğuk sonucunda zarar görmüş bitkilerin fotosentez hızında yavaşlama, solunum ve protein sentezinde azalma ve önceden sentezlen proteinlerin parçalanmasında artışlar meydana gelebilmektedir. Bütün bu zararların üşüme sırasında hücre zarı fonksiyonlarının kaybedilmesi ile ortaya çıkan zararlar olduğu düşünülmektedir. Hücre zarının çift tabakasındaki yağların, yağ asidi zincirindeki oranları sabittir. Soğuğa hassas bitkilerde 0 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda (ki bu sıcaklık domates bitkisinde 0-14 °C arasındadır) zar sıvı yapısını kaybeder ve protein bileşenler de bu durumla birlikte işlevlerini kaybederler. Sonuç olarak hücre içine ve dışına madde transferi ve bunun dışındaki tüm enzimsel faaliyetlerde bir sonlanma ve hücre ölümü meydana gelir (Akman vd. 2001).

1.5 Bitkilerin Stres Faktörlerine Karşı Verdikleri Cevaplar

Absisik asit (ABA), bitki özellikle çevresel stres altında iken kloroplast ve diğer plastidlerde biyosentez ile oluşan bir bitkisel hormondur. 15 karbonlu olan bileşiğin ikinci karbonunda bulunan karboksil grubunun yönelimine göre cis ve trans olmak üzere iki izomere sahiptir. Doğal olarak üretilen ABA cis formundadır. Biyosentez yolu izopentenil difosfat (IPP) ile başlar ve C40 ksantofil (okside olmuş bir ksantofil ürünü) olan violaksantin sentezine yol açar. Violaksantin 9' -cis neoksantine dönüştürülür. Bu bileşik ksantoksalı oluşturmak üzere ikiye ayrılır. Ksantosol, aynı zamanda ksantoksin olarak da isimlendirilir ve fizyolojik özellikleri ABA'ya benzer nötr yapıda bir büyüme engelleyicisidir. Ksantosol oluşumu 9' -epoksikarotenoid dioksigenaz (NCED) tarafından katalizlenir. Bu enzim tilakoidlerde bulunmaktadır ve stres koşulları altında hızla uyarılarak ABA oluşumunu sağlar (Taiz ve Zeiger 2008). Stres sırasında hidrofilik sinyaller (yaprak su potansiyeli, hücre turgoru) sebebiyle veya kimyasal bir sinyal olan

ABA'nın stomaların bekçi hücrelerindeki hipotetik ABA reseptörüne bağlanması sonucu stoma kapanır. Bu durum gelişen bitkilerde CO₂'nin alımının azalmasına neden olur. Tüm bunlar; kuantum verimini azaltır ve fotosentetik aparatın reaksiyon merkezlerindeki eksitasyon enerjisinin artışına neden olur (Stuhlfauth vd. 1990). Sonuçta; fotosentezde e- akseptörü olan nikotin amid di nükleotid fosfat (NADP⁺) kısıtlı hale gelir ve ferrodoksin NADP⁺ yerine oksijeni redükler; böylece, fotosistem I (PSI)'ye ait elektronların oksijen (O₂) molekülüne transferi sonucunda reaktif O₂⁻ radikali üretilir (Mehler reaksiyonu). Süperoksit kendisi fazla reaktif değildir ancak daha çok hidrojen peroksit (H₂O₂) ve daha sonra hidroksil (OH) oluşturmak suretiyle etkili olur (Halliwell ve Gutteridge 1989). Bitki hücrelerinde ABA uyarı iletiminde kalsiyumun (Ca²⁺)'un rolü olduğu bildirilmiştir. ABA sitoplazmik serbest Ca²⁺ miktarını artırır. Hücreler arası boşluklardan Ca²⁺'un hücre içine akışını veya hücre içi depolardan sitoplâzmaya Ca²⁺ salınımını gerçekleştirir. ABA'nın uyardığı H₂O₂ üretimi ve H₂O₂'in aktive ettiği Ca²⁺ kanalları, ABA uyarı iletiminin önemli bir bileşenidir (Jiang ve Zhang 2003). Aşırı miktarda Ca²⁺, reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretiminin toksik düzeye ulaşmasına neden olur ve hücrelerde oksidatif zarara yol açar. Ayrıca ortamda aşırı miktarda Ca²⁺ birikmesi sonucunda kalsiyum fosfat tuzları oluşur ve bu durum hücre için sitotoksik olabilir (Jiang ve Huang 2001).



Şekil 1.3 Abiyotik stres koşullarında antioksidant enzim aktivitesinin uyarılmasında ABA, Ca²⁺ ve H₂O₂'in rolü (Mori vd. 2004, Agarwall vd. 2005).

Son yıllarda elde edilen genetik, biyokimyasal ve fizyolojik bulgular, kök büyümesinde ve bekçi hücrelerinde ABA-ROT uyarı iletiminde Ca²⁺ ve NAD(P)H oksidaza bağlı membran fonksiyonları arasında Şekil 1.3'deki gibi bir ilişki önermektedir (Mori vd. 2004, Agarwall vd. 2005).

Yüzden fazla stres aracılığı ile uyarılabilen gen aynı zamanda ABA aracılığı ile de uyarılır. Kuraklık stresine yanıtı oluşturan gen ekspresyonu aynı zamanda ABA bağımlı ve ABA bağımsız sinyal transdüksiyon yollarında etkindirler. Kuraklık etkisi ile uyarılabilen gen ürünleri, düzenleyici proteinler ve özel işlevleri olan proteinlerdir. Bu proteinler aynı zamanda streste görevli olan diğer genlerin sinyal transdüksiyonu aracılığı ile düzenlenmesinde görev alırlar. Shinozaki vd. 2002 bu genleri iki gruba ayırmıştır. Birinci grupta a) makromolekülleri ve membranı direk olarak koruyan fonksiyonel proteinler (LEA (geç embriyogenez) proteinleri, osmotin, donmayı önleyici, şaperonlar ve mRNA'ya bağlanabilen proteinler vb.), b) membrandaki su hareketinin devamlılığını sağlayan proteinler (su kanal proteinleri ve membran transporterlar), c) çeşitli osmoregülatörlerin (prolin, betain, şekerler vb.) biyosentezini katalizleyen enzimler, d) normal hücresel fonksiyonların devamını sağlayan detoksifikasyon enzimleri (glutasyon s-transferaz, çözünabilir epoksid hidrolaz, katalaz, süperoksid dismutaz ve askorbat peroksidaz) yer almaktadır. İkinci grupta ise a) transkripsiyon faktörler (DREB, MYC, MYB, bZIB), b) protein kinazlar (MAP kinazlar, CDP kinazlar, ribozomal protein kinaz ve transkripsiyonu düzenleyen protein kinazlar), c) proteinazlar (fosfolipaz C ve fosfoesteraz) yer almaktadır (Mahesh, 2008).

Stres durumunda su kanal proteinlerini kodlayan genlerin ifadesindeki artış membrandan su geçişini artırmaktadır. Şaperonlar kuraklık, sıcaklık ve diğer streslere bağlı olarak denatüre olmuş olan proteinlerin kümeleşmesini önlerler ve küme olmuş protein moleküllerinin renatürasyonunu sağlarlar. LEA proteinleri su kaybını en aza indirmek üzere suyun bağlanmasında, protein ve membranların kararlılığının devamının sağlanmasında, kademeli iyon geçişinin korunmasında ve ROT'ların yok edilmesinde görev almaktadırlar. Prolin, betain gibi osmoregülatörler büyüme, fotosentez ve stomaların açılması gibi fizyolojik fonksiyonlar üzerinde stresin etkilerinin sınırlandırılmasını sağlayan yüksek bir turgor potansiyelinin devamlılığını sağlarlar. Protein kinazlar daha çok transkripsiyon faktörlerinin fosforilasyonu ve aktivasyonu ile gen ifadelerini aktive eder (Kalefetoğlu ve Ekmekçi 2005).

Bunların yanı sıra, ABA'nın hücre yüzeyindeki reseptöre bağlanması plazma zarındaki Ca^{+2} kanallarını aktive eden ROT'ların oluşumunu da teşvik eder (Taiz ve Zeiger 2008).

ROT'ların başlıcaları; süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksil radikali ($OH^\cdot$) ve hidrojen peroksittir (H_2O_2). Bunlar arasında organizma içinde en aktif dolayısıyla en toksik olanı hidroksil radikali. Gerçekte bir radikal olmayan ancak metal iyonları ile hidroksil radikali oluşumuna neden olan H_2O_2 (hidrojen peroksit), ROT olarak değerlendirilen oldukça toksik bir moleküldür. Peroksil radikali ($ROO^\cdot$) ve güçlü bir klorlayıcı ve okside edici ajan olan hipokloröz asit (HOCl) de aynı şekilde reaktif oksijen türleri arasında yer almaktadır. Bunlardan başka, nitrik oksit ($NO^\cdot$) ve NO ile O_2^- reaksiyonu sonucu oluşan peroksinitrit anyonu ($ONOO^-$) da organizma için toksik etki yaratır (Feldman vd. 1993, Marletta 1993, Marletta 1994, Aruoma 1994, Halliwell 1997).

Stres boyunca ROT üretiminin artması oksidatif hasar ile hücre yapı ve fonksiyonunu bozabildiği için hücre açısından potansiyel bir tehdittir. Fakat ROT'lar korunma yolları ve stres-yanıtının aktifleşmesinde bir uyarı olarak etki gösterebilir. Böylece ROT stres-yanıt iletim yolunda ikincil haberci olarak ve stresin hücrel indikatörü olarak da görülebilir (Dat vd. 2000, Mittler 2002). Reaktif oksijen türlerinin neden olduğu zarara karşı bitkiler yağda çözünen ve membrana bağlı antioksidantlar (doğrudan lipid peroksidasyonunun serbest radikallerini (triplet klorofil ve O_2) gideren α - tokoferol, β -karoten), suda çözünen antioksidantlar (O_2^- ve H_2O_2 'nin detoksifikasyonunda rol oynayan glutatyon ve askorbat) ve enzimatik antioksidantlar (peroksidaz (POD), askorbat peroksidaz (APX), glutatyon redüktaz (GR), katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD))'dan oluşan karmaşık bir antioksidant koruyucu sistemine sahiptir. (Srivalli vd. 2003, Jung 2004, Ramachandra vd. 2004, Pinheiro vd. 2004).

SOD'lar olağanüstü katalitik etkinlikte çalışan metalloproteinlerdir (Beaucamp ve Fridovich 1971). İlk kez sığır kanından izole edilmiş ve günümüze kadar eritrosuprein, indofenol oksidaz, tetrazolium oksidaz gibi değişik adlarla ifade edilmiştir. Aktif merkezlerinde yer alan metal iyonlarına göre üç izoenzimi vardır. Bunlar bakır ve çinko içeren Cu/Zn SOD, mangan içeren MnSOD ve demir içeren FeSOD'lardır (Fridovich 1986, Scandalios 1993, Edreva 1998).

Çizelge 1.3 Aktif oksijen türler lokasyonları ve enzimatik temizlenme sistemleri

Subselüler Lokasyon	Aktif O ₂ Türlerinin Tipi	Aktif O ₂ Türlerinin Kaynağı	Enzimatik Temizleme Sistemleri
Kloroplast	Süperoksit, H ₂ O ₂	PSII Enzimik	SOD, APX
Mitokondri	Süperoksit, H ₂ O ₂	Elektron Taşınımı ve Enzimik	SOD, POD, CAT
Sitosol	Süperoksit, H ₂ O ₂	Enzimik	SOD, CAT, POD
Glioksizom ve Peroksizom	H ₂ O ₂	β- Oksidasyon Fotorespirasyon	CAT

SOD izozimleri hücrenin değişik bölümlerinde lokalize olmuşlardır. MnSOD mitokondri ve peroksizomlarda bulunur. FeSOD esas olarak kloroplastta bulunur ancak peroksizomlarda da varlığı tespit edilmiştir. Kloroplast fotosentezin cereyan ettiği organel olduğu için ROT' ların verdiği hasara karşı çok hassastır ve burada ROT' lar fotosentetik elektron transferinden kaçan O₂ ve elektronlar sebebiyle oluşur. ROT'ların neden olduğu oksidatif hasar ile başa çıkabilmek için bitkiler kloroplastta bulunan ROT-yok edici enzimlerden olan bakır-çinko SOD'u (Cu/ZnSOD) devreye sokarlar. CuZnSOD aynı zamanda sitozolde, peroksizomda ve apoplastta da bulunur. SOD izozimlerinin sayısı ve tipleri bitkinin türüne, yaşına ve çevre koşullarına göre farklılık gösterir (Kaminaka vd. 1999, Corpas vd. 2006). Cu/ZnSOD'lar homodimer yapıda ve siyanüre duyarlı olmalarından dolayı diğer SOD tiplerinden kolayca ayırt edilirler. FeSOD ve MnSOD'lar aminoasit dizilimlerinin dereceleri ve yapısal homolojileri eşit olduğundan birbirleriyle yakın ilişkili, ancak Cu/ZnSOD'larla ilişkisizlerdir (Bowler vd. 1992)

Bitki SOD'ları biyokimyasal ve moleküler özellikleri, yapıları, fonksiyonları, enzim regülasyonları, gen organizasyonları ve ekspresyonları, hücre içi lokalizasyonları, abiyotik ve biyotik stres koşullarındaki rolleri de dahil olmak üzere bir çok açıdan çalışılmışlardır (Allen vd. 1997; Corpas vd. 1998; Alscher vd. 2002; Fink and Scandalios 2002, Shin vd. 2005). Buna karşın yüksek bitkilerde SOD isoformlarının çevresel strese karşı gösterdikleri değişken gen ifadeleri hakkında bilgiler azdır. Bu araştırmada; çeşitli konsantrasyonlarda tuz ve kuraklık stresi ile soğuk stresi uygulanmış domates bitkisinde (*Lycopersicum esculentum* Mill) SOD'un ekspresyon seviyesinin ve strese karşı geliştirilen tolerans mekanizmasındaki etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2 KAYNAK ÖZETLERİ

Baker (1976) çalışmasında elma, muz, avakado ve domates meyvelerinde yaşlanma öncesi ve yaşlanma ile değişen SOD aktivitesi araştırılmıştır. Çalışma sonucunda enzim aktivitesinde ölçülebilir temel bir değişikliğin oluşmadığı görülmüştür. Domates meyvelerindeki SOD daha ayrıntılı bir şekilde araştırıldığında, daha çok çözünabilir yapıda olduğu, mitokondriyal ve plastid seviyesinde daha az bulunduğu gözlenmiştir. Çözünabilir yapıdaki SOD, amonyum sülfat, kolon kromatografisi ve izoelektrik odaklama ile saflaştırılmış ve peroksizom kontaminasyonundan arındırılmıştır. Çalışmada, saf domates SOD'u jel filtrasyonu ile 31.500 moleküler ağırlığında olduğu gösterilmiştir. Ayrıca SOD enzim aktivitesinin bitkilerde yaşlanma ile artmadığı belirtilmiştir.

Scandalios 1993; canlı hücrelerin O_2 'lerin oluşumunu ve ortamdaki uzaklaştırılma oranlarını dengelemek zorunda olduklarına dikkat çekmiştir. Bu dengeyi sağlayabilmek için organizmalar farklı oksidatif sinyaller sonucu oluşan SOD sentezini kontrol altında tutacak düzenleme mekanizmaları geliştirmişlerdir. Willimson and Scandalios, 1992 çalışmasında CAT izozimleri ile birlikte ilişkili transkriptlerin de değiştiğini gözlemişlerdir. Bu çalışmada ise SOD transkriptlerinin birikimi strese göre belirgin şekilde değişmesine karşın, ilişkili izozimlerin seviyesinin değişmemesi araştırmacının merakını uyandırmıştır. Araştırmacıya göre; yüksek orandaki oksidatif stres, proteinlerinin çevrimine neden olabilir ve yeni SOD enzim sentezi oluşabilir. Sonuç olarak; dönemin verileri eşliğinde, SOD'un O_2 'leri temizleyerek canlı hücreleri toksisite ve mutajeniteden koruduğuna dair fikirler ileri sürülmüştür. SOD'un başka biyolojik fonksiyonlarının olup olmadığı ise araştırmaya açık kalmıştır.

Dat vd. (2000) araştırmalarında; çevresel değişikliklere uyumun bir bitkinin gelişimi ve hayatta kalabilmesi için önemini vurgulamışlardır. Ancak adaptasyonun moleküler ve biyokimyasal mekanizmaları yeni yeni anlaşılmaya başlansa da, sinyal iletim yolları henüz bilinmediğini ifade etmişlerdir. ROT'lar hem biyotik hem de abiyotik streslere karşı bitki adaptasyonunda oldukça önemlidir. Stres koşullarında ROT'lar bitkide oluşabilecek zararı artırmak veya korumadan sorumlu aktivasyonlar için sinyal

oluşturmak gibi birbirinden çok farklı iki rol oynayabilir. Bu gibi ikili fonksiyonlar ilk kez patogenez de tanımlanmış ve son zamanlarda çeşitli abiyotik stres yanıtları boyunca gözlenmiştir. Çalışma sonucunda farklı rollere olanak sağlamak için, ROT'ların hücresele seviyede sıkı bir şekilde kontrol altında tutuluyur olabilecekleri sonucuna varılmıştır.

Xiong ve Zhu'nin (2002) yılında gerçekleştirdikleri derlemede; bitkilerin hücresele homeostasiyi dengeleyen, toksinlerin detoksifikasyonunu sağlayan ve gelişimi düzenleyen genlerin ekspresyonunu değiştirerek strese cevap verdikleri vurgulanmıştır. Adaptasyona aracılık eden sinyal transdüksiyon yollarının moleküler, biyokimyasal ve fizyolojik çalışmaları içeren genetik yaklaşımlar aracılığı ile açıklanabileceği belirtilmiş *Arabidopsis* ve *Thellungiella halophila* 'nın bu amaç için uygun birer genetik model sistemleri olduğuna dair fikirler ileri sürülmüştür.

Bandeoğlu vd. (2004) araştırmasında mercimek (*Lens culinaris* M.) kök ve sürgünlerine tuz stresi (100 mM ve 200 mM NaCl) uygulanmış, antioksidant yanıtlar araştırılmıştır. Tuz uygulaması ile yaprak dokusundaki H₂O₂ içeriğinin 4.4 katına çıktığı tespit edilmiş, kök dokusunun bu parametrelerden düşük seviyede etkilendiği görülmüştür. Çalışma sonucunda kök dokusunda Cu/ZnSOD izoformlarının artışı nedeniyle toplam SOD aktivitesi artmıştır (%88). Kök dokusunda APX, GR aktiviteleri yaprak ile karşılaştırıldığında daha fazladır. Yaprak dokusunda ise tuz stresini CAT dışındaki tüm antioksidant enzimlerin aktivitelerini artırmıştır. Çalışma sonucunda yaprak dokusunun tuz stresi sonucu oluşan oksidatif hasarlardan total SOD ve APX aktivitesini artırarak korunduğu fikrine ulaşılmıştır.

Köşkeroglu tarafından (2006) yılında gerçekleştirilen çalışmada; tuz stresi altındaki mısır bitkisinde (*Zea mays* L.) prolin birikim düzeyleri ve stres parametrelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bitkiler düşük tuz (5ds/m NaCl) ve yüksek tuz (10ds/m) içeren ortamlarda 2 seri olarak geliştirilmiştir. Birinci seri normal su ile sulanırken, 2. seri 1 MPa basınç oluşturacak şekilde PEG6000 içeren su ile sulanmıştır. Kontrol olarak normal sulama suyu+besin çözeltisi kullanılmıştır. Deneme sonunda; yapraklarda membran geçirgenliği (EC %), prolin, klorofil ve karotenoid miktarları ile antioksidatif

enzimlerden SOD, POX, PPO aktiviteleri tayinleri yapılmıştır. Aynı zamanda, yaprak ve köklerin makro element içeriği belirlenmiştir. Bu araştırma ile artan tuzluluk ve su stresi koşullarında yapraklarda membran geçirgenliğinin arttığı, klorofil ve karotenoid miktarının azaldığı, antioksidatif enzim aktivitelerinin ise özellikle tuzlulukla beraber belirgin bir artış gösterdiği belirlenmiştir. Yaprak ve köklerin makro element içeriğinin ise artan Na miktarına paralel olarak azaldığı, stresin artmasıyla birlikte bitki boyu, gövde çapı ile yaş ve kuru ağırlıkların azaldığı vurgulanmıştır. Antioksidatif enzim aktivitesinde ve prolin miktarındaki artış; mısır bitkisinin tuz ve su stresi zararı en aza indirmek amacıyla oluşturduğu savunma mekanizmasının harekete geçmesi olarak nitelendirilmiştir.

ZhongQun vd (2007) yılında gerçekleştirdikleri çalışmada; tuzluluk probleminin dünya çapında tarım ve eko coğrafya açısından önemli bir problem olduğu vurgulanmıştır. Çalışma ile reaktif oksijen türlerine karşı koruma sağlayan antioksidant enzimlerin AM (*Arbuscular mycorrhizal* fungi) domatestede tuz stresi altındaki etkileri ile *Glomus mosseae*'nin mikorhizal domates gelişimi üzerindeki etkileri, hücre membranındaki osmositede meydana getirdiği değişiklikler araştırılmıştır. Ayrıca tuz stresi altında geliştirilmiş örneklerde antioksidant cevaplar (SOD; CAT; APX; POD) belirlenmeye çalışılmıştır. Çeşitli konsantrasyonlardaki tuz solüsyonu (0, 0.5, 1 %), 45 günlük *Glomus mosseae* inokülasyonunun ardından organik toprağa eklenmiştir. İnokülasyonunun tuzlu ve tuzsuz koşullarda domates gelişimini artırdığı görülmüş ve hücre membranında meydana gelen osmoz oranının azaldığı gözlenmiştir. İnokülasyonun olduğu ortamda yapılan çalışmada SOD, APX ve POD aktivitesinin kontrole göre oldukça yüksek olduğu, CAT aktivitesinin ise önce arttığı ve daha sonra kontrol ortamı ile aynı seviyeye geldiği belirlenmiştir. Bu çalışma ile *Glomus mosseae* inokülasyonu ile artan tuz toleransının, antioksidant enzim aktiviteleri ile temel olarak ilişkili olduğu ileri sürülmüştür.

Chatzidimitriadou vd. tarafından (2009) yılında gerçekleştirilen çalışmanın amacı; kloroplastta sınırlandırılmış olan Cu/Zn SOD proteinini kodlayan geni taşıyan transgenik biber bitkilerinin stres tolerans ve rejenerasyon kapasitesini araştırmaktır. SOD gen ekspresyonu, enzimatik belirlemenin ardından, heterodimerik enzimi ifade

eden ‘novel’ bandı gözlenebilir hale getiren poliakrilamid jel elektroforezi (PAGE) ile teyit edilmiştir. Transgenik T1 ve T2 nesilleri Metil Viologen (MV) içeren faklı oksidatif streslere maruz bırakılmış ve oksidatif strese karşı direncin arttığı belirlenmiştir. Ayrıca; SOD içeren transgenik biberlerin, yabanıl tip biberler ile karşılaştırılması sonucu transgenik biberlerin artan rejenerasyon kabiliyetine sahip olmaları ile SOD’un rejenerasyon kabiliyetini artırdığı bu araştırma ile ortaya konmuştur.

Eyidoğan vd. (2003) çalışmasında; tuza toleranslı ve duyarlı iki buğday (*Triticum aestivum* L. ve *Triticum durum* Defs.) fidelerine 3-5 gün süre ile 0,7 M NaCl stresi uygulanmış ve SOD izozimlerinin enzimatik aktivitesi poliakrilamid jel ile araştırılmıştır. Her iki çeşidinde kök ve sürgün örneklerinde MnSOD ve Cu/ZnSOD olmak üzere iki SOD izozimi tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda; Cu/ZnSOD aktivitesinin tüm aktivitenin hem kök hem de sürgün dokusunda %90’ını oluşturduğu belirlenmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında toleranslı çeşidin sürgün dokularındaki MnSOD aktivitesinin 1-1,5 katına çıktığı görülmüş ancak her iki çeşidin kök dokularında ise azaldığı tespit edilmiştir. Cu/ZnSOD aktivitesi ise toleranslı çeşidin kök dokusunda strese 3-4 katına çıkarken, duyarlı çeşidin kök dokusunda ise azalmıştır .

Turhan (2007) araştırmasında, öncelikle Türkiye’de yetiştirilen 33 domates genotipi arasından tuza tolerant ve hassas olanlar belirlenmiştir. Genotipler melezlenmiş, elde edilen F1 döllerinin tuza tolerans düzeyleri ve sitoplâzmalarının toleransa olan etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla; genotip ve melezlerden elde edilen fideler 40 gün boyunca farklı oranlarda tuz stresine maruz bırakılmıştır. Denemeler sonunda, artan tuz konsantrasyonları ile birlikte tüm büyüme parametrelerinin azaldığı ve bitkilerin toprak üstü ve toprak organlarında Na miktarının arttığı, Ca-K iyonlarının azaldığı vurgulanmıştır. Bu azalmanın duyarlı genotip ve melezlerde yüksek, tolerant olanlarda daha az gerçekleştiği belirlenmiştir. Dayanıklı genotiplerin, yüksek tuz konsantrasyonlarına rağmen K-Ca iyonlarını ortamdan alabildikleri ve bünyelerinde K/Na-Ca/Na oranlarını yüksek tutabildikleri tespit edilmiştir. Tuza tolerans üzerine sitoplazmanın etkisinin ise karmaşık bir yapı gösterdiği belirlenmiştir.

Ouyang vd. (2007) araştırmalarında; tuz stresine karşı bitkisel yanıtların moleküler temelleri araştırılmış ve stres aşamasının erken döneminde yanıt dhil olan genlerin belirlenmesi amaçlanmıştır. *Solanum lycopersicum* L.'nin tuza toleranslı ve duyarlı iki kltvarının kök dokularında fizyolojik parametreler, çimlenme aşamasındaki iyon ve enzim ölçümleri yapılmıştır. 150 mM NaCl içeren ortamda her bir alandaki net fotosentetik parametreler, stoma özellikleri, havalanma oranları ölçülmüştür. Sekiz haftalık deneme sürecinin ardından, genç yapraklardaki iyon konsantrasyonları belirlenmiştir. Yetiştirilen bu bitkilerden RNA izolasyonu için stres uygulamasının çeşitli saatlerinde kök örnekleri alınmıştır. Sentezlenen cDNA ve sonrasındaki mikroarray analizleri ile yüksek konsantrasyonda tuz uygulanmış ve uygulanmamış örneklerde ekspresyon değişiklikleri belirlenmiştir. Yapılan alışma sonucunda; 30 dk'lık tuz stresinde farklı oranlarda ifade edilen 201 gen mikroarray analizi ile belirlenmiştir, üstelik bu genlerin büyük bir çoğunluğunun daha önce tuz stresi ile ilişkileri bildirilmemiştir. Bu genlerin çok sayıda fonksiyona sahip oldukları düşünüldüğünde, tuz stresinin domates bitkisinde karmaşık bir moleküler yanıt sistemine sahip olduğu dşnlmştir.

Diğer bir araştırmada; tolerans üzerinde etkili olduğu düşünülen K/Na oranı özelliğinin kalıtımı incelenmiştir. Bu amaçla tuzluluk stresine toleranslı ve duyarlı iki yerli patlıcan genotipi kullanılmıştır. Çalışmada ebebeyn bireylerin melezlenmesi ile F1 bireyleri, F1 bireylerinin kendilenmesi ile F2 bireyleri, F1 bireylerinin ebebeynlerle melezlenmesi ile ise BC1 generasyonları oluşturulmuştur. F1, F2 ve BC1 döllerine ait bitkiler, 4-5 yapraklı fide döneminde su kültüründe 150 mM NaCl ile tuz stresine tabi tutulmuş ve alınan örneklerde K/Na ve Ca/Na oranlarını hesaplamak için iyon analizleri yapılmıştır. Veriler, değişik kalıtım modellerine göre beklenen değerlerle karşılaştırılarak kontrol edilmiş; bu amaçla Khi Kare testi uygulanmış ve genetik model tahminleri yapılmıştır. Sonuçta; K/Na oranının yüksek olması özelliğinin resesif bir gen tarafından idare edildiği ve tuza duyarlı genotiplerdeki K/Na oranı kalıtımının eksik dominansi yoluyla karakterize edildiği fikri ileri srlmştir (Tunçer 2007).

Bir başka çalışmada; tuz stresine maruz bırakılan aynı zamanda absisik asit (ABA) ve salililik asit (SA) uygulanan mısır (*Zea mays* L.) bitkisinde, şeker, yağ asidi ve hormon

miktarlarının yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile klorofil a/b, karotenoid ve prolin, seviyelerinin ise spektrofotometre ile belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca stoma sayısı, büyüklüğü, kök, gövde, yaprak uzunluğu, kuru-yaş ağırlık oranları gibi morfolojik özellikler belirlenmiştir. Araştırma sonucunda artan tuz konsantrasyonunun morfolojik özellikleri olumsuz yönde etkilediği gözlenirken, ABA uygulanan bitkilerin, SA uygulanan bitkilere göre daha iyi geliştikleri belirlenmiştir. ABA ve SA'nın kök, gövde ve yaprak uzunluğu ile kuru-yaş ağırlık oranını değiştirdiği ancak stoma sayısı ve büyüklüğünü etkilemediği görülmüştür. Tüm ABA uygulamalarında toplam karotenoid miktarı artarken, yalnızca 150 ppm ABA uygulanan bitkide toplam klorofil seviyelerinin arttığı gözlenmiştir. Araştırma sonucunda içsel hormon, şeker ve yağ asidi seviyelerinin hem tuz hemde dışsal hormon uygulaması ile önemli düzeyde değiştiği belirlenmiştir. Prolin seviyesinin uygulanan hormonun konsantrasyonuna göre farklı oranlarda arttığı görülmüştür (Koçer 2007).

Attia vd. tarafından (2009) yılında yapılan çalışmada *Arabidopsis thaliana* bitkisi (Col, Columbia, N1438), iki farklı ışık ve 0-85 mM NaCl içeren ortamda 15 gün boyunca geliştirilmiştir. Sürgünlerin biyokütlesi ve iyon akümüasyonu ölçülmüştür. SOD enzim aktivitesi jel üzerinde, gen ekspresyonu ise real-time PCR kullanılarak çalışılmıştır. Çalışma sonucunda yüksek ışıktaki gelişimin daha fazla olduğu belirlenmiştir. Paralel olarak yüksek ışık koşullarında SOD geninin ekspresyonu Col çeşidinde artarken, N1438 çeşidinde ise azalmıştır. 50 mM tuzda, bitki gelişimi engellenmiş ve karmaşık bir SOD ekspresyon deseni gözlenmiştir. Gen ekspresyonunun ışık rejimine ve çeşitlere göre de farklılık gösterdiği belirtilmiştir. Araştırmada bu farklılığın ışık ve tuzun etkileşimlerinin bir sonucu olduğu düşünülmüştür. Tuz gelişimi engellediğinde, ışık enerjisinin kullanılabilir enerji girişi oluşturduğu, böylece oksidatif stres meydana geldiği ve stresin bazı SOD genlerinin ekspresyonlarının artmasına sebep olduğu hipotezi ortaya konmuştur. Çünkü tuzun ortamdaki artışı yapraklarda Na^+ birikiminin artışı ve K^+ azalışını tetiklemiş ve bu da SOD gen yanıtlarının oluşumunu sağlamıştır.

Hoekstra vd. (2001) yılında derledikleri çalışmada; anhidrobiyozis (susuz yaşam) belirli organizmaların neredeyse tam susuzlukta hayatta kalabilmek için geliştirdikleri bir

yetenek olduğu belirtilmiş, dehidrasyon boyunca olayların koordinasyon içerisinde gerçekleşmesi gerektiği, bunun oksidatif zararların önlenmesi, makromolekül ve membranların doğal yapılarının korunması ile ilişkili olduğu vurgulanmıştır. Ayrıca makromoleküllerin seçici hidrasyonlarının ancak ortamda fazla miktarda su var ise gerekliliği ve yerlerini şekerlerin almasının ise kuraklık sırasında yeniden önem kazandığı vurgulanmıştır. Son dönem bilgilerin derlendiği araştırmada, anhidrobiyozis mekanizmasının hücre yüzeyindeki reseptörlerin azalışı ile kontrol edildiği (downregulation) düşünülmektedir.

Pirker vd. (2003)'de domates meyvelerinin serbest radikal içeriğine; artırılmış ozon seviyesi ve kuraklığın etkilerini elektron paramagnetik rezonans (EPR) spektroskopisi ile araştırmışlardır. Bitkide su eksikliğinde yaprakların stoma iletkenliğindeki azalış görülürken, kuraklık stresi ile kontrol ve aynı varyetenin farklı hasatları arasında sinyal seviyesinde bir farklılık gözlenmemiştir. Çalışılan varyetelerden *Lycopersicon esculentum* cv. Kremser Perle genel olarak diğer iki türe göre yüksek radikal seviyesi gözlenmiştir. Nisbeten düşük stres dönemindeki (≤ 20 d) meyvelerin serbest radikal içeriğinin (hafif ozona maruz kalmış olan), kömür filtreli hava içeren odalarda geliştirilmiş meyvelerden belirgin olarak daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Araştırmada ozon seviyesinin ~ 25 d'nin üzerinde olduğu meyvelerde ise serbest radikal seviyesinin benzer olduğu gözlenmiştir.

Xiong vd. (2006) bitkilerde kuraklık stresi sırasındaki sinyal iletim mekanizmasının karmaşık olması sebebiyle, kuraklığa karşı geliştirilen tolerans henüz açıklanamamıştır. Çalışma sırasında kuraklık toleransı fenotipik açıdan araştırıldığında yan kök gelişiminin inhibe edildiği tespit edilmiştir. Bu cevabın kısmen absisik asitten kaynaklandığı düşünülmüştür. Araştırmada; *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana*) kullanılarak tasarlanmış ve yan kök gelişimi kuraklıkla inhibe olmuş mutantlar (dig) izole edilmiş ve kuraklık stresi altında incelenmiştir. Sonuç olarak yan kök gelişimindeki inhibisyonun kuraklığa adaptasyon ile ilişkisi bu araştırma ile netleşmiştir.

Bir diğer çalışmada, absisik asit (ABA) ve/veya kalsiyum (Ca^{2+}) uygulamalarının kuraklık stresi koşullarında bazı fizyolojik parametreler (kök uzunluğu, gövde

uzunluğu, oransal su içeriği (OS), klorofil içeriği, antioksidant savunma sistemi (antioksidant enzimler, askorbat, pigment içerikleri) ve lipid peroksidasyonu üzerine etkileri *Lycopersicon esculentum* Mill. ve *Lycopersicon chilense*'de (LA1972, kuraklığa toleranslı) incelenmiştir. Çalışma sonunda elde edilen bulgulara göre; kuraklık stresinde kök ve gövde uzunluğu azalırken, Ca^{2+} uygulandığında bu inhibisyonun azaldığı belirlenmiştir. Çalışmada, her iki domates türünde de OS kuraklık stresinde azalırken, bu azalma kuraklığa nispi duyarlı *L.esculentum*'da daha belirgin bulunmuştur. Kuraklık stresinde ABA veya Ca^{2+} uygulaması OS'ndeki inhibisyonu azaltmıştır. ABA veya Ca^{2+} uygulamasının besinci gününde; hem stres altında hem de stressiz koşullarda kuraklığa toleranslı *L.chilense*'de klorofil içeriğinde belirgin bir artış gözlenmiş, buna karşılık, *L.esculentum*'da klorofil içeriğinde azalma tespit edilmiştir. *L.chilense*'de ABA ve/veya kuraklık uygulamaları β -karoten içeriğini yaklaşık iki kat arttırmıştır. ABA+ Ca^{2+} ve kuraklık uygulamalarında kuraklığa toleranslı olan *L.chilense*'nin kuraklığa nispi duyarlı *L.esculentum*'a göre özellikle uygulamanın besinci gününde süperoksit dismutaz (SOD) ve askorbat peroksidaz (APX) enzim aktivitelerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Malondialdehit (MDA) içeriğinin uygulamanın besinci gününde kuraklığa nispi duyarlı olan türde Ca^{2+} , kurak+ Ca^{2+} ve kurak+ABA+ Ca^{2+} uygulamalarında daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Her iki domates türünde de ABA ve Kurak+ABA uygulamalarında askorbat içeriği azalırken, Ca^{2+} ve kuraklık uygulamalarında *L.chilense*'de uygulamanın birinci gününde ve *L.esculentum*'da uygulamanın besinci gününde askorbat içeriği belirgin bir şekilde arttığı gözlenmiştir (Güzel 2006).

Gökmen (2006) tez çalışmasında; 137 farklı domates genotipinin düşük sıcaklıklardaki kuru madde verim kapasitesi belirlenmiştir. Duyarlı ve dayanıklı genotiplerde, toksik O_2 radikallerinin, antioksidant bileşiklerin ve enzimlerin (antioksidatif savunma sistemlerinin) rolü araştırılmıştır. Deneme sonucunda; düşük sıcaklığın genç ve yaşlı yapraklarda farklı fizyolojik değişimler oluşturduğu ve özellikle duyarlı genotiplerin yaşlı yapraklarında klorofil içeriğinin azaldığı görülmüştür. Hidrojen peroksit, salisilik asit vb. oksidatif stres artırıcıların düşük sıcaklıkta kuru madde kaybını bazı genotiplerde arttırırken bazılarında ise azalttığı belirtilmiştir. Elde edilen sonuçlar, düşük sıcaklık stresine karşı dayanıklılıkta domates genotipleri arasında önemli bir

varyasyonun bulunduğunu göstermiştir. Ancak soğuk etkinliğindeki söz konusu farkları açıklamada antioksidatif sistemlerin yetersiz kaldığı düşünülmüştür.

Sung vd. (2003) yılında, sıcaklık stresine karşı edinilen tolerans ile ilgili bilgileri derlemişlerdir. Sıcaklık stresine karşı edinilen tolerans, koruma mekanizmasının temelini oluşturur. Toleransın gelişmesini sağlayan bazı başlatıcılar ve edinilen toleransın belirteçleri, stres sinyal iletim yollarının anahtar komponentleri olarak son veriler ile açığa çıkmış ve tanımlanmıştır. Yüksek ve düşük sıcaklık streslerinin farklı metabolik yolları etkilemelerine rağmen, edinilen tolerans geneli kapsar. Transkriptom çalışmaları ve diğer genomik ölçekli yaklaşımlar gen keşiflerinin hızlanması sağlamıştır.

Karabal vd. (2003) yılı araştırmalarında, bor stresine toleranslı ve duyarlı iki arpa genotipine 5-10 mM borik asit uygulanmış, kök ve sürgün dokularında gelişim parametreleri (kuru-yaş ağırlık), protein, prolin, MDA, H₂O₂ içeriği, membranda meydana gelen hasarlar ve antioksidant enzim aktiviteleri (SOD, APX, CAT, GR) incelenmiştir. Sürgün dokularındaki toplam SOD, CAT ve GR aktiviteleri önemli oranda değişmezken, 10 mM borik asit uygulaması ile APX aktivitesinin oldukça yükseldiği gözlemlenmiştir. Duyarlı çeşitlerin kök dokusunda, toplam SOD ve CAT aktivitesi artarken, GR aktivitesi belirgin şekilde düşmüştür. Toleranslı çeşitlerin kök dokularında ise CAT aktivitesi artarken, APX aktivitesi azalmış, toplam SOD ve GR aktivitelerinde ise değişiklik görülmemiştir. Çalışma sonucunda, bor stresinin arpada yapraklarda membran yapısına zarar verdiği gözlenmiş ve bor stresine karşı geliştirilen tolerans mekanizmasının antioksidant enzim aktivitesi ile doğrudan ilişkili olmadığı vurgulanmıştır.

3 MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Deney Materyalinin Eldesi

Araştırmamızda Beta Ziraat ve Ticaret A.Ş. Ankara’ dan temin edilmiş Falcon çeşidi *Lycopersicum esculentum* Mill. (domates) tohumları yüzey sterilizasyonunun ardından kurutma kağıtları üzerinde çimlendirilmiştir. 25 günlük fide haline gelinceye dek Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Merkez Laboratuvarına ait İklim ve geliştirme odasında aşağıda içeriği verilen Hogland besi ortamı içerisinde geliştirilerek stres aşamasında kullanılacak olan fideler temin edilmiştir.



Şekil 3.1 Bitki iklim ve geliştirme odası

3.2 Besi Ortamının Hazırlanması

Falcon çeşidi *Lycopersicum esculentum* Mill. (domates) tohumları 25 gün süre ile aşağıda içeriği bulunan 1/10 luk Hogland besi ortamı içerisinde geliştirilmiştir. Buna göre çözeltideki son iyon konsantrasyonları 2mM Ca, 10^{-6} M Mn, 4mM NO_3 , $2 \cdot 10^{-7}$ M Cu, 1mM Mg, 10^{-8} M NH_4 , 2mM K, 10^{-6} M Zn, 0.2 mM P, 10^{-4} M Fe ve 10^{-6} M B olacak şekilde; makro besin içerikleri; K_2SO_4 (15.7 g), KH_2PO_4 (2.7 g), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (24 g), $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (47.23 g) ve KCl(0.0746 g) ayrı ayrı 2’ler L dH₂O içerisinde çözülmüştür. Böylece 10 L 10X makro besin elementi hazırlanmıştır. Mikro besin içerikleri; H_3BO_3 (0.124 g), MnSO_4 (0.066 g), $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0.100 g), NH_4Mo (0.048

g), $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.1553 g) 1 L dH₂O içerisinde çözündürülmüştür. Her 10 L 10X makro besin elementi için 50 ml makro besin elementi karıştırılmış ve hazırlanan bu çözelti 1/10 seyreltilerek ve her 1L 1X konsantrasyondaki solüsyona 1 ml 1000 X FeEDTA solüsyonundan eklenerek kontrol çalışma ortamı olarak kullanılmıştır (1000 X FeEDTA hazırlayabilmek için 365 g FeEDTA 1 L dH₂O içerisinde çözündürülmüştür).

3.3 Stres Uygulamaları

3.3.1 100 mM tuz stresi

Her 5 lt 1/10 Hogland besi ortamı içerisine NaCl'nin son konsantrasyonu 100 mM olacak şekilde 29,22 g NaCl eklenmiştir. Veisacor marka Vapro (Vapor Pressure Osmometer) 5520 cihazının 100, 200, 1000 mmol/kg basınç oluşturan OPTI- MOLETM osmolalite standartlar aracılığı ile kalibrasyonunun ardından, elde edilen solüsyonun osmotik basıncı yaklaşık 190 mmol/kg olarak tespit edilmiştir. Her kap içerisinde 10 fide olacak şekilde 25 günlük bitkiler 100 mM NaCl içeren 7 kap içerisine alınmış ve Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Merkez Laboratuvarına ait iklim ve geliştirme odasında tutulmaya devam edilmiştir. 0., 3., 6., 9., 12., 24., 48. saatlerde örneklerin alımı gerçekleştirilmiştir.

3.3.2 150 mM tuz stresi

Her 5 lt 1/10 Hoğland besi ortamı içerisine NaCl'nin son konsantrasyonu 150 mM olacak şekilde 43,83 g NaCl eklenmiştir. Elde edilen solüsyonun osmotik basıncı Veisacor marka Vapro (Vapor Pressure Osmometer) 5520 cihazı ile ise yaklaşık 290 mmol/kg olarak tespit edilmiştir. Her kap içerisinde 10 fide olacak şekilde 25 günlük bitkiler 100 mM NaCl içeren 7 kap içerisine alınmış ve Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Merkez Laboratuvarına ait iklim ve geliştirme odasında tutulmaya devam edilmiştir. 0., 3., 6., 9., 12., 24., 48. saatlerde örneklerin alımı gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.2 Veisacor marka Vapro (Vapor Pressure Osmometer) 5520 cihazı, standartları ve kullanımı

3.3.3 100 mM tuz stresine eş PEG stresi

Kuraklık stresi uygulaması için 1/10'luk kontrol Hoğland besi ortamına 100 mM NaCl ile eş osmotik basıncı oluşturacak miktarda PEG 6000 (Polietilen Glikol) miktarları belirlenmiş ve böylece kuraklık ve tuz stresleri dengeli olarak uygulanmıştır. Bunun için PEG 6000 besin solüsyonuna düşük miktarlarda eklenip belirli aralıklarla osmotik basıncı ölçülmüş ve 100 mM NaCl ile aynı osmotik basıncı oluşturan madde miktarı tespit edilmiştir (%15,955). Kuraklık stresi için hazırlanan solüsyon benzer şekilde 25 günlük bitkilere 48 saat süre ile uygulanmış ve tuz stresi ile eş zamanlı olarak örneklem alımı yapılmıştır.

3.3.4 150 mM tuz stresine eş PEG stresi

Kuraklık stresi uygulaması için 1/10'luk kontrol Hoğland besi ortamına 150 mM NaCl ile eş osmotik basıncı oluşturacak miktarda PEG 6000 miktarları belirlenmiş ve böylece kuraklık ve tuz stresleri dengeli olarak uygulanmıştır. Bunun için PEG 6000 besin solüsyonuna düşük miktarlarda eklenip belirli aralıklarla osmotik basıncı ölçülmüş ve 150 mM NaCl ile aynı osmotik basıncı oluşturan madde miktarı tespit edilmiştir

(%23,93). Kuraklık stresi için hazırlanan solüsyon benzer şekilde 25 günlük bitkilere 48 saat süre ile uygulanmış ve tuz stresi ile eş zamanlı olarak örneklem alımı yapılmıştır.

3.3.5 Soğuk stresi

Soğuk stresi uygulaması için 1/10 luk kontrol Hoğland Besi ortamında 25 gün süre ile geliştirilmiş bitkicikleri kullanılmıştır. İklim odasına eş olarak ışık içeren +4 °C'lik soğuk odaya alınan bitkiler 10 gün süre bu ortamda tutulmuş ve 0., 2., 4., 6., 8., 10. günlerde örneklem alımı gerçekleştirilmiştir.

Farklı stres uygulamalarından alınan tüm bitki örnekleri, örneklerin alımının hemen ardından Ribonükleik Asit (RNA) izolasyonlarında kullanılmak üzere -80 °C'lik sıvı azota batırılmış ve ani bir şekilde dondurularak RNA'nın istikrarlı kalması sağlanmış ve izolasyon işlemine kadar -80 °C'lik soğuk dolapta muhafaza edilmiştir. Alınan bu örneklerle ait liste çizelge 3.1'de olduğu gibidir.

Çizelge 3.1. Stres uygulaması yapılan örneklerin isimleri

Numara	Uygulanan Stres	Numara	Uygulanan Stres
1	Tuz 100mM kontrol	18	PEG 100 mM 9 saat
2	Tuz 100mM 3 saat	19	PEG 100 mM 12 saat
3	Tuz 100mM 6 saat	20	PEG 100 mM 24 saat
4	Tuz 100mM 9 saat	21	PEG 100 mM 48 saat
5	Tuz 100mM 12 saat	22	PEG 150 mM kontrol
6	Tuz 100mM 24 saat	23	PEG 150 mM 3 saat
7	Tuz 100mM 48 saat	24	PEG 150 mM 6 saat
8	Tuz 150mM kontrol	25	PEG 150 mM 9 saat
9	Tuz 150mM 3 saat	26	PEG 150 mM 12 saat
10	Tuz 150mM 6 saat	27	PEG 150 mM 24 saat
11	Tuz 150mM 9 saat	28	PEG 150 mM 48 saat
12	Tuz 150mM 12 saat	29	Soğuk kontrol
13	Tuz 150mM 24 saat	30	Soğuk 2 gun
14	Tuz 150mM 48 saat	31	Soğuk 4 gun
15	PEG 100 mM kontrol	32	Soğuk 6 gun
16	PEG 100 mM 3 saat	33	Soğuk 8 gun
17	PEG 100 mM 6 saat	34	Soğuk 10 gun

3.4 RNA İzolasyonu

Muhafaza edilen bu örneklerden RNA izolasyonu Trizol protokolüne göre gerçekleştirilmiştir (Chomczynski ve Mackey, 1995).

Buna göre:

1. Örnekler sıvı azotta ezilir.
2. 2 ml'lik tüpe 1ml trizol eklenir.
3. Üzerine 300-500 mg örnek eklenir.
4. Elle tüp kuvvetli bir şekilde sallanarak karışım sağlanır, vortekslenir ve örnekler oda sıcaklığında 10 dk bekletilir.
5. Üzerine 250 µl kloroform eklenir ve karıştırılır.
6. Oda sıcaklığında 10 dk bekletilir.
7. 14.000 rpm de 4°C de 10 dk santrifüj edilir ve üst sıvı yeni bir tüpe aktarılır.
8. Üzerine 250 µl 1.2 M NaCl, 250 µl 0.8 M Na-sitrat ve 250 µl izopropanol eklenir.
9. 10 dk oda koşullarında (tercihen -20°C de 10 saat veya gece boyu) bekletilir.
10. 14.000 rpm de 4°C de 10 dk santrifüj edilir, üst sıvı atılır (pellet bu aşamada tüp dibinde görülmelidir.)
11. Pellet %70'lik EtOH ile yıkanır ve dikkatlice kututulur.
12. 20-50 µl DEPC muamele edilmiş suda çözündürülür.

3.5 RNA Pürifikasyon (Saflaştırma) Yöntemi

Trizol protokolüne göre izole edilen RNA'lar Rneasy Mini Kit (Qiagen, Cat no: 74104) kullanılarak saflaştırılmış ve Nonodrop spektrometre aracılığı ile saflık ve miktar tayini yapılmış ve cDNA sentezi için kullanılmıştır.

3.6 cDNA (Komplementer DNA) Sentezi

cDNA sentezi Transcriptor High Fidelity cDNA Synthesis Kit (Roche) kullanılarak aşağıdaki şekilde gerçekleştirilmiştir. Bu aşamada farklı cDNA sentez primerleri olan RandomHexamer Primer ve Anchored- oligo(dT)₁₈ ayrı ayrı denenmiştir. Ayrıca saf

RNA miktarı için 1ng ile 4 µg arasında farklı miktarlar denenmiş ve elde edilen cDNA örneklerinde saflık ve miktar tayini yapılmıştır. Hem süperoksid dismutaz (SOD) hem de çalışmada housekeeping gen olarak yer alan aktin(ACT) gen bölgelerinin uzunluklarının 500 bp'den büyük olması nedeniyle Anchored-oligo(dT)₁₈ primeri kullanılmıştır. Buna göre uygulanan yöntem aşağıda verilmiştir.

2µg saf total RNA

1 µl Anchored- oligo(dT)₁₈

PCR-ayarı su

Toplam: 11.4 µl olacak şekilde karıştırılarak ve 65 °C'de 10 dk tutulduktan sonra buz üzerine alınmıştır.

Transcriptor High Fidelity cDNA Synthesis Kit içerisinde bulunan;

1X Transcriptor High Fidelity Reverse Transcriptase Reaction Buffer (yüksek kesinlikte ters transkriptaz reaksiyon tamponu)

20 U Protector Rnase Inhibitor (RNaz inhibitör koruyucu)

1 mM deoksinükleotid karışımı

5mM DTT (Dithiothreitol) (Enzim stabilizatörü)

10 U Transcriptor High Fidelity Reverse Transcriptase (yüksek kesinlikte ters transkriptaz)

Olacak şekilde toplam: 8,6 µl hacminde bir karışım hazırlanmıştır

Bu karışım buz üzerinde bekletilmekte olan ve RNA, Anchored- oligo(dT)₁₈ ve PCR-ayarı su içeren karışımın üzerine eklenir ve yeniden aşağıdaki protokol ile Biorad marka Isı döngü cihazına yerleştirilir.

55 °C 30dk

85 °C 5dk

+4 ∞

Sentez sonrası elde edilen cDNA'larda saflık ve miktar tayini Nanodrop ND-1000 Spectrometr aracılığı ile belirlenmiştir.

3.7 Real-time PCR Uygulaması

Bu basamağın gerçekleştirilebilmesi için öncelikle Süperoksid Dismutaz (SOD) ve Actin (ACT) genlerine ait diziler NCBI'dan temin edilmiş ve primer ve prob tasarımı gerçekleştirilmiştir (<http://ncbi.nlm.nih.gov>). Süperoksid Dismutaz (SOD) dizisi aktif oksijenlerin etkilerinin ortadan kaldırılmasında fonksiyon gören Cu-Zn SOD, FeSOD, MnSOD enzimlerinin tam mRNA dizisidir.

Süperoksid dismutaz genine ait hem yaprak hem de gövdede fonksiyon gören 518 baz uzunluğundaki dizi aşağıdaki gibi belirlenmiştir.

```
GTATGTCTACAGGAGCCCATTTTAATCCGAATAAATTGACACATGGAGCTCC
TGGAGATGAAATCCGTCATGCGGGTGACCTGGGAAACATAGTGGCCAATGC
CGATGGCGTGGCTGAGTGACACTTGTAGATAATCAGATACCATTGACCGGT
CCAAACTCAGTTGTTGGACGAGCACTTGTGGTTCATGAGCTTGAGGATGACC
TCGGAAAGGGTGGCCATGAACTCAGTCTTACCACTGGCAATGCTGGTGGAC
GATTGGCATGCGGTGTGGTTGGTTTGACTCCAATATGAAGTAAATGCAGCA
GCAACAACAGCTCTTTTGTTCGGAATTATAATGAGTGAACGTATTTACCCTCC
TCTCCGGGTTGCAATAAACCTCTACATGAATTTGTACTGAGAAATTCTTTGA
TGAACTAAATTTGAACTTGTATGTACACACTTGCCAACACTTTTTTGCTTCA
AAACTGTAATTGGAGTTGGCTATTTACCTTCCTTTGTGTTTTGGCTATCTAA
( NCBI, Entrez Gene ID: 543981)
```

Aktin genine ait 460 baz uzunluğundaki dizi aşağıdaki gibi belirlenmiş ve bu diziye uyan prob dizileri tespit edilmiştir.

```
AAGGTTGTTGCACCACCTGAGAGGAAGTACAGTGTCTGGATTGGAGGATCC
ATTCTTGCATCCCTCAGCACATTCCAGCAGATGTGGATCTCAAAGGGCGAGT
ATGATGAGTCTGGTCCTTCCATTGTCCACAGAAAGTGCTTCTAAGGTGCTGC
TATAATTACTTAAAAGTGCGAGTGTCTGTCTGTTTCCCGGTTTTGCTATTAT
GTTGCCAGTCAATTTGTTTTTTTGATGGGATGGAGAAGTTTGGTGGTGGGGG
CTATGAATGCACGGTAGCAAACAACAGATTGCCAGTATTATCTCATGTTTCC
ATTTAATGTGGTTAATATTCTCTACATACTTGAGAGGTGCCTGATGCATTGC
CCTCTTCTGTCTGGCTACACCATCCCTTGGTCGAAGCGTCTCTTTTTTAGGTT
```

GTGGTAGTTGAAGGAGAGTGATTGTGATGTTTTCTCCTCGTC (NCBI Entrez Gene ID: 543519)

Çalışma döneminde SOD(Süperoksid Dismutaz) ve ACT (Aktin)'e ait diziler ile primer ve prob tasarımı gerçekleştirilmiştir. Buna göre bu gen bölgeleri için tasarlanan primer prob dizileri aşağıdaki gibidir.

Çizelge 3.2. Primer ve Prob Dizileri

SOD S İLERİ	<i>CTTGAGGATGACCTCGGAAA</i>
SOD F İLERİ	<i>GAGCTTGAGGATGACCTCG</i>
SOD R GERİ	<i>CCGGAGAGGAGGGTAAATAC</i>
SOD A GERİ	<i>TGTTGCTGCTGCATTTACTTC</i>
SOD FL	<i>TGCCAATCGTCCACCAGCAT-FL</i>
SOD LC 640	<i>GCCAGTGGTAAGACTGAGTTCATGGCC P</i>
AKTİN S İLERİ	<i>TCTGTTTCCCGGTTTTGCTATTAT</i>
AKTİN F İLERİ	<i>CATTGTCCACAGAAAGTGCTTCTA</i>
AKTİN R GERİ	<i>TGCATCAGGCACCTCTCAAG</i>
AKTİN A GERİ	<i>AACCACATTAAATGGAAACATGAGAT</i>
AKTİN FL	<i>ATTCATAGCCCCCACCACCAAAC-FL</i>
AKTİN LC 640	<i>TCTCCATCCCATCAAAAAACAAATTGACT P</i>

Primer- prob tasarımlarında gösterildiği gibi gen üzerinde iki adet ileri (F ve S) ve iki adet geri (R ve A) primer ile florasan ışıma sağlayan iki adet prob (FL ve LC) yer almaktadır.

PCR reaksiyonu Light Cycler 480 (Roche) aracılığı ile gerçekleştirilmiştir. Oluşturulacak en uzun amplikondan başlayarak bu primerlere ait tüm kombinasyonlar hem SOD hem de ACT genleri için denenmiş ve en iyi çoğalım sağlayan primer setleri belirlenmiştir. Buna göre hem Actin hem de SOD için en iyi primer setlerinin S (ileri) ve R (geri) primerleri olduğu belirlenmiştir. Kantitasyon (miktar belirleme) çalışması için öncelikle bu primer setleri ve oluşturulan cDNA'lerden biri kullanılarak bir standart eğri grafiği oluşturulmuştur. cDNA standart eğri grafiklerinin oluşturulmasının ardından

Real Time PCR yöntemi ile kantitasyon (miktar belirleme = gen ekspresyonu miktarı belirleme) çalışması aşağıdaki prosedür ile gerçekleştirilmiştir.

Ayarlanmış cDNA kalıbı

0.25 pM S primeri

0.25 pM R primeri

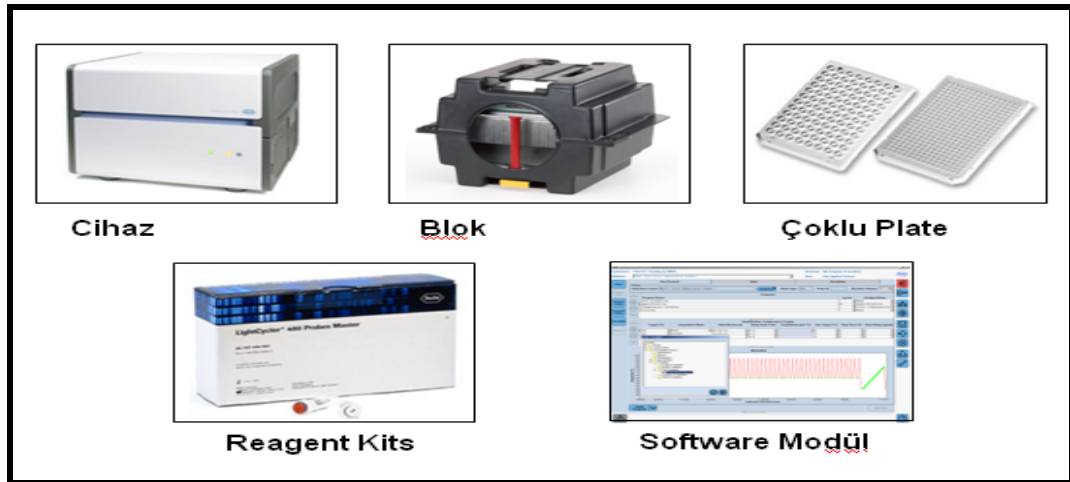
0.0225 pM FL

0.0225 pM LC

1X LightCycler 480 Probe Master

Ayarlanmış PCR suyu

Toplam 20 µl olacak şekilde PCR reaksiyonu hazırlanmış ve Light Cycler 480 cihazına yüklenmiştir.



Şekil 3.3. Real Time PCR (Light Cycler 480) cihaz ve ekipmanları

Real Time PCR işlemi sonrasında her iki gen için de her stres koşuluna ait farklı zamanlarda alınmış örneklerde polimeraz zincir reaksiyonu eş zamanlı olarak izlenmiş ve pik profili olarak kaydedilmiştir. Ct değeri polimeraz zincir reaksiyonuna ait pik profilinde logaritmik artış fazına geçilen döngüyü (ilk noktayı) ifade eder. Ct (Cycle Threshold) değerleri pik profilleri aracılığı ile belirlenmiştir. Belirlenen bu Ct değerleri ve her iki gen için de oluşturulmuş olan standart eğri grafikleri aracılığı ile sentezlenen gen ürünlerinin konsantrasyonları kantitatif olarak tespit edilmiştir.

3.8 İstatistiksel Hesaplamalar

Verilerinin istatistiksel olarak değerlendirmesi Livak ve Schmittgen 2001'e ait $2^{-\Delta\Delta CT}$ yöntemine göre ve tek yönlü varyans analizine (Dunnett) göre yapılmıştır. Bu yolla stres uygulamalarında farklılaşan gen ekspresyon (konsantrasyon ve Ct değeri olarak belirlenmiş) sonuçları Housekeeping gen olan Aktin ve kontrol koşullarına göre anlamlılık dereceleri belirlenmiştir.

4 BULGULAR

4.1 Stres Uygulamaları

Falcon çeşidi *Lycopersicum esculentum* Mill. (domates) tohumları 25 gün süre ile 1/10 luk Hogland besi ortamı içerisinde geliştirilmiştir. Geliştirilen bitkilere 100 mM NaCl, 150 mM NaCl, 100 mM tuz stresine eş kuraklık stresi, 150 mM tuz stresine eş kuraklık stresi ve soğuk stresi uygulanmış ve farklı zamanlarda alınan örnekler -80 °C'lik sıvı azota batırılarak derin dondurucuda saklanmıştır. 100 mM NaCl stresi altında geliştirilen *Lycopersicum esculentum* L. bitkilerine ait görüntüler aşağıda verilmiştir.



Şekil 4.1 100 mM NaCl stresi kontrol bitkisinin görüntüsü



Şekil 4.2 100 mM NaCl stresi 3. saat bitkisinin görüntüsü



Şekil 4.3. 100 mM NaCl stresi 6. saat bitkisinin görüntüsü



Şekil 4.4. 100 mM NaCl stresi 9. saat bitkisinin görüntüsü



Şekil 4.5 100 mM NaCl stresi 12. saat
bitkisinin görüntüsü



Şekil 4.6 100 mM NaCl stresi 24. saat
bitkisinin görüntüsü



Şekil 4.7 100 mM NaCl stresi 48. saat
bitkisinin görüntüsü

150 mM NaCl stresi altında geliştirilen *Lycopersicum esculentum* L. örnekleri aşağıdaki gibidir.



Şekil 4.8 150 mM NaCl stresi kontrol bitkisinin görüntüsü



Şekil 4.9 150 mM NaCl stresi 3. saat bitkisinin görüntüsü



Şekil 4.10 150 mM NaCl stresi 6. saat bitkisinin görüntüsü



Şekil 4.11 150 mM NaCl stresi 9. saat bitkisinin görüntüsü



Şekil 4.12 150 mM NaCl stresi 12. saat
bitkisinin görüntüsü



Şekil 4.13 150 mM NaCl stresi 24. saat
bitkisinin görüntüsü



Şekil 4.14 150 mM NaCl stresi 48. saat
bitkisinin görüntüsü

100 mM tuz stresine eş kuraklık stresi altında geliştirilen *Lycopersicum esculentum* L. örnekleri aşağıdaki gibidir.



Şekil 4.15 100 mM Tuz stresine eş PEG stresi kontrol bitkisinin görüntüsü



Şekil 4.16 100 mM Tuz stresine eş PEG stresi 3. saat bitkisinin görüntüsü



Şekil 4.17 100 mM Tuz stresine eş PEG stresi 6. saat bitkisinin görüntüsü



Şekil 4.18 100 mM Tuz stresine eş PEG stresi 9. saat bitkisinin görüntüsü



Şekil 4.19 100 mM Tuz stresine eş
PEG stresi 12. saat bitkisinin
görüntüsü



Şekil 4.20 100 mM Tuz stresine eş
PEG stresi 24. saat bitkisinin
görüntüsü



Şekil 4.21 100 mM Tuz stresine
PEG stresi 12. saat bitkisinin
görüntüsü

150 mM tuz stresine eş kuraklık stresi altında geliştirilen *Lycopersicum esculentum* L. örnekleri aşağıdaki gibidir.



Şekil 4.22 150 mM Tuz stresine eş
PEG stresi kontrol bitkisinin
Görüntüsü



Şekil 4.23 150 mM Tuz stresine eş
PEG stresi 3. saat bitkisinin
görüntüsü



Şekil 4.24 150 mM Tuz stresine eş
PEG stresi 6. saat bitkisinin
görüntüsü



Şekil 4.25 150 mM Tuz stresine eş
PEG stresi 9. saat bitkisinin
görüntüsü



Şekil 4.26 150 mM Tuz stresine eş
PEG stresi 12. saat bitkisinin
görüntüsü



Şekil 4.27 150 mM Tuz stresine eş
PEG stresi 24. saat bitkisinin
görüntüsü



Şekil 4.28 150 mM Tuz stresine eş
PEG stresi 48. saat bitkisinin
görüntüsü

150 mM tuz stresine eş kuraklık stresi altında geliştirilen *Lycopersicum esculentum* L. örnekleri aşağıdaki gibidir.



Şekil 4.29 Soğuk stresi kontrol bitkisinin görüntüsü



Şekil 4.30 Soğuk stresi 2. gün bitkisinin görüntüsü



Şekil 4.31 Soğuk stresi 4. gün bitkisinin görüntüsü



Şekil 4.32 Soğuk stresi 6. gün bitkisinin görüntüsü



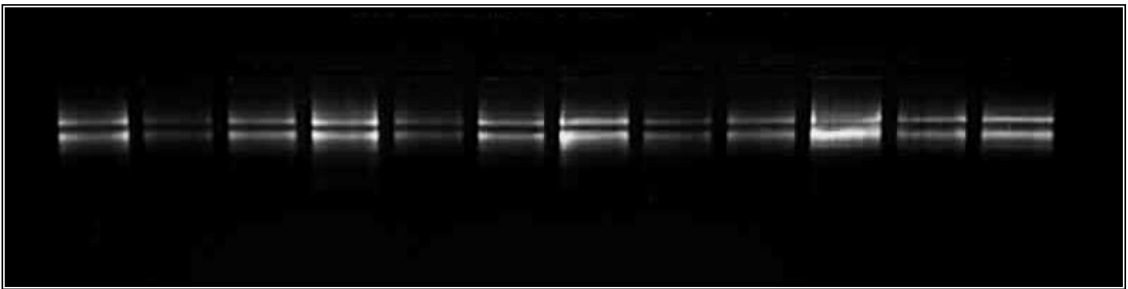
Şekil 4.33 Soğuk stresi 8. gün bitkisinin görüntüsü



Şekil 4.34 Soğuk stresi 10. gün bitkisinin görüntüsü

4.2 RNA İzolasyonu

Stres uygulamalarının ardından alınan tüm örnekler RNA izolasyonuna kadar -80°C 'lik derin dondurucularda saklanmış ve RNA izolasyonu Trizol protokolüne göre gerçekleştirilmiştir. İzole edilen RNA'lar %1,2'lik FA (formaldehit agaroz) jelde görüntülenmiş ve ND 1000 Spektrofotometre aracılığı ile miktar ve saflık tayini yapılmıştır ve pürifikasyon için yeterli olan 50–70 μg aralığında olduğu belirlenmiştir. İzole edilen RNA 'lara ait örnek formaldehit agaroz jel görüntüsü Şekil 4.35'deki gibidir.



Şekil 4.35 İzole edilen RNA'lara ait örnek agaroz jel görüntüsü

4.3 cDNA Sentezi

cDNA sentezi Transcriptor High Fidelity cDNA Synthesis Kit (Roche) kullanılarak ve çalışılacak Süperoksid Dismutaz (SOD) ve housekeeping gen olan Aktin'in uzunluklarının 500 bp'den büyük olması nedeniyle Anchored-oligo(dT)₁₈ ile

alışılmıştır. Bu şekilde elde edilen cDNA’ların saflık ve miktar tayinleri izelge 4.1’ de verilmiştir.

Çizelge 4.1 Sentezlenen cDNA’lara ait saflık ve miktar tayinleri

No	Uygulanan Stres	ng/ul	A260	A280	260/280	260/230
1	Tuz 100mM kontrol	2122,23	42,445	22,964	1,85	1,84
2	Tuz 100mM kontrol	2153,72	43,074	23,297	1,85	1,85
3	Tuz 100mM 3. saat	2153,72	43,074	23,185	1,86	1,84
4	Tuz 100mM 3. saat	2166,01	43,32	23,399	1,85	1,84
5	Tuz 100mM 6. saat	2176,98	43,54	23,542	1,85	1,88
6	Tuz 100mM 6. saat	2182,04	43,641	23,564	1,85	1,89
7	Tuz 100mM 9. saat	2153,06	43,061	23,245	1,85	1,89
8	Tuz 100mM 9. saat	2137,91	42,758	23,101	1,85	1,89
9	Tuz 100mM 12. saat	2131,75	42,635	23,112	1,84	1,84
10	Tuz 100mM 12. saat	2080,58	41,612	22,532	1,85	1,84
11	Tuz 100mM 24. saat	2086,63	41,733	22,586	1,85	1,88
12	Tuz 100mM 24. saat	1993,39	39,958	21,132	1,89	1,80
13	Tuz 100mM 48. saat	2123,79	42,476	23,115	1,84	1,91
14	Tuz 100mM 48. saat	2135,12	42,702	23,209	1,84	1,91
15	Tuz 150mM kontrol	2214,85	44,297	23,944	1,85	1,64
16	Tuz 150mM kontrol	2144,88	42,898	23,207	1,85	1,65
17	Tuz 150mM 3. saat	2166,43	43,329	23,457	1,85	1,79
18	Tuz 150mM 3. saat	2177,74	43,555	23,584	1,85	1,79
19	Tuz 150mM 6. saat	2159,18	43,184	23,392	1,85	1,9
20	Tuz 150mM 6. saat	2166,83	43,337	23,464	1,85	1,89
21	Tuz 150mM 9. saat	2127,96	42,559	23,035	1,85	1,89
22	Tuz 150mM 9. saat	2140,24	42,805	23,164	1,85	1,89
23	Tuz 150mM 12. saat	2149,69	42,994	23,349	1,84	1,92
24	Tuz 150mM 12. saat	2144,53	42,891	23,352	1,84	1,92
25	Tuz 150mM 24. saat	2153,14	43,063	23,362	1,84	1,83
26	Tuz 150mM 24. saat	2154,75	43,095	23,355	1,85	1,83

Çizelge 4.1 Sentezlenen cDNA'lara ait saflık ve miktar tayinleri (devam)

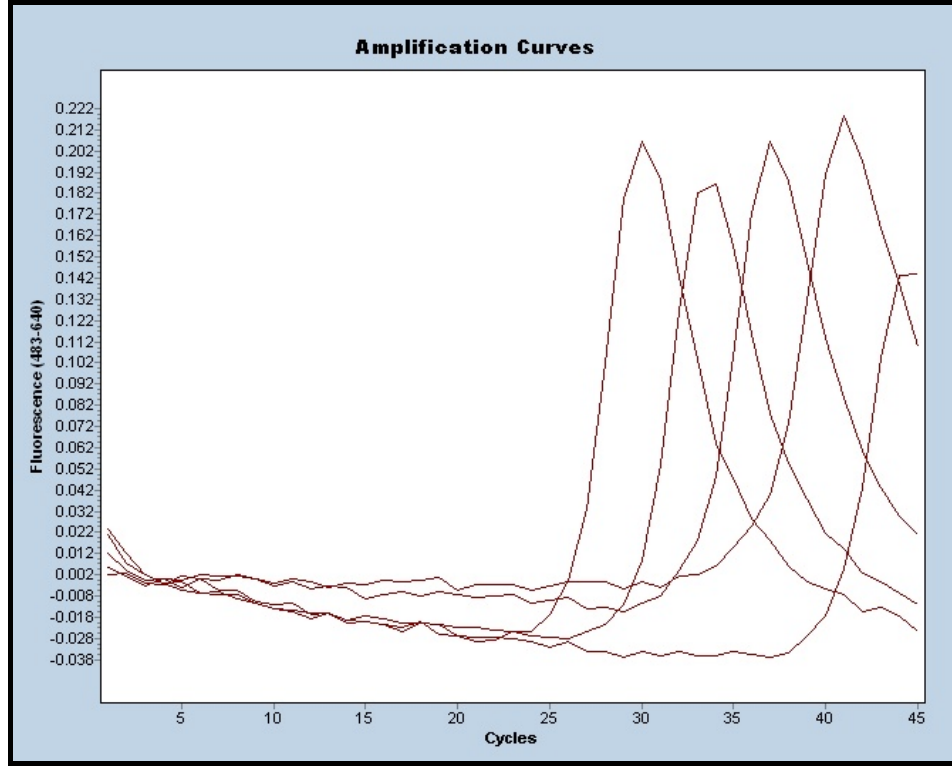
No	Uygulanan Stres	ng/ul	A260	A280	260/280	260/230
27	Tuz 150mM 48. saat	2135,42	42,708	23,217	1,84	1,88
28	Tuz 150mM 48. saat	2131,75	42,635	23,112	1,84	1,84
29	PEG 100 mM kontrol	1981,17	39,623	21,362	1,85	1,93
30	PEG 100 mM kontrol	1904,58	38,092	20,182	1,89	1,85
31	PEG 100 mM 3. saat	2047,56	40,951	21,948	1,87	1,89
32	PEG 100 mM 3. saat	2252,84	45,057	23,861	1,89	1,87
33	PEG 100 mM 6. saat	1996,39	39,928	21,332	1,87	1,81
34	PEG 100 mM 6. saat	1933,65	38,673	20,459	1,89	1,86
35	PEG 100 mM 9. saat	2000,08	40,002	21,432	1,87	1,91
36	PEG 100 mM 9. saat	2225,22	44,504	23,472	1,9	1,77
37	PEG 100 mM 12. saat	1985,92	39,718	21,225	1,87	1,72
38	PEG 100 mM 12. saat	1930,24	38,605	20,437	1,89	1,84
39	PEG 100 mM 24. saat	1978,47	39,569	21,225	1,86	1,89
40	PEG 100 mM 24. saat	1936,17	38,723	20,473	1,89	1,85
41	PEG 100 mM 48. saat	1973,99	39,48	21,08	1,87	1,73
42	PEG 100 mM 48. saat	1936,17	38,723	20,473	1,89	1,85
43	PEG 150 mM kontrol	2009,37	40,187	21,557	1,86	1,87
44	PEG 150 mM kontrol	2168,29	43,366	22,872	1,9	1,85
45	PEG 150 mM 3. saat	1980,56	39,611	21,249	1,86	1,81
46	PEG 150 mM 3. saat	1933,65	38,673	20,459	1,89	1,86
47	PEG 150 mM 6. saat	2009,01	40,18	21,5	1,87	1,9
48	PEG 150 mM 6. saat	2190,77	43,815	23,209	1,89	1,87
49	PEG 150 mM 9. saat	1999,41	39,988	21,399	1,87	1,84
50	PEG 150 mM 9. saat	1885,02	37,7	19,97	1,89	1,85
51	PEG 150 mM 12. saat	2010,06	40,201	21,528	1,87	1,7
52	PEG 150 mM 12. saat	2222,07	44,441	23,528	1,89	1,87
53	PEG 150 mM 24. saat	2001,31	40,026	21,394	1,87	1,72
54	PEG 150 mM 24. saat	2198,63	43,973	23,241	1,89	1,87
55	PEG 150 mM 48. saat	2014,13	40,283	21,556	1,87	1,88

Çizelge 4.1 Sentezlenen cDNA'lara ait saflık ve miktar tayinleri (devam)

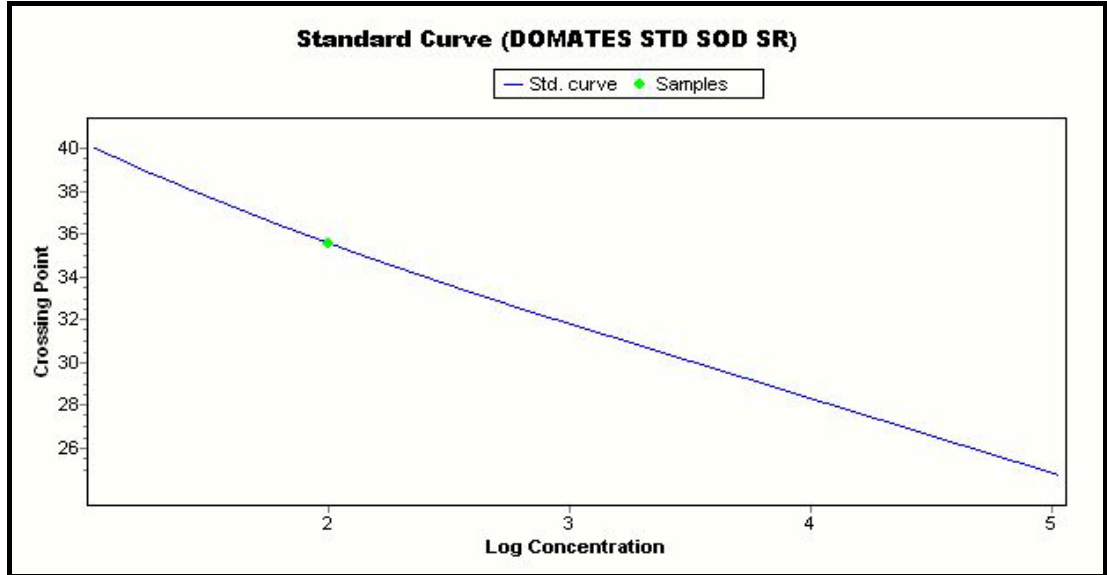
No	Uygulanan Stres	ng/ul	A260	A280	260/280	260/230
56	PEG 150 mM 48. saat	2164,38	43,288	22,922	1,89	1,86
57	Soğuk kontrol	1958,29	39,166	20,77	1,89	1,85
58	Soğuk kontrol	1936,17	38,723	20,473	1,89	1,85
59	Soğuk 2. gun	1929,79	38,596	20,469	1,89	1,86
60	Soğuk 2. gun	1933,65	38,673	20,459	1,89	1,86
61	Soğuk 4. gun	1895,22	37,904	20,116	1,88	1,85
62	Soğuk 4. gun	1885,02	37,7	19,97	1,89	1,85
63	Soğuk 6. gun	1926,2	38,524	20,493	1,88	1,87
64	Soğuk 6. gun	1926,07	38,521	20,357	1,89	1,85
65	Soğuk 8. gun	1896,94	37,939	20,159	1,88	1,87
66	Soğuk 8. gun	1885,02	37,7	19,97	1,89	1,85
67	Soğuk 10. gun	1900,4	38,008	20,202	1,88	1,8
68	Soğuk 10. gun	1918,45	38,369	20,324	1,89	1,85

4.4 Real-time PCR Uygulaması

Real- time PCR uygulaması Light Cycler 480 (Roche) cihazında gerçekleştirilmiş ve konsantrasyonlar standart eğri metodu ile hesaplanmıştır. Konsantrasyonların hesaplanabilmesi için cDNA seri dilüsyonlarından hem SOD hem de ACT için oluşturulan cDNA dilüsyonlarının pik profilleri ile standart eğri grafikleri ve bu grafiklere ait validasyon değerleri Şekil 4.36, 4.37, 4.38 ve 4.39'da gösterilmiştir.



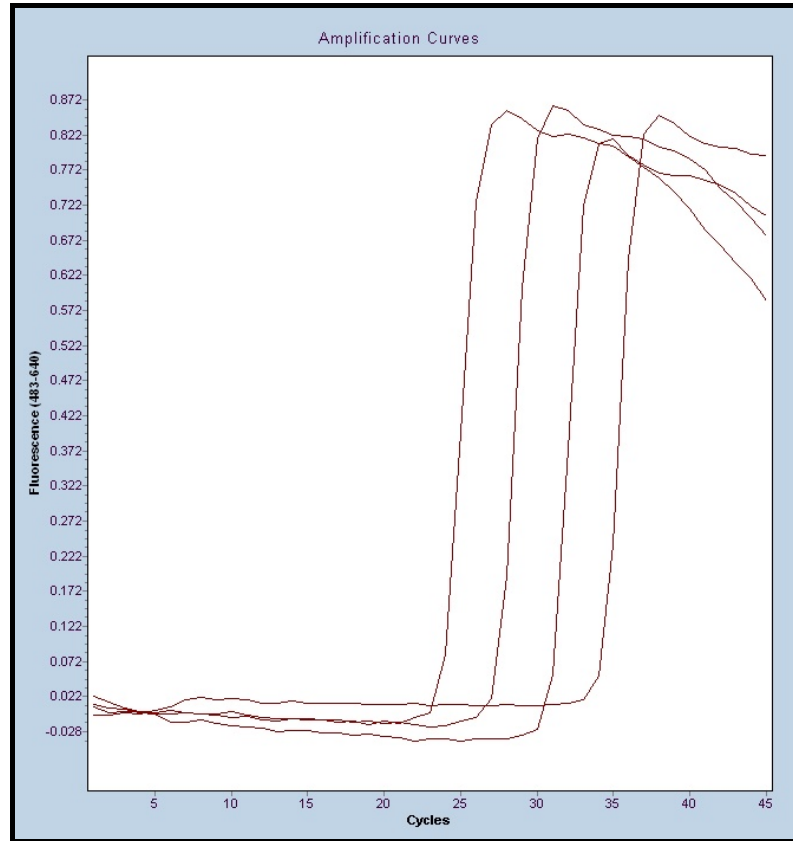
Şekil 4.36 Süperoksid Dismutaz (SOD) standart eğri grafiği oluşturmak üzere PCR'ı yapılan cDNA seri dilüsyonları pik görüntüsü



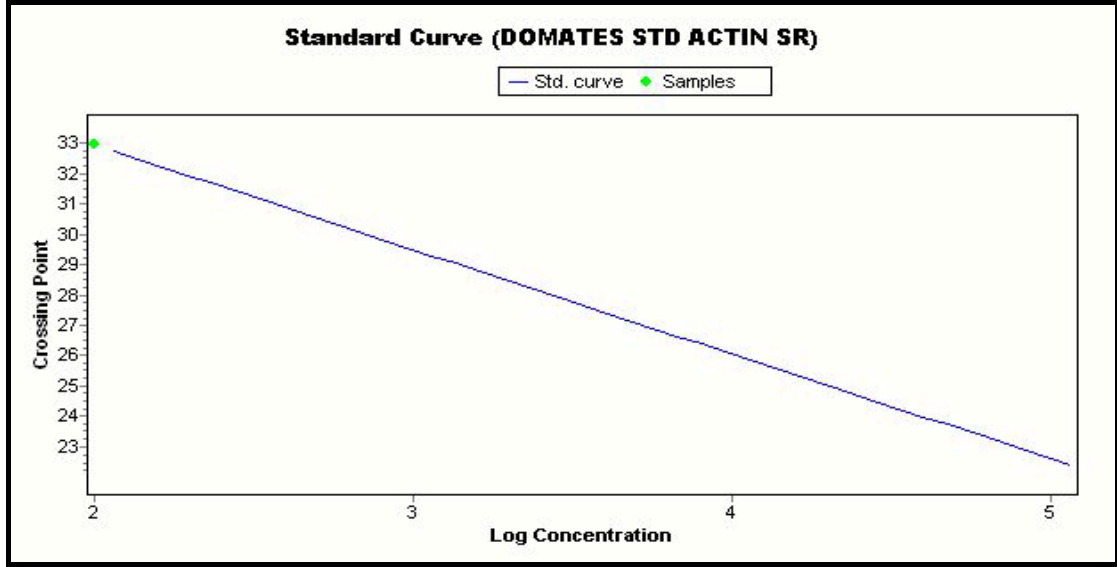
Şekil 4.37 Real- time PCR cihazından alınan Süperoksid Dismutaz (SOD) standart eğri grafiği görüntüsü grafiği

Efficiency: 1.937 Error: 0.00769 Slope: -3.483 YIntercept: 43.43)

Doğru bir standart eğri grafiği elde edilebilmesi için en az 3 logaritmik konsantrasyon değerinden geçmesi ve efficiency (etkinlik) değerinin 1,7 ile 2 arasında olması gerekmektedir. Bu değer 2'ye yaklaştıkça standart eğri grafiğinin güvenilirliği artar. Bu tez kapsamında SOD standart eğri grafiği oluşturabilmek amacıyla 5 logaritmik konsantrasyon kullanılmıştır. Şekil 4.36 v3 4.37 verilerinde de görüldüğü gibi SOD standart eğri grafiği kullanılabilir nitelikte bir standart eğri grafiğidir.



Şekil 4.38 Aktin (ACT) standart eğri grafiği oluşturmak üzere PCR'ı yapılan cDNA seri dilüsyonları pik görüntüsü



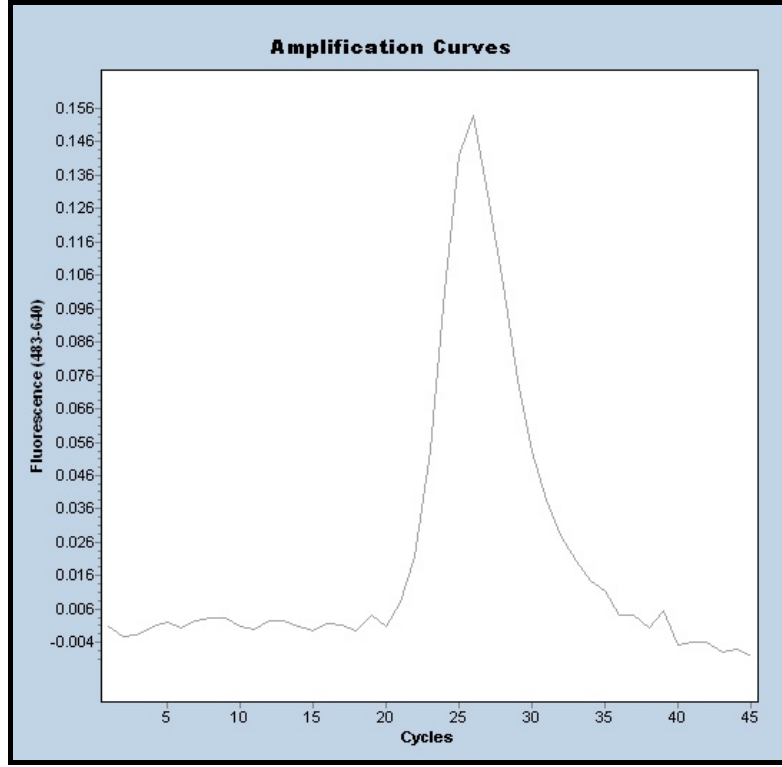
Şekil 4.39 Real- time PCR cihazından alınan Aktin(ACT) standart eğri grafiği görüntüsü

Efficiency: 1.954 Error: 0.000454 Slope: -3.438 YIntercept: 39.65

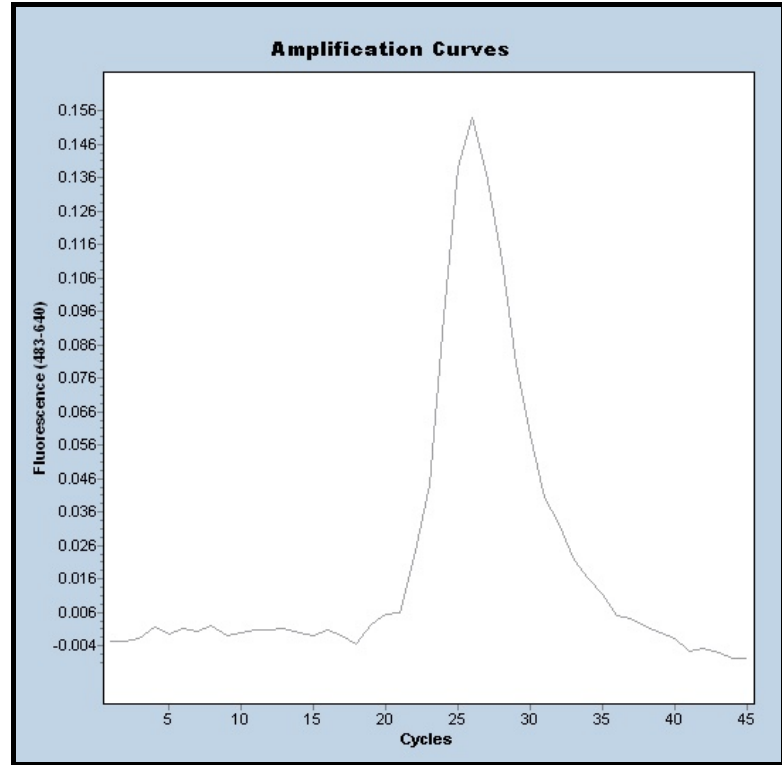
Bu tez kapsamında ACT standart eğri oluşturabilmek amacıyla 5 logaritmik konsantrasyon kullanılmıştır. Kullanılan konsantrasyonlardan bir tanesi eğri üzerinde istenilen noktada olmadığı için elemine edilmiş ve standart eğri 4 logaritmik konsantrasyondan geçecek şekilde oluşturulmuştur. Şekil verilerinde de görüldüğü gibi ACT standart eğri grafiği kullanılabilir nitelikte bir standart eğri grafiğidir.

4.4.1 100 mM tuz stresi

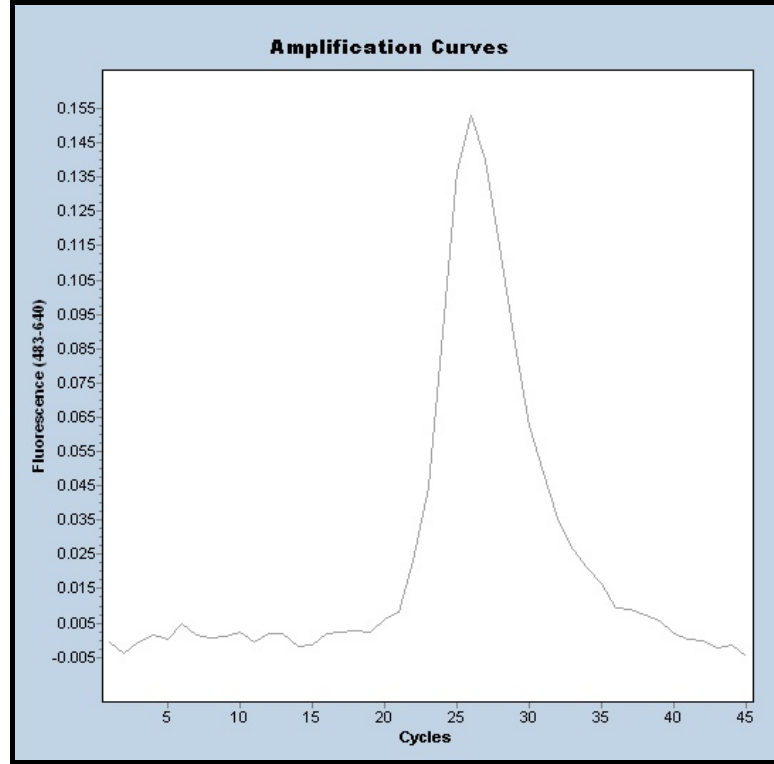
Osmotik basıncı yaklaşık 190 mmol/kg olarak tespit edilen 100 mM'lık tuz stresi koşullarında yetiştirilen 48 saat süre ile tutulan 25 günlük *Lycopersicum esculentum* L. bitkilerden 0., 3., 6., 9., 12., 24., 48. saatlerde alınan örneklerden RNA izolasyonu ve cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir. Örneklerden hem SOD hem de ACT için ayrı ayrı PCR reaksiyonu ikişer tekrarlı olarak real time PCR cihazında gerçekleştirilmiştir. Florasan ışık temeline göre reaksiyon takip edilmiş ve CT değerleri belirlenmiştir. 100 mM tuz stresi altında geliştirilmiş bitkiciklere ait SOD PCR reaksiyonu profilleri aşağıda verilmiştir (Şekil 4.40-53).



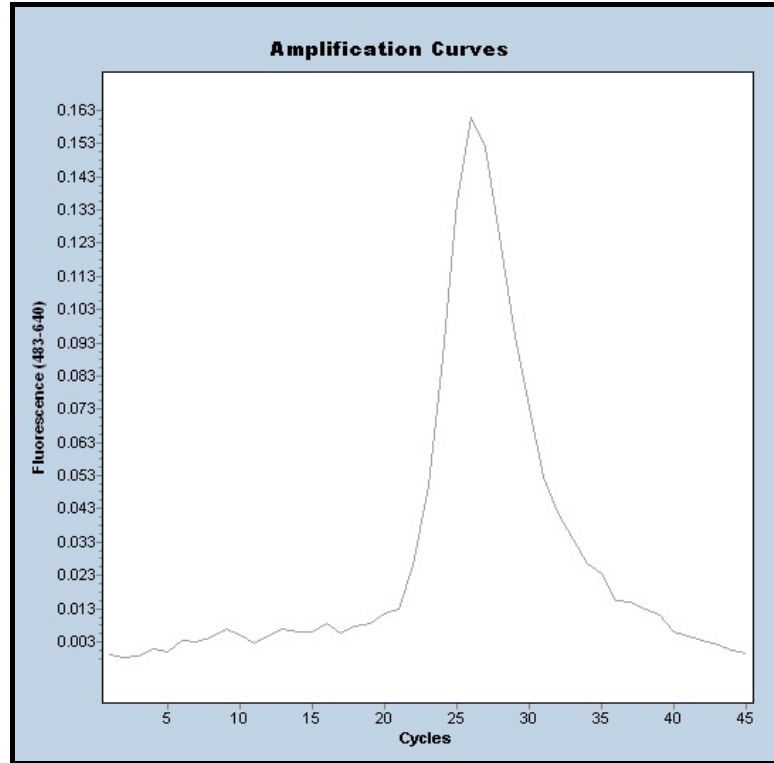
Şekil 4.40 100 mM NaCl stresi, kontrol bitkisi SOD real time PCR pik profili



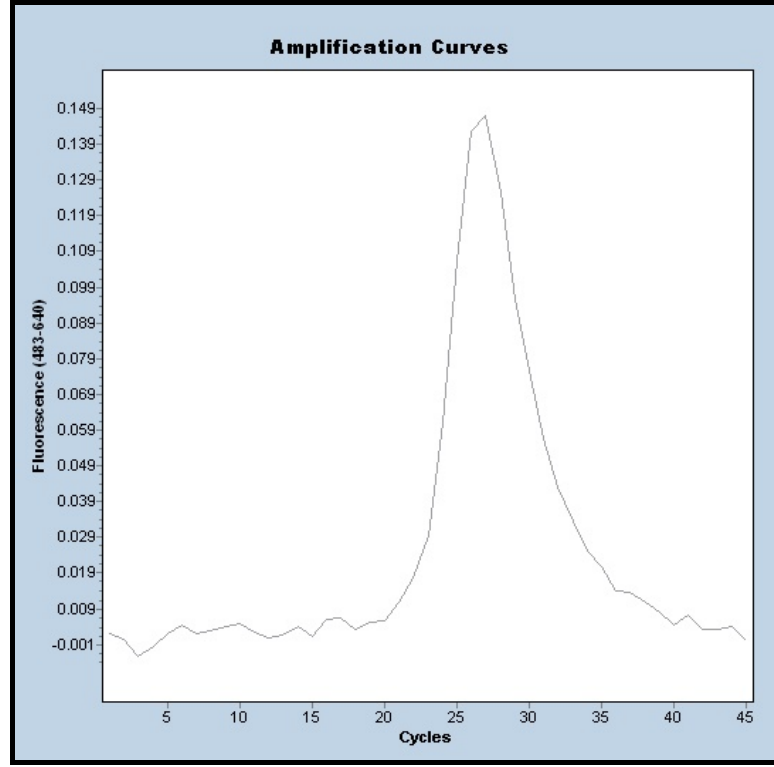
Şekil 4.41 100 mM NaCl stresi, kontrol bitkisi SOD real time PCR pik profili 2. uygulama



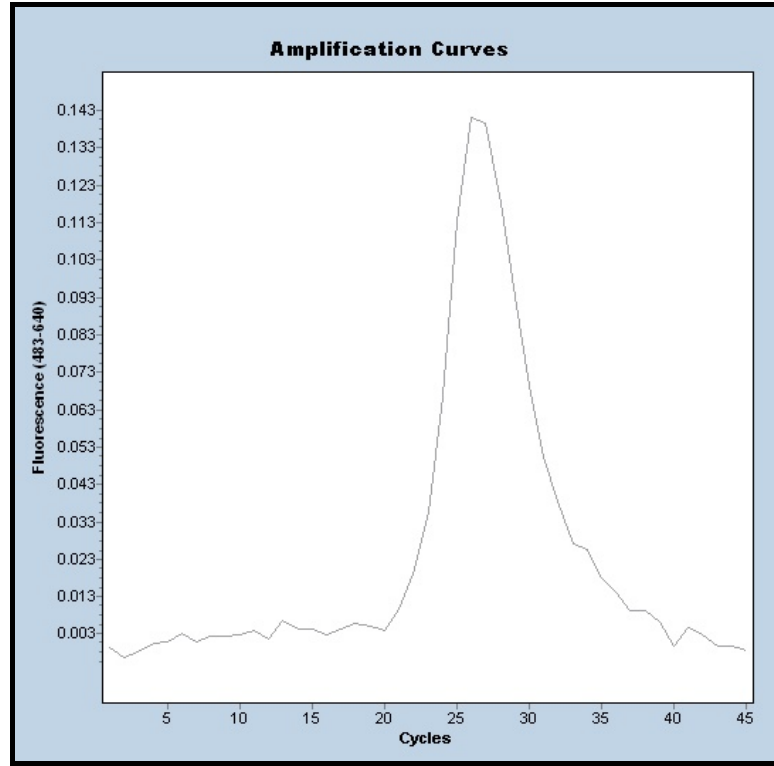
Şekil 4.42 100 mM NaCl stresi, 3 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili



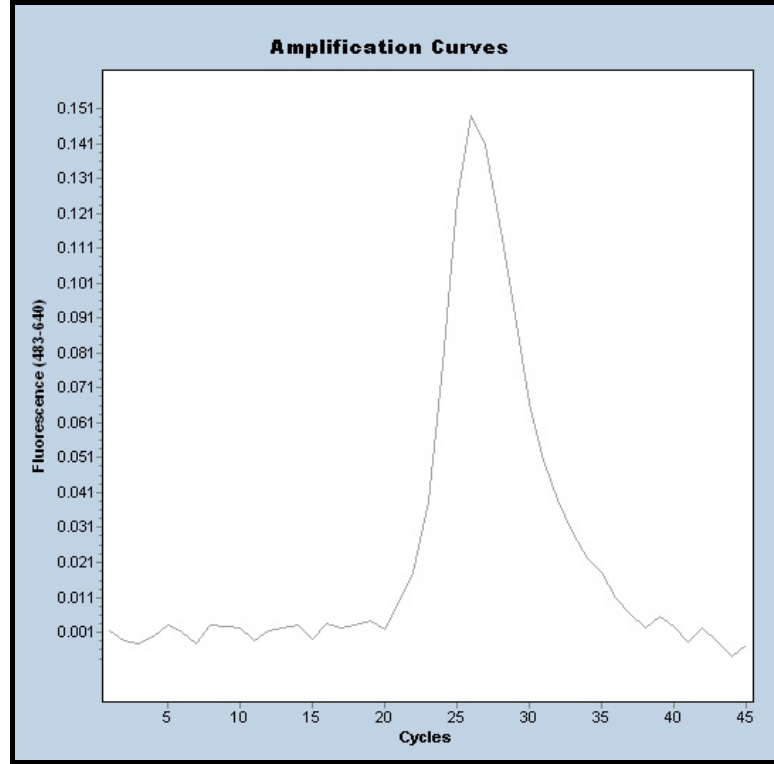
Şekil 4.43 100 mM NaCl stresi, 3 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili 2. uygulama



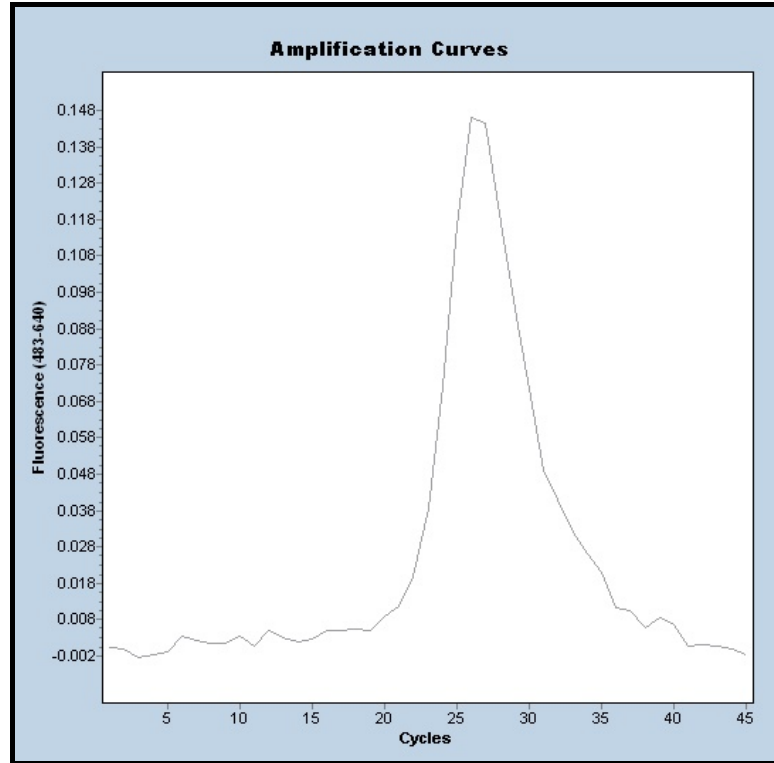
Şekil 4.44 100 mM NaCl stresi, 6 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili



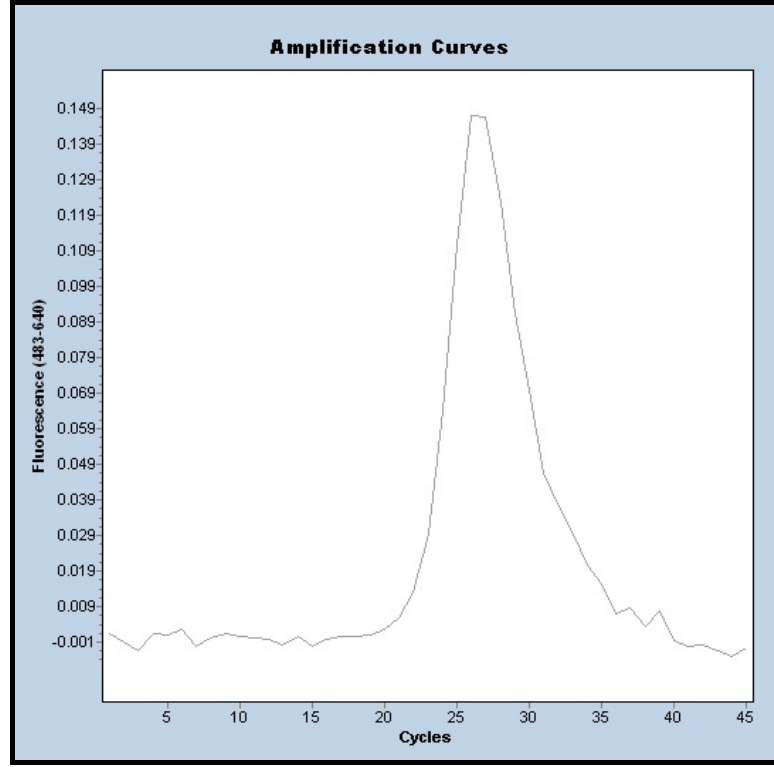
Şekil 4.45 100 mM NaCl stresi, 6 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili 2. uygulama



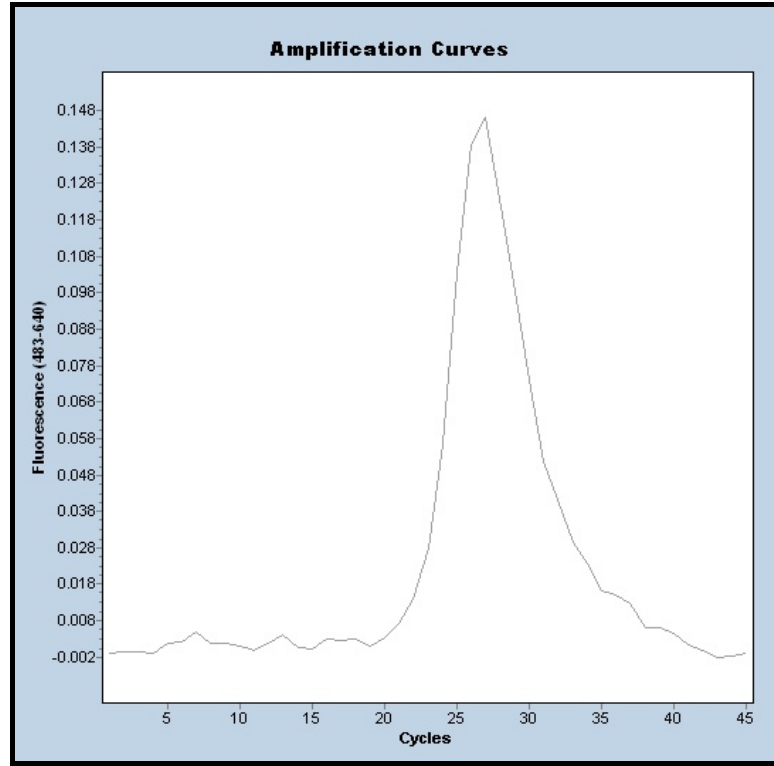
Şekil 4.46 100 mM NaCl stresi, 9 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili



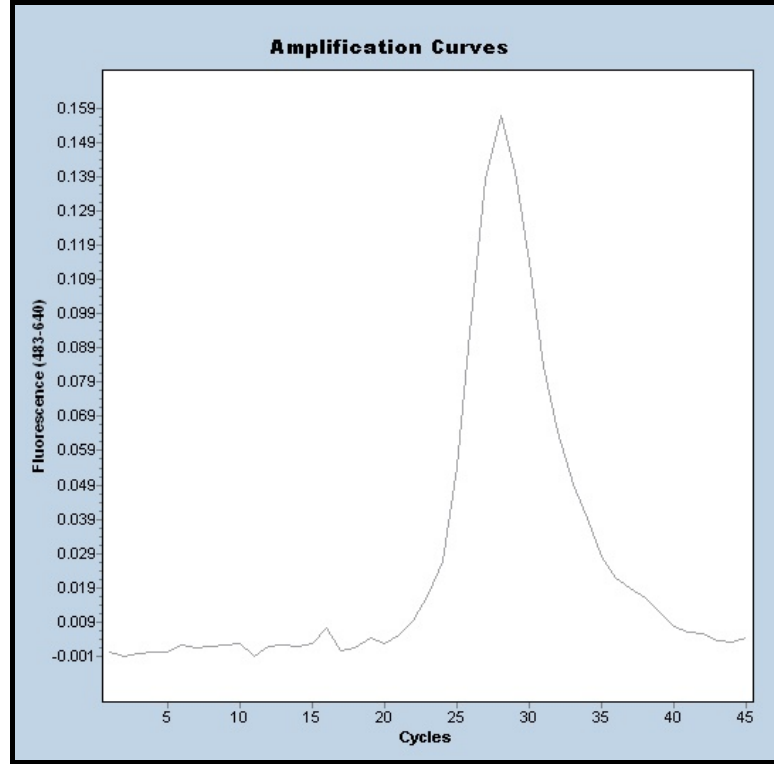
Şekil 4.47 100 mM NaCl stresi, 9 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili 2. uygulama



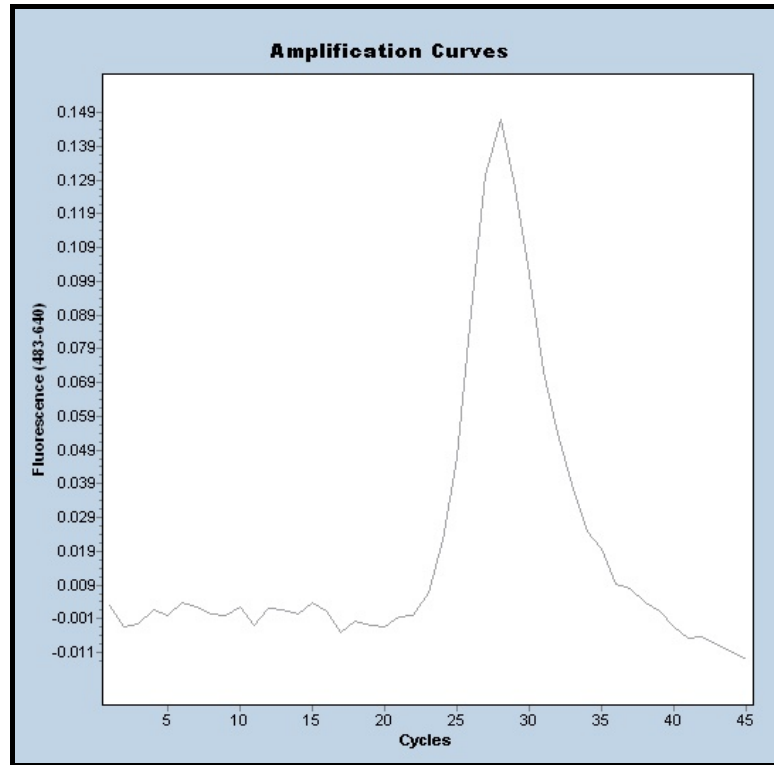
Şekil 4.48 100 mM tuz stresi, 12 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili



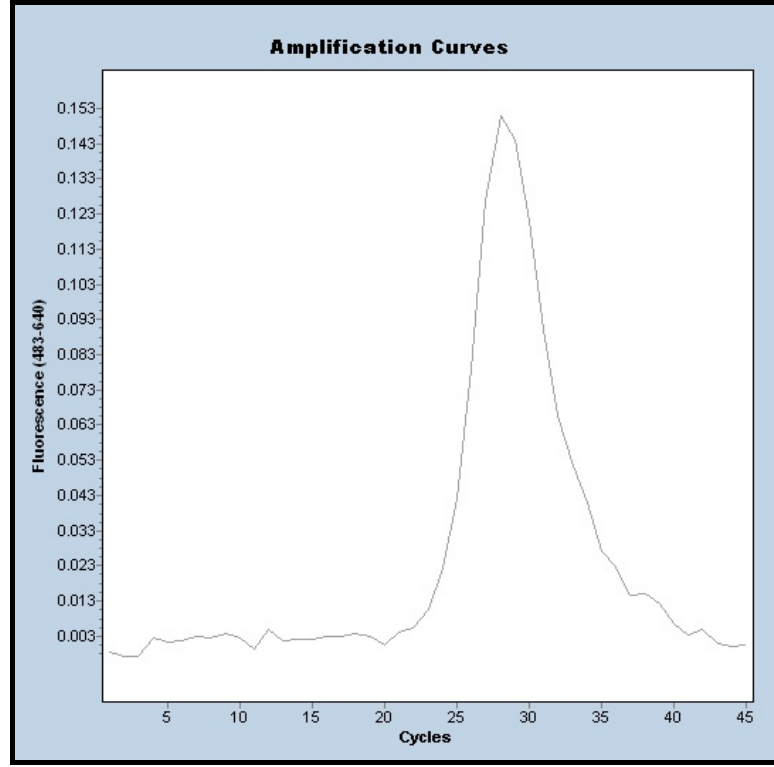
Şekil 4.49 100 mM NaCl stresi, 12 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili 2. uygulama



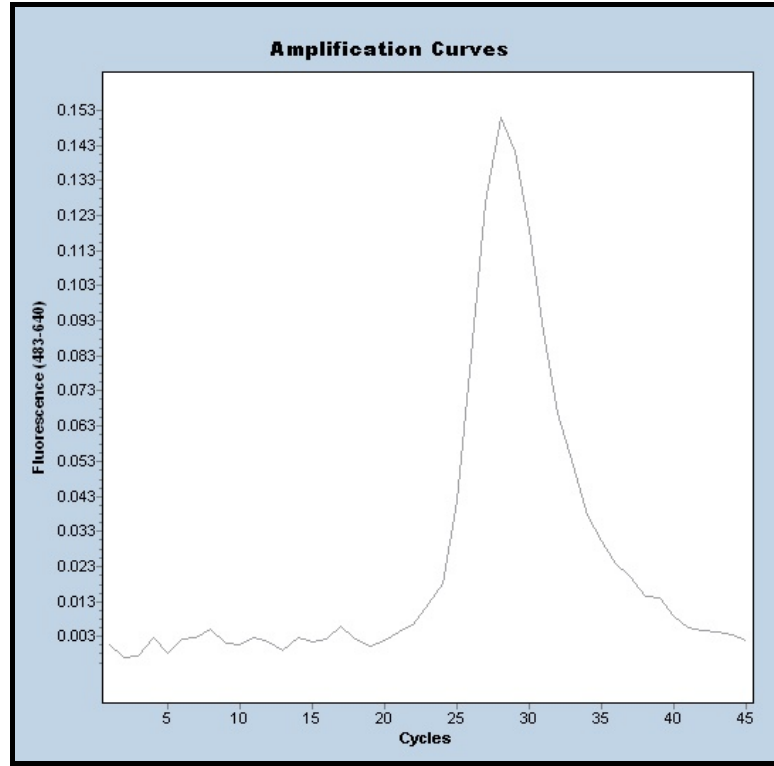
Şekil 4.50 100 mM NaCl stresi,24 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili



Şekil 4.51 100 mM NaCl stresi, 24 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili 2. uygulama



Şekil 4.52 100 mM NaCl stresi, 48 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili



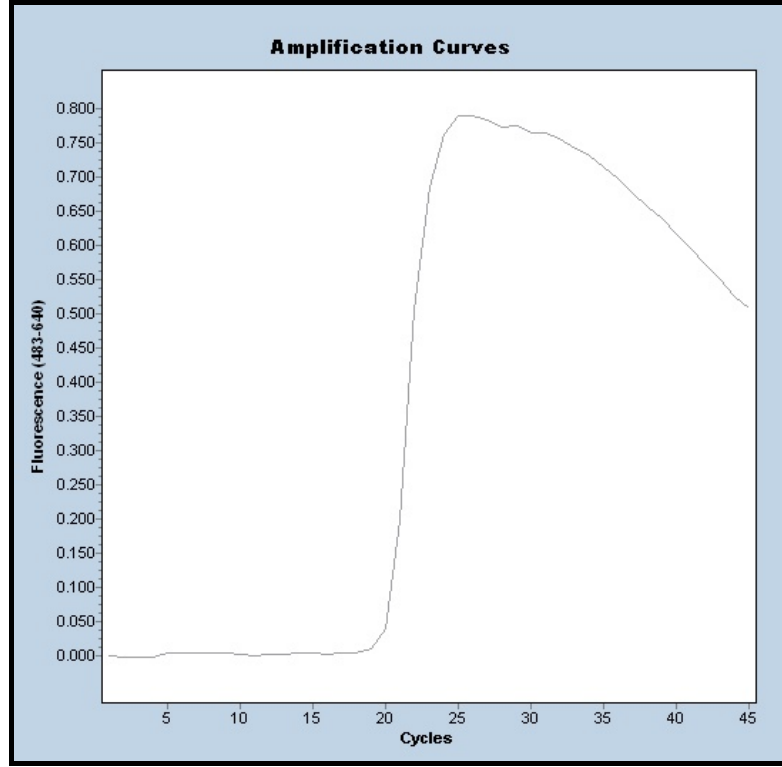
Şekil 4.53 100 mM NaCl stresi, 48 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili 2. uygulama

Çizelge 4.2 100 mM Tuz Stresi altında geliştirilmiş örneklerde SOD (Süperoksit Dismutaz) gen ekspresyon verileri

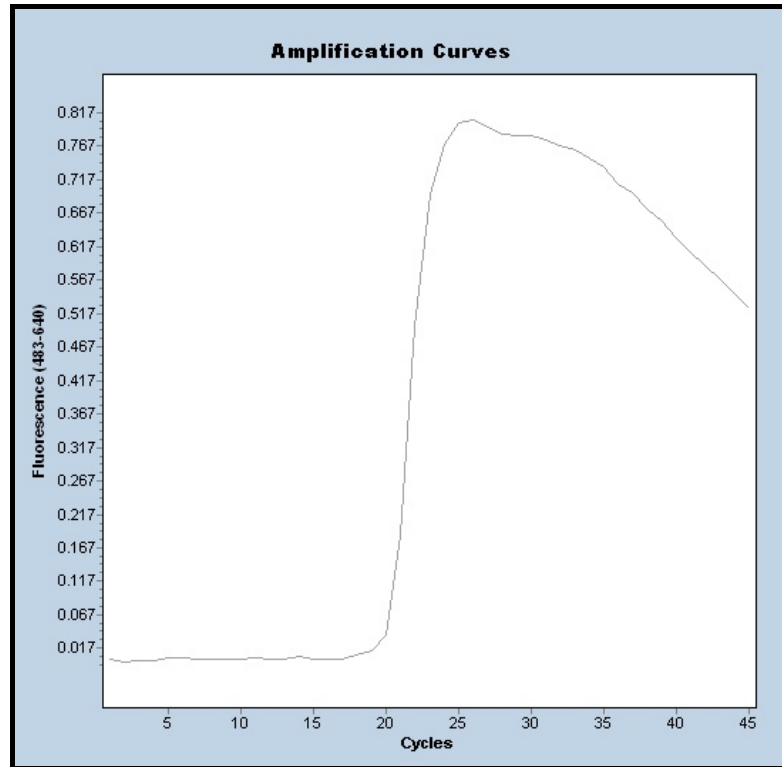
No	PCR'ı gerçekleştirilen örnek adı	SOD Ct Değeri	SOD Konsantrasyonu	Gen Ekspresyonu
1	Tuz 100mM kontrol	20,5	7,43 10 ⁶	
2	Tuz 100mM kontrol	20,44	7,74 10 ⁶	
3	Tuz 100mM 3 saat	20,43	1,54 10 ⁶	
4	Tuz 100mM 3 saat	20,61	1,37 10 ⁶	
5	Tuz 100mM 6 saat	21	5,32 10 ⁶	
6	Tuz 100mM 6 saat	21,1	4,99 10 ⁶	
7	Tuz 100mM 9 saat	20,72	6,43 10 ⁶	
8	Tuz 100mM 9 saat	20,68	6,60 10 ⁶	
9	Tuz 100mM 12 saat	20,81	6,05 10 ⁶	
10	Tuz 100mM 12 saat	21,05	5,17 10 ⁶	
11	Tuz 100mM 24 saat	22,63	3,61 10 ⁶	
12	Tuz 100mM 24 saat	22,59	3,71 10 ⁶	
13	Tuz 100mM 48 saat	22,82	2,74 10 ⁶	
14	Tuz 100mM 48 saat	22,81	2,75 10 ⁶	

100 mM Tuz Stresi altında geliştirilmiş örneklerde SOD (Süperoksit Dismutaz) gen ekspresyon verileri çizelgesi real time PCR sonucu elde edilen pik profilleri ve SOD standart eğri grafiği aracılığı ile oluşturulmuştur.

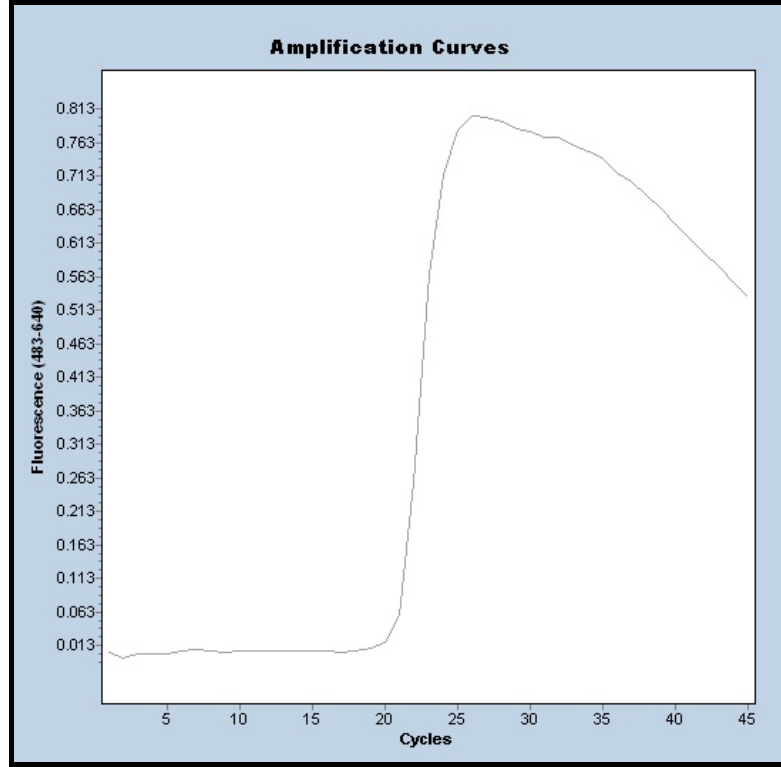
100 mM Tuz Stresi altında geliştirilmiş örneklerden ACT gen bölgesini çoğaltmak amacıyla PCR reaksiyonu ikişer tekrarlı olarak real time PCR cihazında gerçekleştirilmiştir. Florasan ışık temeline göre reaksiyon takip edilmiş ve CT değerleri belirlenmiştir. 100 mM tuz stresi altında geliştirilmiş bitkiciklere ait ACT PCR reaksiyonu profilleri aşağıda verilmiştir (Şekil 4.54–4.67).



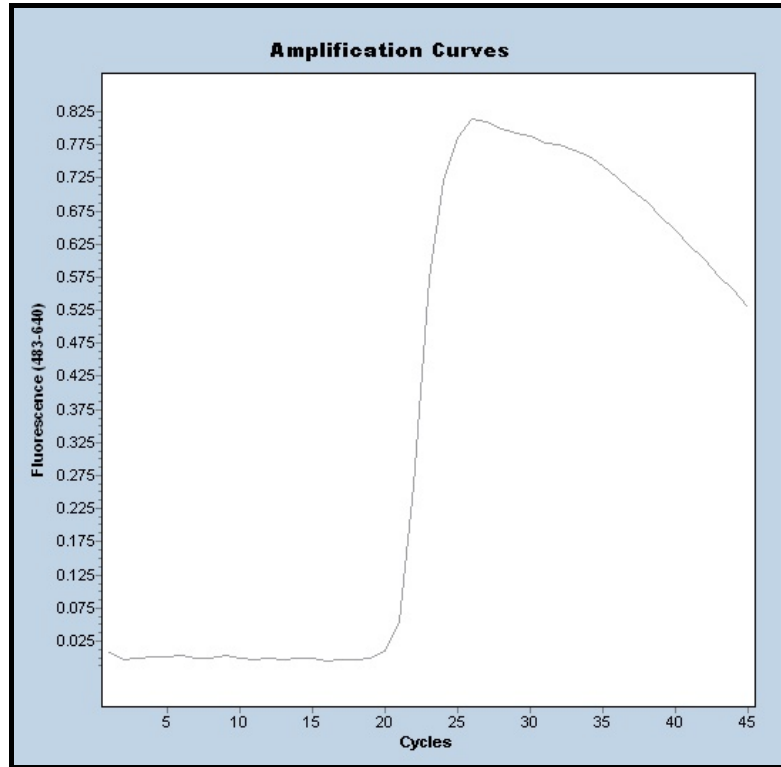
Şekil 4.54 100 mM NaCl stresi, kontrol bitkisi ACT real time PCR pik profili



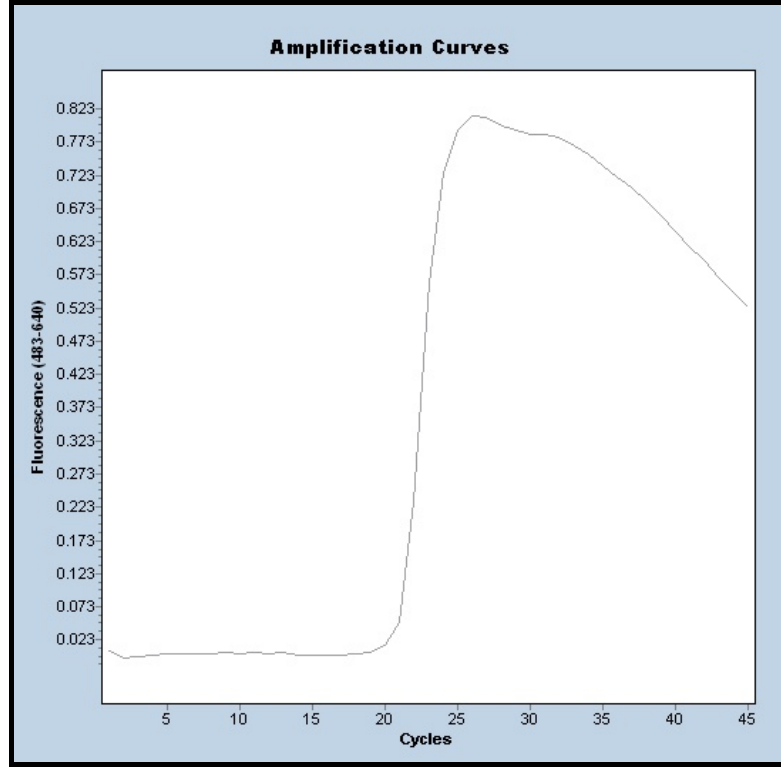
Şekil 4.55 100 mM NaCl stresi, kontrol bitkisi ACT real time PCR pik profili 2. uygulama



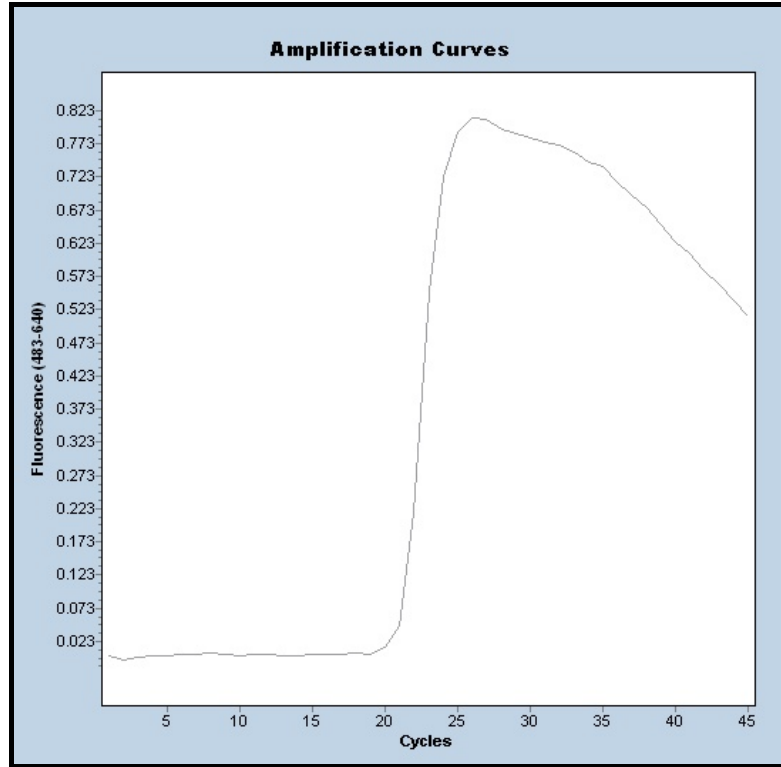
Şekil 4.56 100 mM NaCl stresi, 3 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili



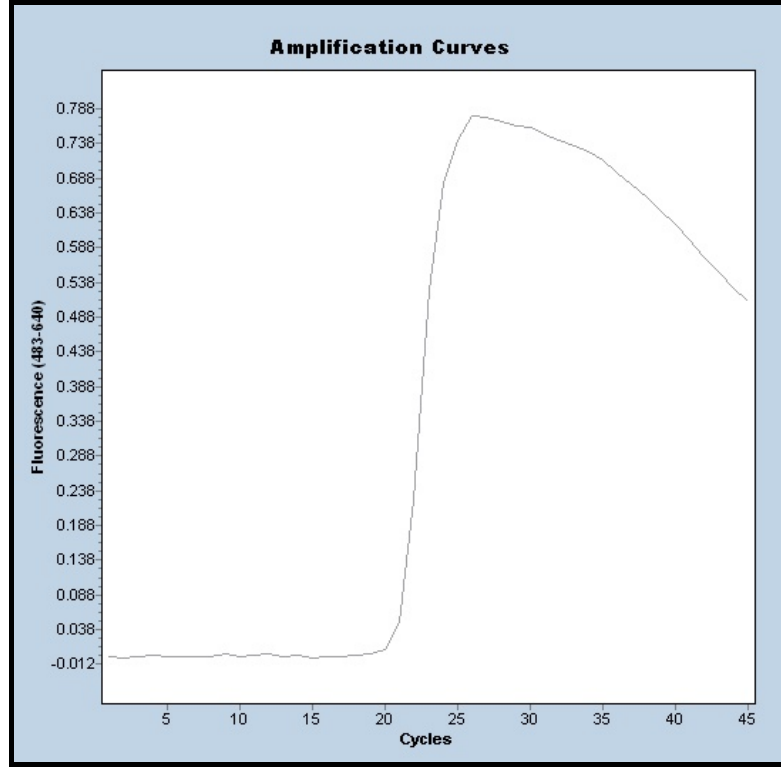
Şekil 4.57 100 mM NaCl stresi, 3 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili 2. uygulama



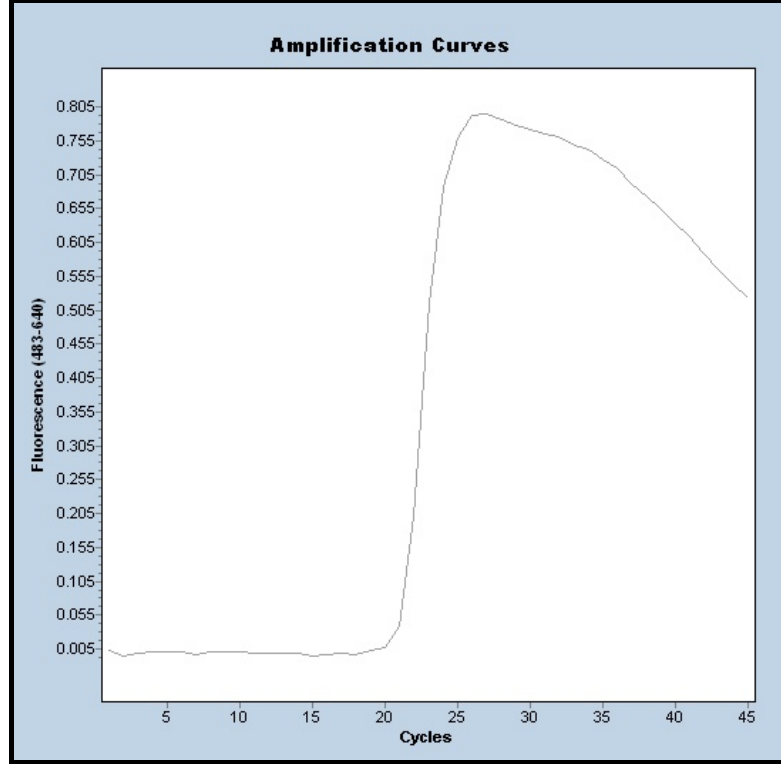
Şekil 4.58 100 mM NaCl stresi, 6 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili



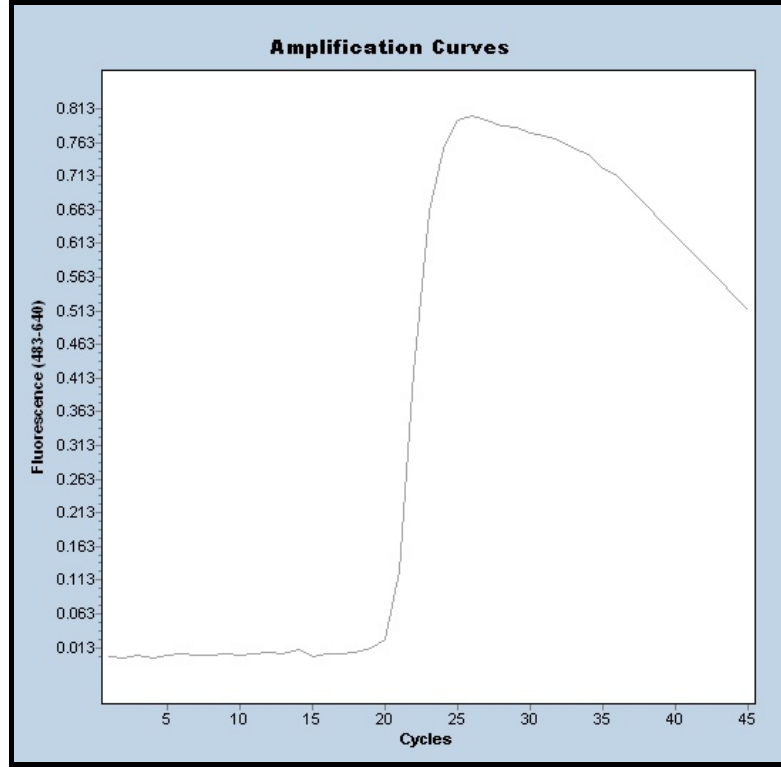
Şekil 4.59 100 mM NaCl stresi, 6 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili 2. uygulama



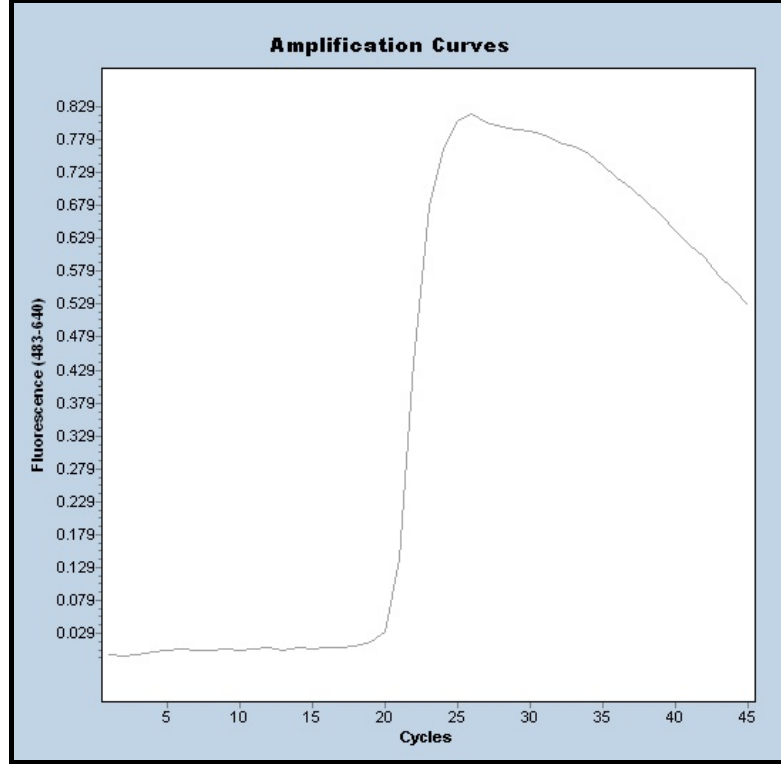
Şekil 4.60 100 mM NaCl stresi, 9 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili



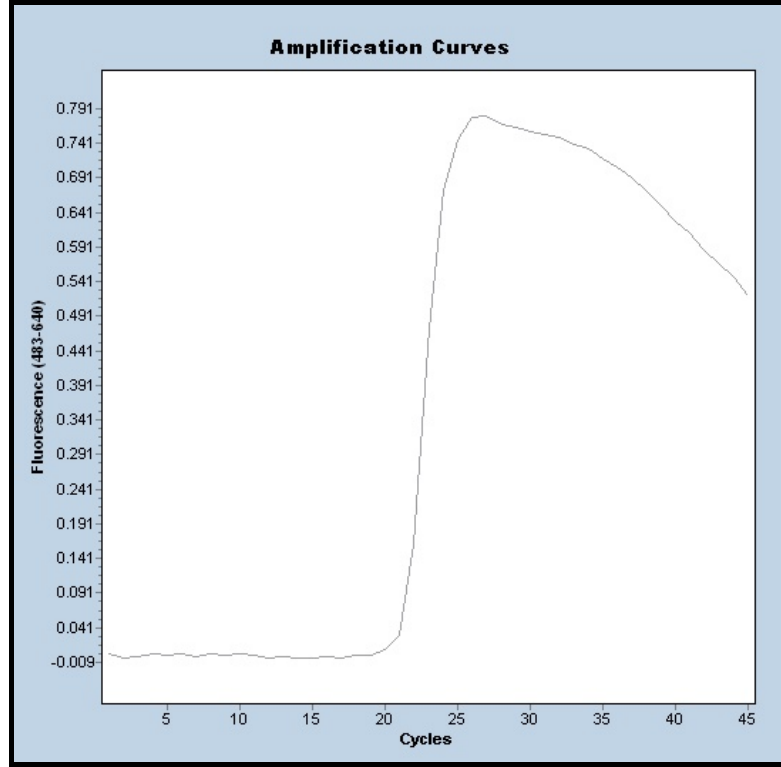
Şekil 4.61 100 mM NaCl stresi, 9 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili 2. uygulama



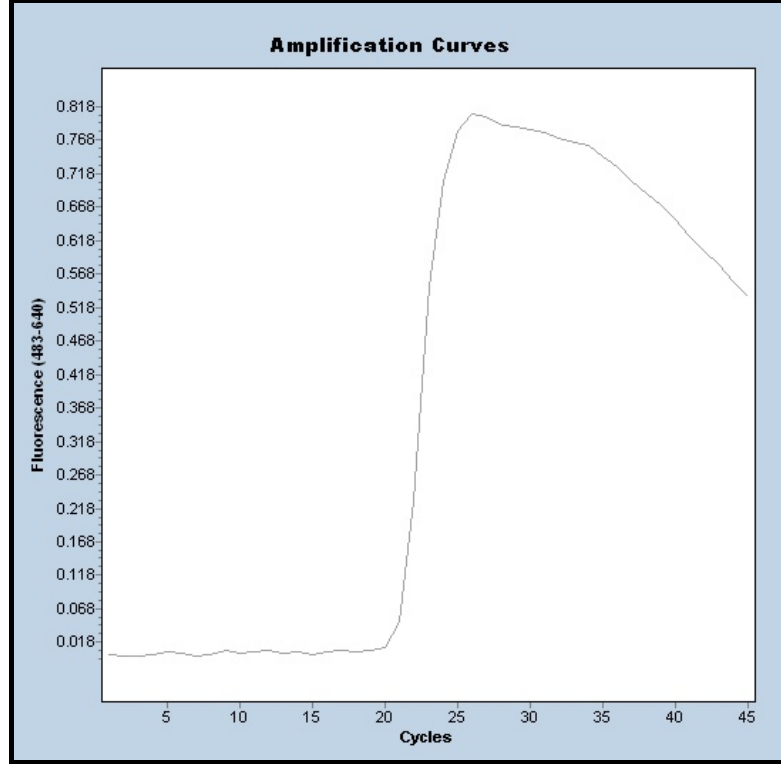
Şekil 4.62 100 mM tuz stresi, 12 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili



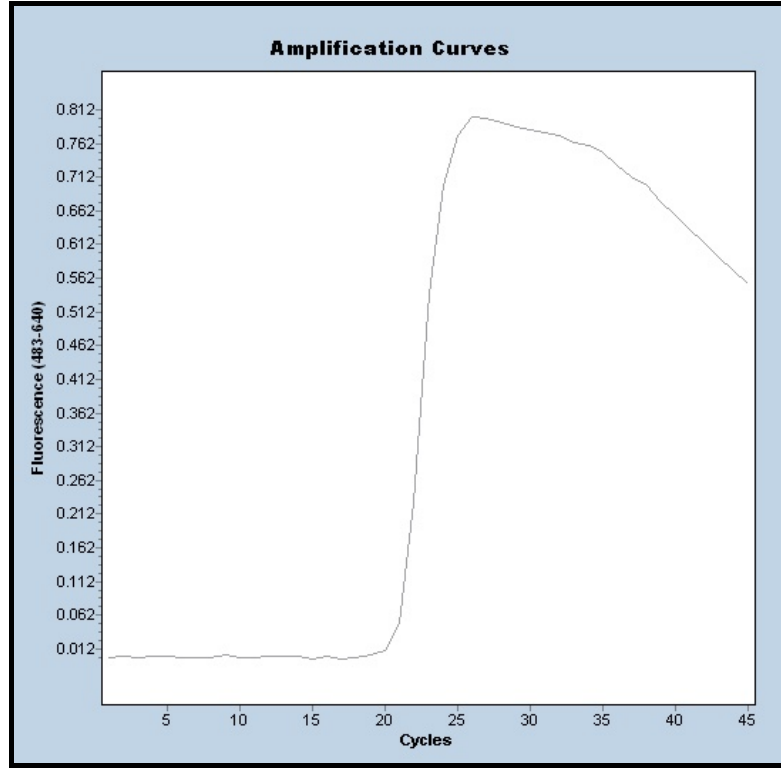
Şekil 4.63 100 mM NaCl stresi, 12 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili 2. uygulama



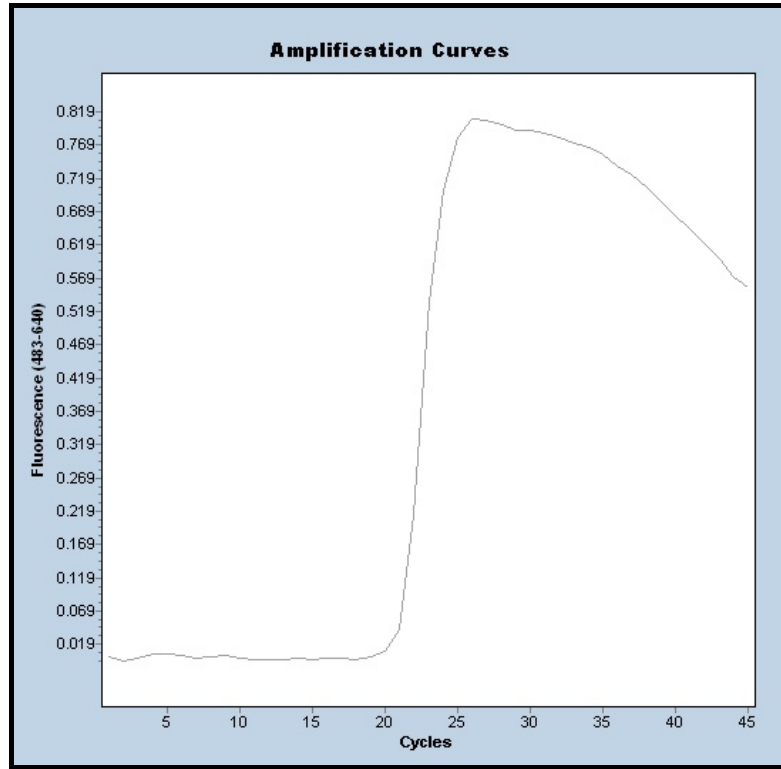
Şekil 4.64 100 mM NaCl stresi,24 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili



Şekil 4.65 100 mM NaCl stresi, 24 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili 2. uygulama



Şekil 4.66 100 mM NaCl stresi, 48 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili



Şekil 4.67 100 mM NaCl stresi, 48 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili 2. uygulama

Çizelge 4.3 100 mM Tuz Stresi altında geliştirilmiş örneklerde ACT (Aktin) gen ekspresyon verileri

No	PCR'ı gerçekleştirilen örnek adı	ACT Ct Değeri	ACT Ekspresyonu Konsantrasyon	Gen
1	Tuz 100mM kontrol	18,93	3,60 10 ⁶	
2	Tuz 100mM kontrol	18,98	3,48 10 ⁶	
3	Tuz 100mM 3 saat	19,75	2,08 10 ⁶	
4	Tuz 100mM 3 saat	19,73	2,11 10 ⁶	
5	Tuz 100mM 6 saat	19,81	2,01 10 ⁶	
6	Tuz 100mM 6 saat	19,86	1,94 10 ⁶	
7	Tuz 100mM 9 saat	19,81	2,00 10 ⁶	
8	Tuz 100mM 9 saat	19,9	1,89 10 ⁶	
9	Tuz 100mM 12 saat	19,23	2,95 10 ⁶	
10	Tuz 100mM 12 saat	19,19	3,03 10 ⁶	
11	Tuz 100mM 24 saat	20,02	1,75 10 ⁶	
12	Tuz 100mM 24 saat	19,84	1,97 10 ⁶	
13	Tuz 100mM 48 saat	19,82	1,99 10 ⁶	
14	Tuz 100mM 48 saat	19,87	1,93 10 ⁶	

100 mM Tuz Stresi altında geliştirilmiş örneklerde SOD (Süperoksid Dismutaz) gen ekspresyon verileri çizelgesi real time PCR sonucu elde edilen pik profilleri ve SOD standart eğri grafiği aracılığı ile oluşturulmuştur.

4.4.1.1 İstatistiksel analizler

Verilerinin istatistiksel olarak değerlendirmesi Livak ve Schmittgen, 2001'e ait $2^{-\Delta\Delta CT}$ yöntemi ile housekeeping gen olan Actin ve kontrol koşullarına göre normalize edilmiştir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4 100 mM Tuz stresi, SOD(Süperoksid dismutaz) normalize gen ekspresyon verileri

Stres Uygulaması	SOD Normalize Ekspresyon
Tuz 100 mM kontrol	1,00189
Tuz 100 mM kontrol	1,07968
Tuz 100 mM kontrol	0,92968
Tuz 100 mM kontrol	1,00186
Tuz 100 mM kontrol	0,96443
Tuz 100 mM kontrol	1,03932
Tuz 100 mM 3 saat	0,35941
Tuz 100 mM 3 saat	0,31519
Tuz 100 mM 3 saat	0,33351
Tuz 100 mM 3 saat	0,29247
Tuz 100 mM 3 saat	0,34597
Tuz 100 mM 3 saat	0,30341
Tuz 100 mM 6 saat	1,28484
Tuz 100 mM 6 saat	1,24862
Tuz 100 mM 6 saat	1,19224
Tuz 100 mM 6 saat	1,15863
Tuz 100 mM 6 saat	1,23681
Tuz 100 mM 6 saat	1,20195
Tuz 100 mM 9 saat	1,56068
Tuz 100 mM 9 saat	1,69518
Tuz 100 mM 9 saat	1,44820
Tuz 100 mM 9 saat	1,57300
Tuz 100 mM 9 saat	1,50234
Tuz 100 mM 9 saat	1,63181
Tuz 100 mM 12 saat	0,99556
Tuz 100 mM 12 saat	0,82829
Tuz 100 mM 12 saat	0,92381
Tuz 100 mM 12 saat	0,76859

Çizelge 4.4 100 mM Tuz stresi, SOD (Süperoksit dismutaz) normalize gen ekspresyon Verileri (devam)

Stres Uygulaması	SOD Normalize Ekspresyon
Tuz 100 mM 12 saat	0,95834
Tuz 100 mM 12 saat	0,79732
Tuz 100 mM 24 saat	0,10014
Tuz 100 mM 24 saat	0,09142
Tuz 100 mM 24 saat	0,09292
Tuz 100 mM 24 saat	0,08483
Tuz 100 mM 24 saat	0,09640
Tuz 100 mM 24 saat	0,08800
Tuz 100 mM 48 saat	0,06684
Tuz 100 mM 48 saat	0,06917
Tuz 100 mM 48 saat	0,06202
Tuz 100 mM 48 saat	0,06418
Tuz 100 mM 48 saat	0,06434
Tuz 100 mM 48 saat	0,06658

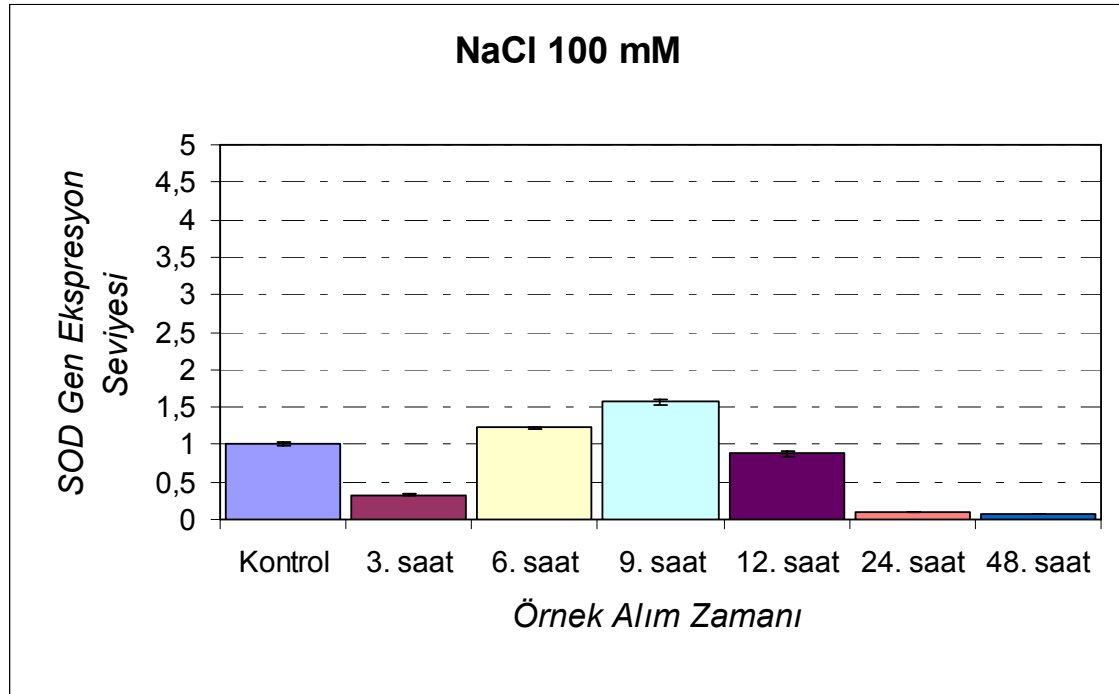
Normalizasyon sonucunda elde edilen verilerin ortalama, standart sapma ve standart hataları hesaplanmış aşağıdaki gibidir. Bu veriler aracılığı ile 100 mM tuz stresi altında geliştirilmiş bitkilerde zamana bağlı olarak, SOD gen ekspresyon seviyesini konsantrasyon şeklinde belirten grafik oluşturulmuştur.

Çizelge 4.5 100 mM Tuz Stresi altında geliştirilmiş örneklerde ortalama, standart sapma ve standart hata verileri

Stres Uygulaması	Zaman saat	Ortalama	Standart sapma	Standart hata
Tuz 100 mM	Kontrol	1,002810147	0,053035894	0,021651813
Tuz 100 mM	3h	0,324993047	0,025756209	0,010514928
Tuz 100 mM	6h	1,220514073	0,045092801	0,018409059

Çizelge 4.5 100 mM Tuz Stresi altında geliştirilmiş örneklerde ortalama, standart sapma ve standart hata verileri (devam)

Stres Uygulaması	Zaman saat	Ortalama	Standart sapma	Standart hata
Tuz 100 mM	9h	1,568532942	0,08830181	0,036049063
Tuz 100 mM	12h	0,87865032	0,093081076	0,03800019
Tuz 100 mM	24h	0,092284754	0,005543128	0,002262972
Tuz 100 mM	48h	0,065522637	0,002513799	0,001026254



Şekil 4.68 100 mM NaCl stresi, zamana bağlı gen ekspresyon seviyesi

One Way ANOVA (Dunnett)'a yöntemi ile stres uygulamalarında zamana karşı farklılaşan gen ekspresyon seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlılık dereceleri belirlenmiştir. Buna göre 100 mM tuz stresinde zamana bağlı değişimler %100 anlamlıdır (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6 100 mM Tuz Stresi One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi)
verileri

EKPRESYON	Kareler Toplamı	Df	Kareler Ortalaması	F	Anlamlılık
Gruplar arası	12.313	6	2.052	652.751	.000
Grup içi	.110	35	.003		
Toplam	12.423	41			

Çizelge 4.7 100 mM Tuz stresi (Post Hoc Test Multiple Comparisons Dependent Variable: Expression Dunnett T3)

(I) ZAMAN	(J) ZAMAN	Ortalama (I-J)	Fark Standart Hata	Anlamlılık	95% Güven Aralığı	
					Alt Sınır	Üst Sınır
1 (kontrol)	2 (3 saat)	0,6778171	0,024069997	1,87321E-07	0,576568654	0,779065546
	3 (6 saat)	-0,217703926	0,028419966	0,000356281	-0,327720567	-0,107687286
	4 (9 saat)	-0,565722796	0,042051587	1,22099E-05	-0,736083404	-0,395362188
	5 (12 saat)	0,124159827	0,043735746	0,251473878	-0,054649561	0,302969215
	6 (24 saat)	0,910525393	0,021769751	1,39369E-06	0,805908392	1,015142393
	7 (48 saat)	0,93728751	0,021676121	1,44675E-06	0,832302422	1,042272598
	1 (kontrol)	-0,6778171	0,024069997	1,87321E-07	-0,779065546	-0,576568654
2 (3 saat)	3 (6 saat)	-0,895521026	0,021200405	2,07954E-09	-0,982159496	-0,808882557
	4 (9 saat)	-1,243539895	0,037551281	9,8336E-07	-1,413999787	-1,073080004
	5 (12 saat)	-0,553657273	0,039428139	0,00015234	-0,733666984	-0,373647562
	6 (24 saat)	0,232708293	0,010755685	2,18337E-05	0,182511246	0,28290534
	7 (48 saat)	0,25947041	0,010564891	2,13439E-05	0,208636534	0,310304287
	1 (kontrol)	0,217703926	0,028419966	0,000356281	0,107687286	0,327720567
	2 (3 saat)	0,895521026	0,021200405	2,07954E-09	0,808882557	0,982159496
3 (6 saat)	4 (9 saat)	-0,348018869	0,040477505	0,000630722	-0,51676567	-0,179272068
	5 (12 saat)	0,341863753	0,042224494	0,001091806	0,164172566	0,51955494

Çizelge 4.7 100 mM Tuz stresi (Post Hoc Test Multiple Comparisons Dependent Variable: Expression Dunnett T3) (devam)

(I) ZAMAN	(J) ZAMAN	Ortalama (I-J)	Fark Standart Hata	Anlamlılık	95% Güven Aralığı	
					Alt Sınır	Üst Sınır
	6 (24 saat)	1,128229319	0,018547628	1,83409E-07	1,039423939	1,217034699
	7 (48 saat)	1,154991437	0,018437642	2,20087E-07	1,065761829	1,244221044
4 (9 saat)	1 (kontrol)	0,565722796	0,042051587	1,22099E-05	0,395362188	0,736083404
	2 (3 saat)	1,243539895	0,037551281	9,8336E-07	1,073080004	1,413999787
	3 (6 saat)	0,348018869	0,040477505	0,000630722	0,179272068	0,51676567
	5 (12 saat)	0,689882622	0,052378902	2,32115E-06	0,488211745	0,891553499
	6 (24 saat)	1,476248188	0,036120022	1,8425E-06	1,301576904	1,650919473
	7 (48 saat)	1,503010306	0,036063668	1,79819E-06	1,328110363	1,677910248
5 (12 saat)	1 (kontrol)	-0,124159827	0,043735746	0,251473878	-0,302969215	0,054649561
	2 (3 saat)	0,553657273	0,039428139	0,00015234	0,373647562	0,733666984
	3 (6 saat)	-0,341863753	0,042224494	0,001091806	-0,51955494	-0,164172566
	4 (9 saat)	-0,689882622	0,052378902	2,32115E-06	-0,891553499	-0,488211745
	6 (24 saat)	0,786365566	0,038067512	5,63298E-05	0,602210308	0,970520824
	7 (48 saat)	0,813127683	0,038014045	4,96625E-05	0,628755096	0,997500271
6 (24 saat)	1 (kontrol)	-0,910525393	0,021769751	1,39369E-06	-1,015142393	-0,805908392
	2 (3 saat)	-0,232708293	0,010755685	2,18337E-05	-0,28290534	-0,182511246

Çizelge 4.7 100 mM Tuz stresi (Post Hoc Test Multiple Comparisons Dependent Variable: Expression Dunnett T3) (devam)

(I) ZAMAN	(J) ZAMAN	Ortalama (I-J)	Fark	Standart Hata	Anlamlılık	95% Güven Aralığı	
						Alt Sınır	Üst Sınır
	3 (6 saat)	-1,128229319		0,018547628	1,83409E-07	-1,217034699	-1,039423939
	4 (9 saat)	-1,476248188		0,036120022	1,8425E-06	-1,650919473	-1,301576904
	5 (12 saat)	-0,786365566		0,038067512	5,63298E-05	-0,970520824	-0,602210308
	7 (48 saat)	0,026762118		0,002484802	0,000206506	0,016183684	0,037340552
7 (48 saat)	1 (kontrol)	-0,93728751		0,021676121	1,44675E-06	-1,042272598	-0,832302422
	2 (3 saat)	-0,25947041		0,010564891	2,13439E-05	-0,310304287	-0,208636534
	3 (6 saat)	-1,154991437		0,018437642	2,20087E-07	-1,244221044	-1,065761829
	4 (9 saat)	-1,503010306		0,036063668	1,79819E-06	-1,677910248	-1,328110363
	5 (12 saat)	-0,813127683		0,038014045	4,96625E-05	-0,997500271	-0,628755096
	6 (24 saat)	-0,026762118		0,002484802	0,000206506	-0,037340552	-0,016183684

* Ortalama fark .05 düzeyinde anlamlıdır.

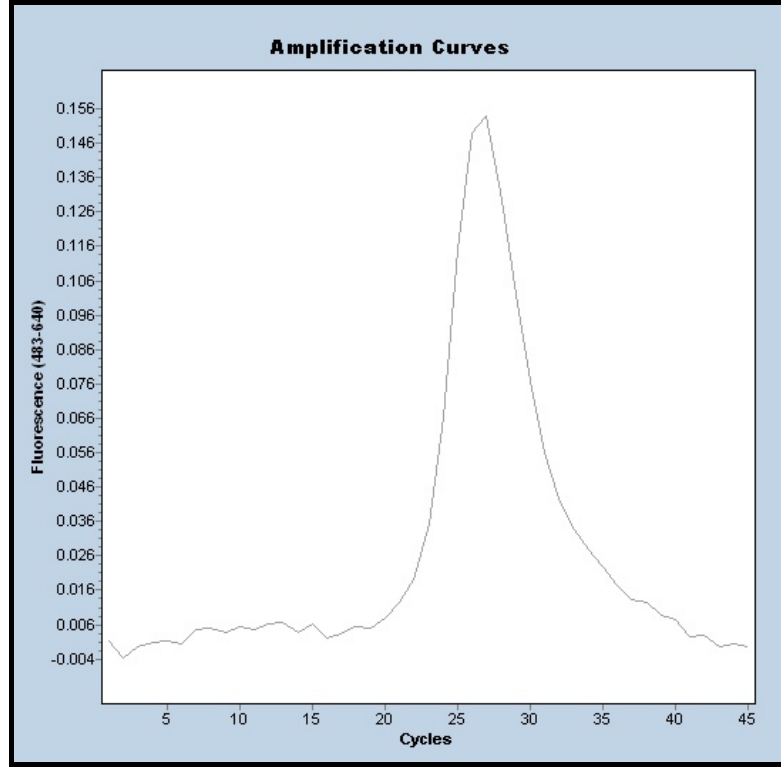
Çizelge 4.8 100 mM Tuz stresi (Post Hoc Test Multiple Comparisons Dependent Variable: Expression Dunnett T3) Değerlendirmesi

Tuz 100 mM	Kontrol	3h	6h	9h	12h	24h	48h
Kontrol	ns						
3h	***	ns					
6h	***	***	ns				
9h	***	***	**	ns			
12h	ns	***	**	***	ns		
24h	***	***	***	***	***	ns	
48h	***	***	***	***	***	***	Ns

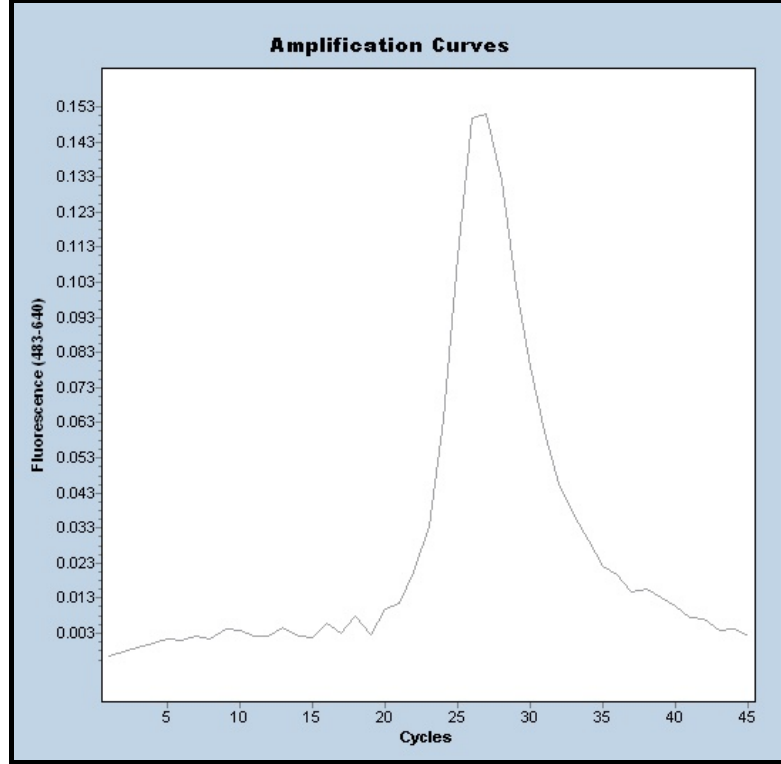
p<0.05 *, p<0.01 **, p<0.001 ***, ns non significant (anlamsız)

4.4.2 150 mM tuz stresi

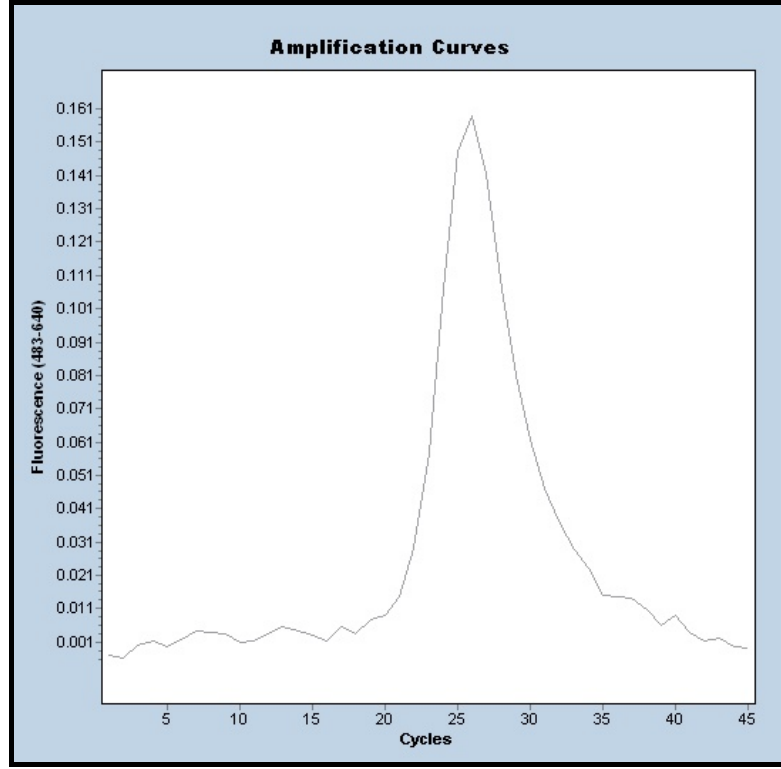
Osmotik basıncı ≈ 290 mmol/kg olarak tespit edilen 100 mM'lık tuz stresi koşullarında yetiştirilen 48 saat süre ile tutulan 25 günlük *Lycopersicum esculentum* L. Bitkiciklerden 0., 3., 6., 9., 12., 24., 48. saatlerde alınan örneklerden RNA izolasyonu ve cDNA sentezi yapılmıştır. Örneklerden hem SOD hem de ACT için ayrı ayrı PCR reaksiyonu ikişer tekrarlı olarak real time PCR cihazında gerçekleştirilmiştir. Florasan ışık temeline göre reaksiyon takip edilmiş ve CT değerleri belirlenmiştir. 150 mM tuz stresi altında geliştirilmiş bitkiciklere ait SOD PCR reaksiyonu profilleri aşağıdaki gibidir.



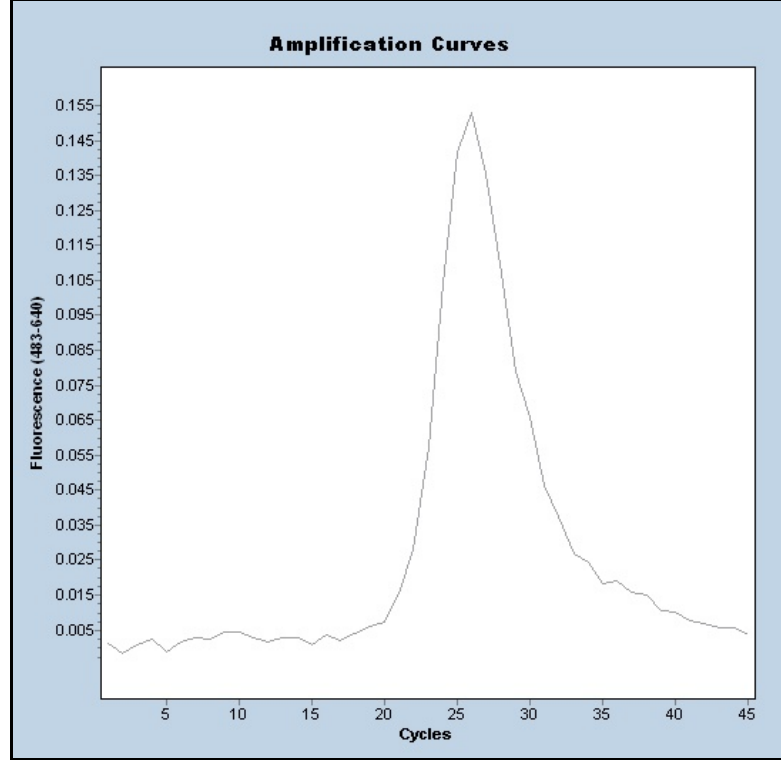
Şekil 4.69 150 mM NaCl stresi, kontrol bitkisi SOD real time PCR pik profili



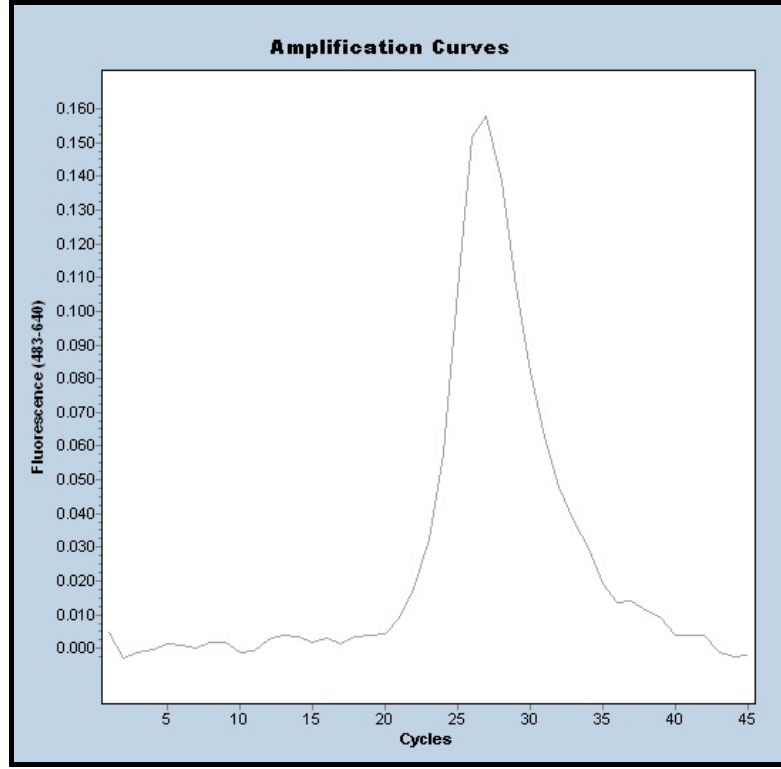
Şekil 4.70 150 mM NaCl stresi, kontrol bitkisi SOD real time PCR pik profili 2. uygulama



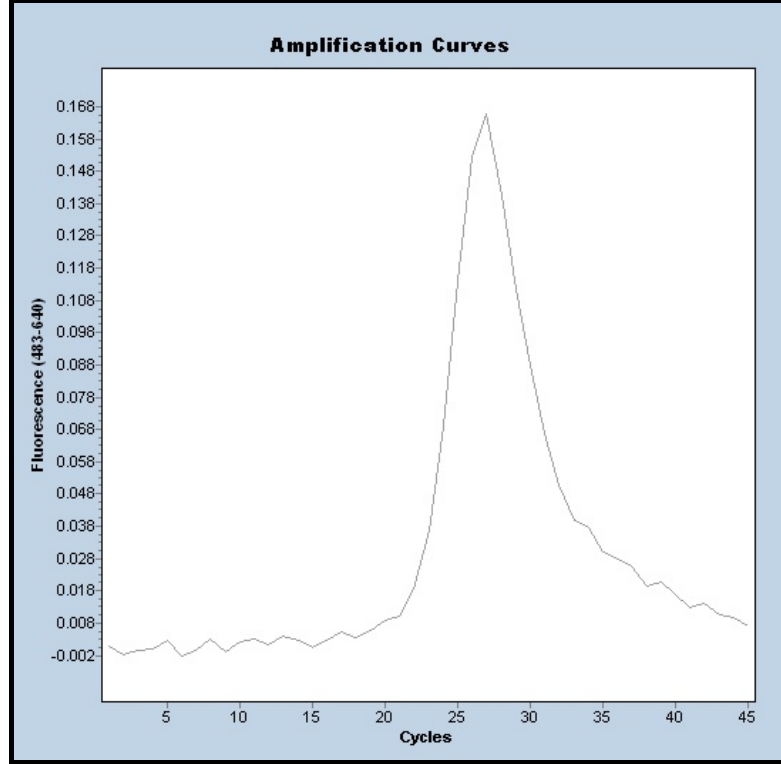
Şekil 4.71 150 mM NaCl stresi, 3 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili



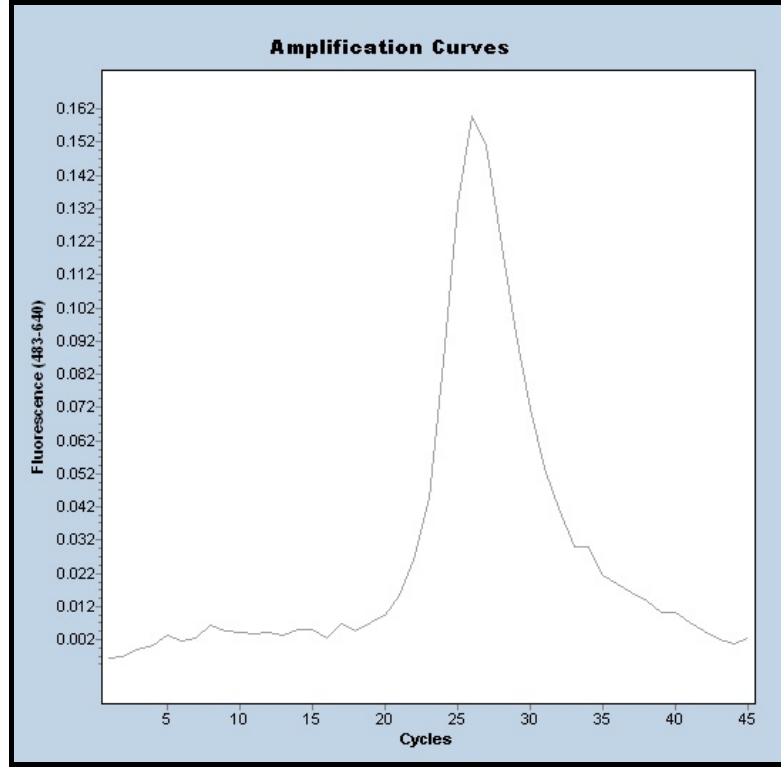
Şekil 4.72 150 mM NaCl stresi, 3 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili 2. uygulama



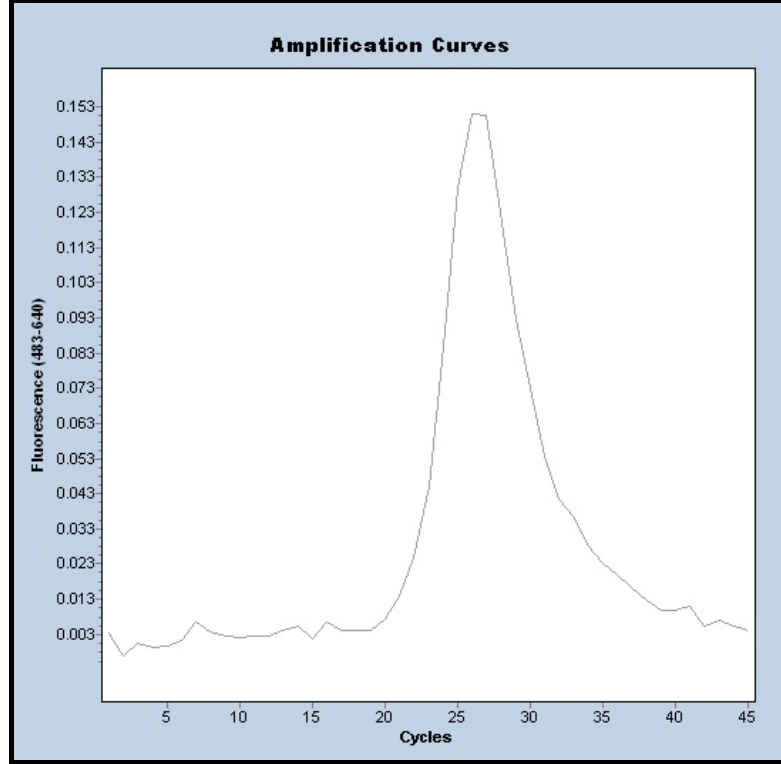
Şekil 4.73 150 mM NaCl stresi, 6 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili



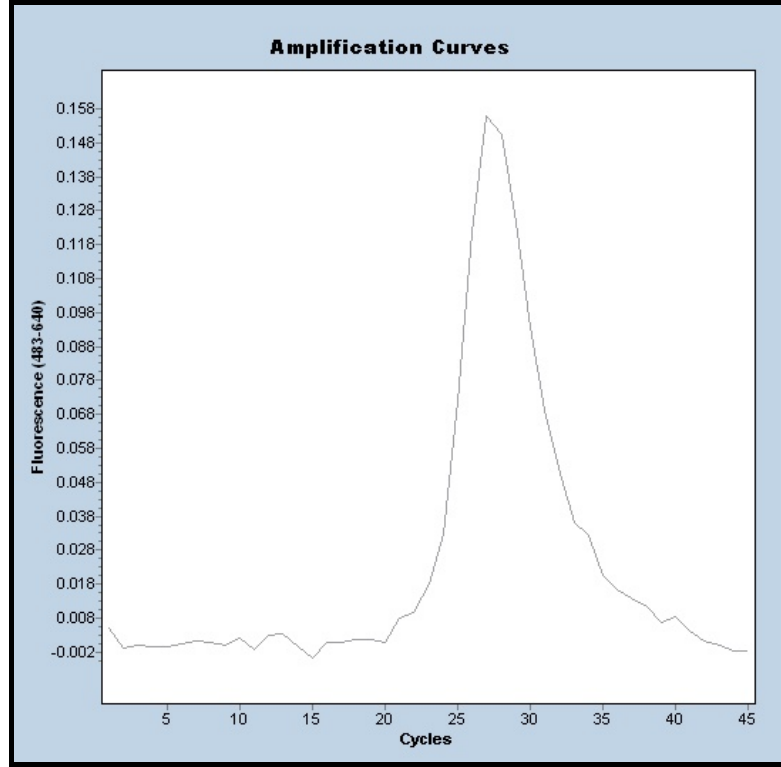
Şekil 4.74 150 mM NaCl stresi, 6 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili 2. uygulama



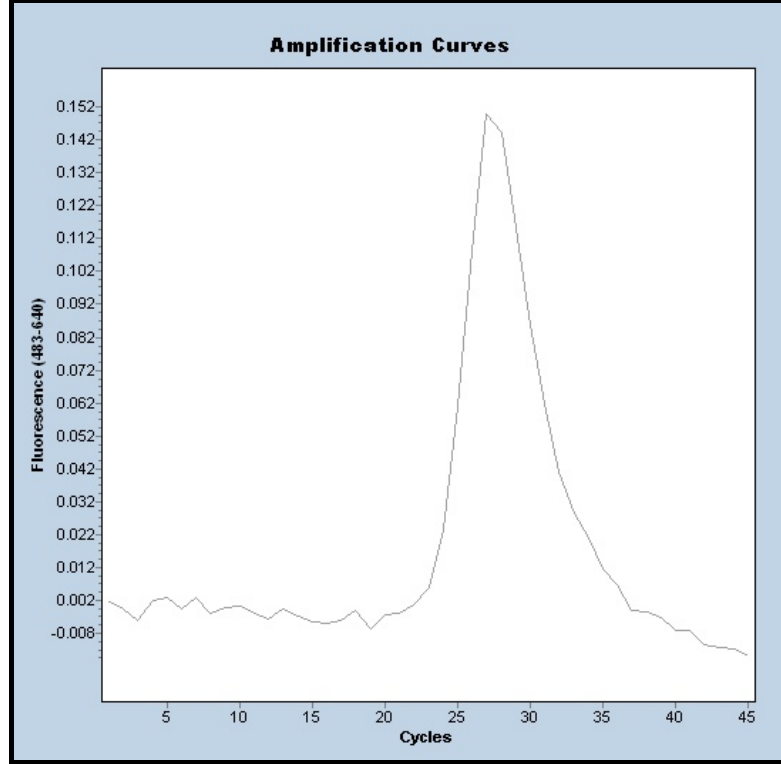
Şekil 4.75 150 mM NaCl stresi, 9 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili



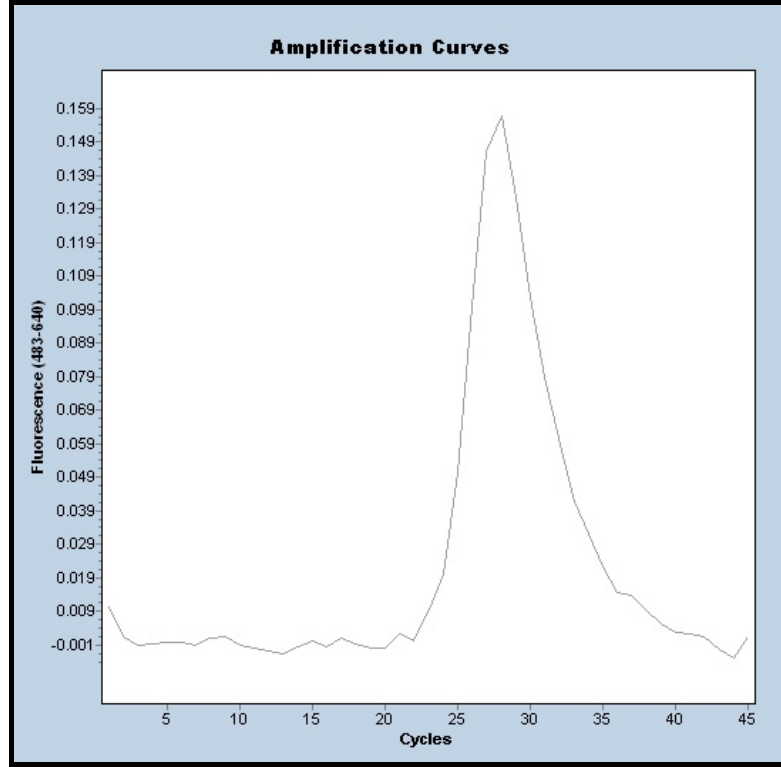
Şekil 4.76 150 mM NaCl stresi, 9 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili 2. uygulama



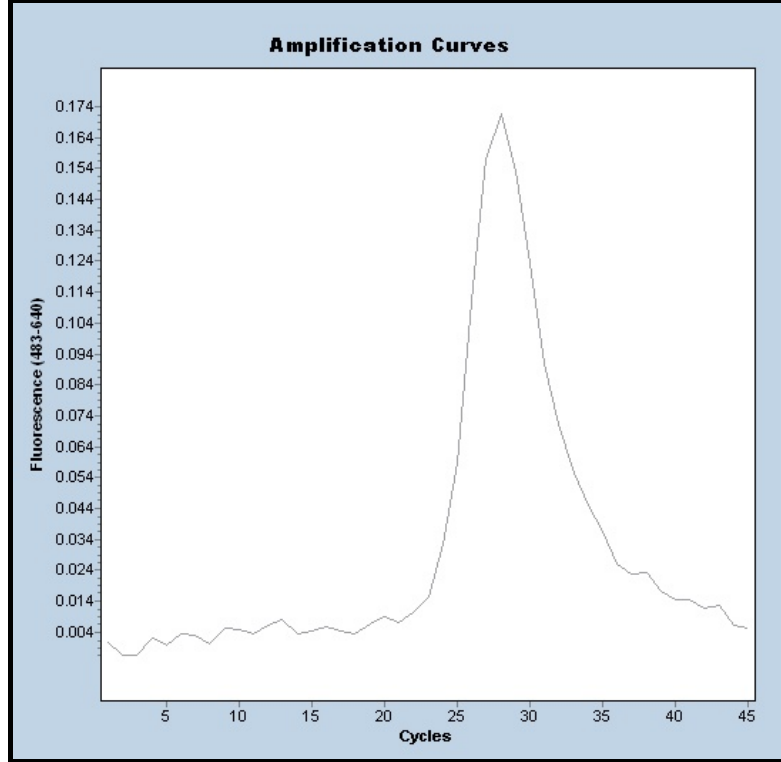
Şekil 4.77 150 mM tuz stresi, 12 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili



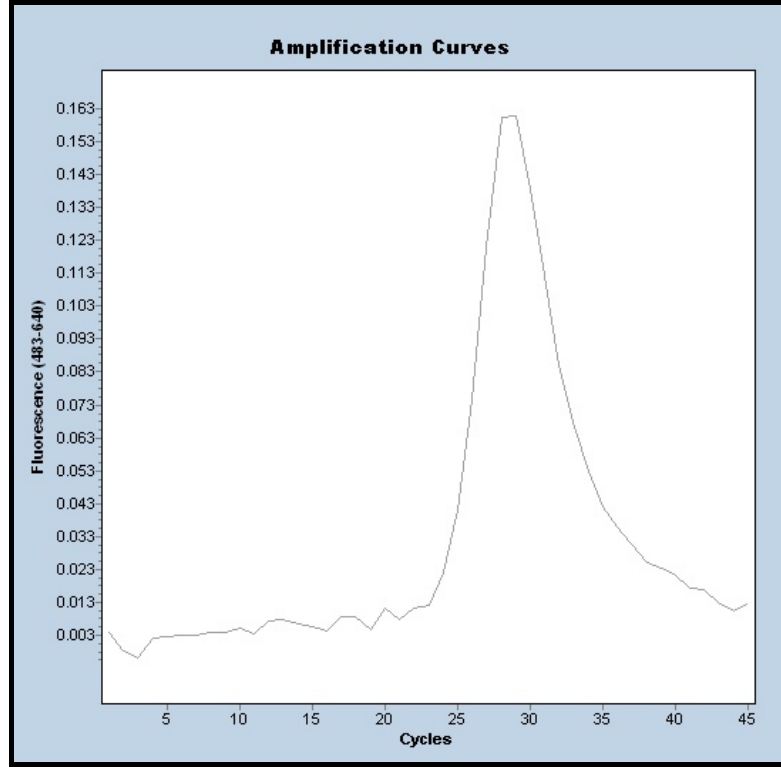
Şekil 4.78 150 mM NaCl stresi, 12 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili 2. uygulama



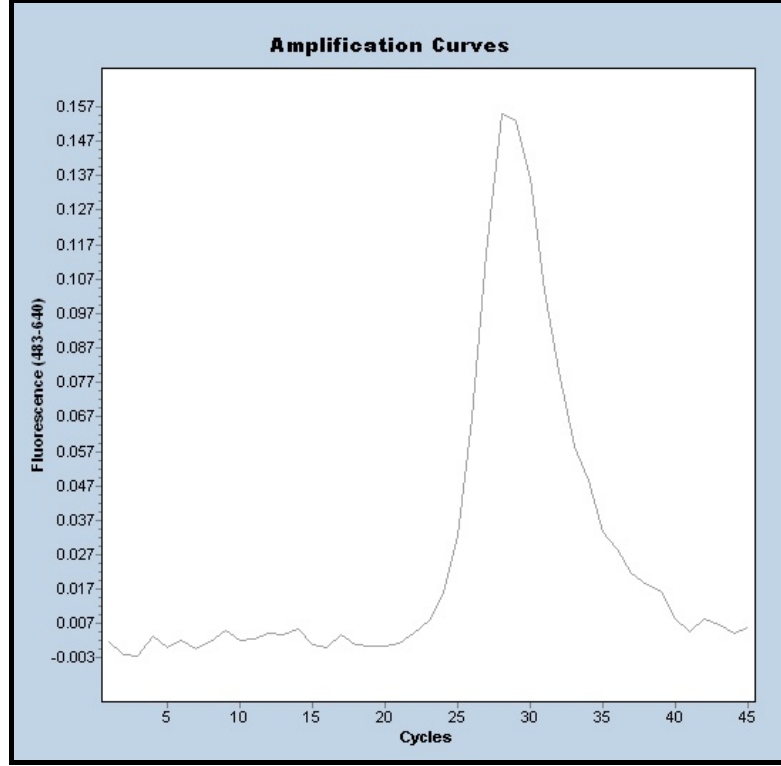
Şekil 4.79. 150 mM NaCl stresi,24 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili



Şekil 4.80 150 mM NaCl stresi, 24 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili 2. uygulama



Şekil 4.81. 150 mM NaCl stresi, 48 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili



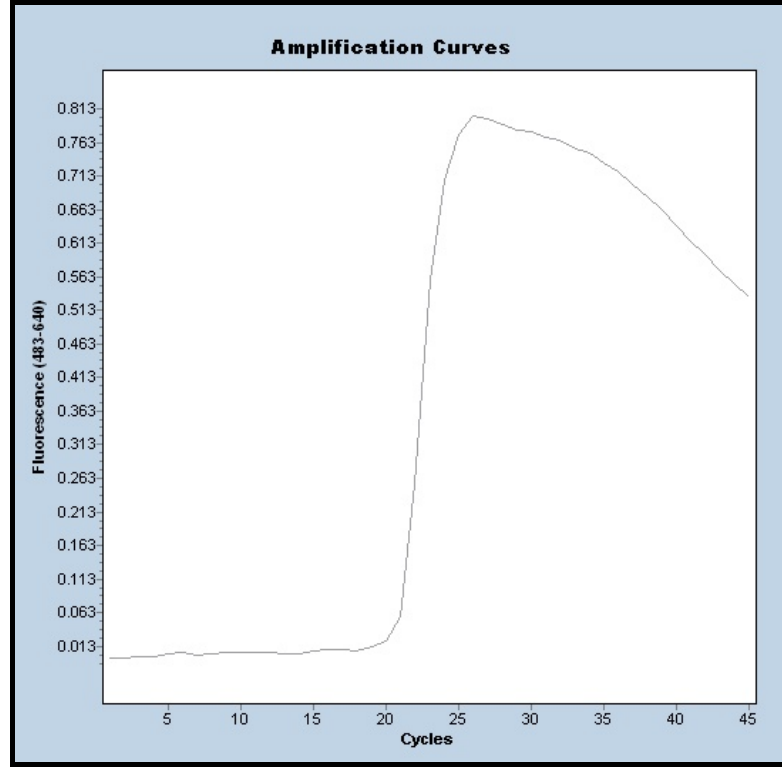
Şekil 4.82 150 mM NaCl stresi, 48 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili 2. uygulama

Çizelge 4.9 150 mM Tuz Stresi altında geliştirilmiş örneklerde SOD (Süperoksit Dismutaz) gen ekspresyon verileri

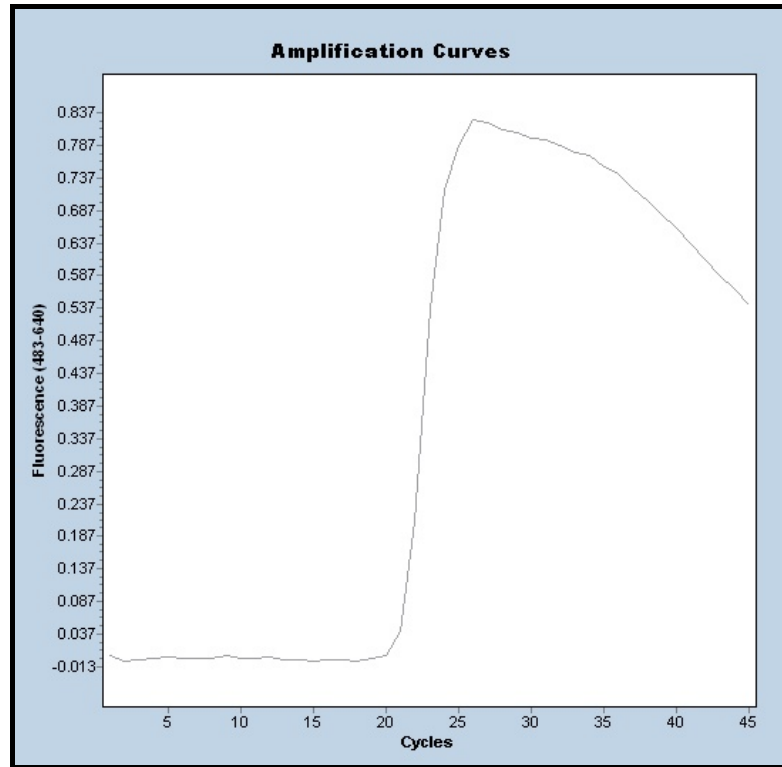
No	PCR'ı gerçekleştirilen örnek adı	SOD Ct Değeri	SOD Konsantrasyon
15	Tuz 150mM kontrol	21,03	1,04 10 ⁶
16	Tuz 150mM kontrol	21,39	8,18 10 ⁵
17	Tuz 150mM 3 saat	20,5	1,27 10 ⁶
18	Tuz 150mM 3 saat	20,47	1,29 10 ⁶
19	Tuz 150mM 6 saat	20,81	1,20 10 ⁶
20	Tuz 150mM 6 saat	21,22	9,19 10 ⁵
21	Tuz 150mM 9 saat	20,84	1,02 10 ⁶
22	Tuz 150mM 9 saat	20,79	1,05 10 ⁶
23	Tuz 150mM 12 saat	21,82	3,11 10 ⁶
24	Tuz 150mM 12 saat	21,79	3,16 10 ⁶
25	Tuz 150mM 24 saat	22,52	3,34 10 ⁵
26	Tuz 150mM 24 saat	22,59	3,19 10 ⁵
27	Tuz 150mM 48 saat	23,15	2,20 10 ⁵
28	Tuz 150mM 48 saat	23,17	2,18 10 ⁵

150 mM Tuz Stresi altında geliştirilmiş örneklerde SOD (Süperoksit Dismutaz) gen ekspresyon verileri çizelgesi real time PCR sonucu elde edilen pik profilleri ve SOD standart eğri grafiği aracılığı ile oluşturulmuştur.

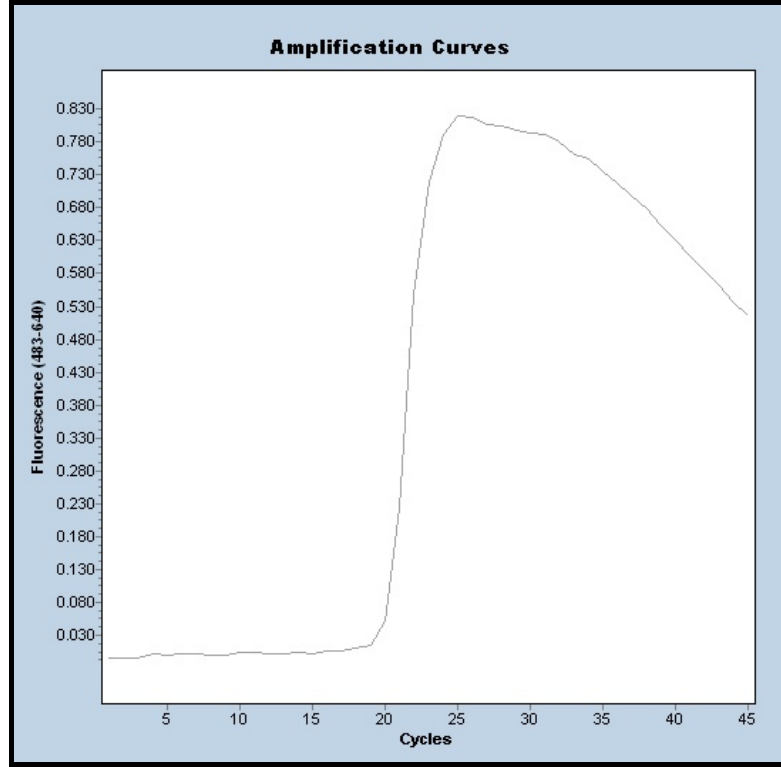
150 mM Tuz Stresi altında geliştirilmiş örneklerden ACT gen bölgesini çoğaltmak amacıyla PCR reaksiyonu ikişer tekrarlı olarak real time PCR cihazında gerçekleştirilmiştir. Florasan ışık temeline göre reaksiyon takip edilmiş ve CT değerleri belirlenmiştir. 150 mM tuz stresi altında geliştirilmiş bitkiciklere ait ACT real time PCR pik profilleri aşağıdaki gibidir.



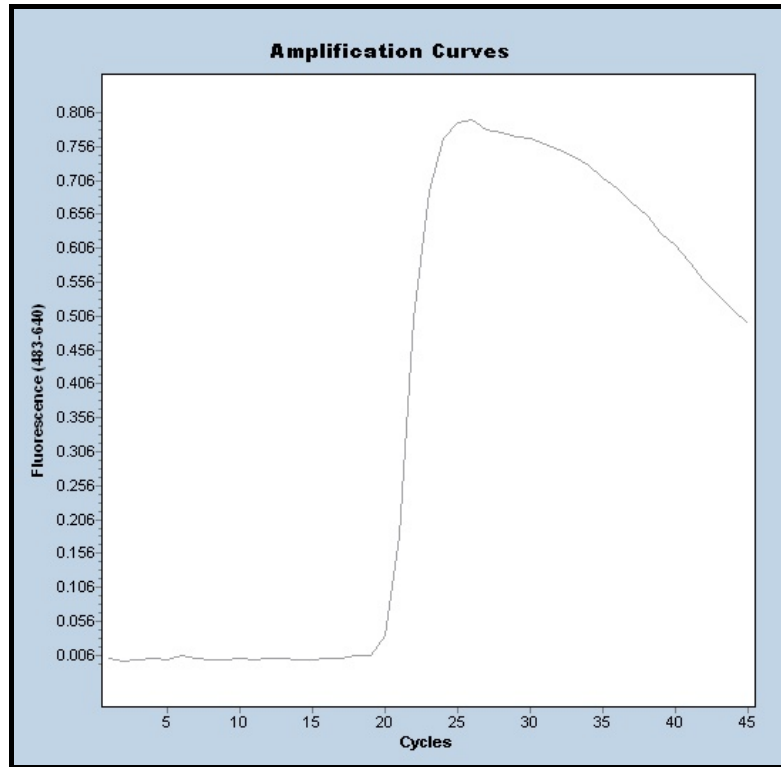
Şekil 4.83 150 mM NaCl stresi, kontrol bitkisi ACT real time PCR pik profili



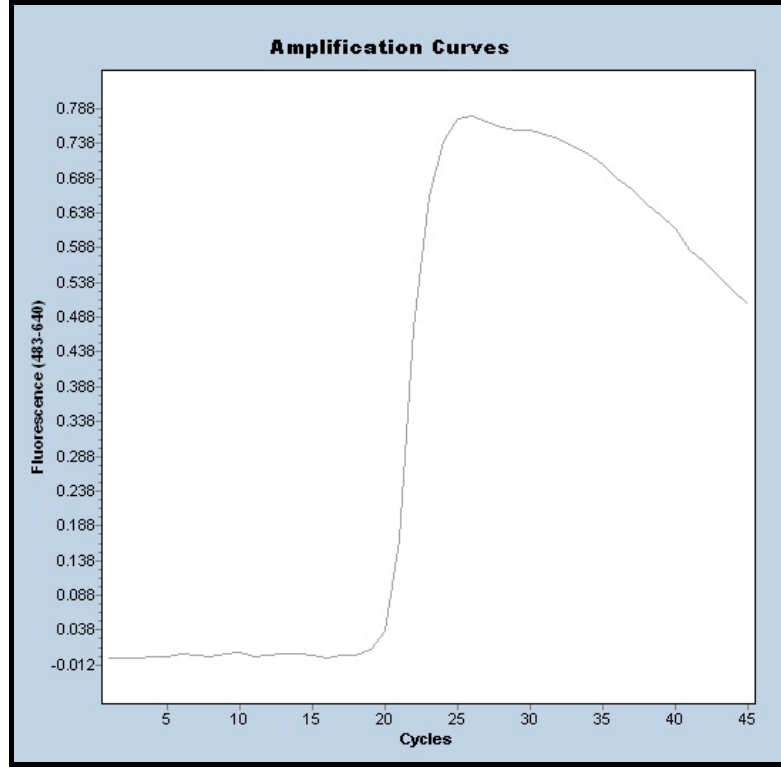
Şekil 4.84 150 mM NaCl stresi, kontrol (stres uygulanmamış) bitkisi ACT real time PCR pik profili 2. uygulama



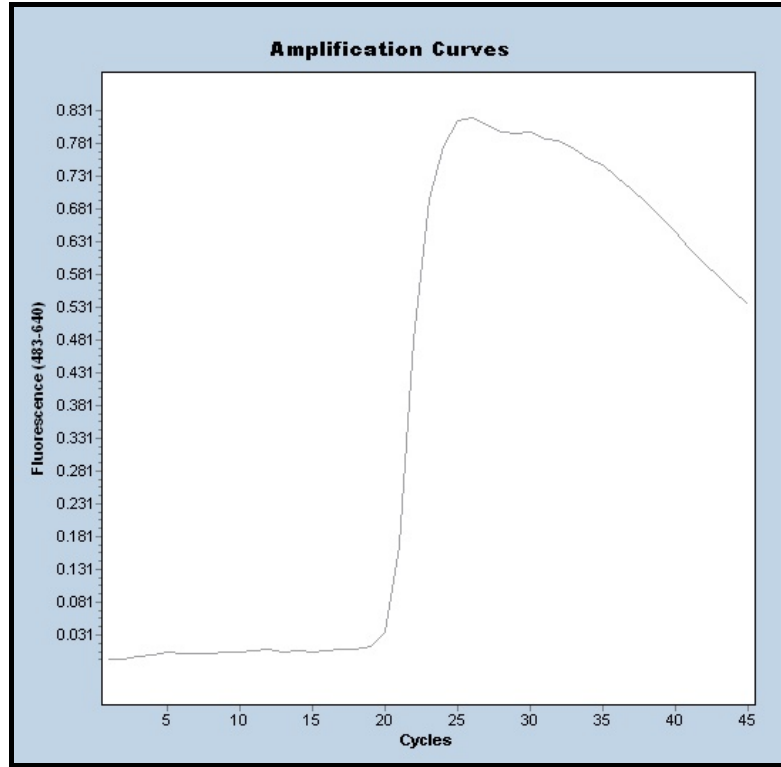
Şekil 4.85 150 mM NaCl stresi, 3 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili



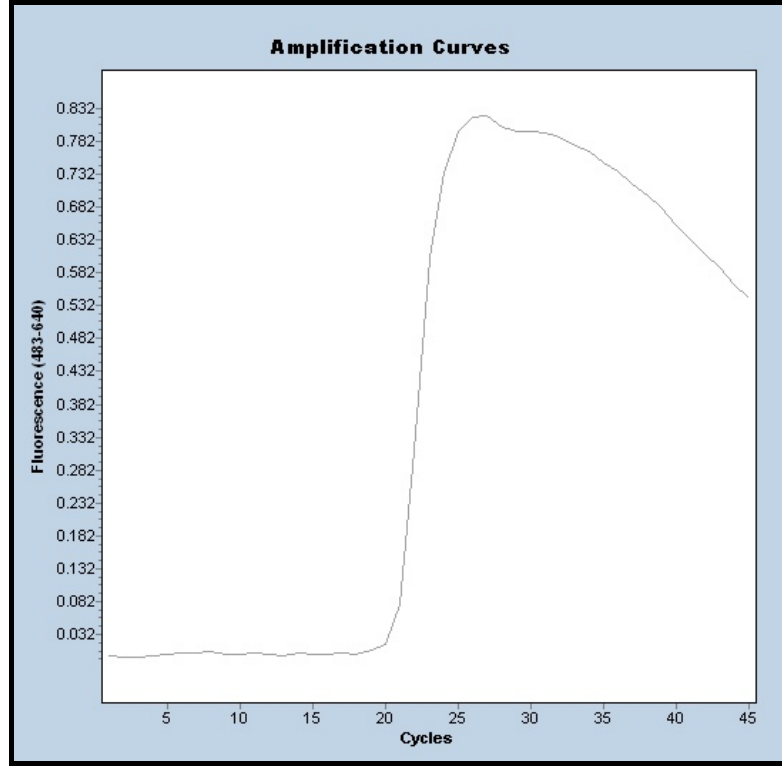
Şekil 4.86 150 mM NaCl stresi, 3 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili 2. uygulama



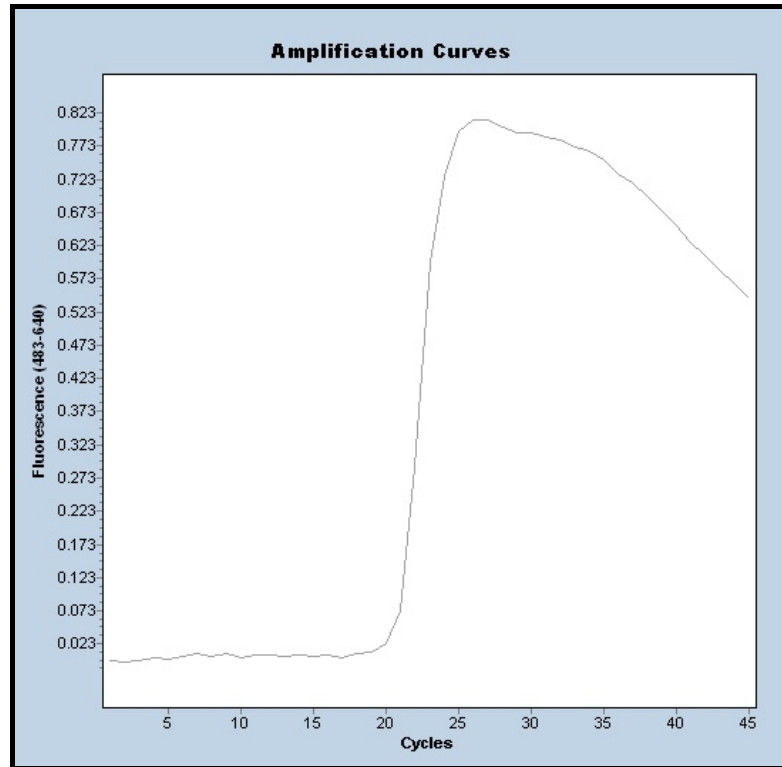
Şekil 4.87 150 mM NaCl stresi, 6 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili



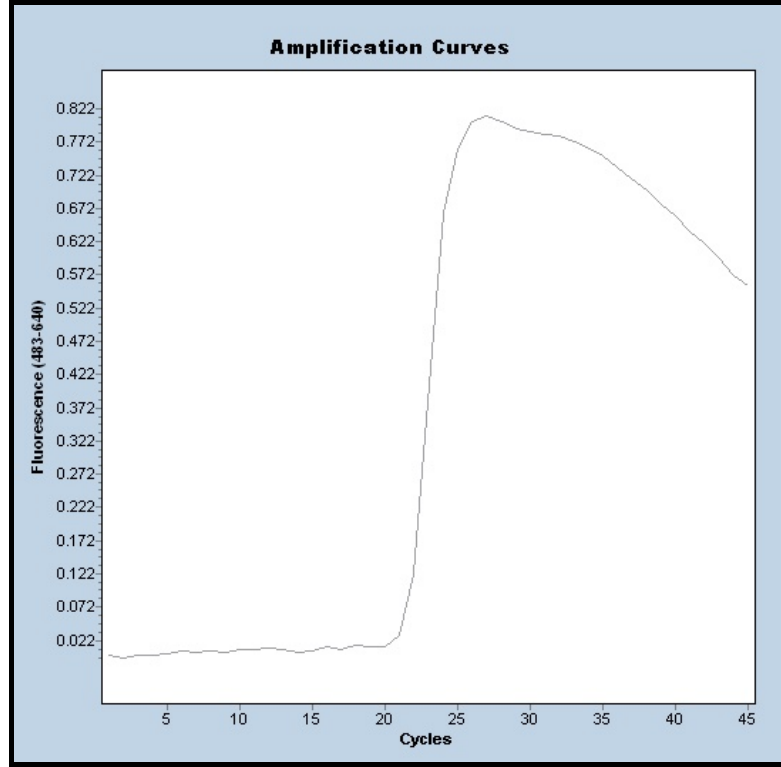
Şekil 4.88 150 mM NaCl stresi, 6 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili 2. uygulama



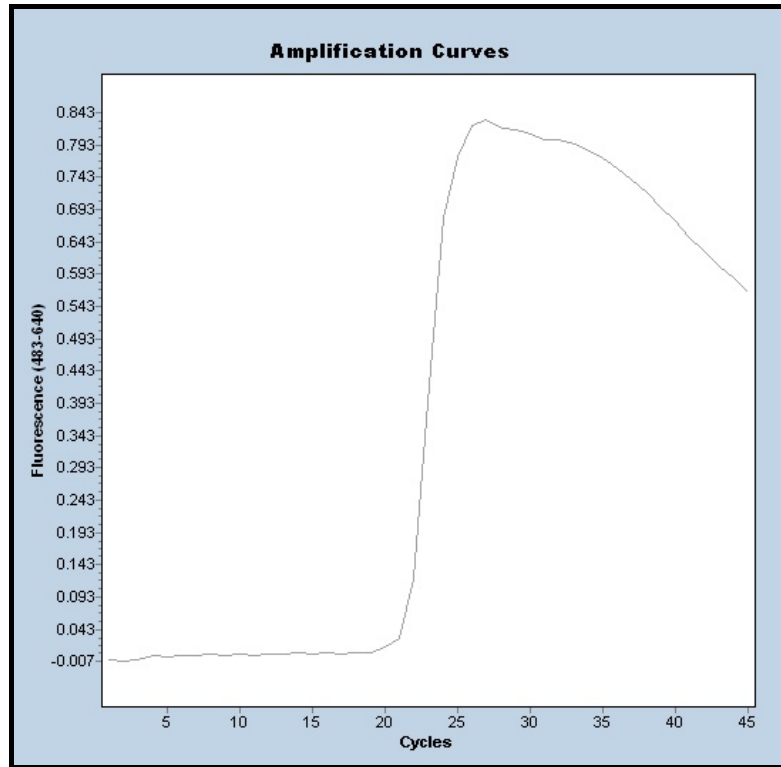
Şekil 4.89 150 mM NaCl stresi, 9 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili



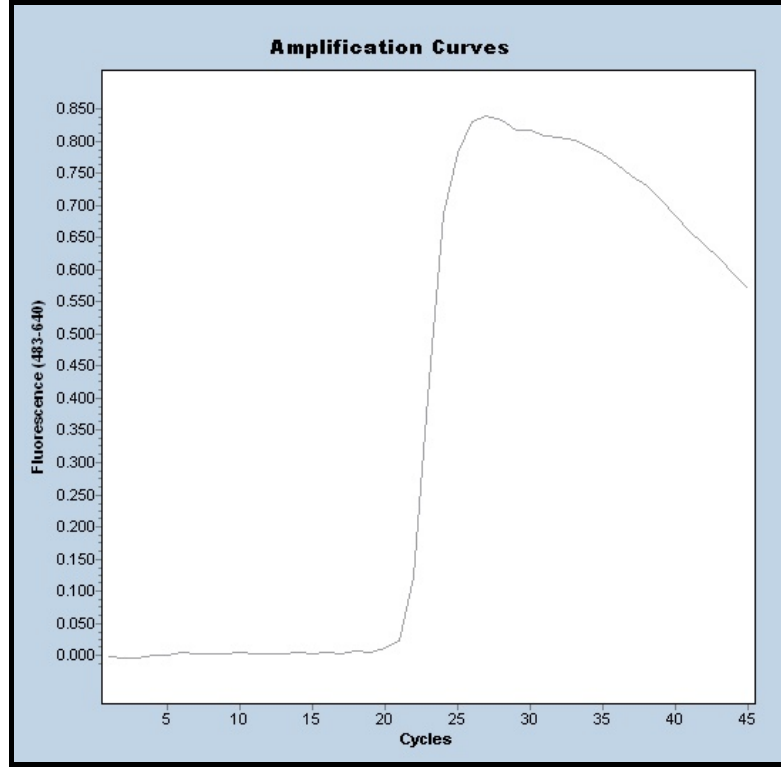
Şekil 4.90 150 mM NaCl stresi, 9 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili 2. uygulama



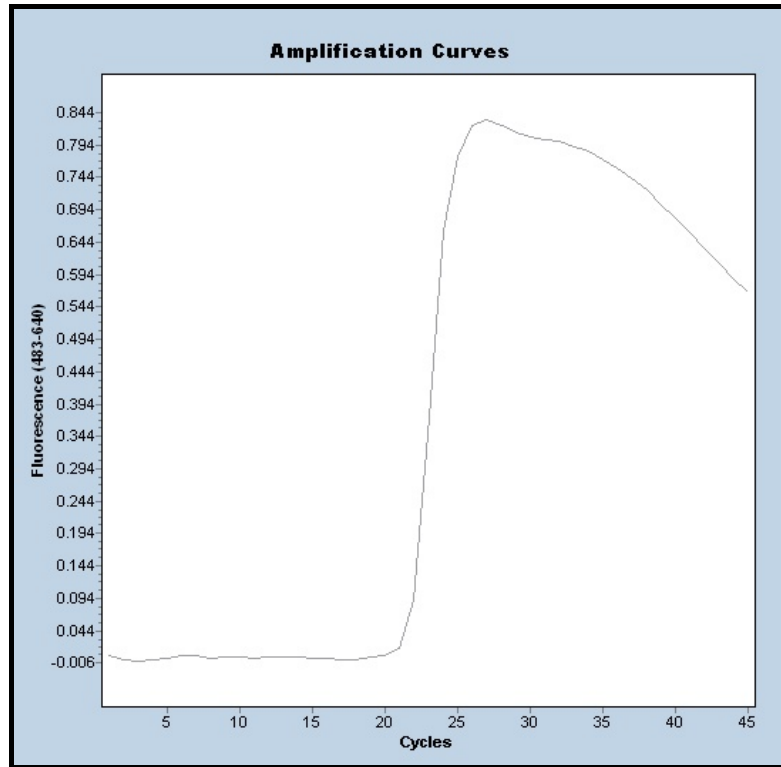
Şekil 4.91 150 mM tuz stresi, 12 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili



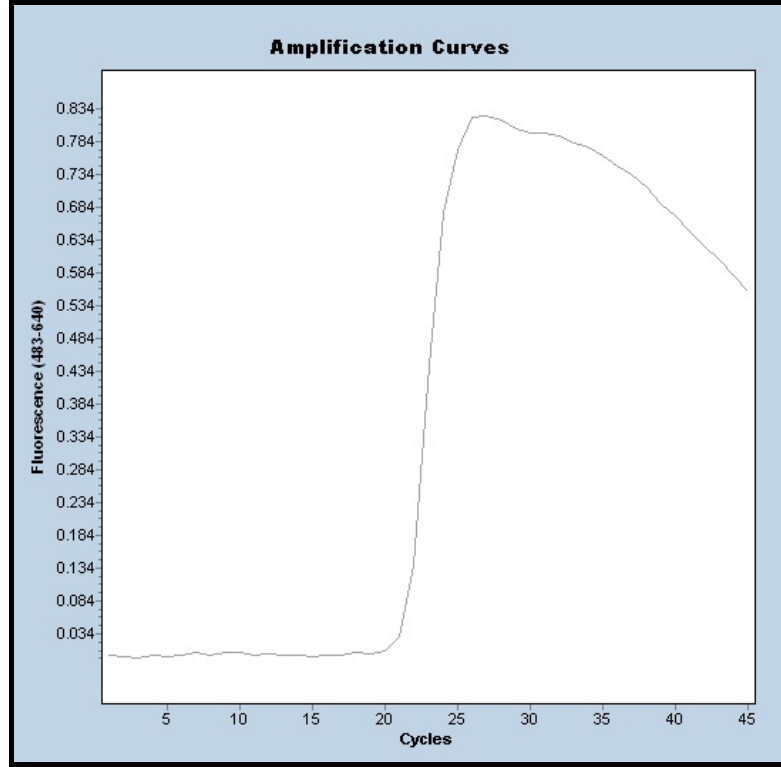
Şekil 4.92 150 mM NaCl stresi, 12 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili 2. uygulama



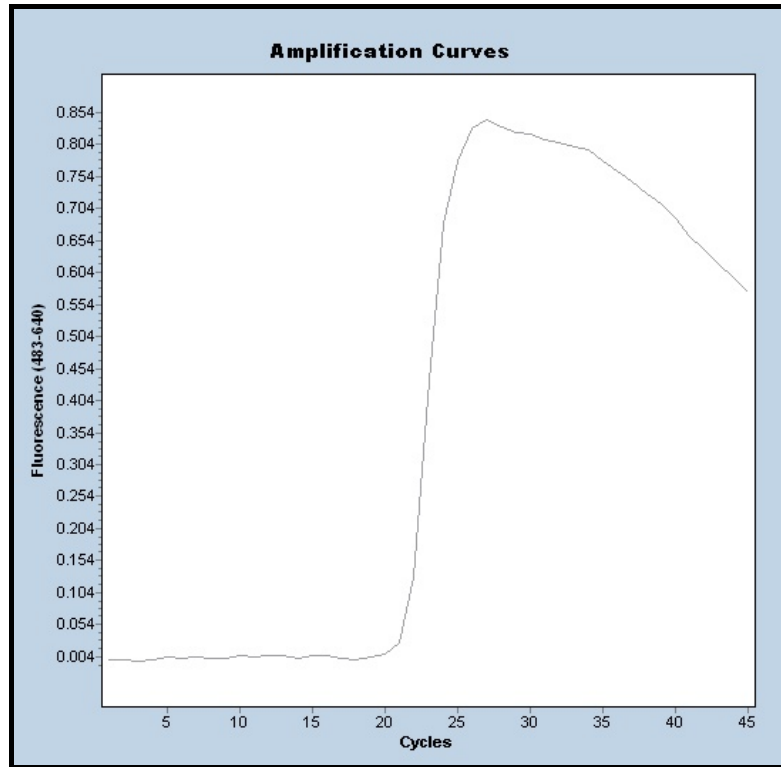
Şekil 4.93 150 mM NaCl stresi, 24 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili



Şekil 4.94 150 mM NaCl stresi, 24 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili 2. uygulama



Şekil 4.95. 150 mM NaCl stresi, 48 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili



Şekil. 4.96 150 mM NaCl stresi, 48 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili 2. uygulama

Çizelge 4.10 150 mM Tuz Stresi altında geliştirilmiş örneklerde ACT (Aktin) gen ekspresyon verileri

No	PCR'ı gerçekleştirilen örnek adı	ACT Ct değeri	ACT Konsantrasyon
15	Tuz 150mM kontrol	19,78	2,05 10 ⁶
16	Tuz 150mM kontrol	19,89	1,90 10 ⁶
17	Tuz 150mM 3 saat	18,87	3,74 10 ⁶
18	Tuz 150mM 3 saat	18,96	3,51 10 ⁶
19	Tuz 150mM 6 saat	19	3,42 10 ⁶
20	Tuz 150mM 6 saat	19,07	3,28 10 ⁶
21	Tuz 150mM 9 saat	19,62	2,27 10 ⁶
22	Tuz 150mM 9 saat	19,67	2,21 10 ⁶
23	Tuz 150mM 12 saat	20,31	1,44 10 ⁶
24	Tuz 150mM 12 saat	20,28	1,47 10 ⁶
25	Tuz 150mM 24 saat	20,27	1,48 10 ⁶
26	Tuz 150mM 24 saat	20,48	1,29 10 ⁶
27	Tuz 150mM 48 saat	20,2	1,56 10 ⁶
28	Tuz 150mM 48 saat	20,24	1,52 10 ⁶

150 mM Tuz Stresi altında geliştirilmiş örneklerde SOD (Süperoksid Dismutaz) gen ekspresyon verileri çizelgesi real time PCR sonucu elde edilen pik profilleri ve SOD standart eğri grafiği aracılığı ile oluşturulmuştur.

4.4.2.1. İstatistiksel Analizler

Verilerinin istatistiksel olarak değerlendirmesi Livak ve Schmittgen, 2001'e ait $2^{-\Delta\Delta CT}$ yöntemi ile housekeeping gen olan Actin ve kontrol koşullarına göre normalize edilmiştir (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11 150 mM Tuz stresi, SOD(Süperoksit dismutaz) normalize gen ekspresyon verileri

Stres Uygulaması	SOD Normalize Ekspresyon
Tuz 150 mM kontrol	1,00063
Tuz 150 mM kontrol	0,84916
Tuz 150 mM kontrol	1,17707
Tuz 150 mM kontrol	0,99890
Tuz 150 mM kontrol	1,08170
Tuz 150 mM kontrol	0,91797
Tuz 150 mM 3 saat	0,66977
Tuz 150 mM 3 saat	0,72489
Tuz 150 mM 3 saat	0,78787
Tuz 150 mM 3 saat	0,85272
Tuz 150 mM 3 saat	0,72403
Tuz 150 mM 3 saat	0,78363
Tuz 150 mM 6 saat	0,69207
Tuz 150 mM 6 saat	0,55263
Tuz 150 mM 6 saat	0,81410
Tuz 150 mM 6 saat	0,65008
Tuz 150 mM 6 saat	0,74814
Tuz 150 mM 6 saat	0,59740
Tuz 150 mM 9 saat	0,88627
Tuz 150 mM 9 saat	0,93711
Tuz 150 mM 9 saat	1,04255
Tuz 150 mM 9 saat	1,10235
Tuz 150 mM 9 saat	0,95808
Tuz 150 mM 9 saat	1,01303
Tuz 150 mM 12 saat	4,25981
Tuz 150 mM 12 saat	4,23996
Tuz 150 mM 12 saat	5,01096

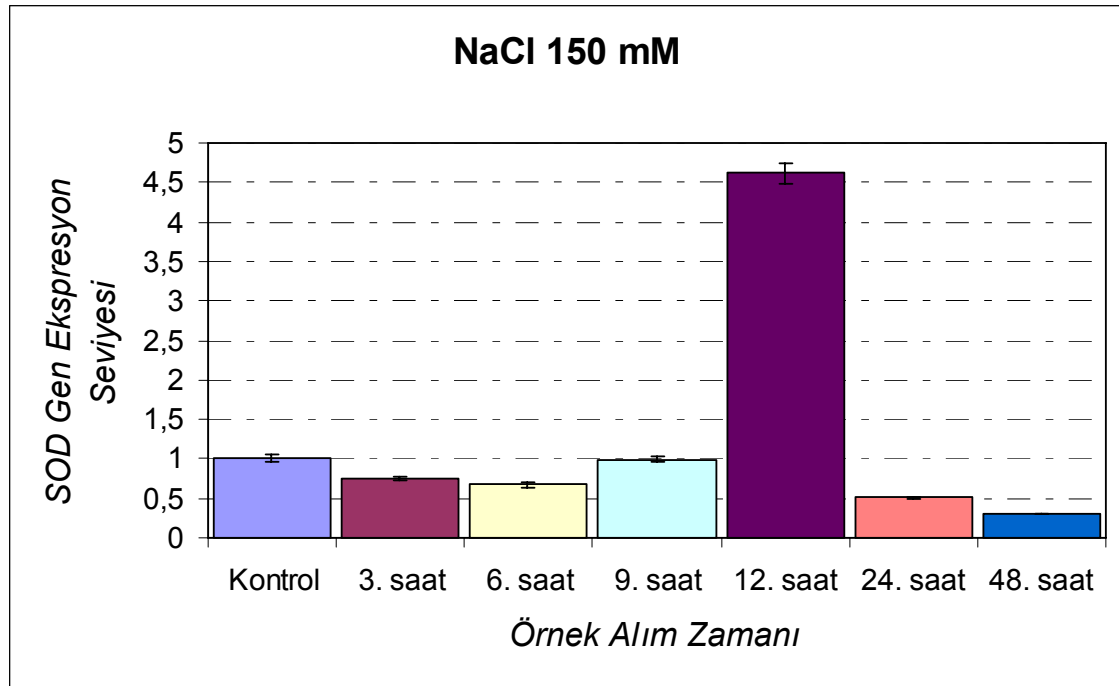
Çizelge 4.11 150 mM Tuz stresi, SOD(Süperoksit dismutaz) normalize gen ekspresyon verileri (devam)

Stres Uygulaması	SOD Normalize Ekspresyon
Tuz 150 mM 12 saat	4,98761
Tuz 150 mM 12 saat	4,60495
Tuz 150 mM 12 saat	4,58350
Tuz 150 mM 24 saat	0,44512
Tuz 150 mM 24 saat	0,48775
Tuz 150 mM 24 saat	0,52361
Tuz 150 mM 24 saat	0,57375
Tuz 150 mM 24 saat	0,48118
Tuz 150 mM 24 saat	0,52726
Tuz 150 mM 48 saat	0,27816
Tuz 150 mM 48 saat	0,28288
Tuz 150 mM 48 saat	0,32721
Tuz 150 mM 48 saat	0,33276
Tuz 150 mM 48 saat	0,30069
Tuz 150 mM 48 saat	0,30580

Normalizasyon sonucunda elde edilen verilerin ortalama, standart sapma ve standart hataları hesaplanmış aşağıdaki gibidir. Bu veriler aracılığı ile 1%0 mM tuz stresi altında geliştirilmiş bitkilerde zamana bağlı olarak, SOD gen ekspresyon seviyesini konsantrasyon şeklinde belirten grafik oluşturulmuştur.

Çizelge 4.12 150 mM Tuz Stresi altında geliştirilmiş örneklerde ortalama, standart sapma ve standart hata verileri

Stres Uygulaması	Zaman saat	Ortalama	Standart sapma	Standart hata
Tuz 150 mM	Kontrol	1,004237756	0,1161062	0,047400158
Tuz 150 mM	3h	0,757152056	0,064110476	0,026172992
Tuz 150 mM	6h	0,675735849	0,096543246	0,039413615
Tuz 150 mM	9h	0,98989868	0,078091144	0,031880576
Tuz 150 mM	12h	4,614463616	0,335716577	0,137055718
Tuz 150 mM	24h	0,506445748	0,044736442	0,018263576
Tuz 150 mM	48h	0,30458402	0,022323994	0,009113732



Şekil 4.97 150 mM NaCl stresi, zamana bağlı gen ekspresyon seviyesi

One Way ANOVA (Dunnett)'a yöntemi ile stres uygulamalarında zamana karşı farklılaşan gen ekspresyon seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlılık dereceleri belirlenmiştir. Buna göre 100 mM tuz stresinde zamana bağlı değişimler %100 anlamlıdır (Çizelge 13).

Çizelge 4.13 150 mM Tuz Stresi One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi)
Verileri

EKPRESYON	Kareler	Df	Kareler	F	Anlamlılık
	Toplamı		Ortalaması		
Gruplar arası	80.793	6	13.466	635.959	.000
Grup içi	.741	35	.021		
Toplam	81.534	41			

Çizelge 4.14 150 mM Tuz stresi (Post Hoc Test Multiple Comparisons Dependent Variable: Expression Dunnett T3)

(I) ZAMAN	(J) ZAMAN	Ortalama Fark (I-J)	Standart Hata	Anlamlılık	95% Güven Aralığı	
					Alt Sınır	Üst Sınır
1 (kontrol)	2 (3 saat)	0,2470857	0,054146103	0,028543186	0,024483485	0,469687916
	3 (6 saat)	0,328501907	0,061645827	0,006301264	0,089449886	0,567553928
	4 (9 saat)	0,014339076	0,057123954	1	-0,212885596	0,241563748
	5 (12 saat)	-3,61022586	0,145020843	2,84037E-06	-4,254561569	-2,965890152
	6 (24 saat)	0,497792008	0,05079698	0,000598303	0,275655272	0,719928743
	7 (48 saat)	0,699653736	0,048268365	0,000210404	0,47272505	0,926582423
	1 (kontrol)	-0,2470857	0,054146103	0,028543186	-0,469687916	-0,024483485
2 (3 saat)	3 (6 saat)	0,081416207	0,047312351	0,797030448	-0,107146464	0,269978878
	4 (9 saat)	-0,232746624	0,04124799	0,004207606	-0,39287303	-0,072620218
	5 (12 saat)	-3,857311561	0,139532417	6,99736E-06	-4,513571456	-3,201051665
	6 (24 saat)	0,250706307	0,031915259	0,000460288	0,124438386	0,376974229
	7 (48 saat)	0,452568036	0,027714358	3,60877E-05	0,329548674	0,575587398
	1 (kontrol)	-0,328501907	0,061645827	0,006301264	-0,567553928	-0,089449886
	2 (3 saat)	-0,081416207	0,047312351	0,797030448	-0,269978878	0,107146464
3 (6 saat)	4 (9 saat)	-0,314162831	0,050693236	0,002116255	-0,51122092	-0,117104742
	5 (12 saat)	-3,938727767	0,142610319	2,94733E-06	-4,58711915	-3,290336385

Çizelge 4.14 150 mM Tuz stresi (Post Hoc Test Multiple Comparisons Dependent Variable: Expression Dunnett T3) (devam)

(I) ZAMAN	(J) ZAMAN	Ortalama Fark (I-J)	Standart Hata	Anlamlılık	95% Güven Aralığı	
					Alt Sınır	Üst Sınır
	6 (24 saat)	0,169290101	0,043439513	0,074848466	-0,014950805	0,353531006
	7 (48 saat)	0,371151829	0,040453593	0,001912094	0,183377138	0,55892652
4 (9 saat)	1 (kontrol)	-0,014339076	0,057123954	1	-0,241563748	0,212885596
	2 (3 saat)	0,232746624	0,04124799	0,004207606	0,072620218	0,39287303
	3 (6 saat)	0,314162831	0,050693236	0,002116255	0,117104742	0,51122092
	5 (12 saat)	-3,624564937	0,140714751	7,3797E-06	-4,277412719	-2,971717154
	6 (24 saat)	0,483452931	0,036741385	1,85451E-05	0,333381908	0,633523954
	7 (48 saat)	0,68531466	0,033157673	1,58858E-05	0,534461421	0,836167899
5 (12 saat)	1 (kontrol)	3,61022586	0,145020843	2,84037E-06	2,965890152	4,254561569
	2 (3 saat)	3,857311561	0,139532417	6,99736E-06	3,201051665	4,513571456
	3 (6 saat)	3,938727767	0,142610319	2,94733E-06	3,290336385	4,58711915
	4 (9 saat)	3,624564937	0,140714751	7,3797E-06	2,971717154	4,277412719
	6 (24 saat)	4,108017868	0,138267235	6,91497E-06	3,447516074	4,768519661
	7 (48 saat)	4,309879597	0,1373584	6,8682E-06	3,645924731	4,973834462
6 (24 saat)	1 (kontrol)	-0,497792008	0,05079698	0,000598303	-0,719928743	-0,275655272
	2 (3 saat)	-0,250706307	0,031915259	0,000460288	-0,376974229	-0,124438386

Çizelge 4.14 150 mM Tuz stresi (Post Hoc Test Multiple Comparisons Dependent Variable: Expression Dunnett T3) (devam)

(I) ZAMAN	(J) ZAMAN	Ortalama Fark (I-J)	Standart Hata	Anlamlılık	95% Güven Aralığı	
					Alt Sınır	Üst Sınır
	3 (6 saat)	-0,169290101	0,043439513	0,074848466	-0,353531006	0,014950805
	4 (9 saat)	-0,483452931	0,036741385	1,85451E-05	-0,633523954	-0,333381908
	5 (12 saat)	-4,108017868	0,138267235	6,91497E-06	-4,768519661	-3,447516074
	7 (48 saat)	0,201861729	0,02041123	0,000263027	0,116417604	0,287305853
7 (48 saat)	1 (kontrol)	-0,699653736	0,048268365	0,000210404	-0,926582423	-0,47272505
	2 (3 saat)	-0,452568036	0,027714358	3,60877E-05	-0,575587398	-0,329548674
	3 (6 saat)	-0,371151829	0,040453593	0,001912094	-0,55892652	-0,183377138
	4 (9 saat)	-0,68531466	0,033157673	1,58858E-05	-0,836167899	-0,534461421
	5 (12 saat)	-4,309879597	0,1373584	6,8682E-06	-4,973834462	-3,645924731
	6 (24 saat)	-0,201861729	0,02041123	0,000263027	-0,287305853	-0,116417604

- Ortalama fark .05 düzeyinde anlamlıdır.

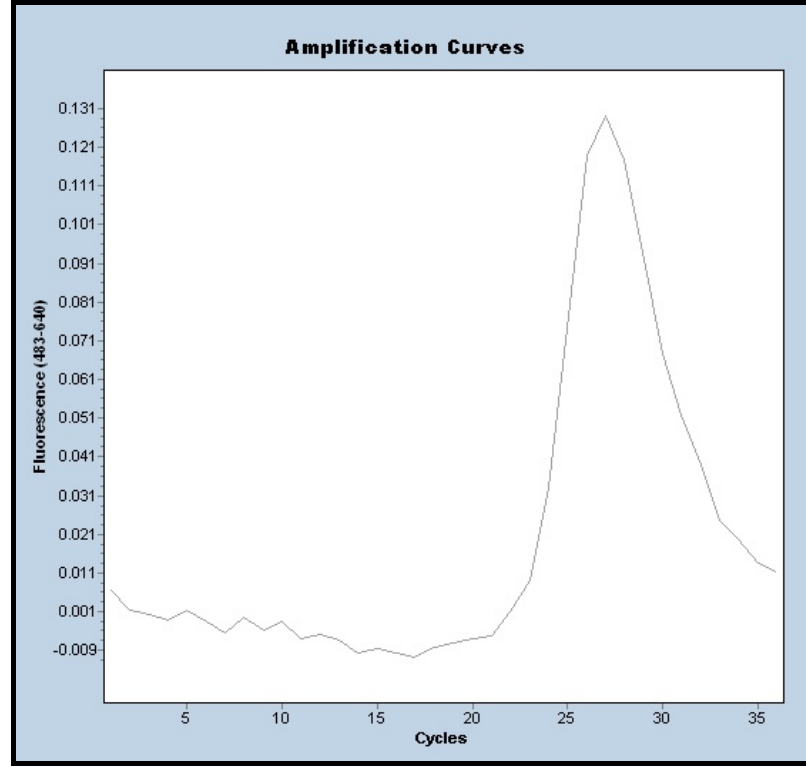
Çizelge 4.15 150 mM Tuz stresi (Post Hoc Test Multiple Comparisons Dependent Variable: Expression Dunnett T3) Değerlendirmesi

Tuz 150 mM	Kontrol	3h	6h	9h	12h	24h	48h
Kontrol	ns						
3h	*	ns					
6h	**	ns	ns				
9h	ns	*	*	ns			
12h	***	***	***	***	ns		
24h	**	***	ns	***	***	ns	
48h	***	***	*	***	***	***	Ns

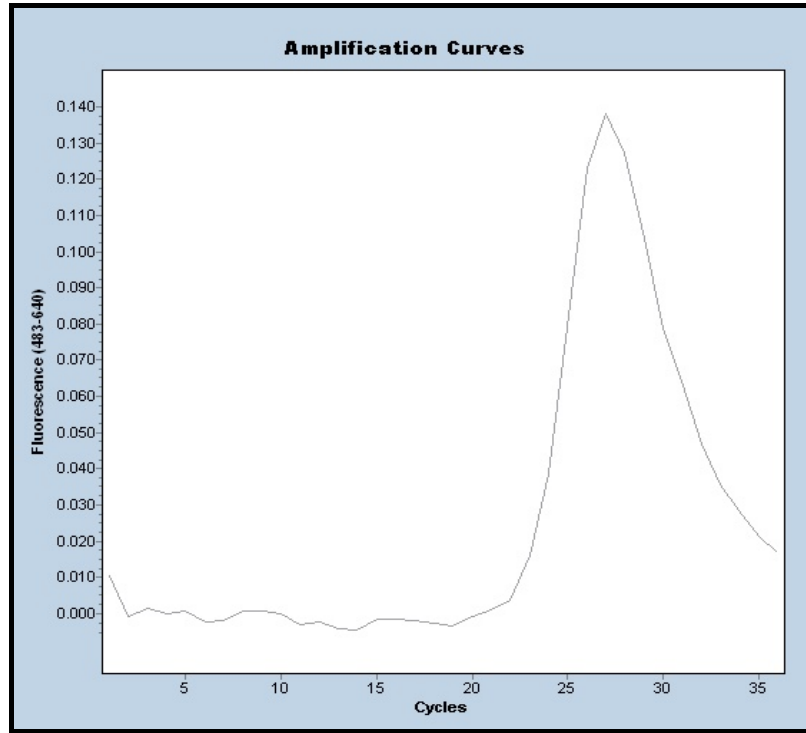
p<0.05 *, p<0.01 **, p<0.001 ***, ns non significant(anlamsız)

4.4.3. 100 mM Tuz Stresine Eş PEG Stresi

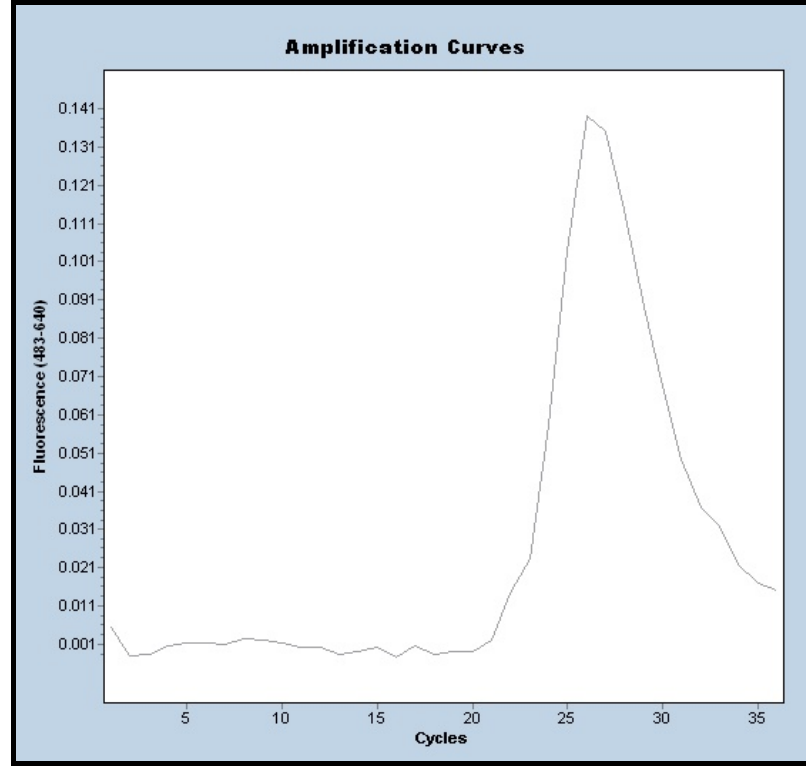
100 mM tuz ile eş osmotik basıncı oluşturacak miktarda PEG 6000 miktarları belirlenen (%15,955) ve böylece kuraklık ve tuz stresi dengelenen koşullarda 48 saat süre ile tutulan 25 günlük *Lycopersicum esculentum* L. bitkiciklerden 0., 3., 6., 9., 12., 24., 48. saatlerde alınan örneklerden RNA izolasyonu ve cDNA sentezi yapılmıştır. Örneklerden hem SOD hem de ACT için ayrı ayrı PCR reaksiyonu ikişer tekrarlı olarak real time PCR cihazında gerçekleştirilmiştir. Florasan ışık temeline göre reaksiyon takip edilmiş ve CT değerleri belirlenmiştir. 150 mM tuz stresi altında geliştirilmiş bitkiciklere ait SOD PCR reaksiyonu profilleri aşağıdaki gibidir.



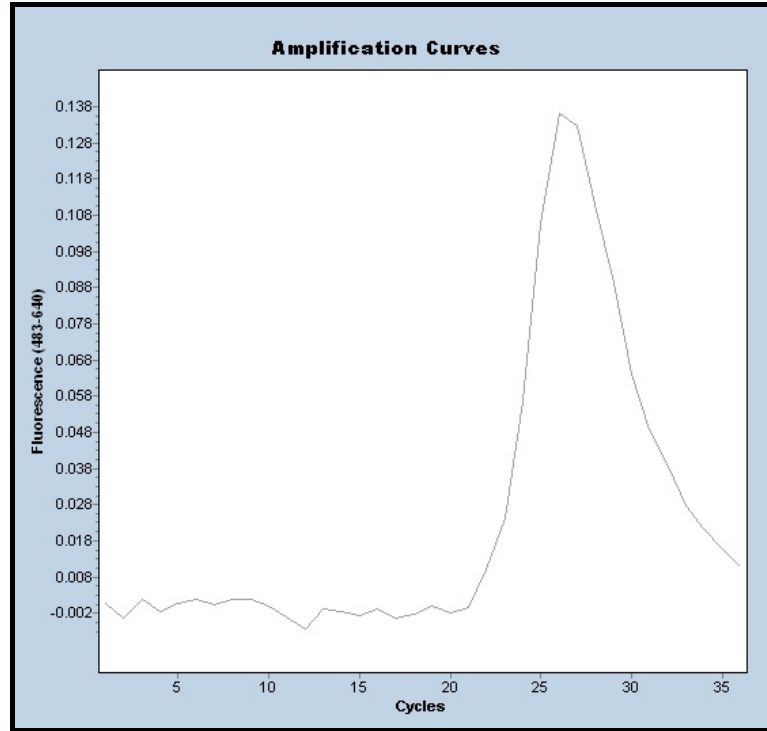
Şekil 4.98 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, kontrol bitkisi SOD real time PCR pik profili



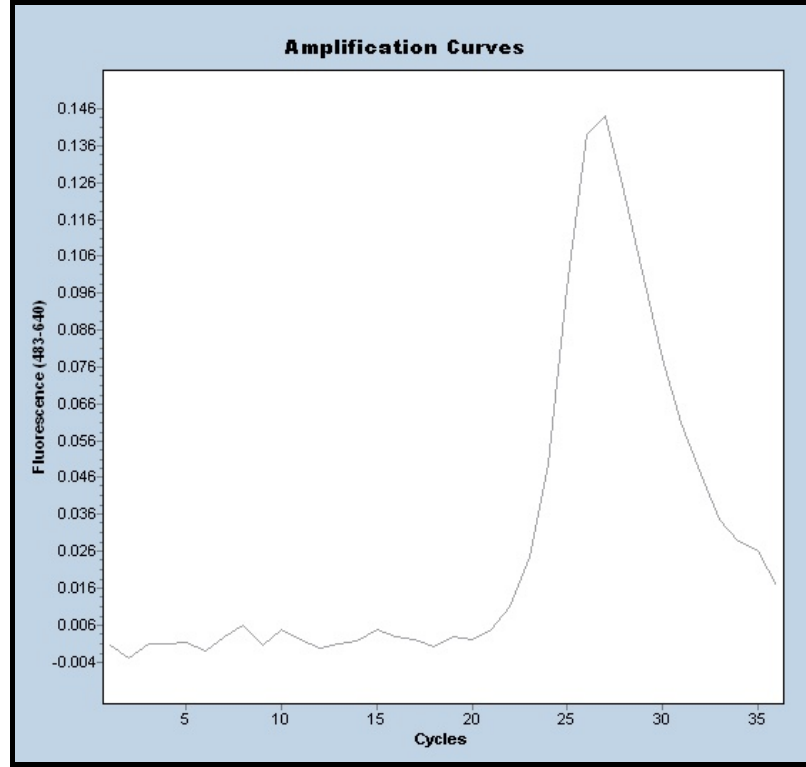
Şekil 4.99 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, kontrol bitkisi SOD real time PCR pik profili 2. uygulama



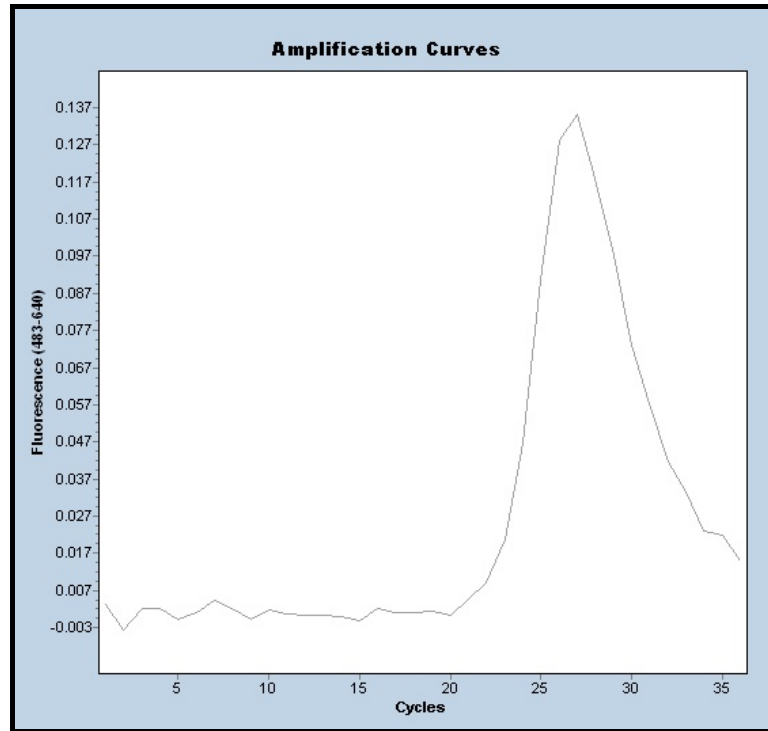
Şekil 4.100 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 3 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili



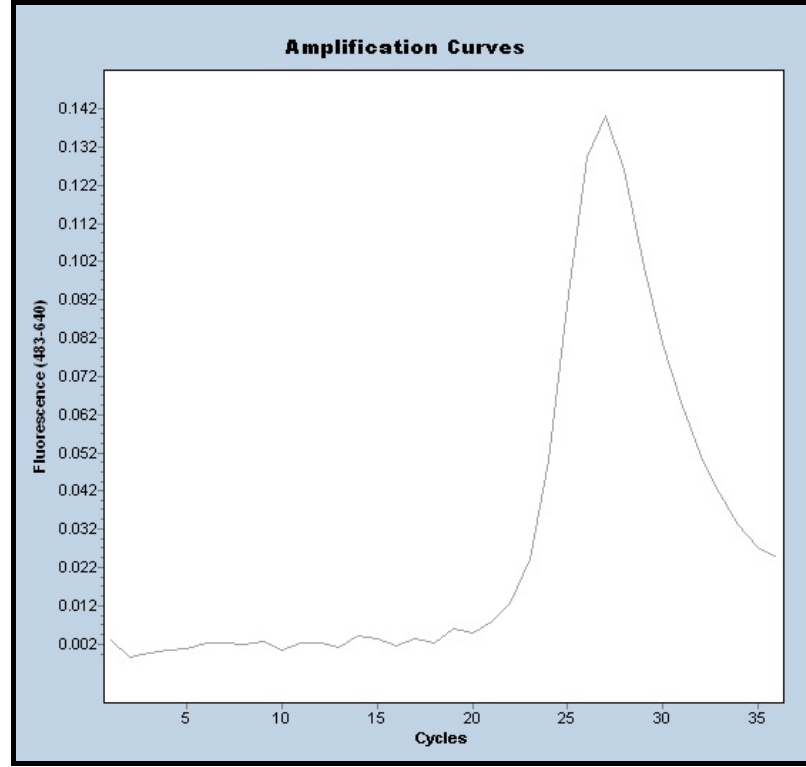
Şekil 4.101 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 3 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili 2. uygulama



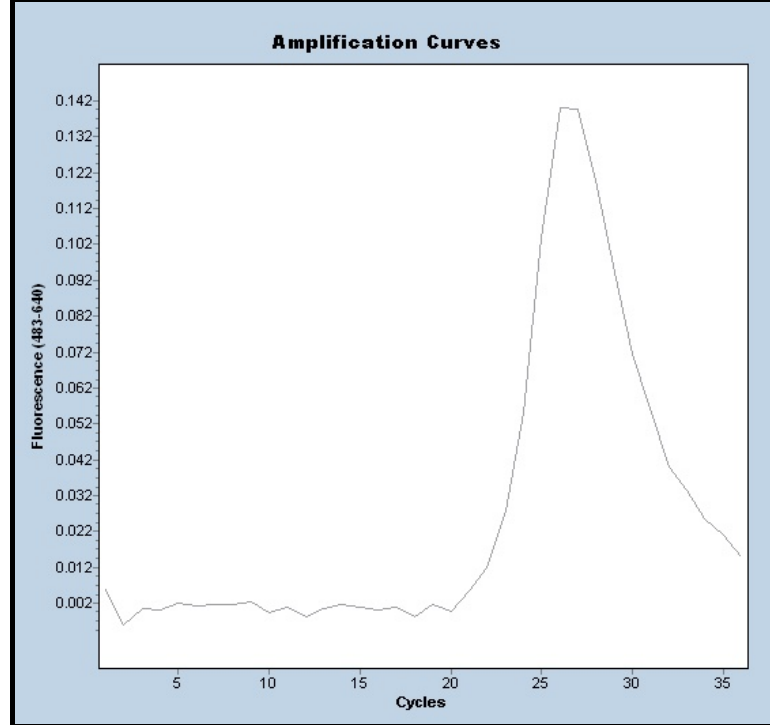
Şekil 4.102 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 6 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili



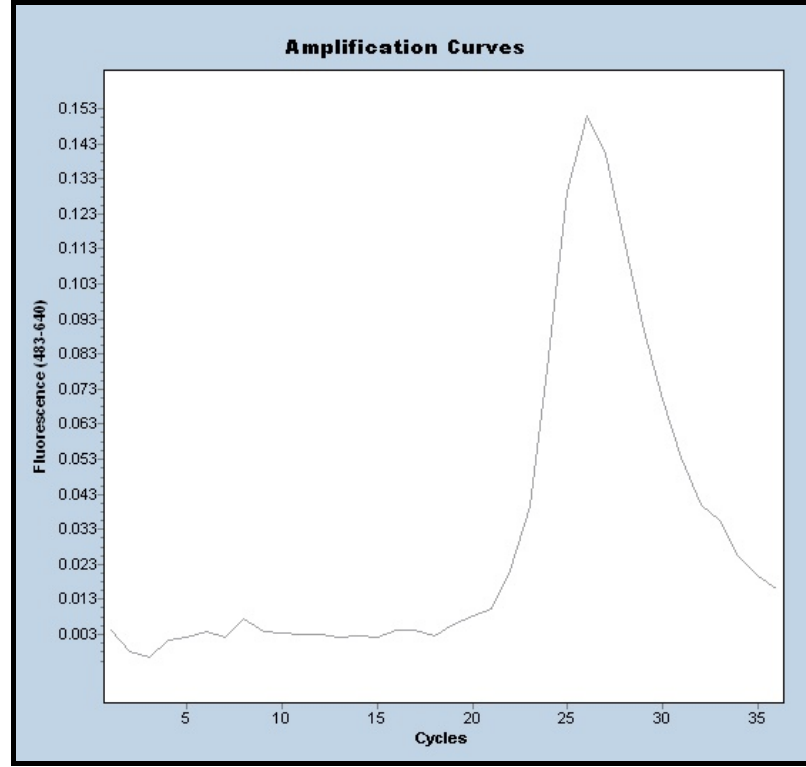
Şekil 4.103 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 6 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili 2. uygulama



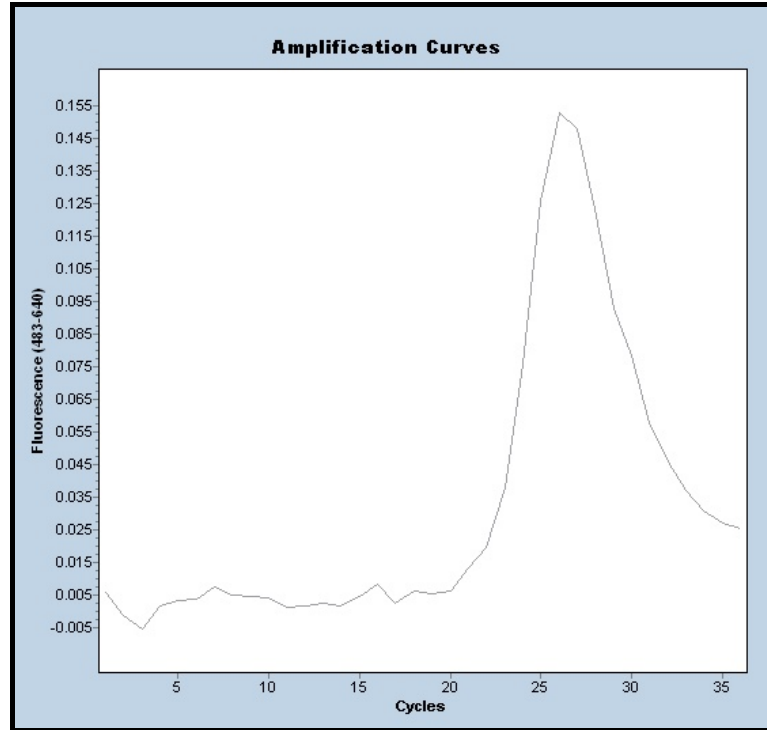
Şekil 4.104 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 9 saat bitkisi SOD real time PCR pik



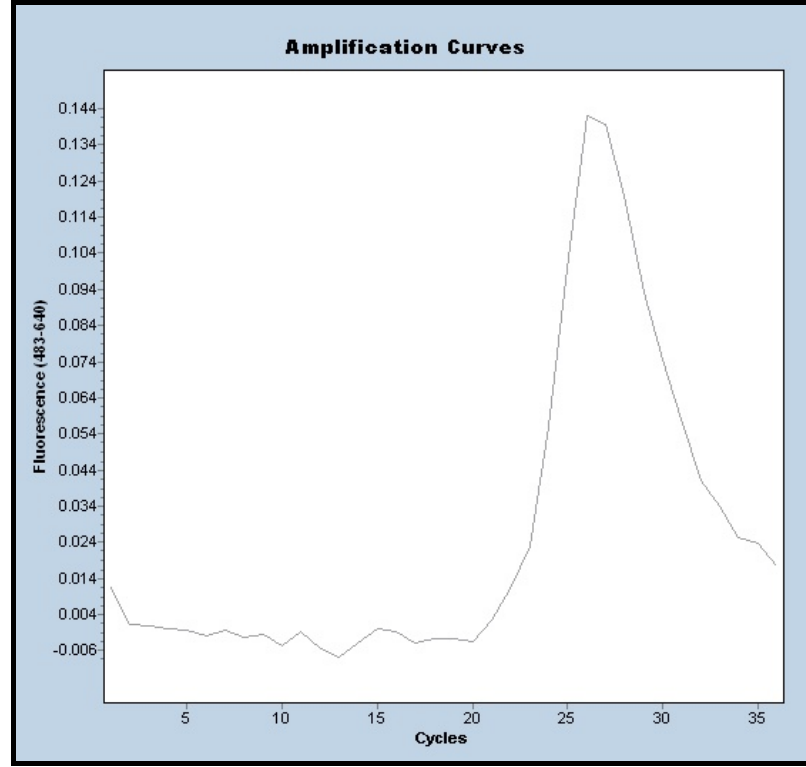
Şekil 4.105 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 9 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili 2. uygulama



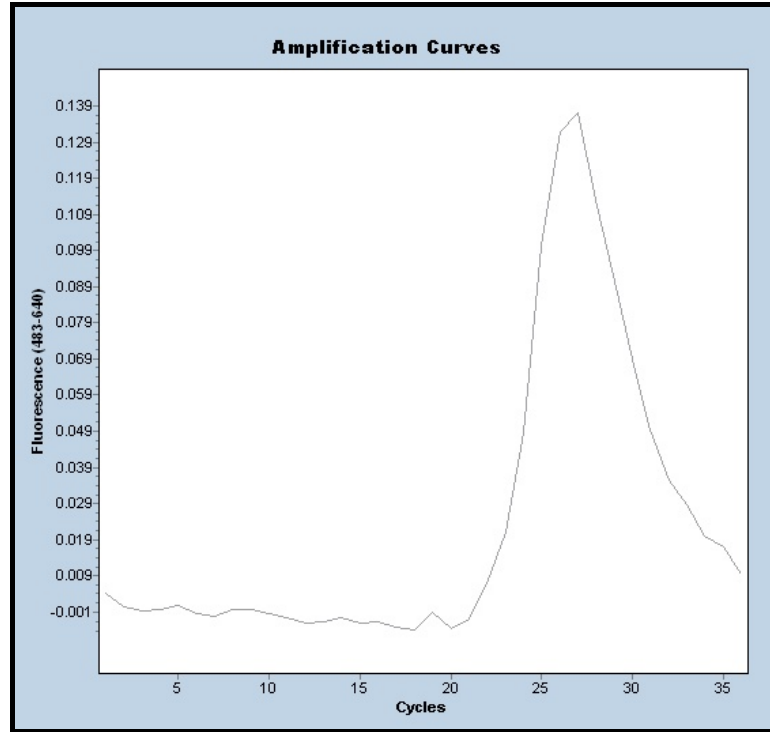
Şekil 4.106 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 12 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili



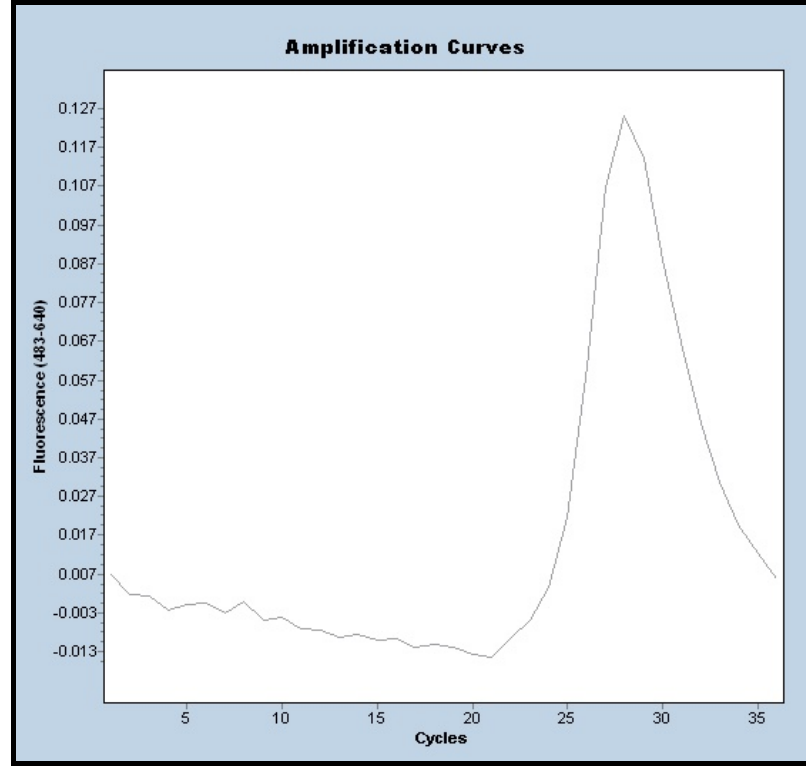
Şekil 4.107 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 12 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili 2. uygulama



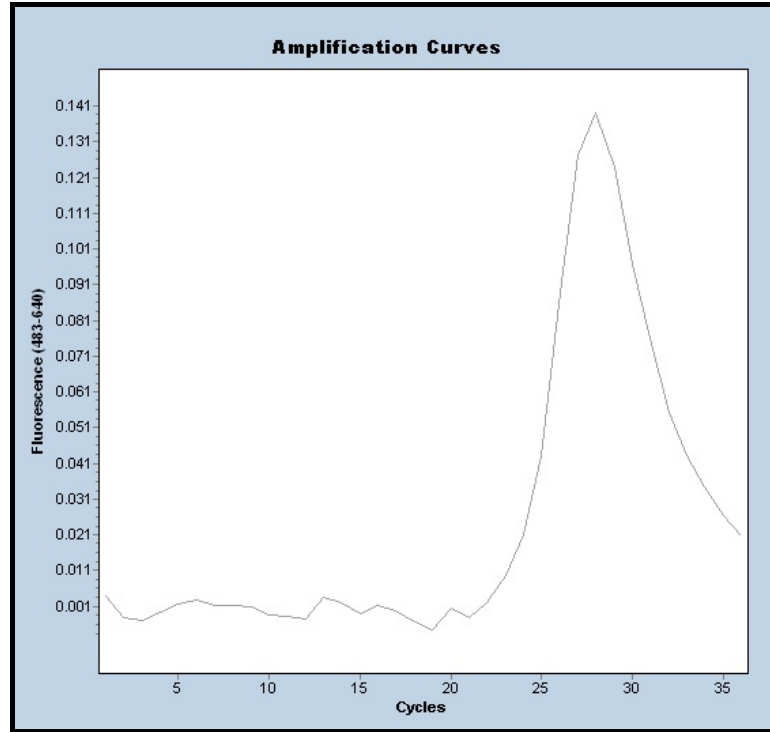
Şekil 4.108 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi,24 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili



Şekil 4.109 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 24 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili 2. uygulama



Şekil 4.110. 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 48 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili



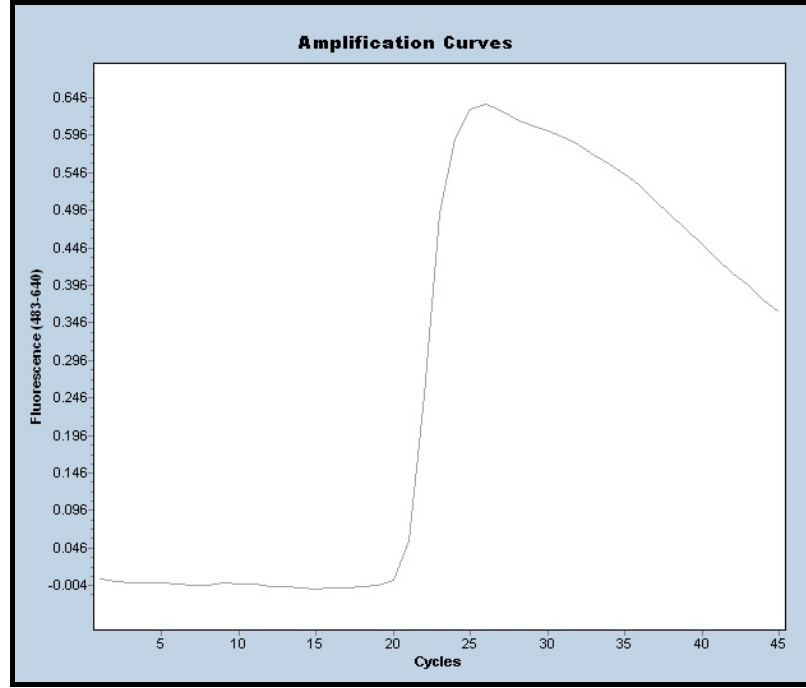
Şekil 4.111 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 48 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili 2. uygulama

Çizelge 4.161 00 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında geliştirilmiş örneklerde SOD (Süperoksid dismutaz) gen ekspresyon verileri

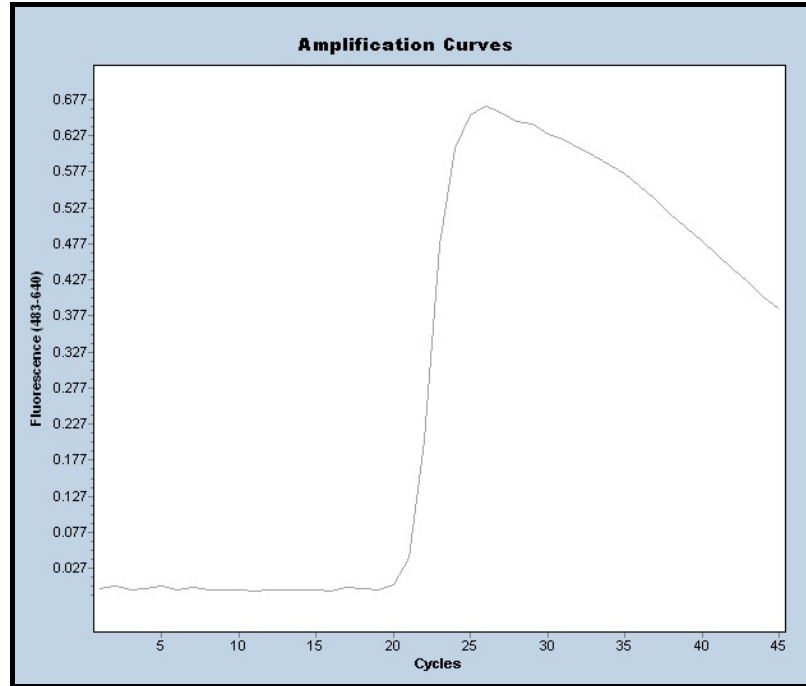
No	PCR'ı gerçekleştirilen örnek adı	SOD Ct Değeri	SOD Konsantrasyon
29	PEG 100 mM kontrol	21,68	$6,72 \cdot 10^5$
30	PEG 100 mM kontrol	21,7	$6,65 \cdot 10^5$
31	PEG 100 mM 3 saat	21,13	$9,65 \cdot 10^5$
32	PEG 100 mM 3 saat	21,12	$9,77 \cdot 10^5$
33	PEG 100 mM 6 saat	21,46	$7,80 \cdot 10^5$
34	PEG 100 mM 6 saat	21,51	$7,55 \cdot 10^5$
35	PEG 100 mM 9 saat	21,56	$7,30 \cdot 10^5$
36	PEG 100 mM 9 saat	21,19	$9,32 \cdot 10^5$
37	PEG 100 mM 12 saat	20,85	$1,17 \cdot 10^6$
38	PEG 100 mM 12 saat	20,97	$1,08 \cdot 10^6$
39	PEG 100 mM 24 saat	21,19	$9,28 \cdot 10^5$
40	PEG 100 mM 24 saat	21,23	$9,08 \cdot 10^5$
41	PEG 100 mM 48 saat	22,75	$3,32 \cdot 10^5$
42	PEG 100 mM 48 saat	22,5	$3,90 \cdot 10^5$

100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi altında geliştirilmiş örneklerde SOD (Süperoksid Dismutaz) gen ekspresyon verileri çizelgesi real time PCR sonucu elde edilen pik profilleri ve SOD standart eğri grafiği aracılığı ile oluşturulmuştur.

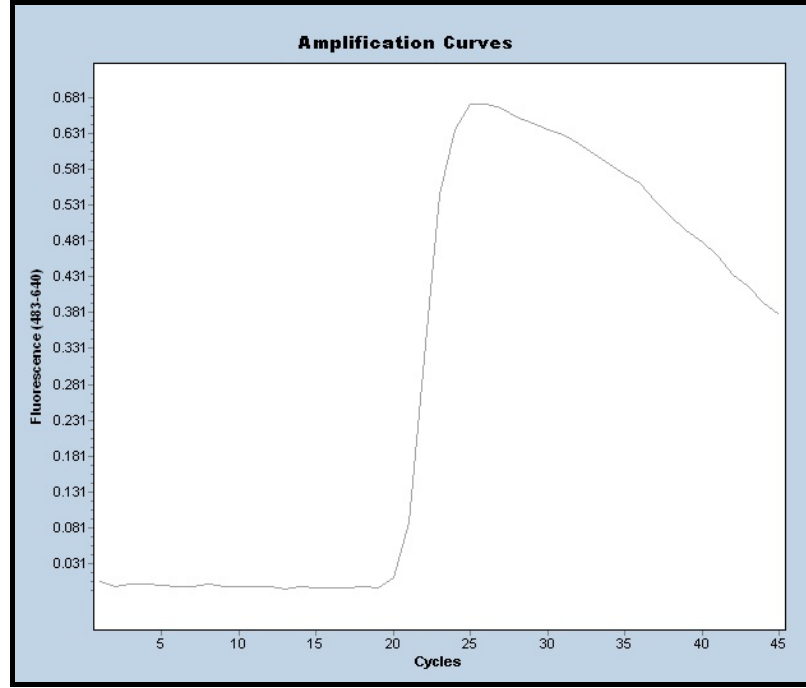
100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi altında geliştirilmiş örneklerden ACT gen bölgesini çoğaltmak amacıyla PCR reaksiyonu ikişer tekrarlı olarak real time PCR cihazında gerçekleştirilmiştir. Florasan ışık temeline göre reaksiyon takip edilmiş ve CT değerleri belirlenmiştir. 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi altında geliştirilmiş bitkiciklere ait ACT PCR reaksiyonu profilleri aşağıdaki gibidir (Şekil 4.112-).



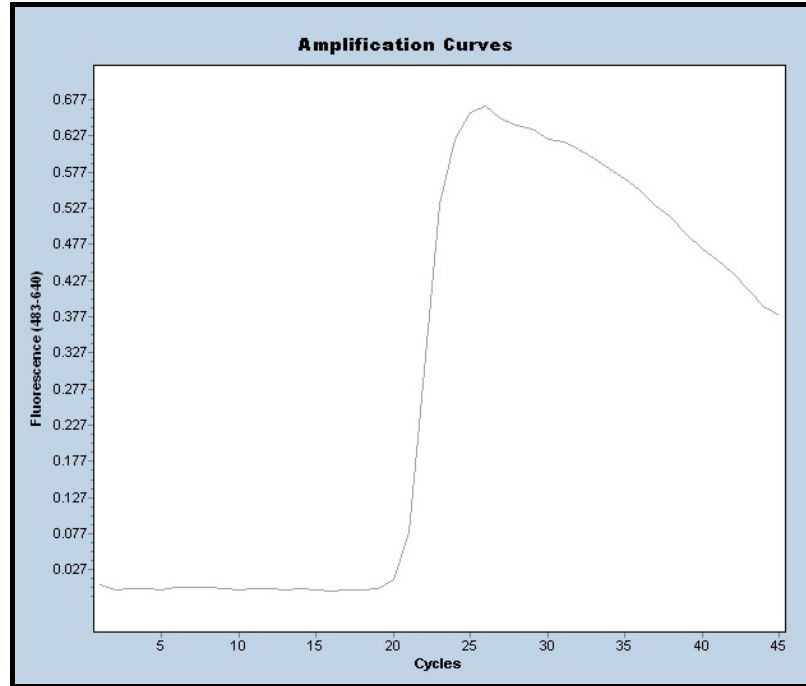
Şekil 4.112 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, kontrol bitkisi ACT real time PCR pik profili



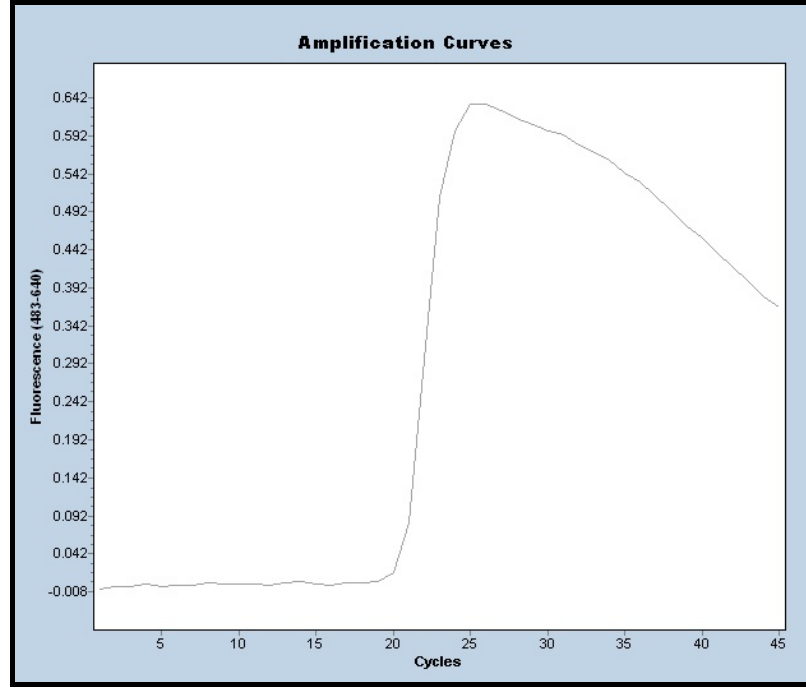
Şekil 4.113 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, kontrol bitkisi ACT real time PCR pik profili 2. uygulama



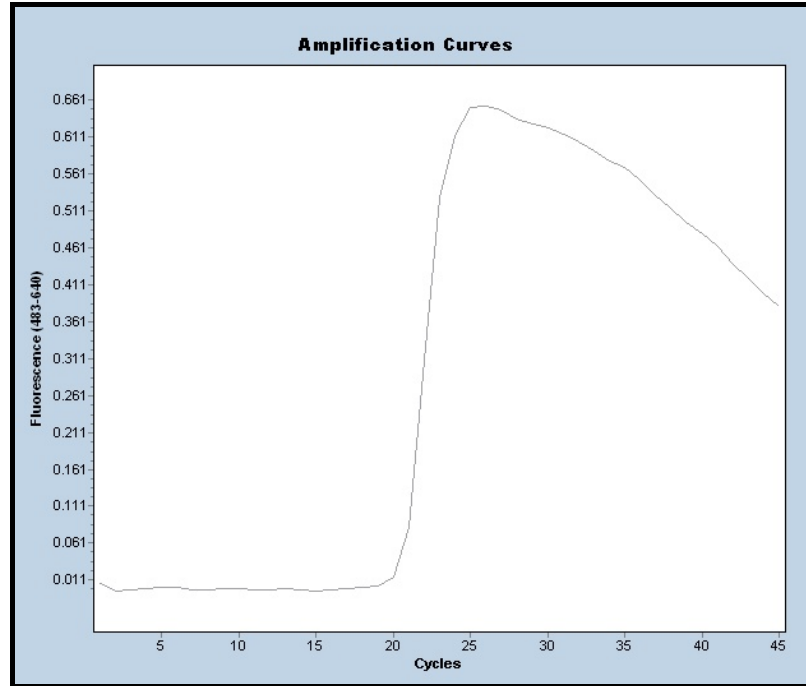
Şekil 4.114 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 3 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili



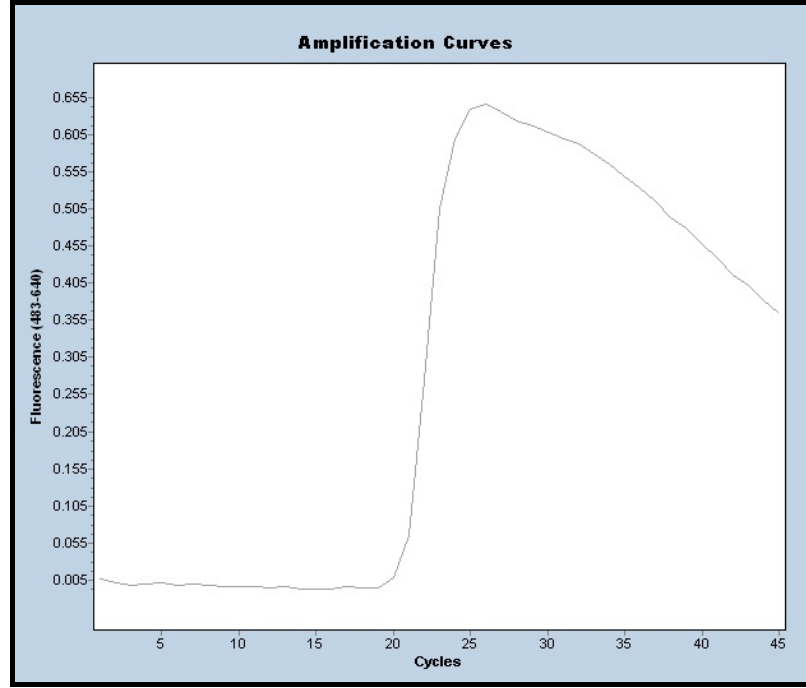
Şekil 4.115 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 3 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili 2. uygulama



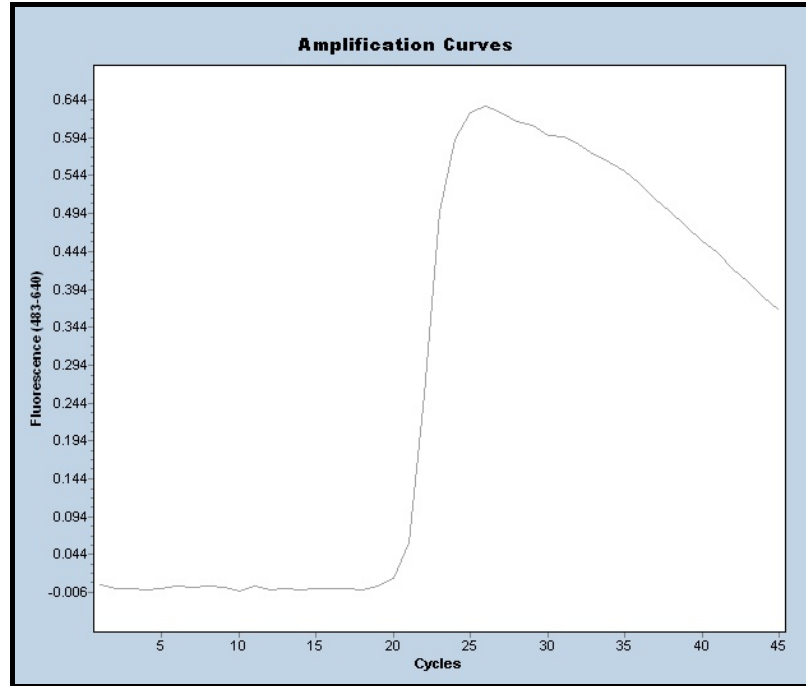
Şekil 4.116 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 6 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili



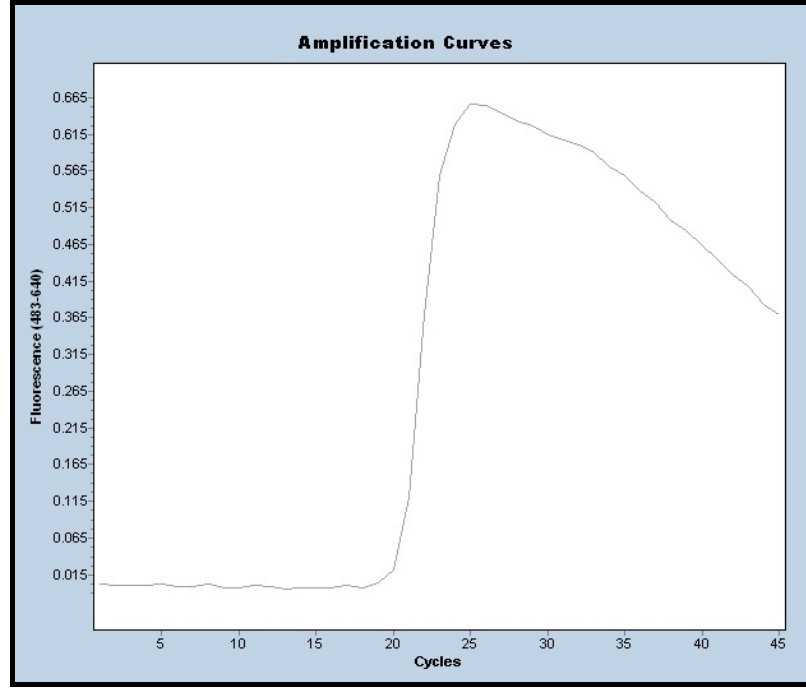
Şekil 4.117 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 6 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili 2. uygulama



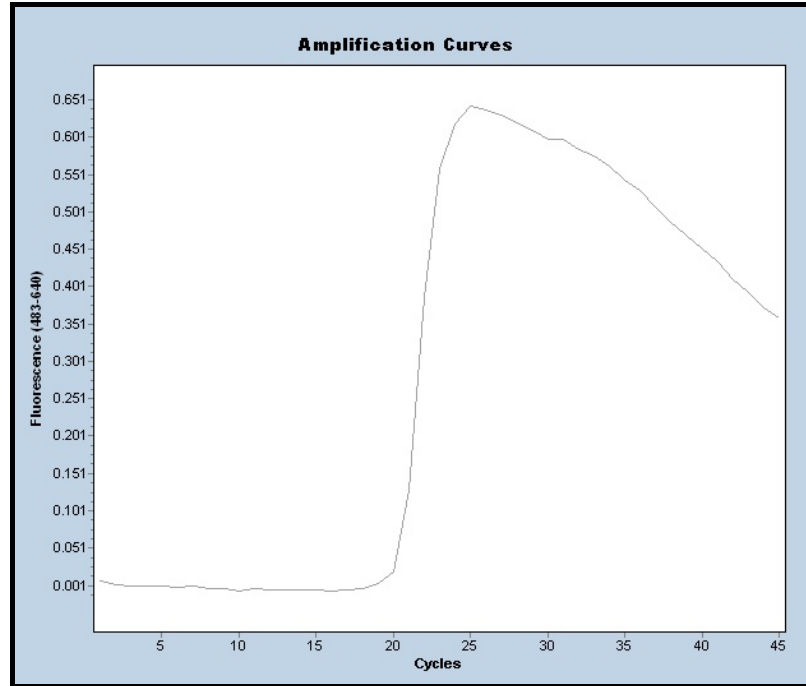
Şekil 4.118 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 9 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili



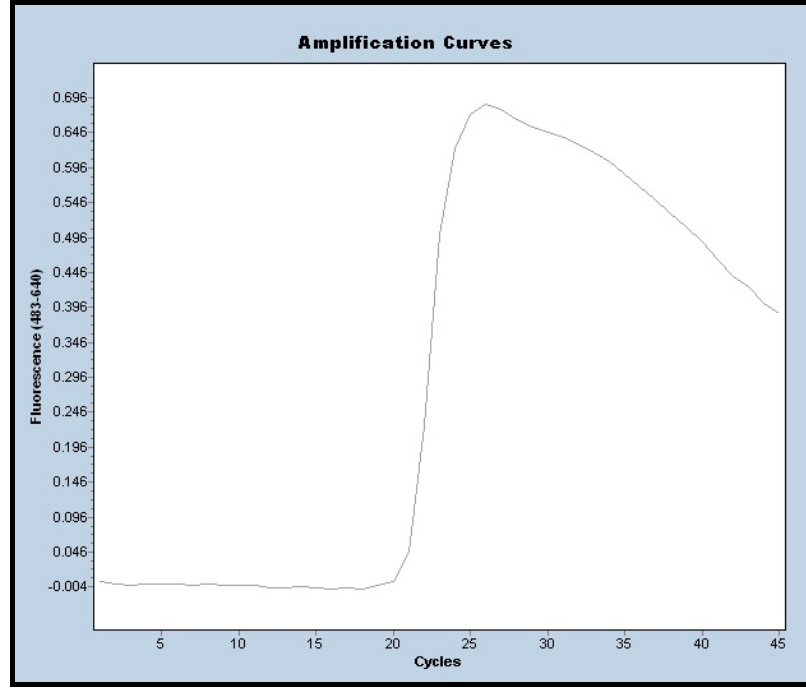
Şekil 4.119 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 9 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili 2. uygulama



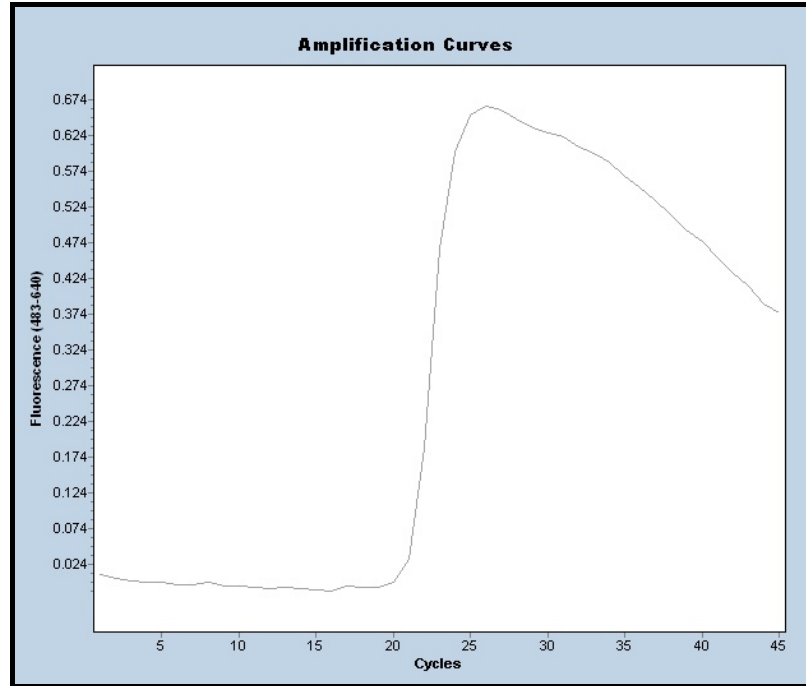
Şekil 4.120 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 12 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili



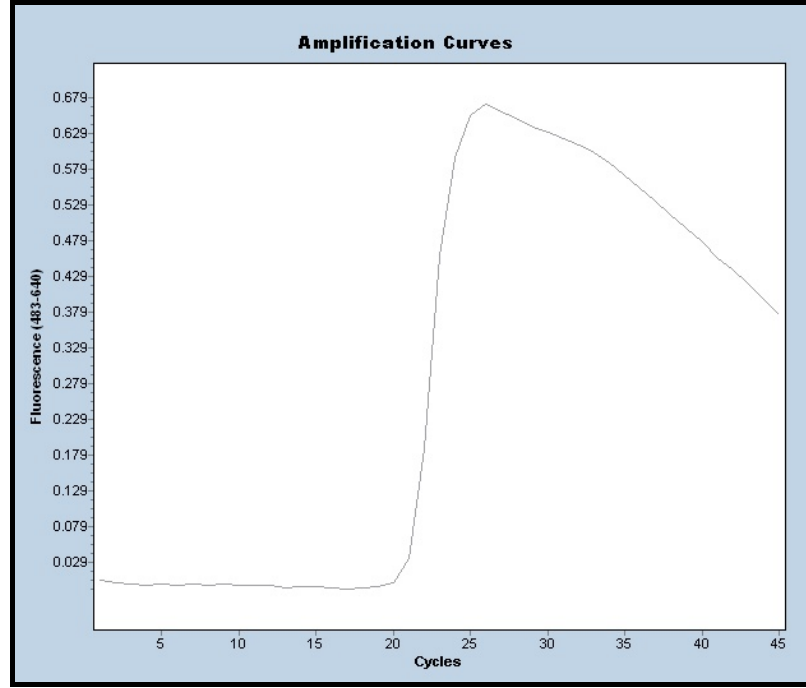
Şekil 4.121 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 12 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili 2. uygulama



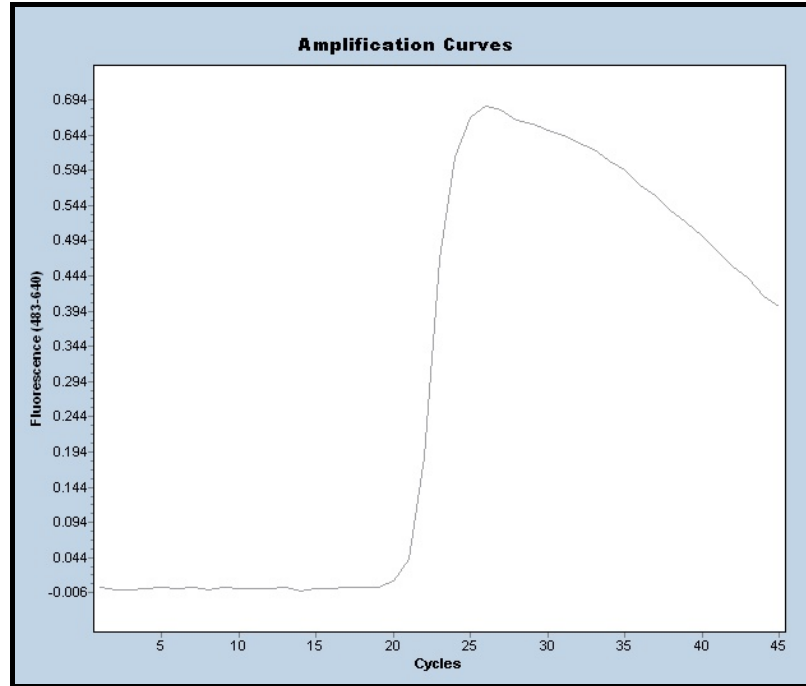
Şekil 4.122 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi,24 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili



Şekil 4.123 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 24 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili 2. uygulama



Şekil 4.124 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 48 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili



Şekil 4.125 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 48 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili 2. uygulama

Çizelge 4.17 100 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında geliştirilmiş örneklerde ACT (Aktin) gen ekspresyon verileri

No	PCR'ı gerçekleştirilen örnek adı	ACT Ct Değeri	ACT Konsantrasyon
29	PEG 100 mM kontrol	19,57	1,17 10 ⁴
30	PEG 100 mM kontrol	19,75	1,03 10 ⁴
31	PEG 100 mM 3 saat	19,41	1,30 10 ⁴
32	PEG 100 mM 3 saat	19,45	1,27 10 ⁴
33	PEG 100 mM 6 saat	19,43	1,28 10 ⁴
34	PEG 100 mM 6 saat	19,43	1,28 10 ⁴
35	PEG 100 mM 9 saat	19,5	1,22 10 ⁴
36	PEG 100 mM 9 saat	19,55	1,18 10 ⁴
37	PEG 100 mM 12 saat	19,1	1,59 10 ⁴
38	PEG 100 mM 12 saat	19,02	1,68 10 ⁴
39	PEG 100 mM 24 saat	19,69	1,08 10 ⁴
40	PEG 100 mM 24 saat	19,79	1,00 10 ⁴
41	PEG 100 mM 48 saat	19,8	9,98 10 ³
42	PEG 100 mM 48 saat	19,84	9,76 10 ³

100 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında geliştirilmiş örneklerde ACT (Aktin) gen ekspresyon verileri çizelgesi real time PCR sonucu elde edilen pik profilleri ve ACT standart eğri grafiği aracılığı ile oluşturulmuştur.

4.4.3.1. İstatistiksel Hesaplamalar

Verilerinin istatistiksel olarak değerlendirmesi Livak ve Schmittgen, 2001'e ait $2^{-\Delta\Delta CT}$ yöntemi ile housekeeping gen olan Actin ve kontrol koşullarına göre normalize edilmiştir (Çizelge 4.18).

Çizelge 4.18 100 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında geliştirilmiş örneklerde, SOD(Süperoksid dismutaz) normalize gen ekspresyon verileri

Stres Uygulaması	SOD Normalize Ekpresyon
PEG 100 mM kontrol	1,00063
PEG 100 mM kontrol	1,12479
PEG 100 mM kontrol	0,88910
PEG 100 mM kontrol	0,99943
PEG 100 mM kontrol	0,94158
PEG 100 mM kontrol	1,05842
PEG 100 mM 3 saat	1,29322
PEG 100 mM 3 saat	1,34023
PEG 100 mM 3 saat	1,14908
PEG 100 mM 3 saat	1,19085
PEG 100 mM 3 saat	1,21691
PEG 100 mM 3 saat	1,26114
PEG 100 mM 6 saat	1,06163
PEG 100 mM 6 saat	1,02760
PEG 100 mM 6 saat	0,94330
PEG 100 mM 6 saat	0,91307
PEG 100 mM 6 saat	0,99898
PEG 100 mM 6 saat	0,96696
PEG 100 mM 9 saat	1,04244
PEG 100 mM 9 saat	1,37601
PEG 100 mM 9 saat	0,92625
PEG 100 mM 9 saat	1,22265
PEG 100 mM 9 saat	0,98093
PEG 100 mM 9 saat	1,29481
PEG 100 mM 12 saat	1,28197
PEG 100 mM 12 saat	1,11996
PEG 100 mM 12 saat	1,13909
PEG 100 mM 12 saat	0,99513
PEG 100 mM 12 saat	1,20632

Çizelge 4.18 100 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında geliştirilmiş örneklerde, SOD(Süperoksid dismutaz) normalize gen ekspresyon verileri (devam)

Stres Uygulaması	SOD Normalize Ekspresyon
PEG 100 mM 12 saat	1,05387
PEG 100 mM 24 saat	1,49697
PEG 100 mM 24 saat	1,58188
PEG 100 mM 24 saat	1,33012
PEG 100 mM 24 saat	1,40557
PEG 100 mM 24 saat	1,40863
PEG 100 mM 24 saat	1,48854
PEG 100 mM 48 saat	0,57956
PEG 100 mM 48 saat	0,69615
PEG 100 mM 48 saat	0,51496
PEG 100 mM 48 saat	0,61856
PEG 100 mM 48 saat	0,54536
PEG 100 mM 48 saat	0,65507

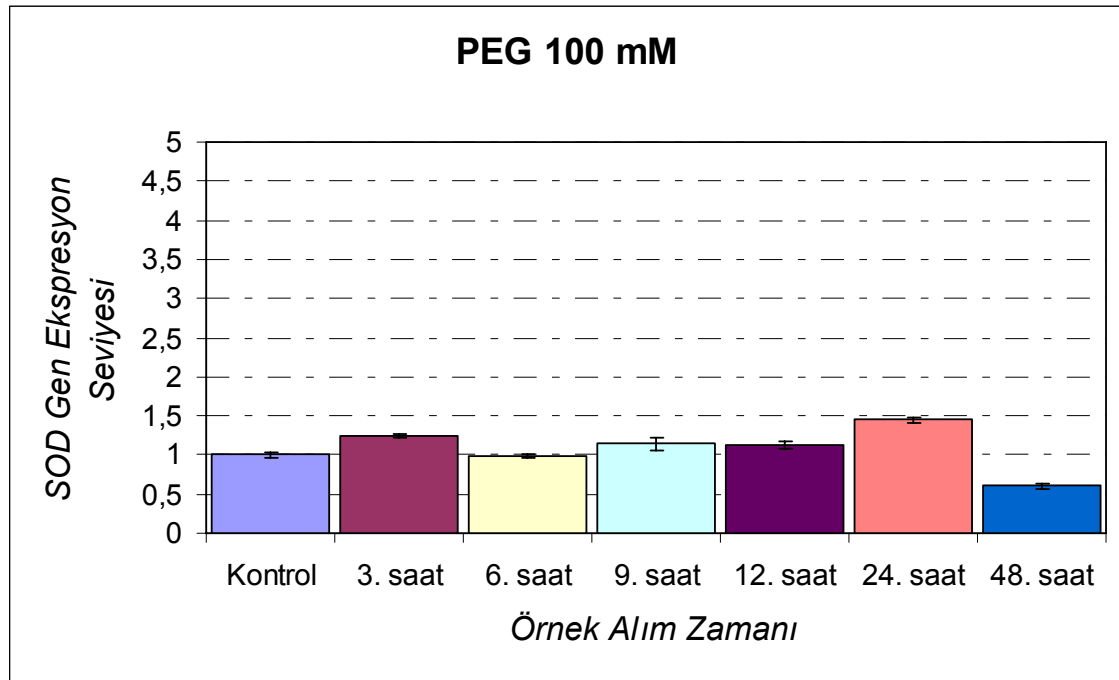
Normalizasyon sonucunda elde edilen verilerin ortalama, standart sapma ve standart hataları hesaplanmış aşağıdaki gibidir. Bu veriler aracılığı ile 100 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında geliştirilmiş bitkilerde zamana bağlı olarak, SOD gen ekspresyon seviyesini konsantrasyon şeklinde belirten grafik oluşturulmuştur (Şekil 4.126).

Çizelge 4.19 100 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında geliştirilmiş örneklerde ortalama, standart sapma ve standart hata verileri

Stres Uygulaması	Zaman saat	Ortalama	Standart sapma	Standart hata
PEG 100 mM	Kontrol	1,002324612	0,083265917	0,033993168
PEG 100 mM	3h	1,241905966	0,070025486	0,028587785
PEG 100 mM	6h	0,985259245	0,054990251	0,022449676
PEG 100 mM	9h	1,140516005	0,182760545	0,07461168

Çizelge 4.19 100 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında geliştirilmiş örneklerde ortalama, standart sapma ve standart hata verileri (devam)

Stres Uygulaması	Zaman saat	Ortalama	Standart sapma	Standart hata
PEG 100 mM	12h	1,132723307	0,102996571	0,042048174
PEG 100 mM	24h	1,451952384	0,088449351	0,036109296
PEG 100 mM	48h	0,601609586	0,068178996	0,027833958



Şekil. 4.126 100 mM Tuz Stresi ile eş PEG stresi, zamana bağlı gen ekspresyon seviyesi

One Way ANOVA (Dunnett)'a yöntemi ile stres uygulamalarında zamana karşı farklılaşan gen ekspresyon seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlılık dereceleri belirlenmiştir. Buna göre 100 mM Tuz Stresi ile eş PEG stresinde zamana bağlı değişimler %100 anlamlıdır (Çizelge 4.20.).

Çizelge 4.20 100 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında geliştirilmiş örneklerde One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

EKPRESYON	Kareler	Df	Kareler	F	Anlamlılık
	Toplamı		Ortalaması		
Gruplar arası	2.489	6	.415	40.706	.000
Grup içi	.357	35	.010		
Toplam	2.846	41			

Çizelge 4.21 100 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında geliştirilmiş örneklerde Post Hoc Test Multiple Comparisons Dependent Variable: Expression Dunnett T3 verileri

(I) ZAMAN	(J) ZAMAN	Ortalama (I-J)	Fark Hata	Standart	Anlamlılık	95% Güven Aralığı	
						Alt Sınır	Üst Sınır
1 (kontrol)	2 (3 saat)	-0,239581354	0,044416179	0,005706864	0,005706864	-0,411663206	-0,067499502
	3 (6 saat)	0,017065367	0,040737249	0,999999981	0,999999981	-0,145430217	0,179560951
	4 (9 saat)	-0,138191394	0,081990477	0,809044512	0,809044512	-0,486966007	0,21058322
	5 (12 saat)	-0,130398696	0,054070181	0,405218077	0,405218077	-0,34059453	0,079797138
	6 (24 saat)	-0,449627773	0,049592507	7,27451E-05	7,27451E-05	-0,640609064	-0,258646481
	7 (48 saat)	0,400715026	0,043934778	8,68224E-05	8,68224E-05	0,230118775	0,571311276
2 (3 saat)	1 (kontrol)	0,239581354	0,044416179	0,005706864	0,005706864	0,067499502	0,411663206
	3 (6 saat)	0,256646721	0,036348995	0,000801972	0,000801972	0,114933469	0,398359973
	4 (9 saat)	0,10138996	0,079900965	0,958725528	0,958725528	-0,248321603	0,451101523
	5 (12 saat)	0,109182658	0,050845948	0,552509604	0,552509604	-0,092743216	0,311108532
	6 (24 saat)	-0,210046419	0,046055865	0,019134168	0,019134168	-0,389453129	-0,030639708
	7 (48 saat)	0,64029638	0,039899758	3,44618E-07	3,44618E-07	0,486747164	0,793845596
3 (6 saat)	1 (kontrol)	-0,017065367	0,040737249	0,999999981	0,999999981	-0,179560951	0,145430217
	2 (3 saat)	-0,256646721	0,036348995	0,000801972	0,000801972	-0,398359973	-0,114933469
	4 (9 saat)	-0,15525676	0,077915921	0,647869007	0,647869007	-0,50768394	0,197170419

Çizelge 4.21 100 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında geliştirilmiş örneklerde Post Hoc Test Multiple Comparisons Dependent Variable: Expression Dunnett T3 verileri (devam)

(I) ZAMAN	(J) ZAMAN	Ortalama (I-J)	Fark Standart Hata	Anlamlılık	95% Güven Aralığı	
					Alt Sınır	Üst Sınır
	5 (12 saat)	-0,147464063	0,047665888	0,186411064	-0,344603251	0,049675126
	6 (24 saat)	-0,466693139	0,042519046	5,08339E-05	-0,637949817	-0,295436461
	7 (48 saat)	0,383649659	0,035759155	2,18318E-05	0,244606836	0,522692482
4 (9 saat)	1 (kontrol)	0,138191394	0,081990477	0,809044512	-0,21058322	0,486966007
	2 (3 saat)	-0,10138996	0,079900965	0,958725528	-0,451101523	0,248321603
	3 (6 saat)	0,15525676	0,077915921	0,647869007	-0,197170419	0,50768394
	5 (12 saat)	0,007792698	0,085644333	1	-0,343033231	0,358618627
	6 (24 saat)	-0,311436379	0,082890193	0,085960372	-0,660320701	0,037447944
	7 (48 saat)	0,538906419	0,079634365	0,005456477	0,188941985	0,888870854
5 (12 saat)	1 (kontrol)	0,130398696	0,054070181	0,405218077	-0,079797138	0,34059453
	2 (3 saat)	-0,109182658	0,050845948	0,552509604	-0,311108532	0,092743216
	3 (6 saat)	0,147464063	0,047665888	0,186411064	-0,049675126	0,344603251
	4 (9 saat)	-0,007792698	0,085644333	1	-0,358618627	0,343033231
	6 (24 saat)	-0,319229077	0,055424997	0,003438303	-0,533632526	-0,104825628
	7 (48 saat)	0,531113722	0,050425967	5,37734E-05	0,3300434	0,732184043

Çizelge 4.21 100 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında geliştirilmiş örneklerde Post Hoc Test Multiple Comparisons Dependent Variable: Expression Dunnett T3 verileri (devam)

(I) ZAMAN	(J) ZAMAN	Ortalama (I-J)	Fark	Standart Hata	Anlamlılık	95% Güven Aralığı	
						Alt Sınır	Üst Sınır
6 (24 saat)	1 (kontrol)	0,449627773		0,049592507	7,27451E-05	0,258646481	0,640609064
	2 (3 saat)	0,210046419		0,046055865	0,019134168	0,030639708	0,389453129
	3 (6 saat)	0,466693139		0,042519046	5,08339E-05	0,295436461	0,637949817
	4 (9 saat)	0,311436379		0,082890193	0,085960372	-0,037447944	0,660320701
	5 (12 saat)	0,319229077		0,055424997	0,003438303	0,104825628	0,533632526
7 (48 saat)	7 (48 saat)	0,850342798		0,045591781	1,78443E-07	0,672237603	1,028447993
	1 (kontrol)	-0,400715026		0,043934778	8,68224E-05	-0,571311276	-0,230118775
	2 (3 saat)	-0,64029638		0,039899758	3,44618E-07	-0,793845596	-0,486747164
	3 (6 saat)	-0,383649659		0,035759155	2,18318E-05	-0,522692482	-0,244606836
	4 (9 saat)	-0,538906419		0,079634365	0,005456477	-0,888870854	-0,188941985
	5 (12 saat)	-0,531113722		0,050425967	5,37734E-05	-0,732184043	-0,3300434
	6 (24 saat)	-0,850342798		0,045591781	1,78443E-07	-1,028447993	-0,672237603

*Ortalama fark .05 düzeyinde anlamlıdır.

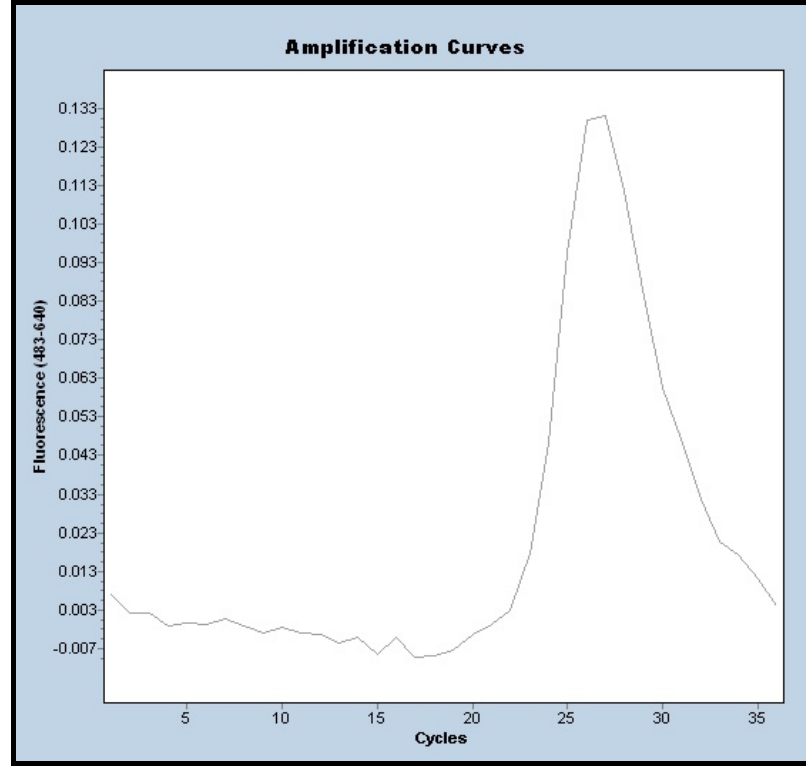
Çizelge 4.22 100 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında geliştirilmiş örneklerde Post Hoc Test Multiple Comparisons Dependent Variable: Expression, Dunnett T3 Değerlendirmesi

PEG 100 mM	Kontrol	3h	6h	9h	12h	24h	48h
Kontrol	ns						
3h	ns	ns					
6h	ns	**	ns				
9h	ns	ns	ns	ns			
12h	ns	ns	ns	ns	ns		
24h	***	*	***	ns	*	ns	
48h	***	***	***	*	***	***	ns

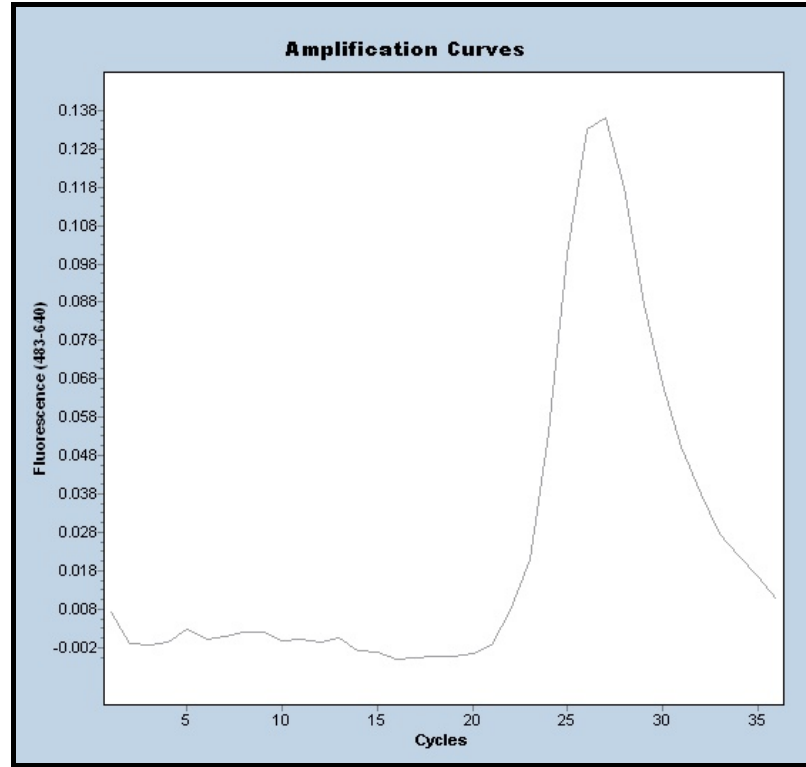
p<0.05 *, p<0.01 **, p<0.001 ***, ns non significant (anlamsız)

4.4.4. 150 mM Tuz Stresine Eş PEG Stresi

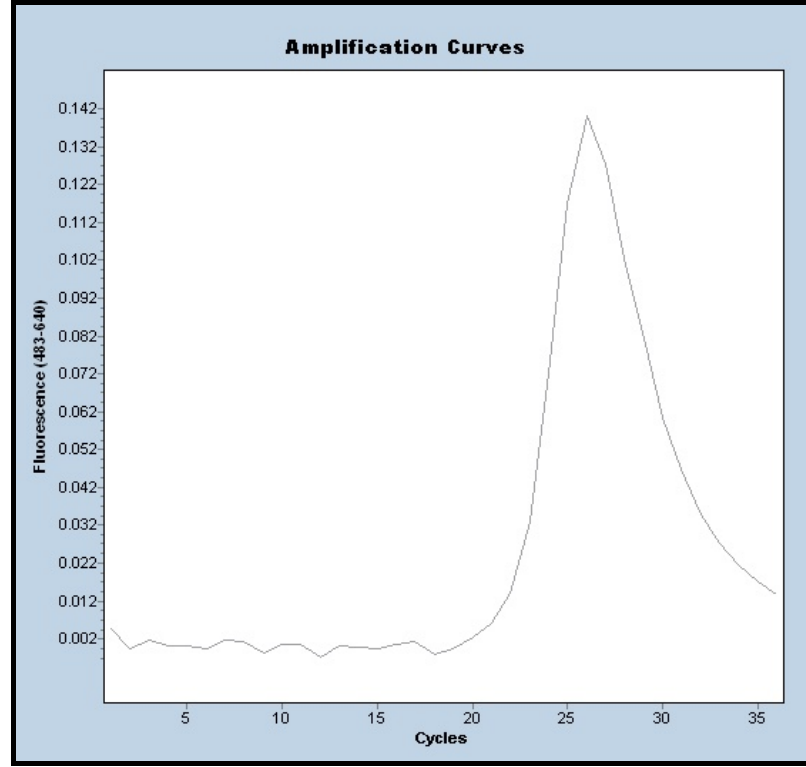
150 mM tuz ile eş osmotik basıncı oluşturacak miktarda PEG 6000 miktarları belirlenen (%23,93) ve böylece PEG ve tuz stresi dengelenen koşullarda 48 saat süre ile tutulan 25 günlük *Lycopersicum esculentum* L. bitkiciklerden 0., 3., 6., 9., 12., 24., 48. saatlerde alınan örneklerden RNA izolasyonu ve cDNA sentezi yapılmıştır. Örneklerden hem SOD hem de ACT için ayrı ayrı PCR reaksiyonu ikişer tekrarlı olarak real time PCR cihazında gerçekleştirilmiştir. Florasan ışık temeline göre reaksiyon takip edilmiş ve CT değerleri belirlenmiştir. 150 mM tuz stresi altında geliştirilmiş bitkiciklere ait SOD real time PCR reaksiyonu pik profilleri aşağıdaki gibidir.



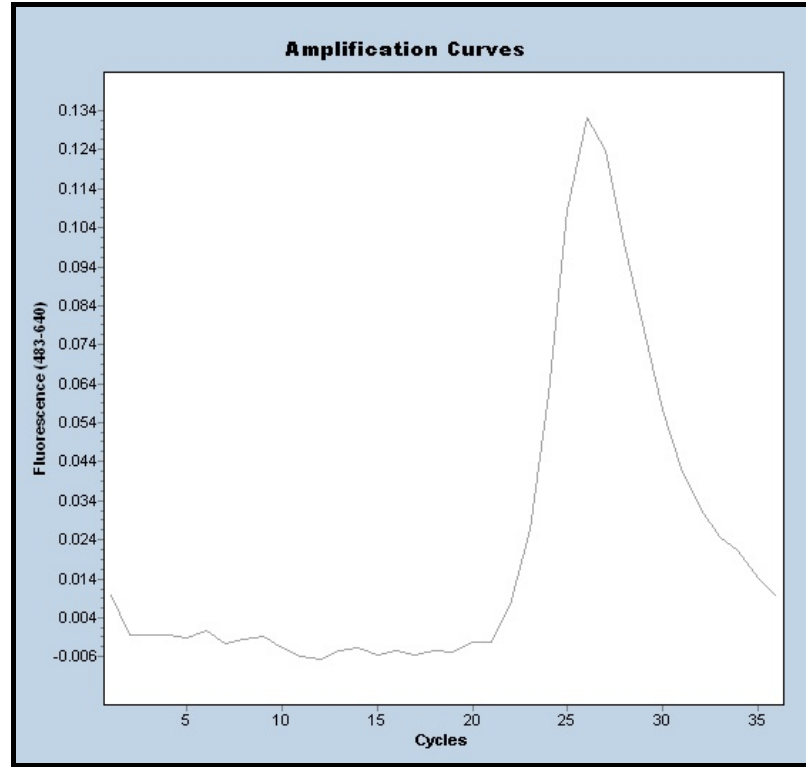
Şekil 4.127 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, kontrol bitkisi SOD real time PCR pik profili



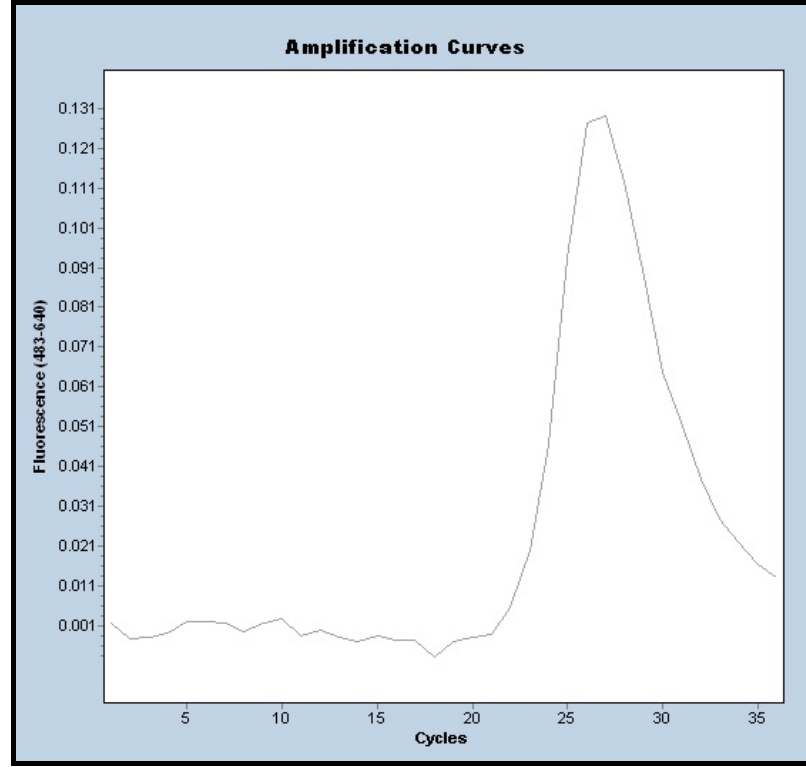
Şekil 4.128 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, kontrol bitkisi SOD real time PCR pik profili 2. uygulama



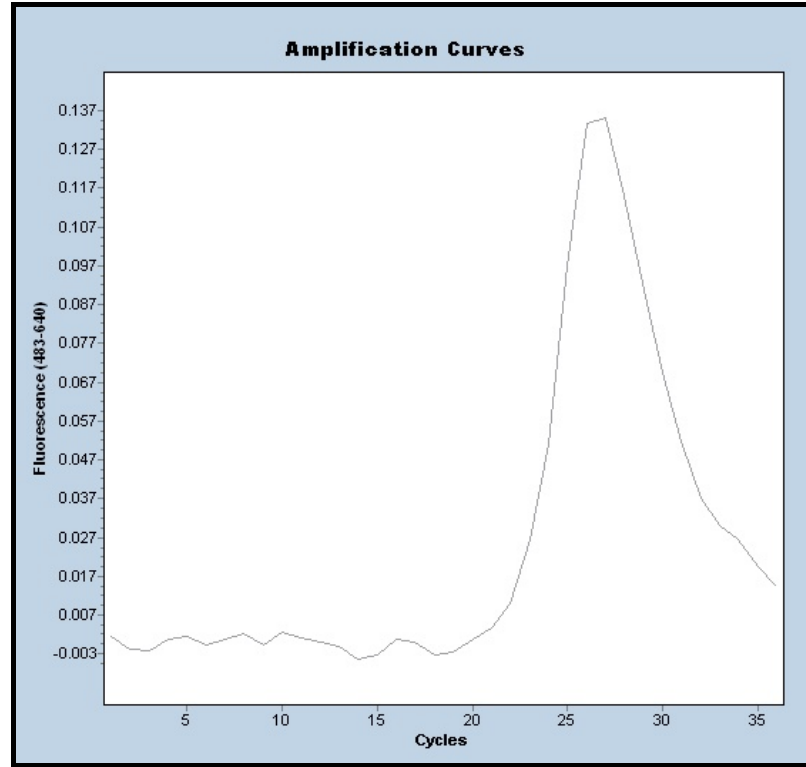
Şekil 4.129 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 3 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili



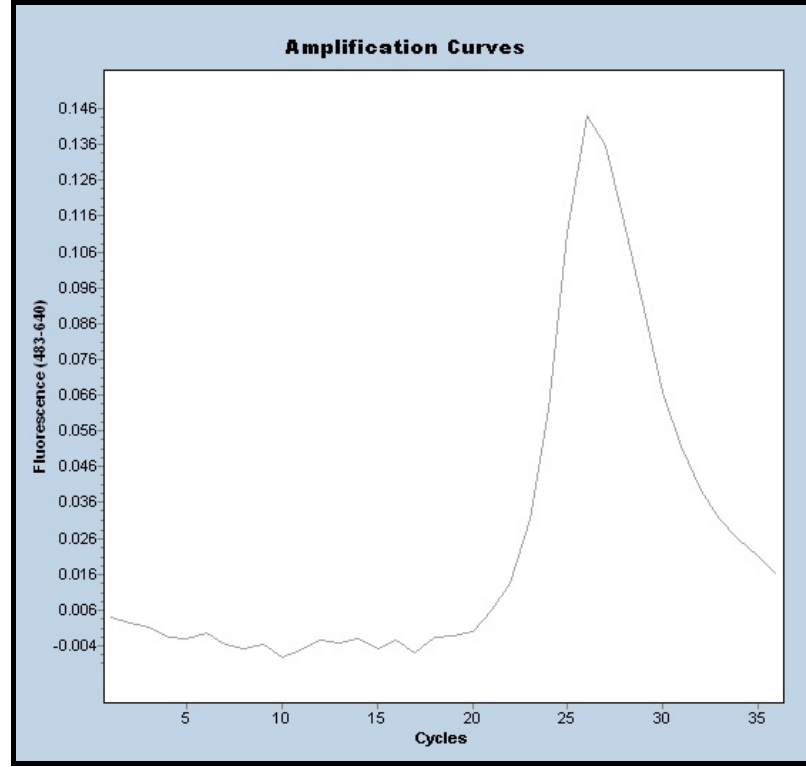
Şekil 4.130.150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 3 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili 2. uygulama



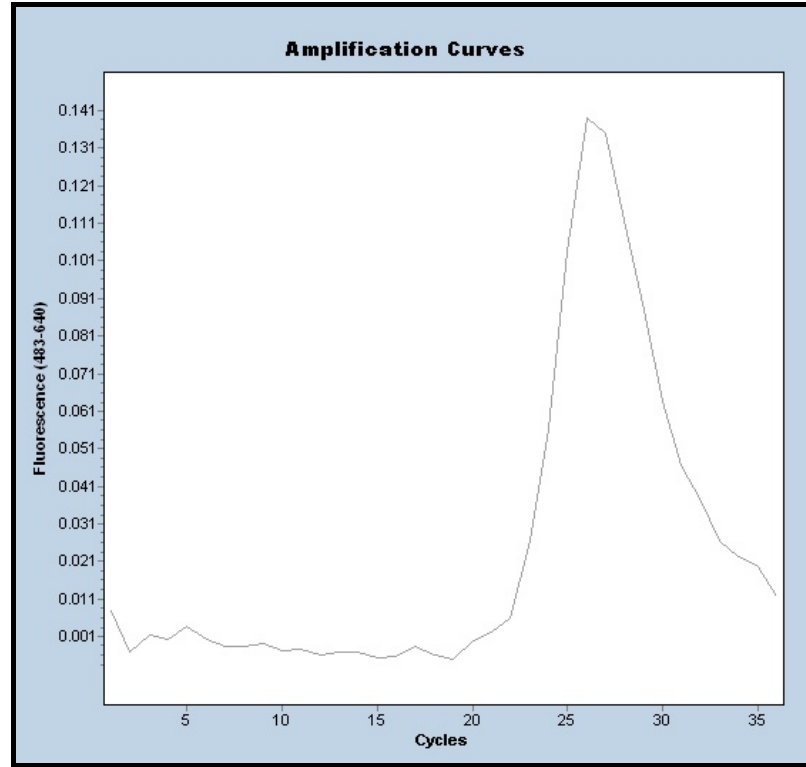
Şekil 4.131 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 6 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili



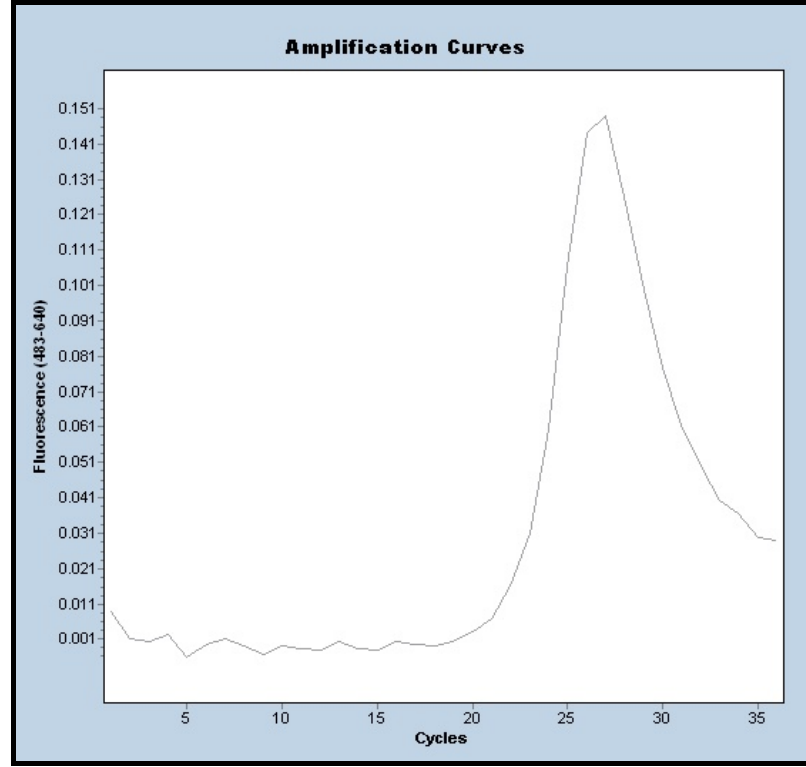
Şekil 4.132 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 6 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili 2. uygulama



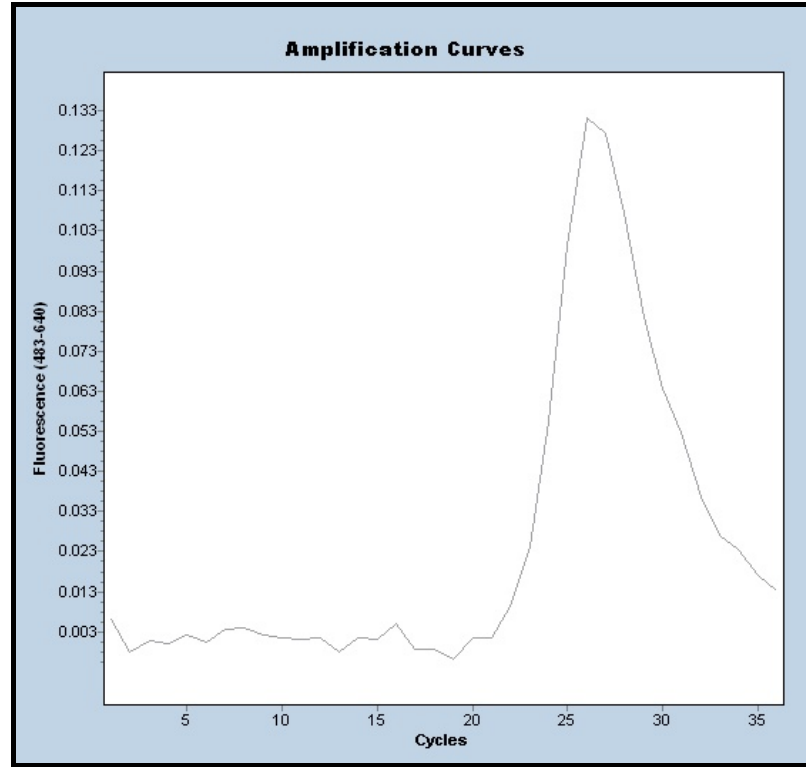
Şekil 4.133 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 9 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili



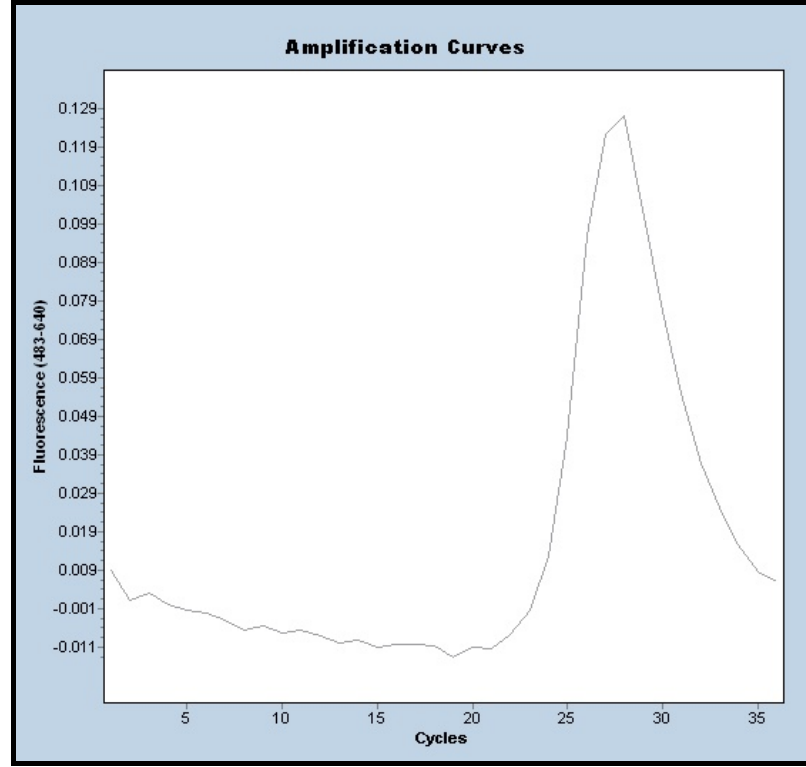
Şekil 4.134 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 9 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili 2. uygulama



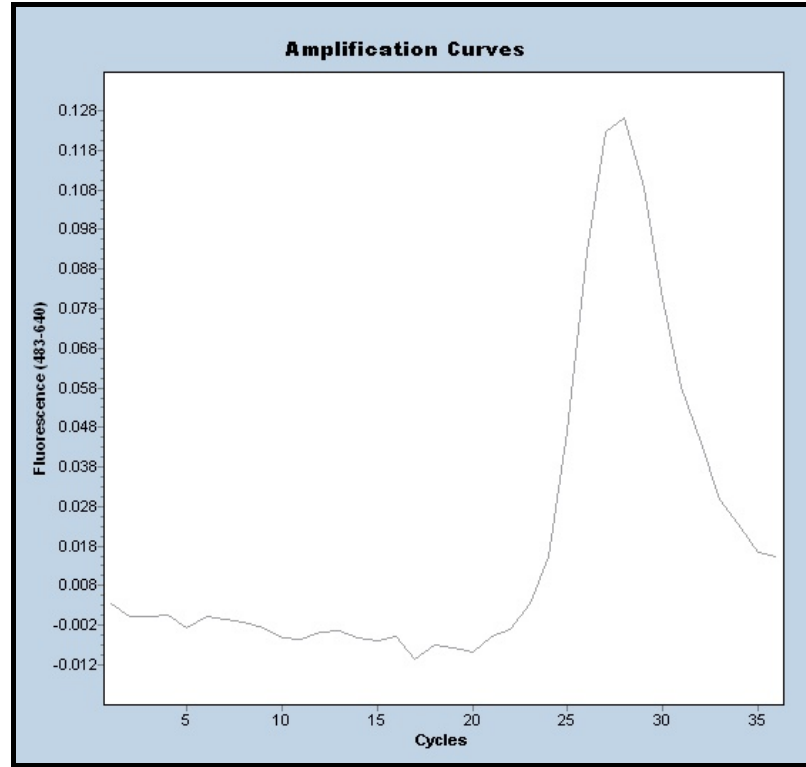
Şekil 4.135 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 12 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili



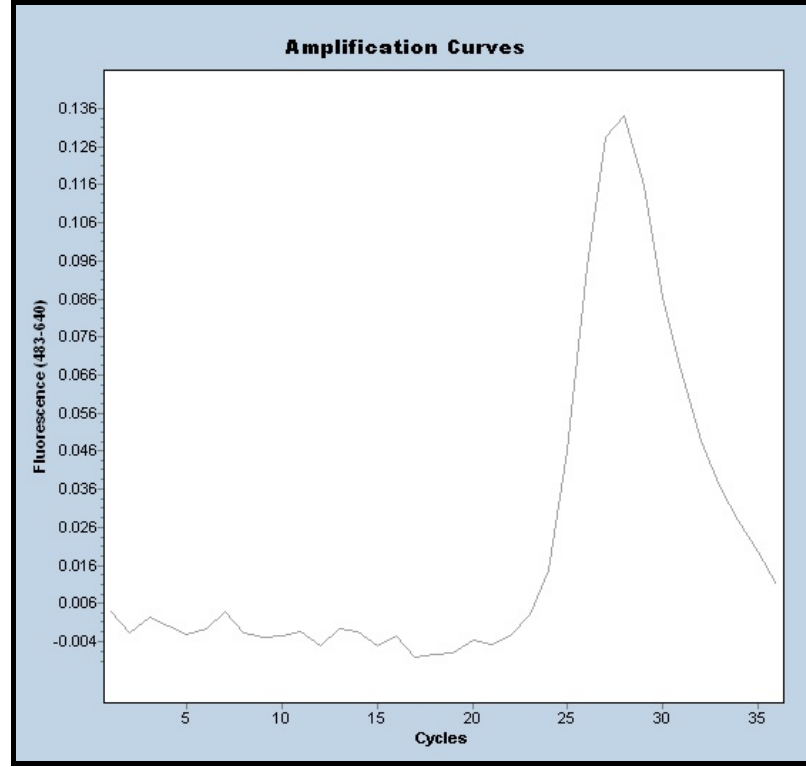
Şekil 4.136 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 12 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili 2. uygulama



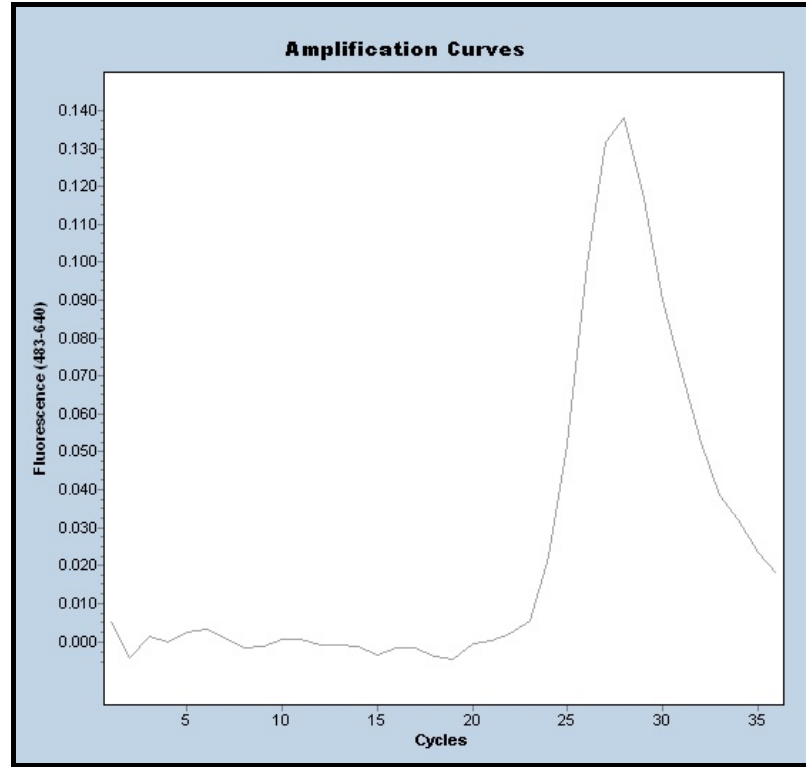
Şekil 4.137 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi,24 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili



Şekil 4.138 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 24 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili 2. uygulama



Şekil 4.139 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 48 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili



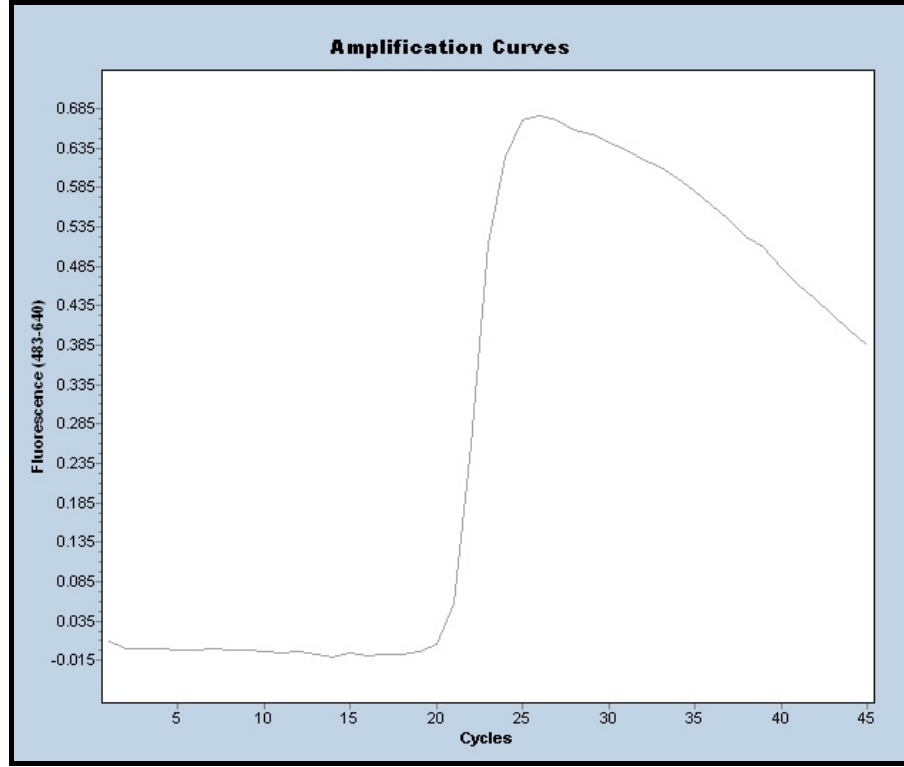
Şekil 4.140 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 48 saat bitkisi SOD real time PCR pik profili 2. uygulama

Çizelge 4.23 150 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında geliştirilmiş örneklerde SOD (Süperoksid dismutaz) gen ekspresyon verileri

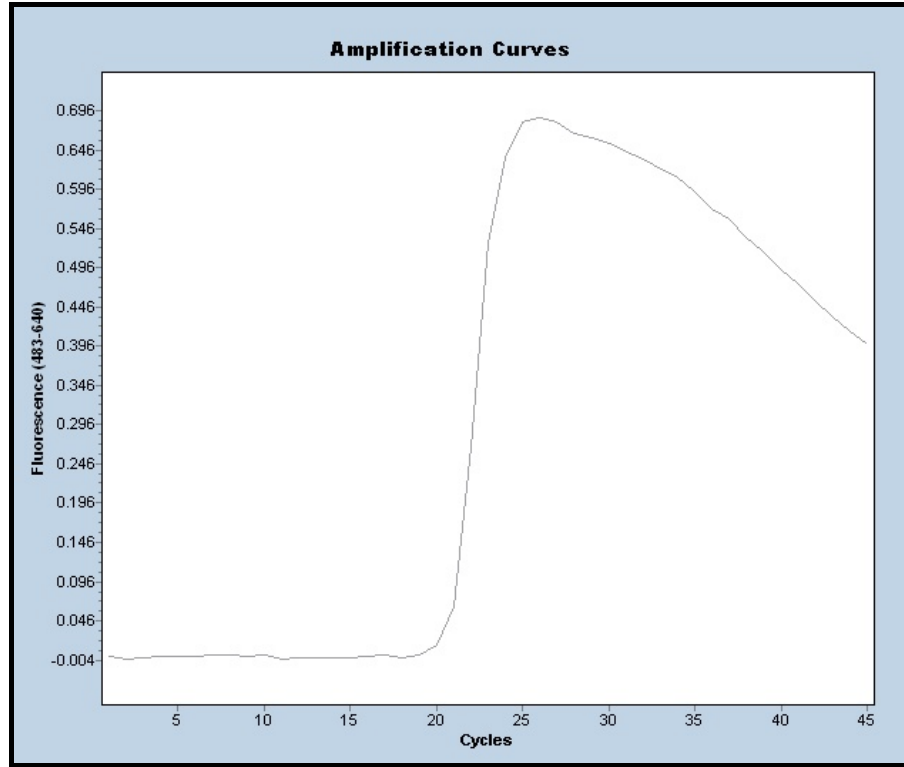
No	PCR'ı gerçekleştirilen örnek adı	SOD Ct Değeri	SOD Konsantrasyon
43	PEG 150 mM kontrol	21,25	8,97 10 ⁵
44	PEG 150 mM kontrol	21,18	9,34 10 ⁵
45	PEG 150 mM 3 saat	20,83	1,16 10 ⁶
46	PEG 150 mM 3 saat	20,93	1,10 10 ⁶
47	PEG 150 mM 6 saat	21,27	8,84 10 ⁵
48	PEG 150 mM 6 saat	21,23	9,05 10 ⁵
49	PEG 150 mM 9 saat	21,01	1,05 10 ⁶
50	PEG 150 mM 9 saat	21,13	9,71 10 ⁵
51	PEG 150 mM 12 saat	21,19	9,28 10 ⁵
52	PEG 150 mM 12 saat	21,07	1,01 10 ⁶
53	PEG 150 mM 24 saat	22,16	4,90 10 ⁵
54	PEG 150 mM 24 saat	22,22	4,70 10 ⁵
55	PEG 150 mM 48 saat	22,43	4,09 10 ⁵
56	PEG 150 mM 48 saat	22,39	4,22 10 ⁵

150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi altında geliştirilmiş örneklerde SOD (Süperoksid Dismutaz) gen ekspresyon verileri çizelgesi real time PCR sonucu elde edilen pik profilleri ve SOD standart eğri grafiği aracılığı ile oluşturulmuştur.

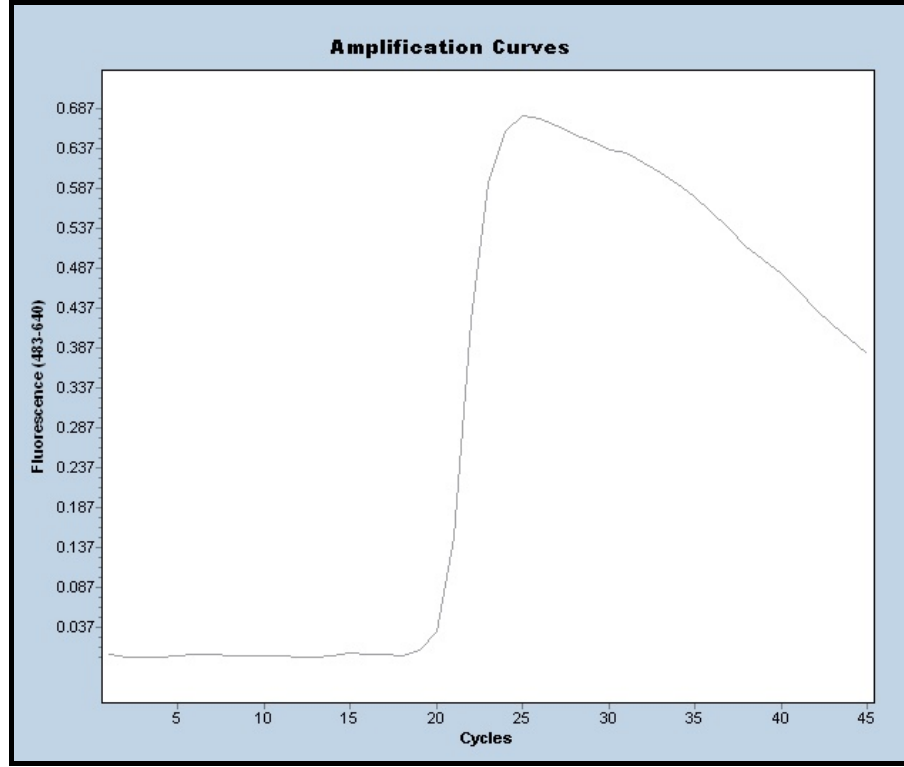
150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi altında geliştirilmiş örneklerden ACT gen bölgesini çoğaltmak amacıyla PCR reaksiyonu ikişer tekrarlı olarak real time PCR cihazında gerçekleştirilmiştir. Florasan ışık temeline göre reaksiyon takip edilmiş ve CT değerleri belirlenmiştir. 100 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi altında geliştirilmiş bitkiciklere ait ACT PCR reaksiyonu profilleri aşağıdaki gibidir.



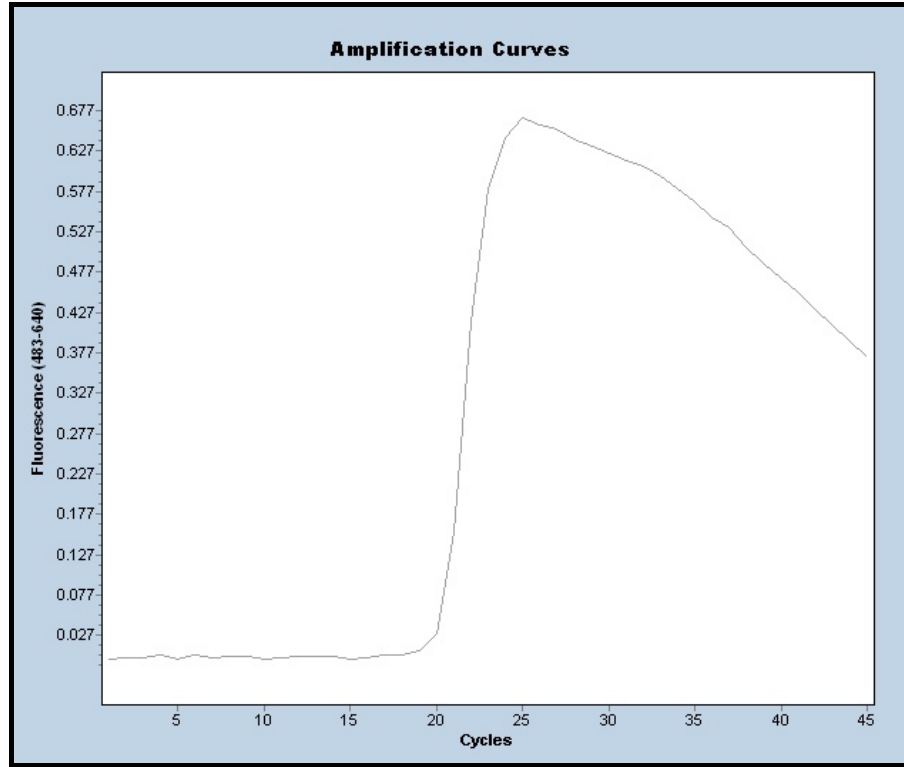
Şekil 4.141 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, kontrol bitkisi ACT real time PCR pik profili



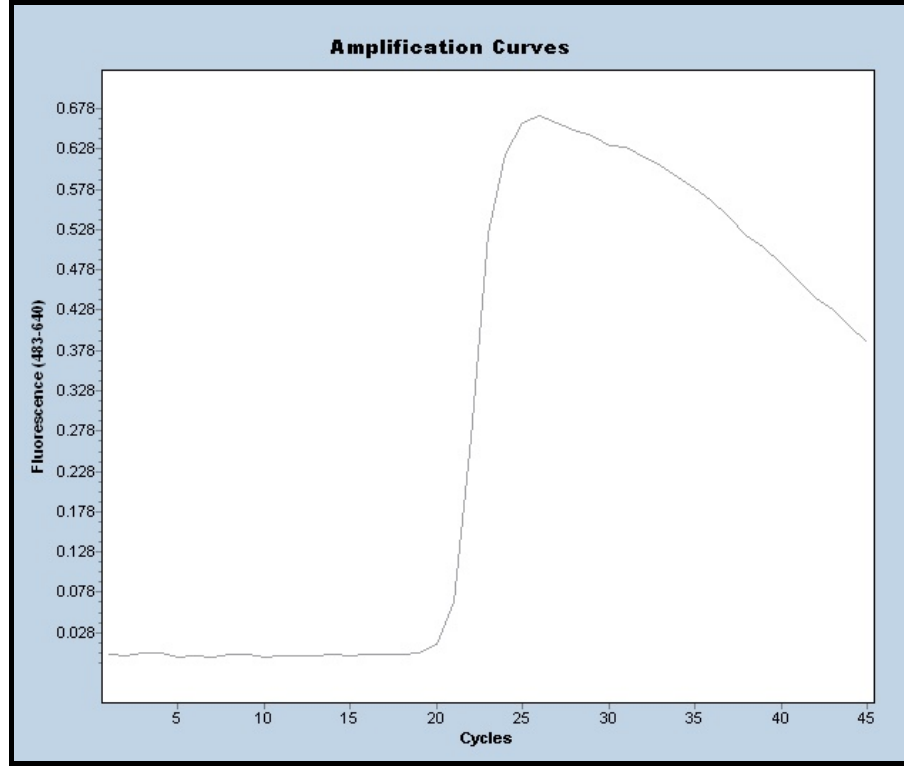
Şekil 4.142 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, kontrol bitkisi ACT real time PCR pik profili 2. uygulama



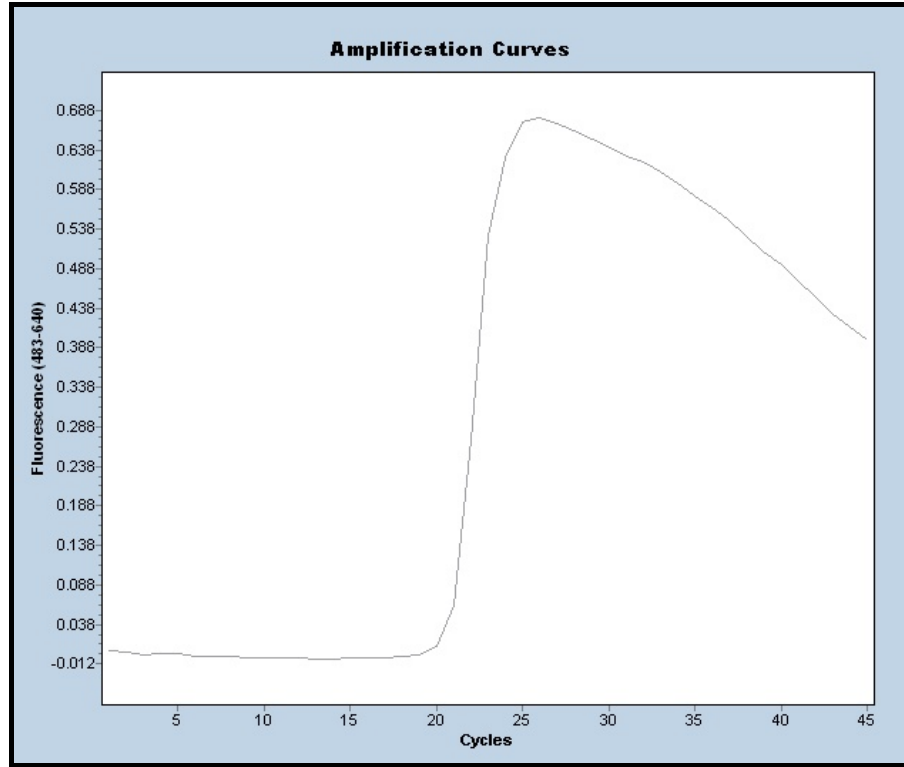
Şekil 4.143 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 3 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili



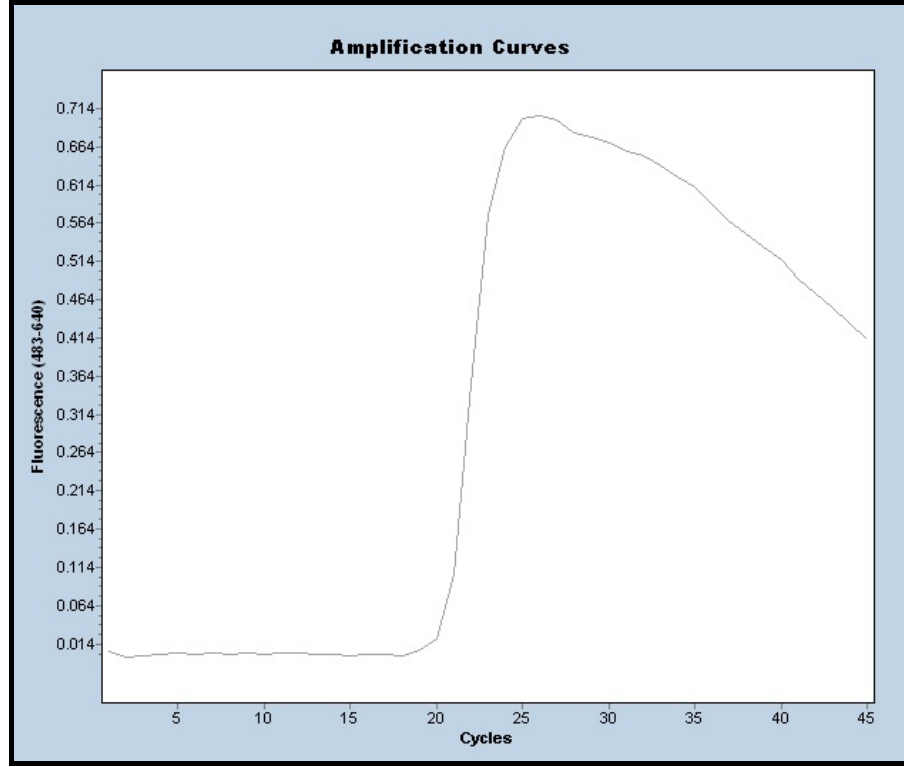
Şekil 4.144 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 3 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili 2. uygulama



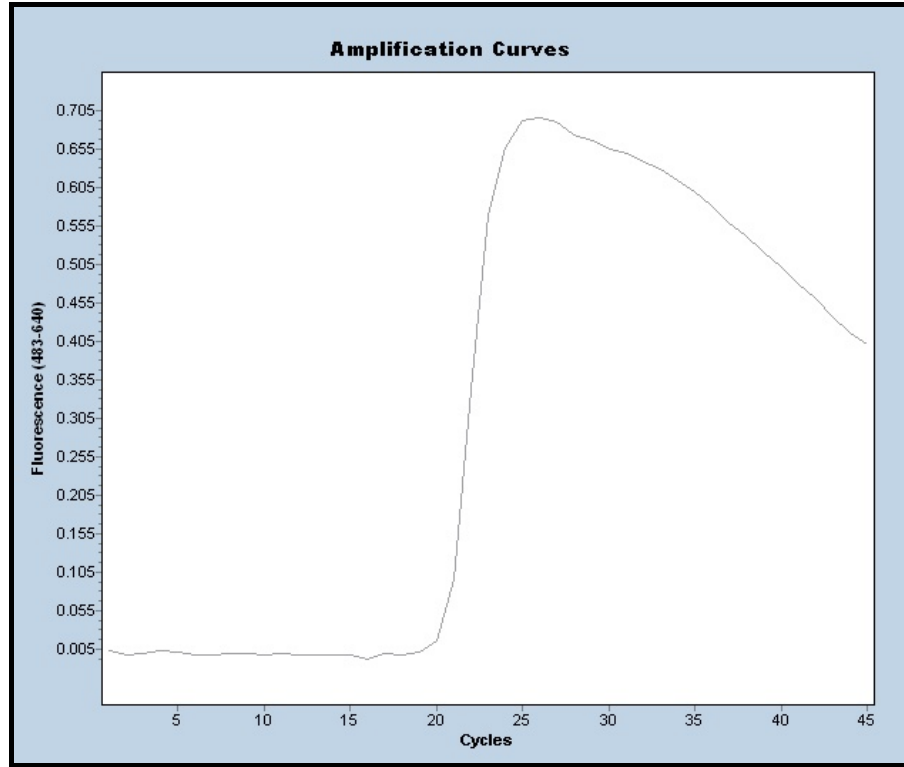
Şekil 4.145 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 6 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili



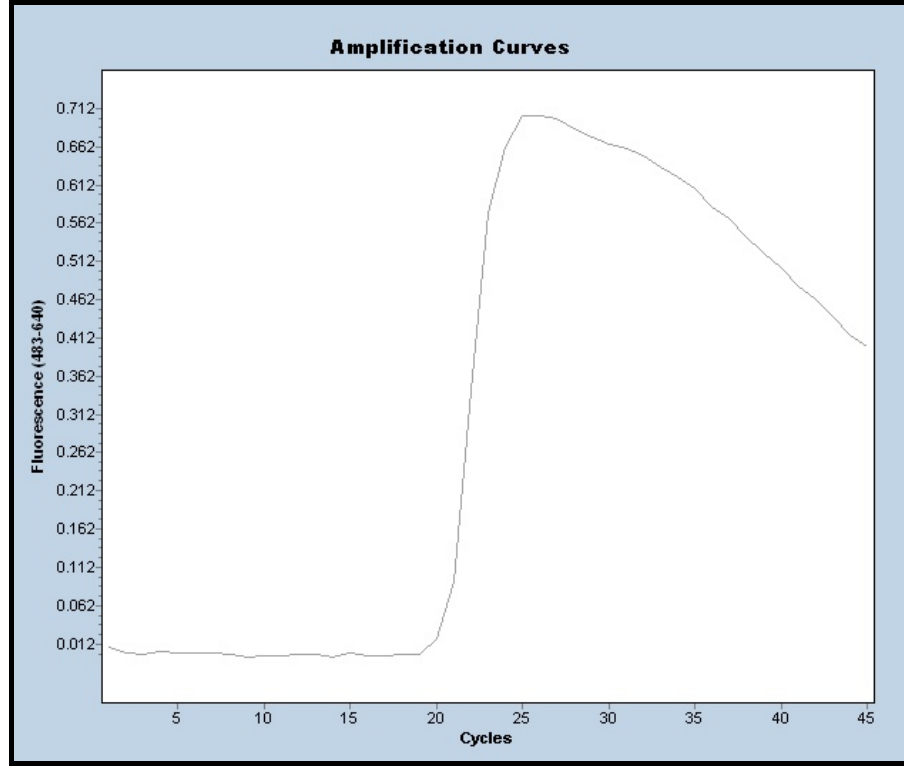
Şekil 4.146 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 6 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili 2. uygulama



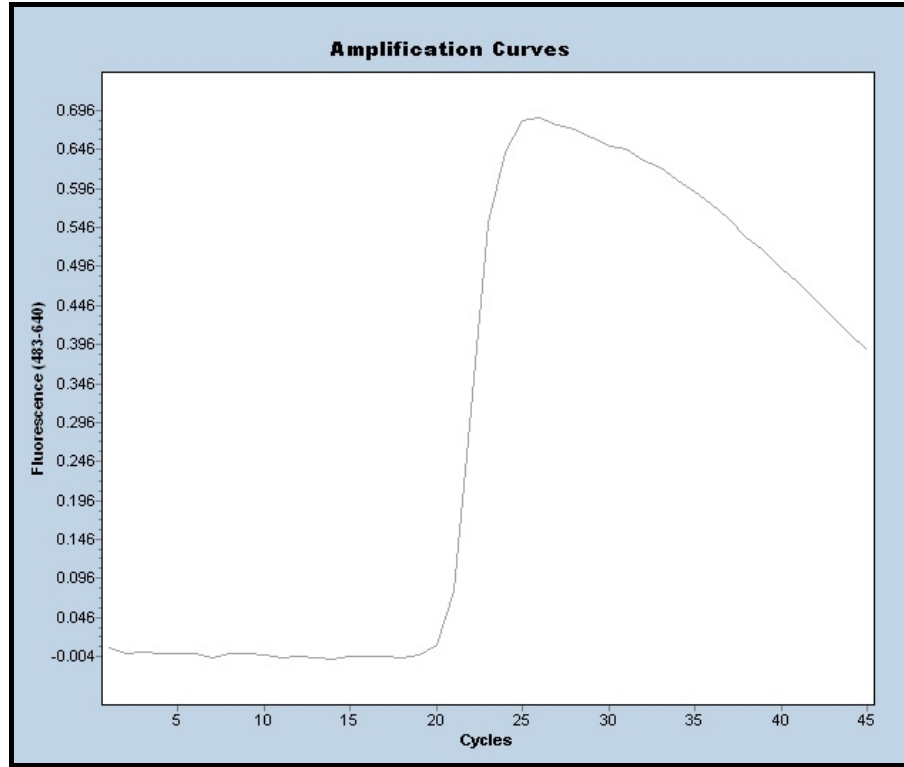
Şekil 4.147 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 9 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili



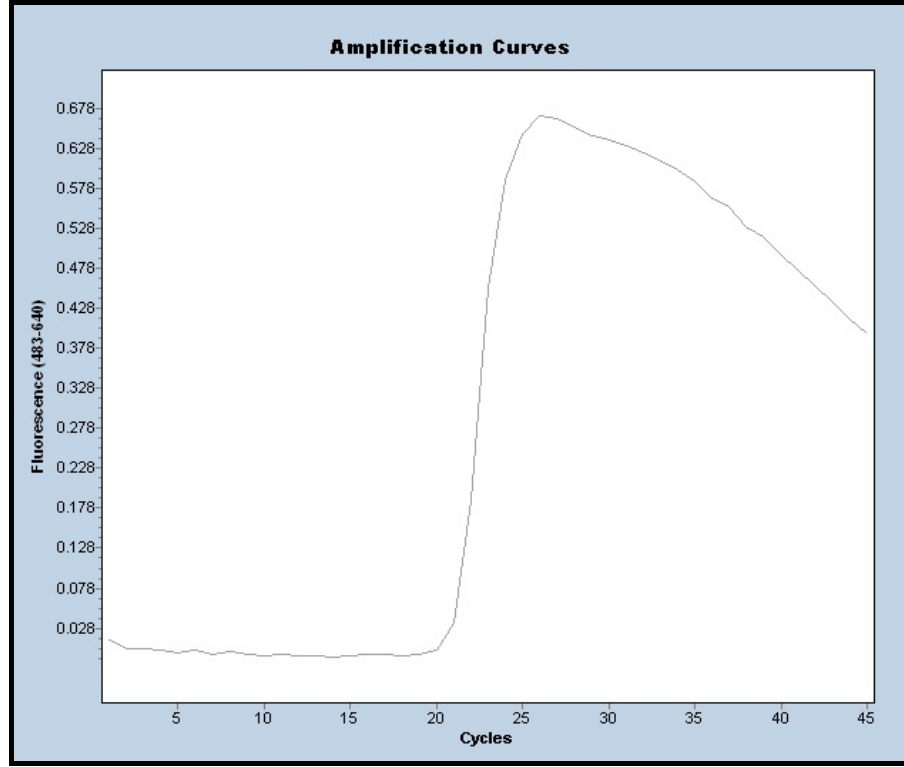
Şekil 4.148 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 9 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili 2. uygulama



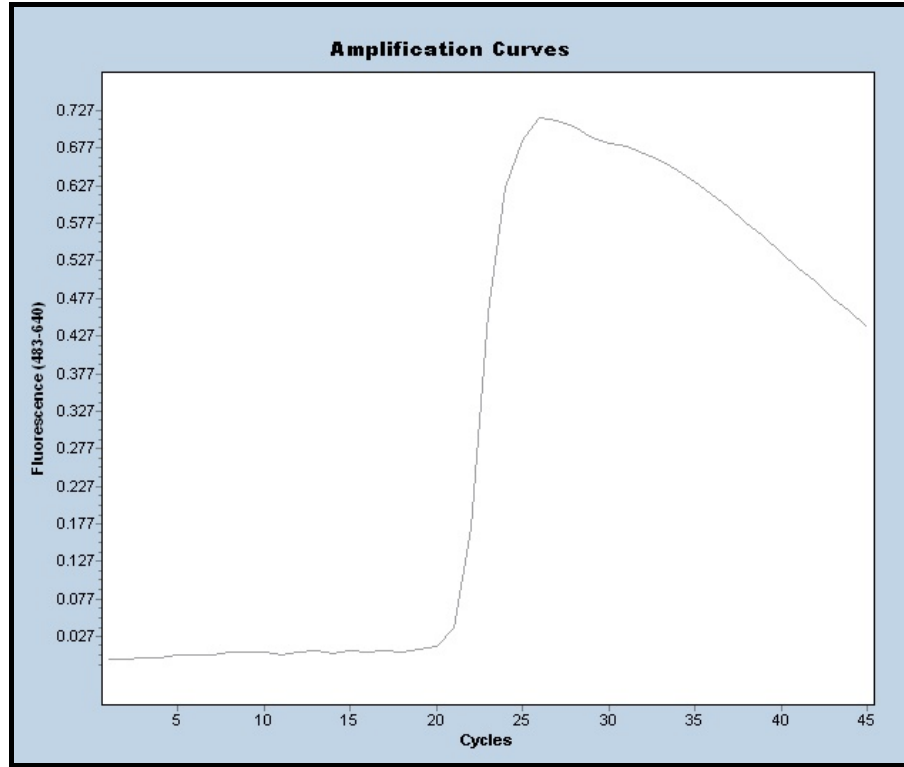
Şekil 4.149 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 12 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili



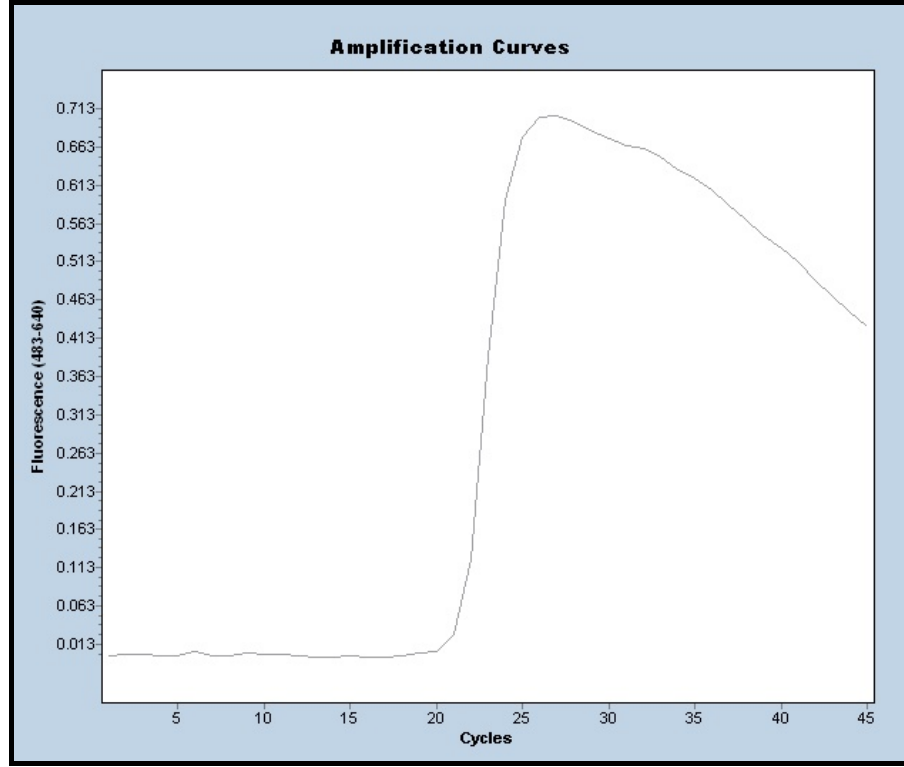
Şekil 4.150 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 12 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili 2. uygulama



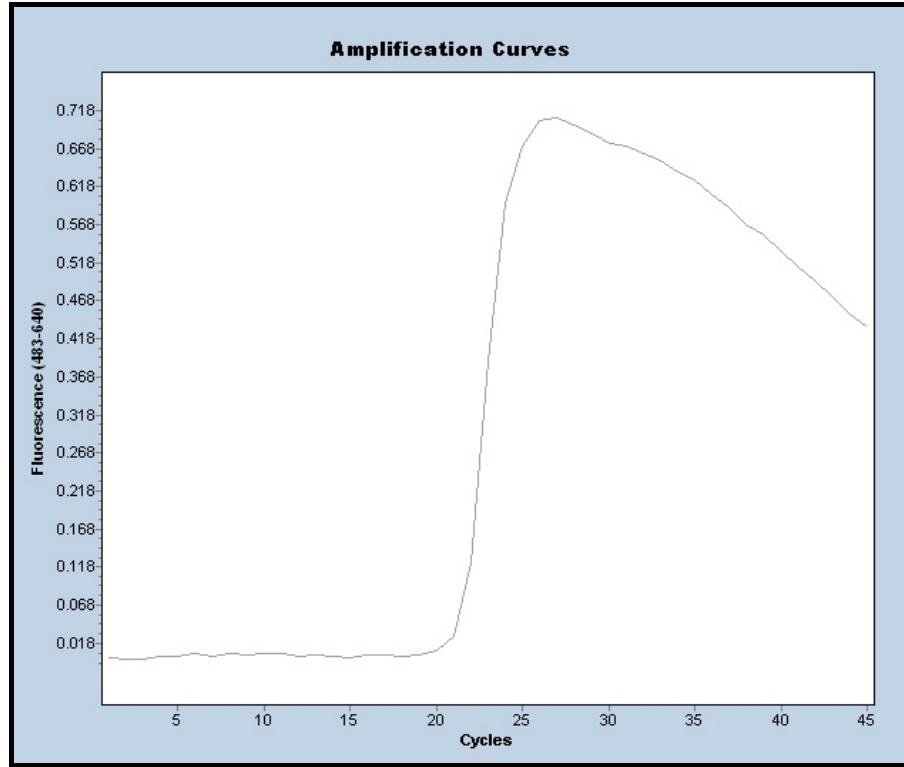
Şekil 4.151 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi,24 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili



Şekil 4.152 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 24 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili 2. uygulama



Şekil 4.153 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 48 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili



Şekil 4.154 150 mM NaCl Stresine Eş PEG Stresi, 48 saat bitkisi ACT real time PCR pik profili 2. uygulama

Çizelge 4.24 150 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında geliştirilmiş örneklerde ACT gen ekspresyon verileri

No	PCR'ı gerçekleştirilen örnek adı	ACT Ct Değeri	ACT Konsantrasyon
43	PEG 150 mM kontrol	19,59	1,15 10 ⁴
44	PEG 150 mM kontrol	19,58	1,15 10 ⁴
45	PEG 150 mM 3 saat	18,99	1,72 10 ⁴
46	PEG 150 mM 3 saat	18,97	1,75 10 ⁴
47	PEG 150 mM 6 saat	19,55	1,18 10 ⁴
48	PEG 150 mM 6 saat	19,55	1,18 10 ⁴
49	PEG 150 mM 9 saat	19,26	1,43 10 ⁴
50	PEG 150 mM 9 saat	19,28	1,41 10 ⁴
51	PEG 150 mM 12 saat	19,3	1,40 10 ⁴
52	PEG 150 mM 12 saat	19,44	1,27 10 ⁴
53	PEG 150 mM 24 saat	19,82	9,86 10 ³
54	PEG 150 mM 24 saat	19,96	9,00 10 ³
55	PEG 150 mM 48 saat	20,13	8,00 10 ³
56	PEG 150 mM 48 saat	20,15	7,91 10 ³

150 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında geliştirilmiş örneklerde ACT gen ekspresyon verileri çizelgesi real time PCR sonucu elde edilen pik profilleri ve ACT standart eğri grafiği aracılığı ile oluşturulmuştur.

4.4.4.1. İstatistiksel Hesaplamalar

Verilerinin istatistiksel olarak değerlendirmesi Livak ve Schmittgen, 2001'e ait $2^{-\Delta\Delta CT}$ yöntemi ile housekeeping gen olan ACT ve kontrol koşullarına göre normalize edilmiştir (Çizelge 4.25.).

Çizelge 4.25 150 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında geliştirilmiş örneklerde, SOD (Süperoksid dismutaz) normalize gen ekspresyon verileri

Stres Uygulaması	SOD Normalize Ekspresyon
PEG 150 mM kontrol	1,00000
PEG 150 mM kontrol	1,04125
PEG 150 mM kontrol	0,96059
PEG 150 mM kontrol	1,00021
PEG 150 mM kontrol	0,97979
PEG 150 mM kontrol	1,02021
PEG 150 mM 3 saat	0,87955
PEG 150 mM 3 saat	0,80586
PEG 150 mM 3 saat	0,84488
PEG 150 mM 3 saat	0,77410
PEG 150 mM 3 saat	0,86177
PEG 150 mM 3 saat	0,78958
PEG 150 mM 6 saat	0,96045
PEG 150 mM 6 saat	0,98327
PEG 150 mM 6 saat	0,92260
PEG 150 mM 6 saat	0,94452
PEG 150 mM 6 saat	0,94104
PEG 150 mM 6 saat	0,96340
PEG 150 mM 9 saat	0,94137
PEG 150 mM 9 saat	0,88289
PEG 150 mM 9 saat	0,90427
PEG 150 mM 9 saat	0,84809
PEG 150 mM 9 saat	0,92234
PEG 150 mM 9 saat	0,86505
PEG 150 mM 12 saat	0,84982
PEG 150 mM 12 saat	1,01958
PEG 150 mM 12 saat	0,81633
PEG 150 mM 12 saat	0,97940
PEG 150 mM 12 saat	0,83264

Çizelge 4.25 150 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında geliştirilmiş örneklerde, SOD (Süperoksit dismutaz) normalize gen ekspresyon verileri (devam)

Stres Uygulaması	SOD Normalize Ekspresyon
PEG 150 mM 12 saat	0,99898
PEG 150 mM 24 saat	0,63712
PEG 150 mM 24 saat	0,66952
PEG 150 mM 24 saat	0,61202
PEG 150 mM 24 saat	0,64313
PEG 150 mM 24 saat	0,62425
PEG 150 mM 24 saat	0,65599
PEG 150 mM 48 saat	0,65545
PEG 150 mM 48 saat	0,68398
PEG 150 mM 48 saat	0,62962
PEG 150 mM 48 saat	0,65702
PEG 150 mM 48 saat	0,64220
PEG 150 mM 48 saat	0,67016

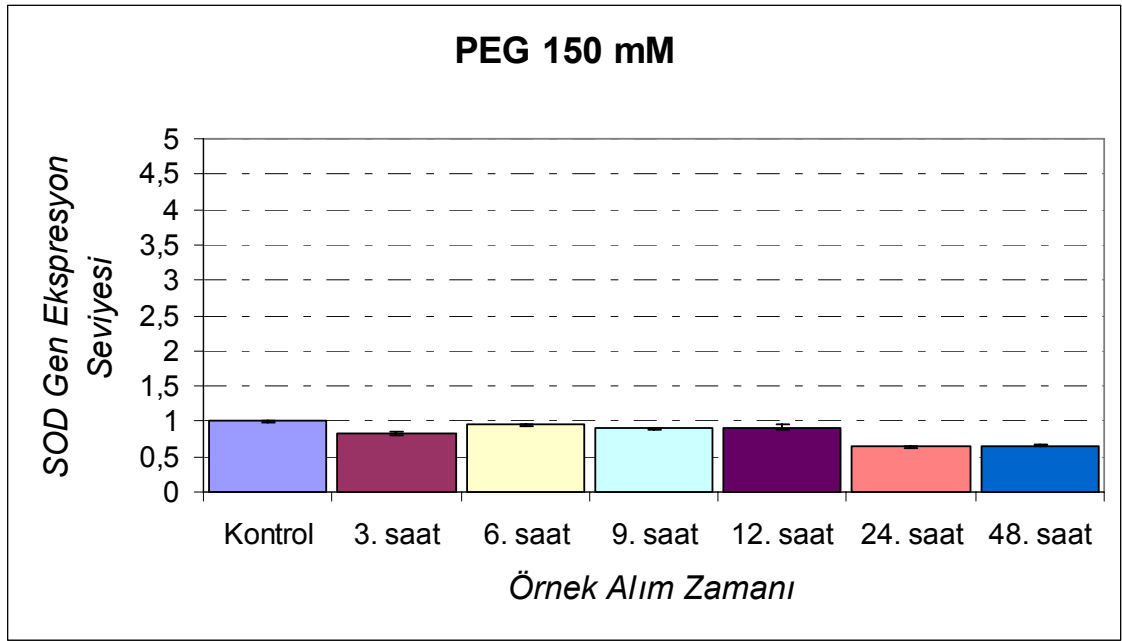
Normalizasyon sonucunda elde edilen verilerin ortalama, standart sapma ve standart hataları aşağıda gösterildiği gibi hesaplanmıştır. Bu veriler aracılığı ile 100 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında geliştirilmiş bitkilerde zamana bağlı olarak, SOD gen ekspresyon seviyesini konsantrasyon şeklinde belirten grafik oluşturulmuştur.

Çizelge 4.26 150 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında geliştirilmiş örneklerde ortalama, standart sapma ve standart hata verileri

Stres Uygulaması	Zaman saat	Ortalama	Standart sapma	Standart hata
PEG150 mM	Kontrol	1,00034232	0,028532572	0,011648374
PEG150 mM	3h	0,825957484	0,042259235	0,01725226
PEG150 mM	6h	0,952547127	0,021059645	0,008597564
PEG150 mM	9h	0,89400115	0,035274571	0,014400783
PEG150 mM	12h	0,916125977	0,092626764	0,037814718

Çizelge 4.26 150 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında geliştirilmiş örneklerde ortalama, standart sapma ve standart hata verileri (devam)

Stres Uygulaması	Zaman saat	Ortalama	Standart sapma	Standart hata
PEG150 mM	24h	0,640337405	0,020857895	0,0085152
PEG150 mM	48h	0,656404132	0,019337929	0,007894676



Şekil 4.155 150 mM Tuz Stresi ile eş PEG stresi, zamana bağlı gen ekspresyon seviyesi

One Way ANOVA (Dunnett)'a yöntemi ile stres uygulamalarında zamana karşı farklılaşan gen ekspresyon seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlılık dereceleri belirlenmiştir. Buna göre 150 mM Tuz Stresi ile eş PEG stresinde zamana bağlı değişimler %100 anlamlıdır (Çizelge 4.27).

Çizelge 4.27 150 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında geliştirilmiş örneklerde One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

EKPRESYON	Kareler	Df	Kareler	F	Anlamlılık
	Toplamı		Ortalaması		
Gruplar arası	.725	6	.121	61.856	.000
Grup içi	.068	35	.002		
Toplam	.793	41			

Çizelge 4.28. 150 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında geliştirilmiş örneklerde Post Hoc Test Multiple Comparisons Dependent Variable: Expression Dunnett T3 verileri

(I) ZAMAN	(J) ZAMAN	Ortalama Fark (I-J)	Standart Hata	Anlamlılık	95% Güven Aralığı	
					Alt Sınır	Üst Sınır
1 (kontrol)	2 (3 saat)	0,174384835	0,020816462	0,000307794	0,09163019	0,25713948
	3 (6 saat)	0,047795193	0,014477663	0,122802366	-0,009054052	0,104644438
	4 (9 saat)	0,10634117	0,018522072	0,003768323	0,034340938	0,178341401
	5 (12 saat)	0,084216343	0,039568138	0,577932058	-0,094255971	0,262688657
	6 (24 saat)	0,360004915	0,014428903	1,79161E-08	0,303277697	0,416732133
	7 (48 saat)	0,343938188	0,014071621	3,88312E-08	0,288029053	0,399847322
2 (3 saat)	1 (kontrol)	-0,174384835	0,020816462	0,000307794	-0,25713948	-0,09163019
	3 (6 saat)	-0,126589643	0,019275855	0,003871194	-0,207300194	-0,045879091
	4 (9 saat)	-0,068043666	0,022472718	0,17527602	-0,15516159	0,019074258
	5 (12 saat)	-0,090168492	0,041564328	0,549855015	-0,266934222	0,086597238
	6 (24 saat)	0,18562008	0,01923926	0,000323017	0,104924455	0,266315704
	7 (48 saat)	0,169553352	0,018972781	0,000675389	0,088907512	0,250199192
3 (6 saat)	1 (kontrol)	-0,047795193	0,014477663	0,122802366	-0,104644438	0,009054052
	2 (3 saat)	0,126589643	0,019275855	0,003871194	0,045879091	0,207300194

Çizelge 4.28 150 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında geliştirilmiş örneklerde Post Hoc Test Multiple Comparisons Dependent Variable: Expression Dunnett T3 verileri (devam)

(I) ZAMAN	(J) ZAMAN	Ortalama Fark (I-J)	Standart Hata	Anlamlılık	95% Güven Aralığı	
					Alt Sınır	Üst Sınır
	4 (9 saat)	0,058545977	0,01677202	0,105508694	-0,009471167	0,12656312
	5 (12 saat)	0,03642115	0,038779776	0,995614788	-0,143824704	0,216667005
	6 (24 saat)	0,312209722	0,012100691	3,31786E-09	0,265648502	0,358770943
	7 (48 saat)	0,296142995	0,011672361	4,3887E-09	0,251154684	0,341131306
4 (9 saat)	1 (kontrol)	-0,10634117	0,018522072	0,003768323	-0,178341401	-0,034340938
	2 (3 saat)	0,068043666	0,022472718	0,17527602	-0,019074258	0,15516159
	3 (6 saat)	-0,058545977	0,01677202	0,105508694	-0,12656312	0,009471167
	5 (12 saat)	-0,022124826	0,040464002	0,999995871	-0,199394113	0,15514446
	6 (24 saat)	0,253663746	0,016729949	5,21559E-06	0,185704931	0,32162256
	7 (48 saat)	0,237597018	0,016422803	1,14204E-05	0,169994187	0,305199849
5 (12 saat)	1 (kontrol)	-0,084216343	0,039568138	0,577932058	-0,262688657	0,094255971
	2 (3 saat)	0,090168492	0,041564328	0,549855015	-0,086597238	0,266934222
	3 (6 saat)	-0,03642115	0,038779776	0,995614788	-0,216667005	0,143824704
	4 (9 saat)	0,022124826	0,040464002	0,999995871	-0,15514446	0,199394113

Çizelge 4.28 150 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında geliştirilmiş örneklerde Post Hoc Test Multiple Comparisons Dependent Variable: Expression Dunnett T3 verileri (devam)

(I) ZAMAN	(J) ZAMAN	Ortalama Fark (I-J)	Standart Hata	Anlamlılık	95% Güven Aralığı	
					Alt Sınır	Üst Sınır
	6 (24 saat)	0,275788572	0,038761599	0,007035576	0,095492893	0,456084251
	7 (48 saat)	0,259721845	0,038630025	0,009672295	0,079052633	0,440391056
6 (24 saat)	1 (kontrol)	-0,360004915	0,014428903	1,79161E-08	-0,416732133	-0,303277697
	2 (3 saat)	-0,18562008	0,01923926	0,000323017	-0,266315704	-0,104924455
	3 (6 saat)	-0,312209722	0,012100691	3,31786E-09	-0,358770943	-0,265648502
	4 (9 saat)	-0,253663746	0,016729949	5,21559E-06	-0,32162256	-0,185704931
	5 (12 saat)	-0,275788572	0,038761599	0,007035576	-0,456084251	-0,095492893
	7 (48 saat)	-0,016066727	0,011611828	0,94264624	-0,060805632	0,028672178
7 (48 saat)	1 (kontrol)	-0,343938188	0,014071621	3,88312E-08	-0,399847322	-0,288029053
	2 (3 saat)	-0,169553352	0,018972781	0,000675389	-0,250199192	-0,088907512
	3 (6 saat)	-0,296142995	0,011672361	4,3887E-09	-0,341131306	-0,251154684
	4 (9 saat)	-0,237597018	0,016422803	1,14204E-05	-0,305199849	-0,169994187
	5 (12 saat)	-0,259721845	0,038630025	0,009672295	-0,440391056	-0,079052633
	6 (24 saat)	0,016066727	0,011611828	0,94264624	-0,028672178	0,060805632

- Ortalama fark .05 düzeyinde anlamlıdır

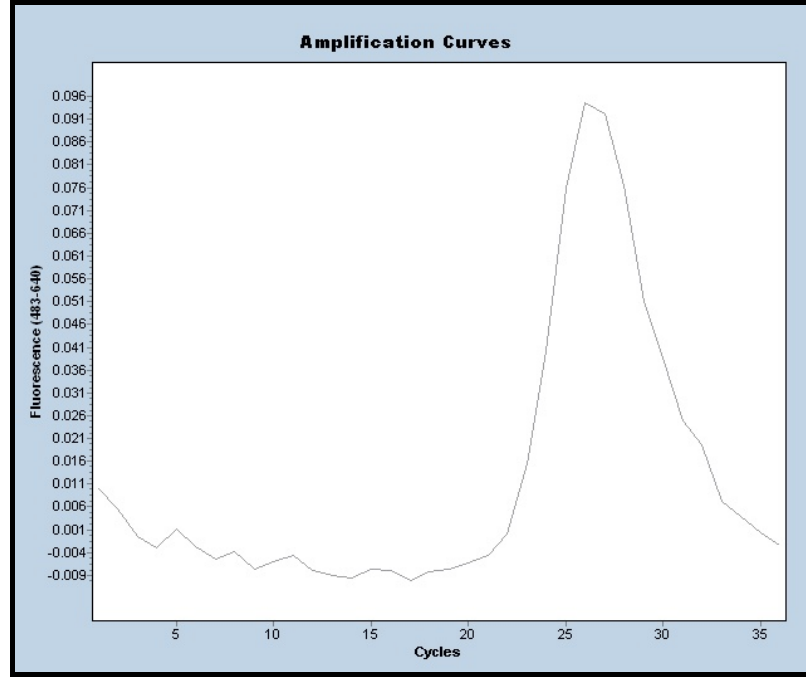
Çizelge 4.29 150 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip PEG stresi altında geliştirilmiş örneklerde Post Hoc Test Multiple Comparisons Dependent Variable: Expression, Dunnett T3 Değerlendirmesi

PEG 150 mM	Kontrol	3h	6h	9h	12h	24h	48h
Kontrol	ns						
3h	***	ns					
6h	ns	*	ns				
9h	*	ns	ns	ns			
12h	ns	ns	ns	ns	ns		
24h	***	***	***	***	ns	ns	
48h	***	**	***	***	**	ns	ns

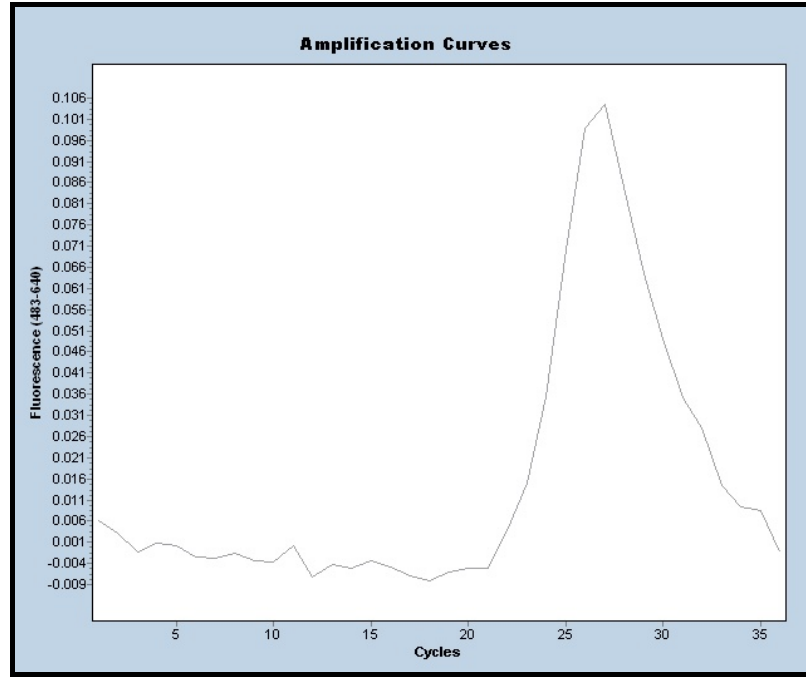
p<0.05 *, p<0.01 **, p<0.001 ***, ns non significant(anlamsız)

4.4.5. Soğuk Stresi

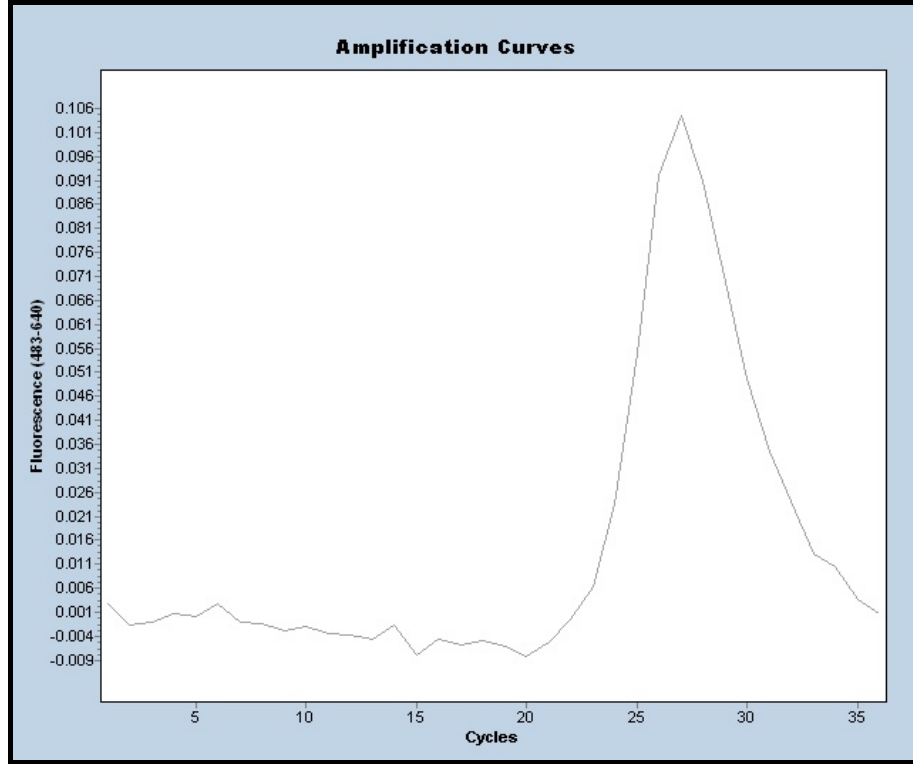
25 günlük *Lycopersicum esculentum* L. bitkicikleri iklim odasına eş olarak ışık içeren +4 °C'lik soğuk odaya alınan bitkiler 10 gün süre bu ortamda tutulan ve 0., 2., 4., 6., 8., 10. günlerde alınan örneklerden RNA izolasyonu ve cDNA sentezi yapılmıştır. Örneklerden hem SOD hem de ACT için ayrı ayrı real time PCR reaksiyonları ikişer tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Florasan ışık temeline göre reaksiyon takip edilmiş ve CT değerleri belirlenmiştir. Soğuk stresi altında geliştirilmiş bitkiciklere ait SOD PCR reaksiyonu profilleri aşağıdaki gibidir.



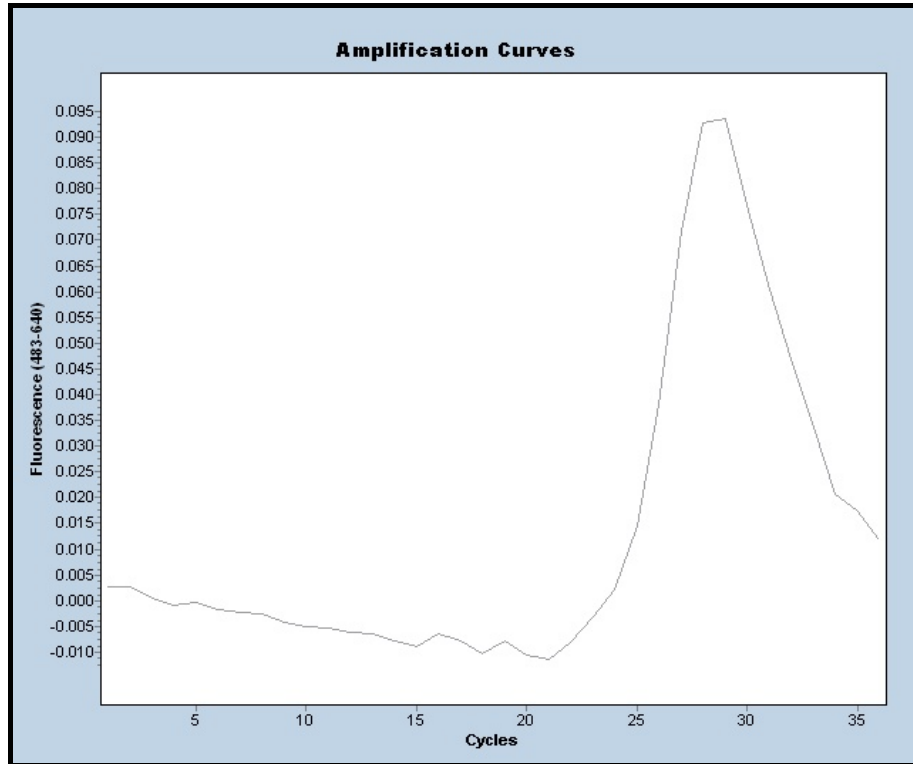
Şekil 4.156 Soğuk Stresi, kontrol bitkisi SOD real time PCR pik profili



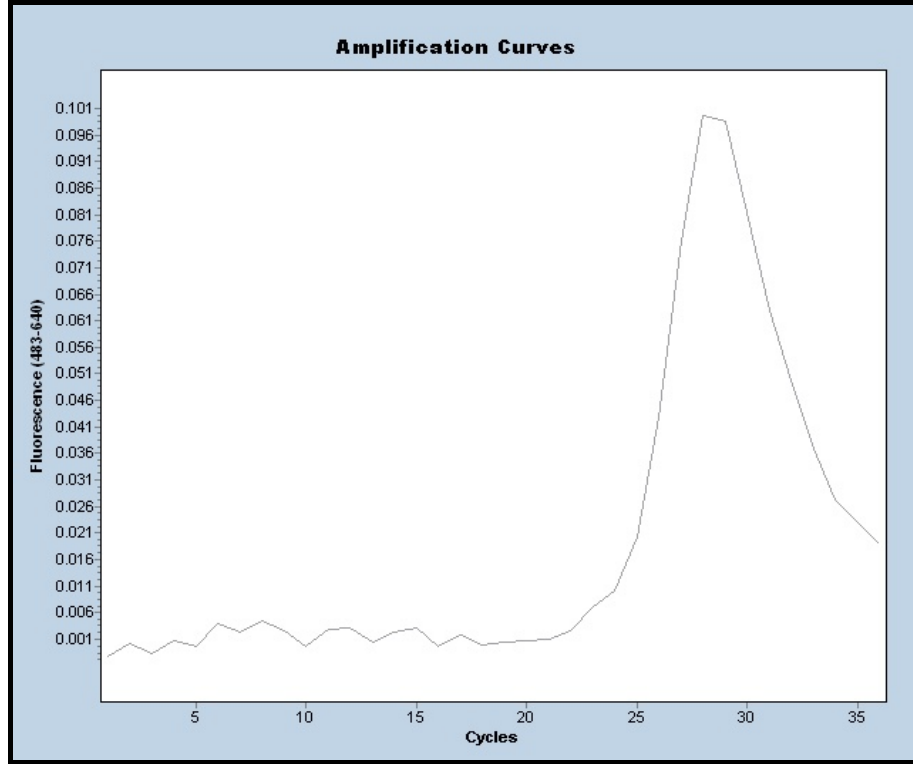
Şekil 4.157 Soğuk Stresi, kontrol bitkisi SOD real time PCR pik profili 2. uygulama



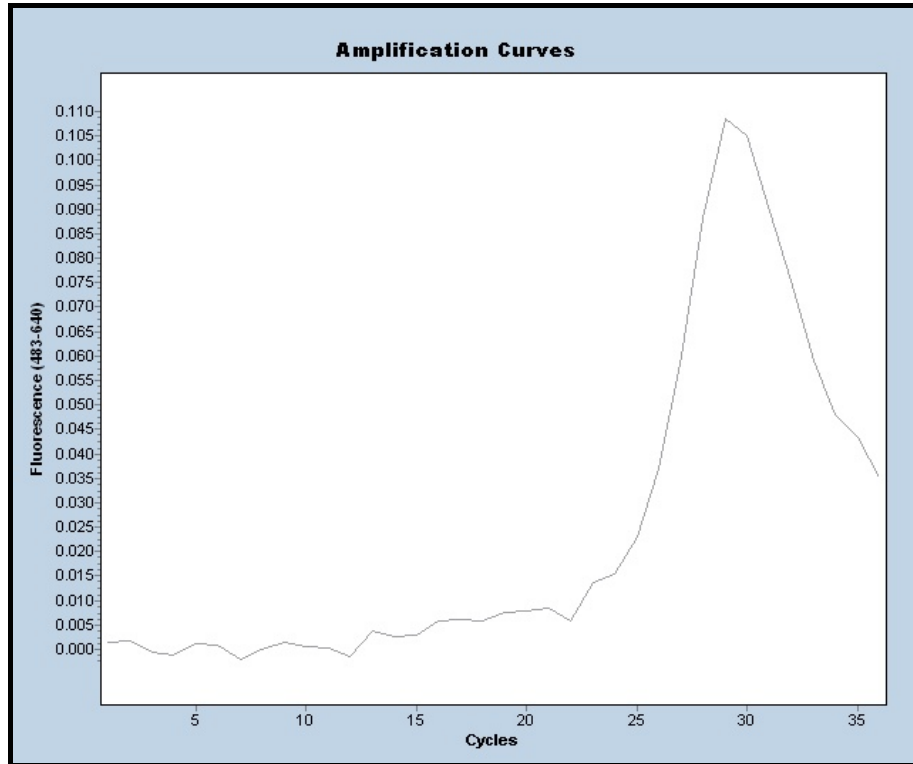
Şekil 4.158 Soğuk Stresi, 2 g bitkisi SOD real time PCR pik profili



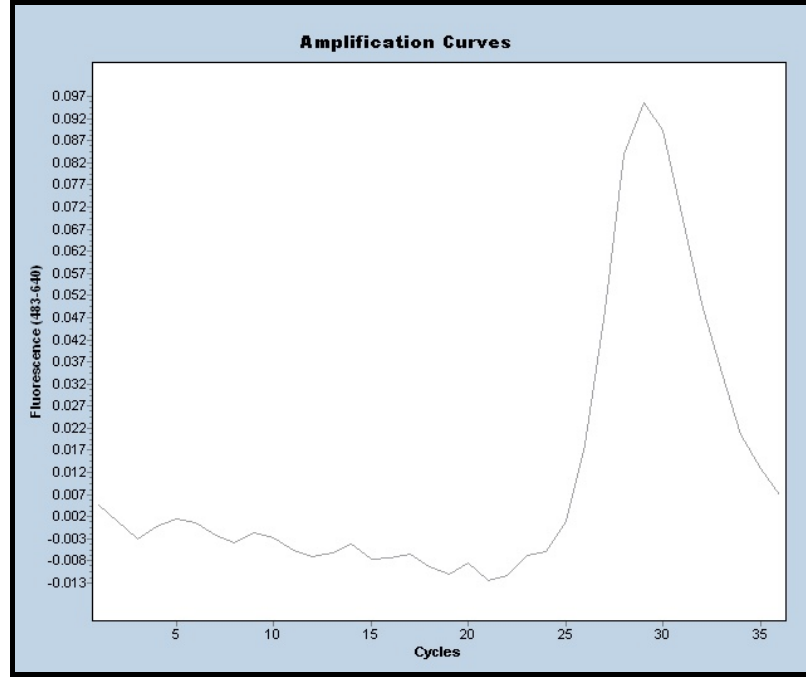
Şekil 4.159 Soğuk Stresi, 2 g bitkisi SOD real time PCR pik profili 2. uygulama



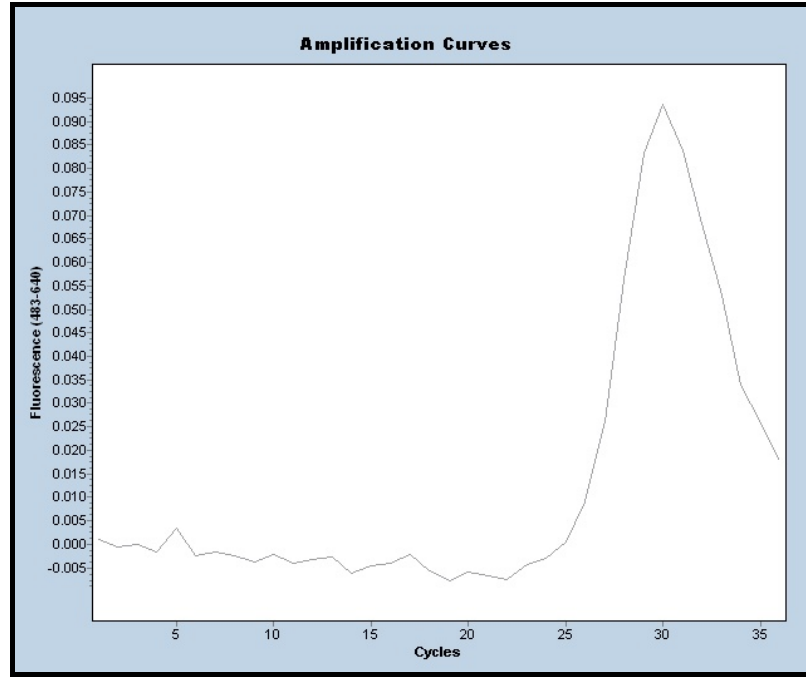
Şekil 4.160 Soğuk Stresi, 4 g bitkisi SOD real time PCR pik profili



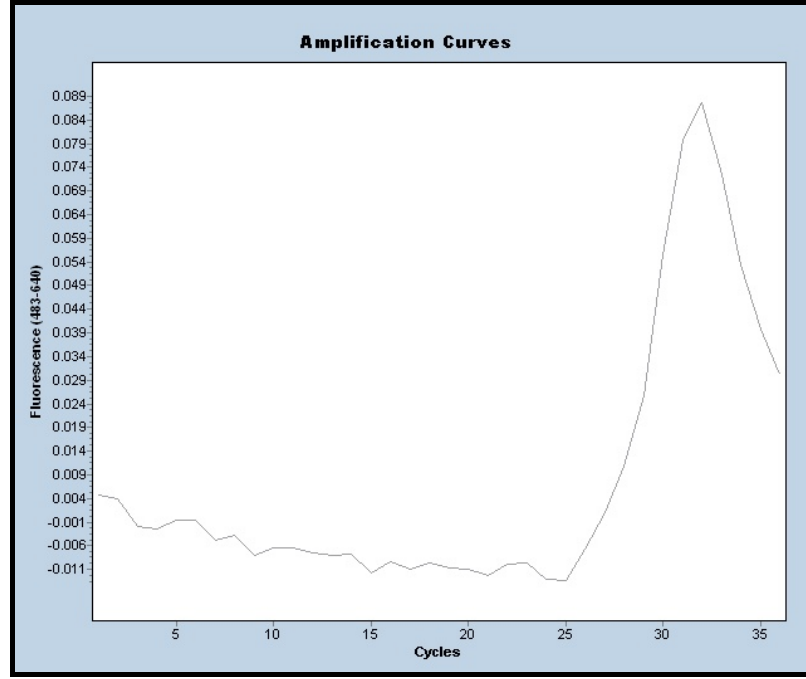
Şekil 4.161 Soğuk Stresi, 4 g bitkisi SOD real time PCR pik profili 2. uygulama



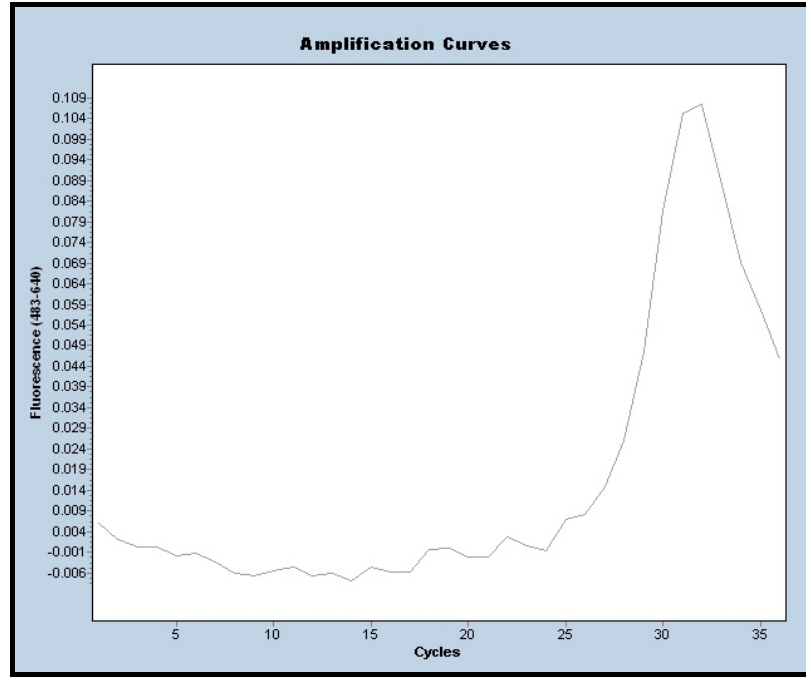
Şekil 4.162 Soğuk Stresi, 6 g bitkisi SOD real time PCR pik profili



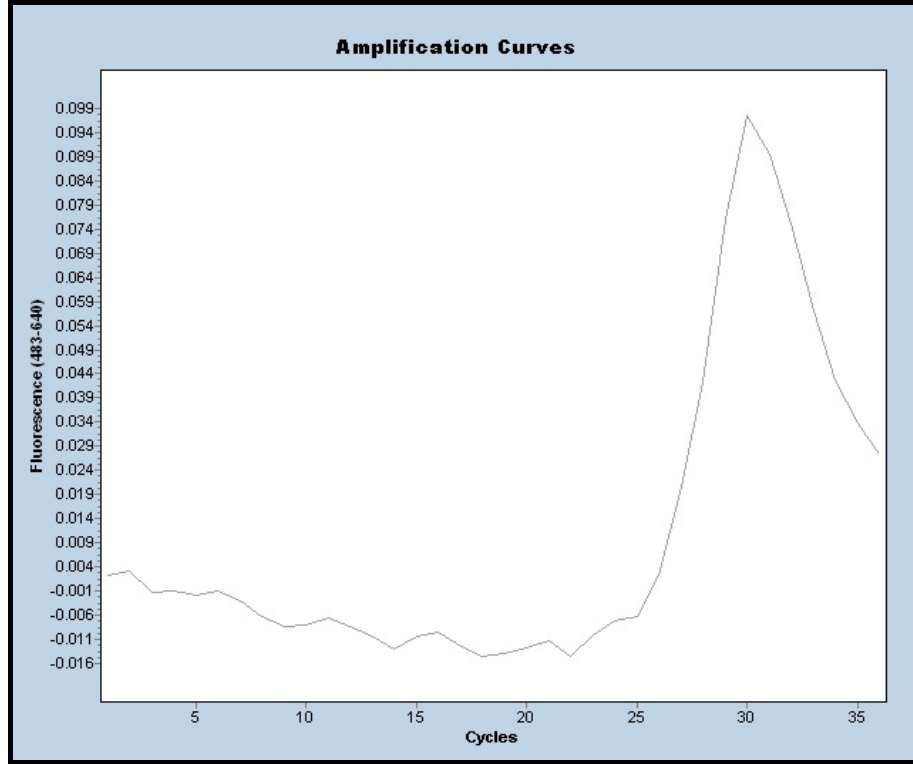
Şekil 4.163 Soğuk Stresi, 6 g bitkisi SOD real time PCR pik profili 2. uygulama



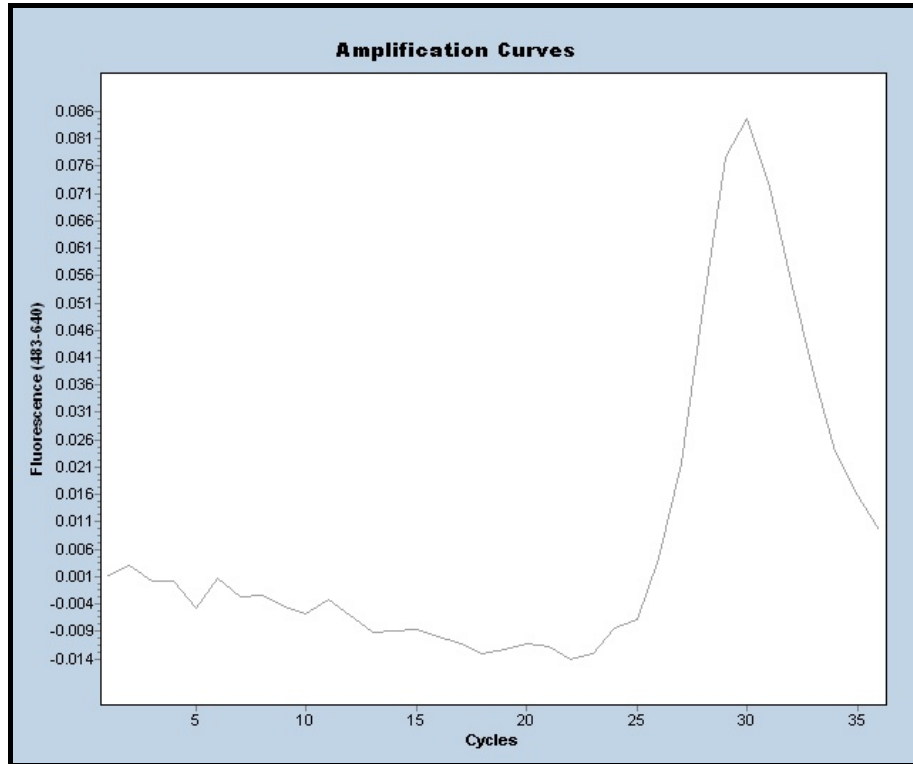
Şekil 4.164 Soğuk Stresi, 8 g bitkisi SOD real time PCR pik profili



Şekil 4.165 Soğuk Stresi, 8 g bitkisi SOD real time PCR pik profili 2. uygulama



Şekil 4.166 Soğuk Stresi, 10 g bitkisi SOD real time PCR pik profili



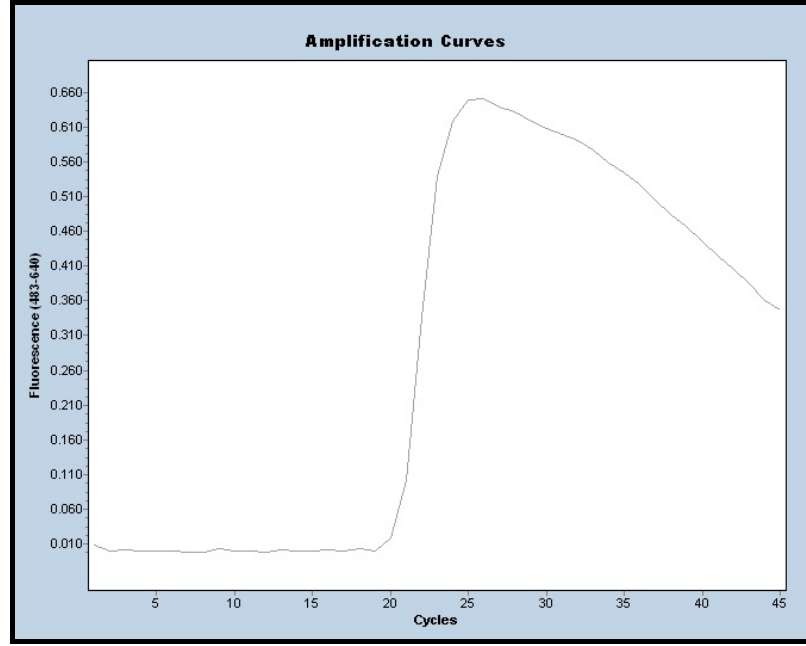
Şekil 4.167 Soğuk Stresi, 10 g bitkisi SOD real time PCR pik profili 2. uygulama

Çizelge 4.30 Soğuk Stresi altında geliştirilmiş örneklerde SOD (Süperoksid Dismutaz) gen ekspresyon verileri

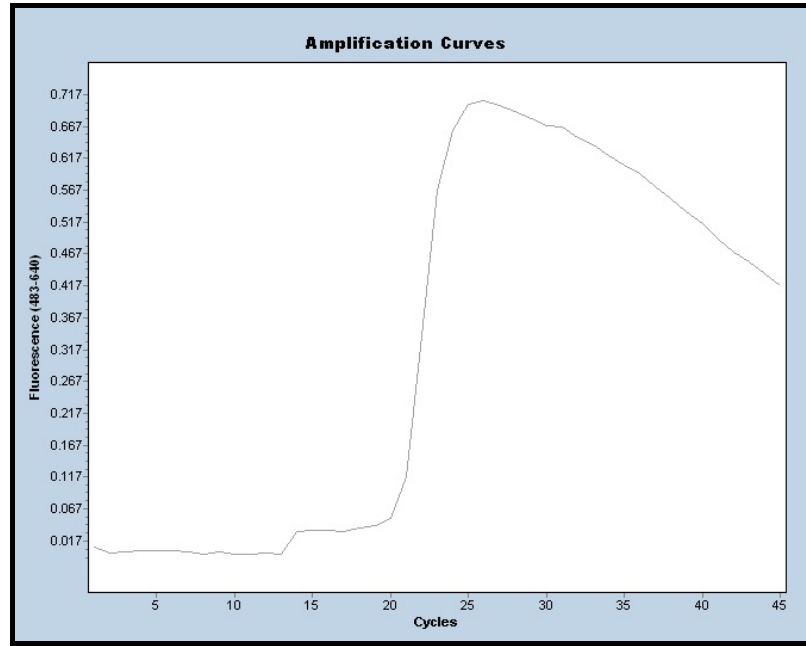
No	PCR'ı gerçekleştirilen örnek adı	SOD Ct Değeri	SOD Konsantrasyon
57	Soğuk kontrol	21,01	1,19 10 ⁶
58	Soğuk kontrol	21,19	1,05 10 ⁶
59	Soğuk 2 gun	21,67	7,6610 ⁵
60	Soğuk 2 gun	22,96	3,26 10 ⁵
61	Soğuk 4 gun	23,12	2,94 10 ⁵
62	Soğuk 4 gun	23,83	1,84 10 ⁵
63	Soğuk 6 gun	23,74	1,96 10 ⁵
64	Soğuk 6 gun	24,58	1,12 10 ⁵
65	Soğuk 8 gun	26,13	4,01 10 ⁴
66	Soğuk 8 gun	26,07	4,18 10 ⁴
67	Soğuk 10 gun	24,84	9,40 10 ⁴
68	Soğuk 10 gun	24,46	1,21 10 ⁵

Soğuk Stresi altında geliştirilmiş örneklerde SOD (Süperoksid Dismutaz) gen ekspresyon verileri çizelgesi real time PCR sonucu elde edilen pik profilleri ve SOD standart eğri grafiği aracılığı ile oluşturulmuştur.

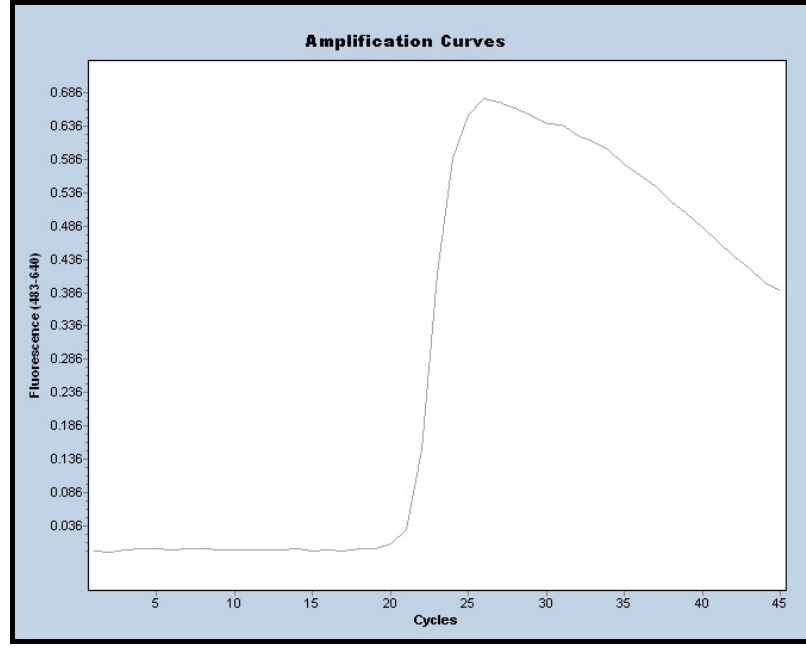
Soğuk Stresi altında geliştirilmiş örneklerden ACT gen bölgesini çoğaltmak amacıyla PCR reaksiyonu ikişer tekrarlı olarak real time PCR cihazında gerçekleştirilmiştir. Florasan ışık temeline göre reaksiyon takip edilmiş ve CT değerleri belirlenmiştir. Soğuk stresi altında geliştirilmiş bitkiciklere ait ACT PCR reaksiyonu profilleri aşağıdaki gibidir.



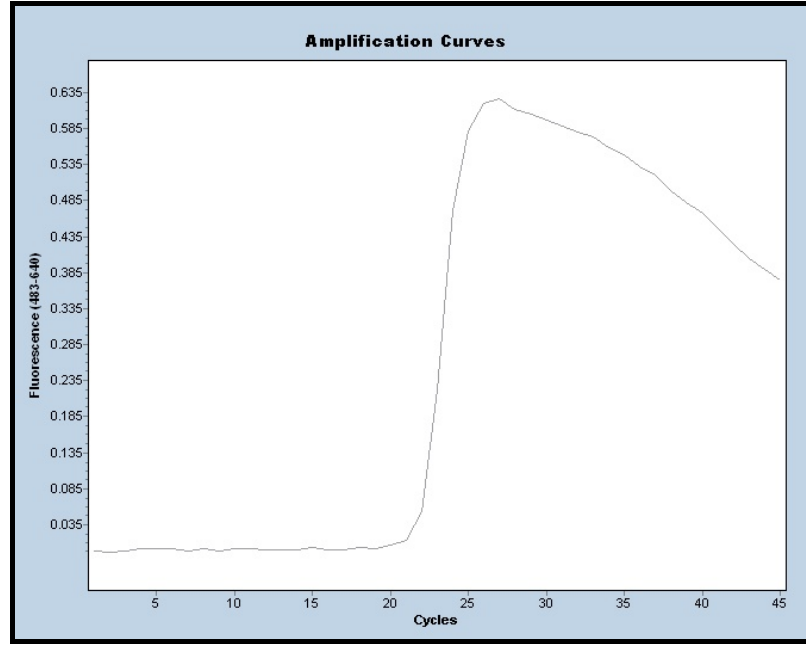
Şekil 4.168 Soğuk Stresi, kontrol bitkisi ACT real time PCR pik profili



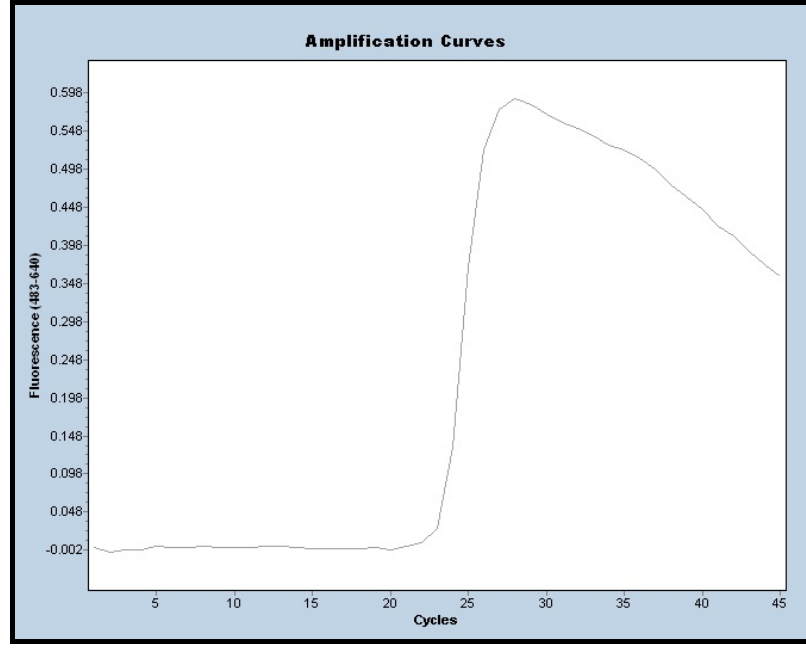
Şekil 4.169 Soğuk Stresi, kontrol bitkisi ACT real time PCR pik profili 2. uygulama



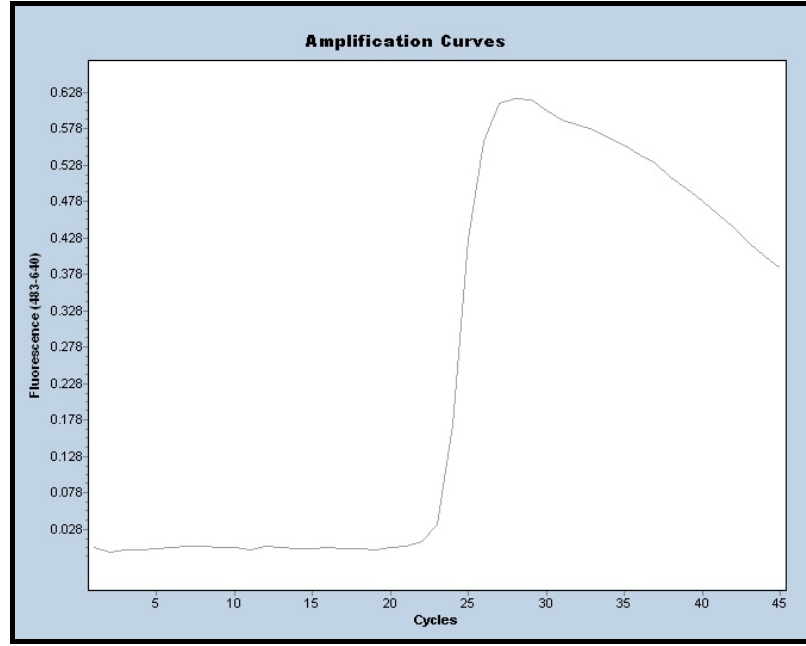
Şekil 4.170 Soğuk Stresi, 2 g bitkisi ACT real time PCR pik profili



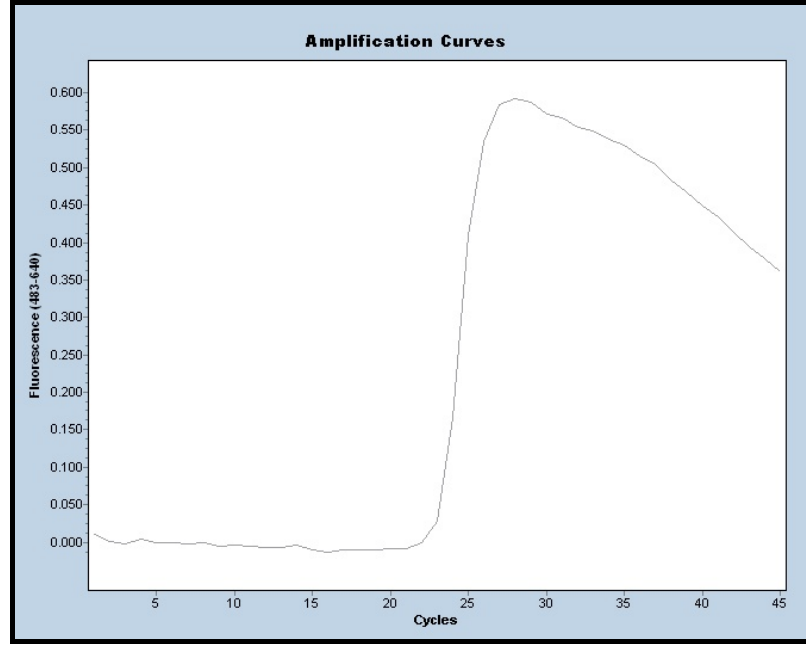
Şekil 4.171 Soğuk Stresi, 2 g bitkisi ACT real time PCR pik profili 2. uygulama



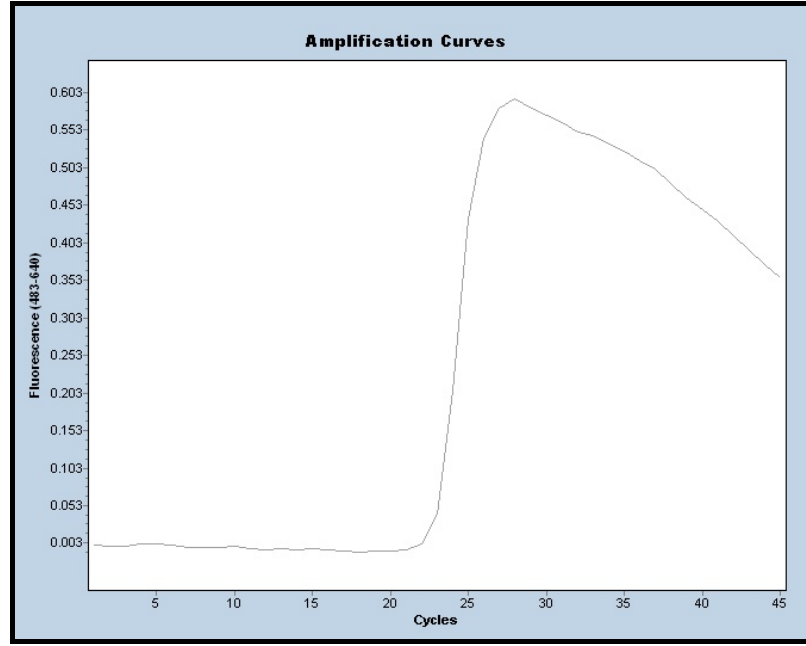
Şekil 4.172 Soğuk Stresi, 4 g bitkisi ACT real time PCR pik profili



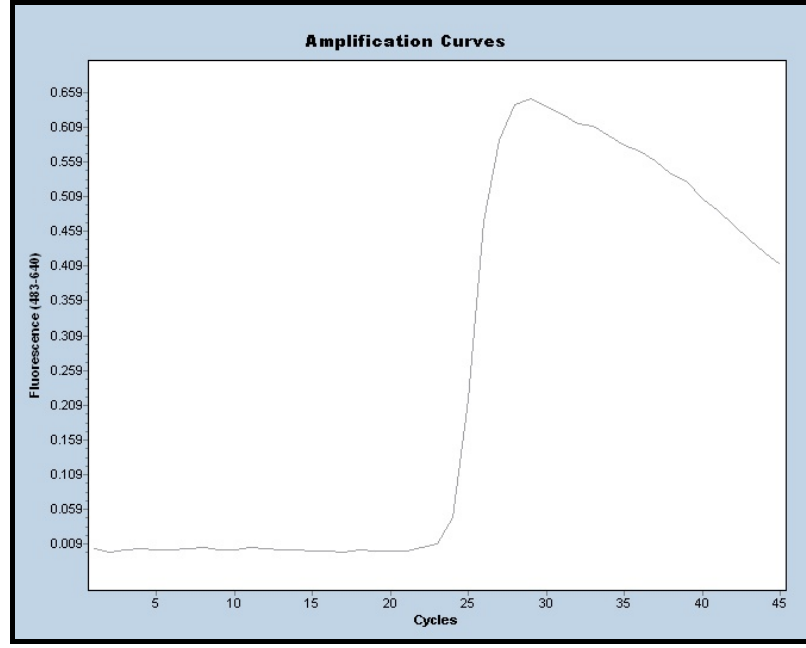
Şekil 4.173 Soğuk Stresi, 4 g bitkisi ACT real time PCR pik profili 2. uygulama



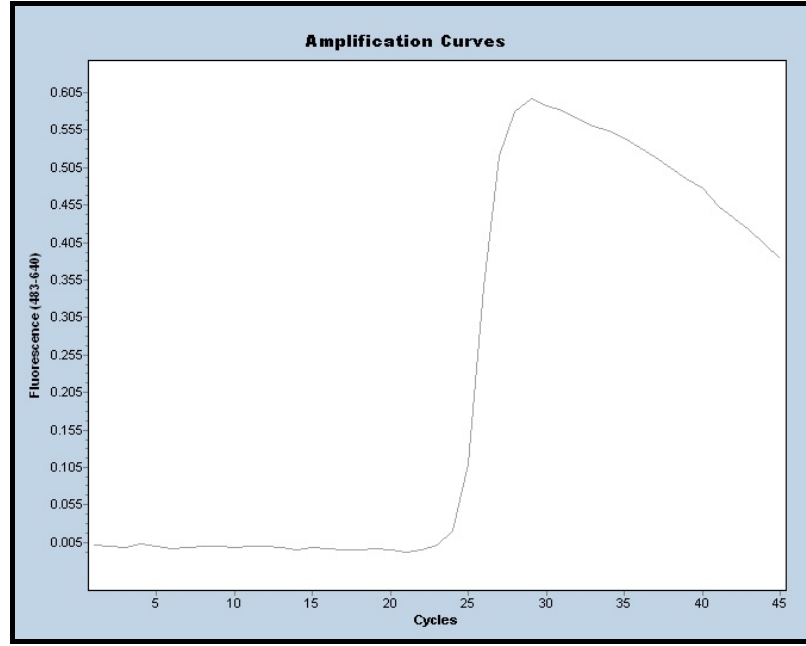
Şekil 4.174 Soğuk Stresi, 6 g bitkisi ACT real time PCR pik profili



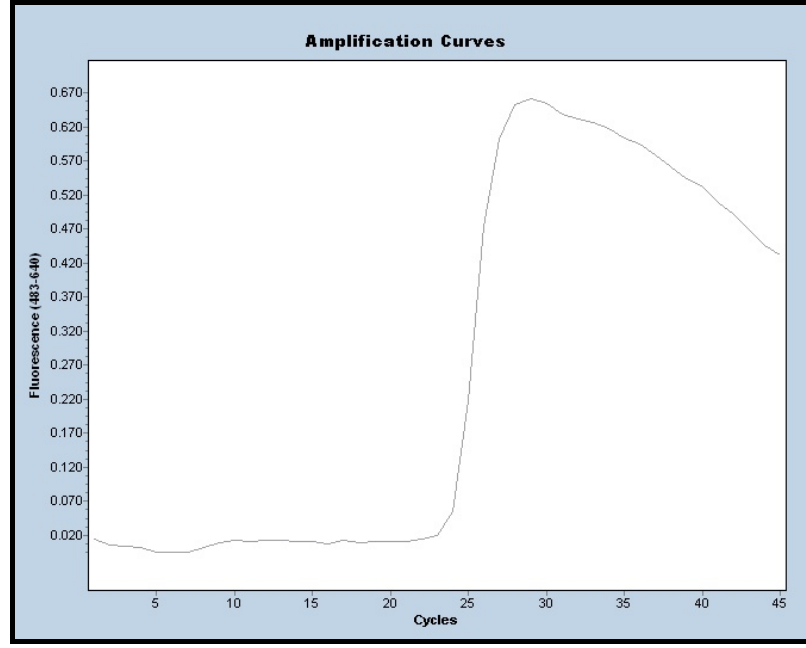
Şekil 4.175 Soğuk Stresi, 6 g bitkisi ACT real time PCR pik profili 2. uygulama



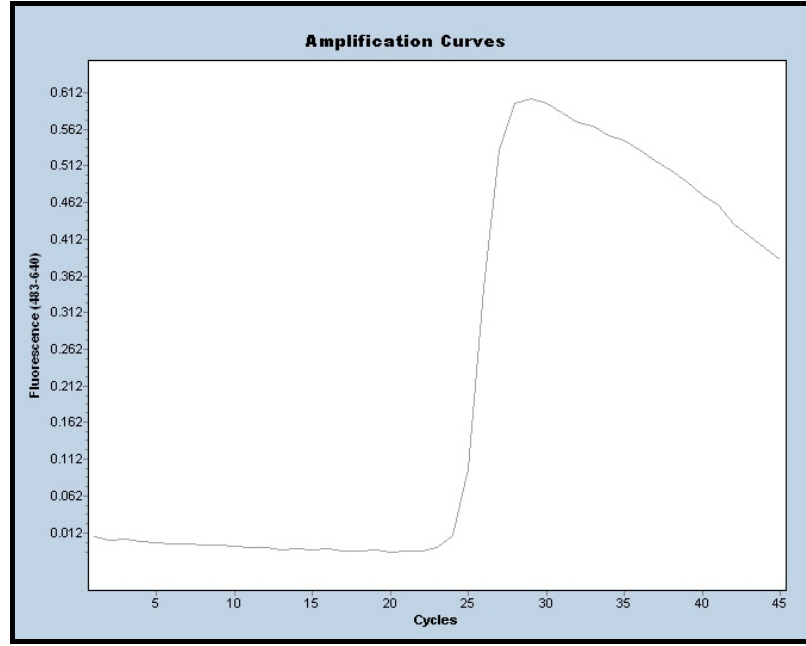
Şekil 4.176 Soğuk Stresi, 8 g bitkisi ACT real time PCR pik profili



Şekil 4.177 Soğuk Stresi, 8 g bitkisi ACT real time PCR pik profili 2. uygulama



Şekil 4.178 Soğuk Stresi, 10 g bitkisi ACT real time PCR pik profili



Şekil 4.179 Soğuk Stresi, 10 g bitkisi ACT real time PCR pik profili 2. uygulama

Çizelge 4.31 Soğuk Stresi altında geliştirilmiş örneklerde ACT (Aktin) gen ekspresyon verileri

No	PCR'ı gerçekleştirilen örnek adı	ACT Ct değeri	ACT Konsantrasyon
57	Soğuk kontrol	19,23	$1,55 \cdot 10^5$
58	Soğuk kontrol	19,51	$1,29 \cdot 10^5$
59	Soğuk 2 gun	19,99	$9,33 \cdot 10^4$
60	Soğuk 2 gun	20,65	$6,00 \cdot 10^4$
61	Soğuk 4 gun	21,96	$2,50 \cdot 10^4$
62	Soğuk 4 gun	21,83	$2,71 \cdot 10^4$
63	Soğuk 6 gun	21,79	$2,79 \cdot 10^4$
64	Soğuk 6 gun	21,65	$3,06 \cdot 10^4$
65	Soğuk 8 gun	22,7	$1,52 \cdot 10^4$
66	Soğuk 8 gun	23,05	$1,20 \cdot 10^4$
67	Soğuk 10 gun	22,74	$1,48 \cdot 10^4$
68	Soğuk 10 gun	23,07	$1,18 \cdot 10^4$

Soğuk stresi altında geliştirilmiş örneklerde ACT (Aktin) gen ekspresyon verileri çizelgesi real time PCR sonucu elde edilen pik profilleri ve ACT standart eğri grafiği aracılığı ile oluşturulmuştur.

4.4.5.1. İstatistiksel Analizler

Verilerinin istatistiksel olarak değerlendirmesi Livak ve Schmittgen, 2001'e ait $2^{-\Delta\Delta CT}$ yöntemi ile housekeeping gen olan Actin ve kontrol koşullarına göre normalize edilmiştir (Çizelge 4.32).

Çizelge 4.32 Soğuk Stresi, SOD (Süperoksid dismutaz) normalize gen ekspresyon verileri

Stres Uygulaması	SOD Normalize Ekspresyon
Soguk kontrol	0,99966
Soguk kontrol	1,05984
Soguk kontrol	0,94317
Soguk kontrol	0,99994
Soguk kontrol	0,97078
Soguk kontrol	1,02922
Soguk 2 gun	1,06902
Soguk 2 gun	0,70747
Soguk 2 gun	1,00861
Soguk 2 gun	0,66749
Soguk 2 gun	1,03814
Soguk 2 gun	0,68703
Soguk 4 gun	1,53125
Soguk 4 gun	0,88407
Soguk 4 gun	1,44472
Soguk 4 gun	0,83411
Soguk 4 gun	1,48701
Soguk 4 gun	0,85853
Soguk 6 gun	0,91473
Soguk 6 gun	0,47658
Soguk 6 gun	0,86303
Soguk 6 gun	0,44965
Soguk 6 gun	0,88830
Soguk 6 gun	0,46281
Soguk 8 gun	0,34351
Soguk 8 gun	0,45356
Soguk 8 gun	0,32410
Soguk 8 gun	0,42793
Soguk 8 gun	0,33359

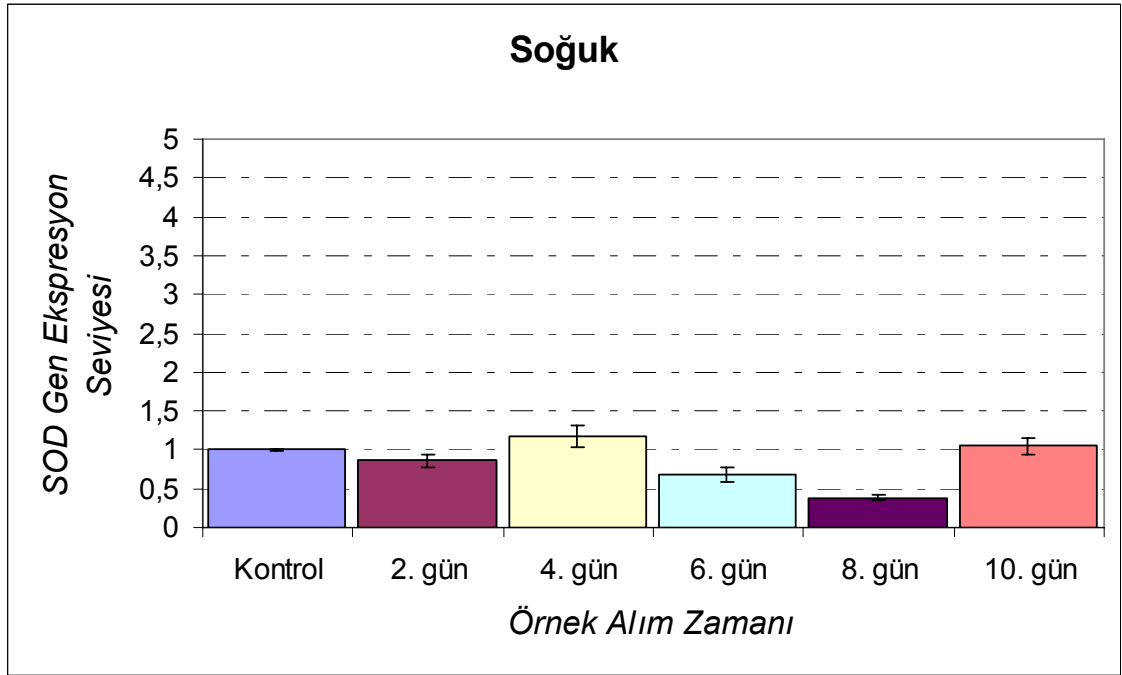
Çizelge 4.32 Soğuk Stresi, SOD (Süperoksit dismutaz) normalize gen ekspresyon verileri (devam)

Stres Uygulaması	SOD Normalize Ekspresyon
Soguk 8 gun	0,44046
Soguk 10 gun	0,82700
Soguk 10 gun	1,33519
Soguk 10 gun	0,78026
Soguk 10 gun	1,25973
Soguk 10 gun	0,80311
Soguk 10 gun	1,29661

Normalizasyon sonucunda elde edilen verilerin ortalama, standart sapma ve standart hataları aşağıdaki gibi hesaplanmıştır. Bu veriler aracılığı ile soğuk stresi altında geliştirilmiş bitkilerde zamana bağlı olarak, SOD gen ekspresyon seviyesini konsantrasyon şeklinde belirten grafik oluşturulmuştur (Şekil 4.180).

Çizelge 4.33 Soğuk stresi altında geliştirilmiş örneklerde ortalama, standart sapma ve standart hata verileri

Stres Uygulaması	Zaman gün	Ortalama	Standart sapma	Standart hata
Soğuk	Kontrol	1,00043567	0,041269535	0,016848217
Soğuk	2g	0,862957064	0,193753665	0,079099602
Soğuk	4g	1,173282109	0,345830236	0,141184603
Soğuk	6g	0,67584918	0,233878258	0,095480399
Soğuk	8g	0,387189473	0,059436626	0,024264901
Soğuk	10g	1,05031746	0,271875294	0,110992624



Şekil 4.180 Soğuk stresi, zamana bağlı gen ekspresyon seviyesi

One Way ANOVA (Dunnett)'a yöntemi ile stres uygulamalarında zamana karşı farklılaşan gen ekspresyon seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlılık dereceleri belirlenmiştir. Buna göre 100 mM Tuz Stresi ile eş PEG stresinde zamana bağlı değişimler %100 anlamlıdır (Çizelge 4.34.).

Çizelge 4.34 Soğuk stresi altında geliştirilmiş örneklerde One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

EKPRESYON	Kareler	Df	Kareler	F	Anlamlılık
	Toplamı		Ortalaması		
Gruplar arası	2.469	5	.494	10.183	.000
Grup içi	1.455	30	.048		
Toplam	3.924	35			

Çizelge 4.35 Soğuk stresi altında geliştirilmiş örneklerde Post Hoc Test Multiple Comparisons Dependent Variable: Expression Dunnett T3 verileri

(I) ZAMAN	(J) ZAMAN	Ortalama Fark (I-J)	Standart Hata	Anlamlılık	95% Güven Aralığı	
					Alt Sınır	Üst Sınır
1 (kontrol)	2 (2 g)	0,137478606	0,080874035	0,729668895	-0,221612826	0,496570039
	3 (4 g)	-0,172846439	0,142186337	0,93473871	-0,820211293	0,474518414
	4 (6 g)	0,32458649	0,0969555	0,151274295	-0,110707591	0,759880571
	5 (8 g)	0,613246197	0,029540613	9,93311E-08	0,501589911	0,724902483
	6 (10 g)	-0,04988179	0,112264086	0,999992077	-0,557238543	0,457474963
2 (2 g)	1 (kontrol)	-0,137478606	0,080874035	0,729668895	-0,496570039	0,221612826
	3 (4 g)	-0,310325046	0,161832751	0,606777787	-0,943208096	0,322558004
	4 (6 g)	0,187107883	0,123988926	0,839331571	-0,272350964	0,646566731
	5 (8 g)	0,475767591	0,082737733	0,012646037	0,120537877	0,830997304
	6 (10 g)	-0,187360396	0,136294203	0,897808994	-0,700706025	0,325985233
3 (4 g)	1 (kontrol)	0,172846439	0,142186337	0,93473871	-0,474518414	0,820211293
	2 (2 g)	0,310325046	0,161832751	0,606777787	-0,322558004	0,943208096
	4 (6 g)	0,497432929	0,170439428	0,173651116	-0,149202826	1,144068684
	5 (8 g)	0,786092636	0,14325459	0,02131002	0,142105816	1,430079456
	6 (10 g)	0,12296465	0,179589684	0,999656783	-0,545720825	0,791650124

Çizelge 4.35 Soğuk stresi altında geliştirilmiş örneklerde Post Hoc Test Multiple Comparisons Dependent Variable: Expression Dunnett
T3 verileri (devam)

(I) ZAMAN	(J) ZAMAN	Ortalama Fark (I-J)	Standart Hata	Anlamlılık	95% Güven Aralığı	
					Alt Sınır	Üst Sınır
4 (6 g)	1 (kontrol)	-0,32458649	0,0969555	0,151274295	-0,759880571	0,110707591
	2 (2 g)	-0,187107883	0,123988926	0,839331571	-0,646566731	0,272350964
	3 (4 g)	-0,497432929	0,170439428	0,173651116	-1,144068684	0,149202826
	5 (8 g)	0,288659707	0,09851544	0,223826657	-0,142674607	0,719994021
	6 (10 g)	-0,37446828	0,146409935	0,273759237	-0,915505174	0,166568614
5 (8 g)	1 (kontrol)	-0,613246197	0,029540613	9,93311E-08	-0,724902483	-0,501589911
	2 (2 g)	-0,475767591	0,082737733	0,012646037	-0,830997304	-0,120537877
	3 (4 g)	-0,786092636	0,14325459	0,02131002	-1,430079456	-0,142105816
	4 (6 g)	-0,288659707	0,09851544	0,223826657	-0,719994021	0,142674607
	6 (10 g)	-0,663127987	0,113614031	0,014724146	-1,166668478	-0,159587496
6 (10 g)	1 (kontrol)	0,04988179	0,112264086	0,999992077	-0,457474963	0,557238543
	2 (2 g)	0,187360396	0,136294203	0,897808994	-0,325985233	0,700706025
	3 (4 g)	-0,12296465	0,179589684	0,999656783	-0,791650124	0,545720825
	4 (6 g)	0,37446828	0,146409935	0,273759237	-0,166568614	0,915505174
	5 (8 g)	0,663127987	0,113614031	0,014724146	0,159587496	1,166668478

*Ortalama fark .05 düzeyinde anlamlıdır

Çizelge 36 Soğuk stresi altında geliştirilmiş örneklerde Post Hoc Test Multiple Comparisons Dependent Variable: Expression, Dunnett T3 Değerlendirmesi

Soğuk	Kontrol	2g	4g	6g	8g	10g
Kontrol	ns					
2g	ns	ns				
4g	ns	ns	ns			
6g	ns	ns	ns	ns		
8g	***	*	*	ns	Ns	
10g	ns	ns	ns	ns	*	ns

p<0.05 *, p<0.01 **, p<0.001 ***, ns non significant (anlamsız)

5 TARTIŞMA ve SONUÇ

Dünya üzerindeki kullanılabilir alanlar stres faktörlerine göre sınıflandırıldığında doğal bir stres faktörü olan kuraklık stresi % 26'lık payıyla en büyük dilimi içermektedir. Bunu %20 ile mineral stresi ve daha sonra soğuk stresi takip etmektedir (Blum 1986). Kurak ve yarı kurak bölgelerde yetersiz yağıştan dolayı çözünebilir tuzlar uzaklara taşınamamakta, özellikle sıcak ve yağışsız olan dönemlerde, tuzlu taban suları kılcal yükselme ile toprak yüzeyine kadar ulaşabilmekte ve bitkisel hayatı tehdit etmektedir (Richard 1954). Soğuk stresi ise; özellikle bitkilerde çiçeklenme ve meyve tutma döneminde meydana geldiğinde bitkisel verimliliği azaltan önemli bir faktördür.

Bu araştırmada; çeşitli konsantrasyonlarda tuz ve kuraklık stresi ile soğuk stresi uygulanmış domates bitkisinde (*Lycopersicum esculentum* Mill) antioksidant savunma mekanizmasında önemli bir gen olan SOD'un ekspresyon seviyesini belirlenmiş ve bu yolla bu genin strese karşı geliştirilen tolerans mekanizmasındaki etkisini araştırılmıştır. Bu amaçla Falcon çeşidi *Lycopersicum esculentum* Mill. (domates) tohumları 25 gün süre ile 1/10 luk Hogland besi ortamı içerisinde geliştirilmiştir. Geliştirilen bitkilere 100 mM NaCl, 150 mM NaCl, 100 mM tuz stresine eş kuraklık stresi, 150 mM tuz stresine eş kuraklık stresi ve soğuk stresi uygulanmış ve farklı zamanlarda örnek alımı yapılmıştır.

Alınan toplam tuz, kuraklık ve soğuk stresi uygulamasına ait bitkilerde stres koşullarında bitkinin antioksidatif savunma mekanizmasında rol alan süperoksid dismutaz gen ekspresyon seviyesi real time PCR aracılığı ile belirlenmiştir. Bu amaçla SOD ve ACT genleri için stansart eğri grafikleri oluşturulmuştur. Oluşturulan bu standart eğri grafikleri aracılığı ile CT değerleri ifade ettikleri konsantrasyon değerlerine dönüştürülmüştür. SOD geni için edilen konsantrasyonlar, ACT geni için elde edilen konsantrasyonlar ve kontrol (hiçbir stres uygulaması yapılmamış örnek) aracılığı ile normalize edilmiştir. SOD geni için zamana bağlı ekspresyon seviyesi olarak belirtilen grafikler bu normalize veriler aracılığı ile oluşturulmuştur.

100 mM NaCl stresi altında geliştirilmiş bitkilerde zamana bağımlı olarak değişen gen ekspresyon seviyesi incelendiğinde; kontrol ile karşılaştırıldığında 3h örneklerinde SOD gen ekspresyon seviyesinin düştüğü ve bu düşüşün istatistiksel olarak $p<0.001$ düzeyinde anlamlı olduğu görülmektedir. Bu aşamanın bitkinin stres ile karşılaşması ve antioksidant savunma mekanizmasının devreye girmesi arasındaki süreç olduğunu düşünmekteyiz. Bitkinin bu süre zarfında kökleri tarafından algıladığı stresi, stomaların kapanması için sinyal iletimi, Ca^{+2} seviyesinin artışı ve ROT türevlerinin oluşumu için harcadığını varsaymaktayız. Savunma mekanizmalarının henüz devreye girmemesi sebebiyle, enzimatik antioksidantlardan olan SOD gen ekspresyon seviyesinin henüz artmaması hatta kontrol (stressiz) ortama oranla daha düşük olması beklenen bir durumdur. 6. ve 9. saatlerde ise gen ekspresyon seviyelerinin dereceli olarak arttığı ve bu artışın kontrole, 3. saate ve aynı zamanda birbirlerine karşı istatistiksel olarak $p<0.001$ düzeyinde anlamlı olduğu görülmektedir. Bu saatten sonra ekspresyon seviyesinin dereceli olarak düştüğü görülmektedir (Şekil 4.68). Bu aşamada bitkinin stres ile başa çıkamadığı bitkide meydana gelen plazmoliz ile de gözlenmiştir. Tek yönlü korelasyon analizi (One way ANOVA Dunnett test) ile zamana karşı ekspresyon seviyesindeki değişimin anlamlılık düzeyleri araştırılmış, Çizelge’de görülebileceği gibi tüm saatlerdeki ekspresyon seviyesindeki değişimin hem kontrol uygulamasına hem de diğer saatlere göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir (Çizelge 4.7, Çizelge 4.8, Çizelge 4.9). Aynı zamanda 12. saatte elde edilen ekspresyon seviyesi kontrol ile karşılaştırıldığında aradaki farkın istatistiksel olarak anlamsız olduğu tespit edilmesine karşın, bu durumun Şekil 4.68’ de görülebileceği gibi 9. saatten sonra ekspresyon seviyesinin dereceli olarak düşmesi sırasında elde edilen SOD gen ekspresyon konsantrasyonlarının benzerliğinden (kontrol:1,002810147, 12. saat: 0,87865032) kaynaklandığı düşünülmektedir.

150 mM NaCl stresi altında geliştirilmiş bitkilerde zamana bağımlı olarak değişen gen ekspresyon seviyesi incelendiğinde; kontrol ile karşılaştırıldığında 3. saat örneklerinde SOD gen ekspresyon seviyesinin 100 mM NaCl ile oluşturulan stres koşulunda olduğu gibi düştüğü ve bu düşüşün istatistiksel olarak $p<0.05$ düzeyinde anlamlı olduğu görülmektedir. 100 mM tuz stresinde SOD gen ekspresyon seviyesinin 6. saatte artış gösterirken 150 mM tuz stresinde ise düşmeye devam ettiği görülmüştür. Ekspresyon

seviyesindeki dereceli düşüşün 100 mM NaCl ortamında 6. saate kadar, 150 mM NaCl ortamında ise 9. saate kadar sürmesi dikkat çekicidir. Kontrol ortamı ile kıyaslandığında 9. saatte ise gen ekspresyon seviyelerinin bir miktar arttığı 12. saatte ise bu artışın ivme kazandığı görülmektedir. Kontrol ile kıyaslandığında 6. saatte görülen bu artışın istatistiksel olarak $p < 0.01$ düzeyinde, 3. saat ile kıyaslandığında ise anlamsız olduğu görülmektedir (Çizelge 4.15). 12. saatte gen ekspresyon seviyesinin tüm koşullar ve zamanlardaki maksimum değere ulaştığı görülmektedir (4,614463616). Bu seviyenin kontrol ortamının yaklaşık 4.5 katı olması dikkat çekicidir. Bu saatten sonra ekspresyon seviyesinin dereceli olarak düştüğü görülmektedir (Şekil 4.97). Bu aşamada bitkinin stres ile başa çıkamadığı bitkide meydana gelen plazmoliz ile de gözlenmiştir. Tek yönlü korelasyon analizi (One way ANOVA Dunnett test) ile zamana karşı ekspresyon seviyesindeki değişimin anlamlılık düzeyleri araştırılmış ilgili çizelgelerde'de görülebileceği gibi neredeyse tüm saatlerde, ekspresyon seviyesindeki değişimin hem kontrol uygulamasına hem de diğer saatlere göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür (Çizelge 4.13, Çizelge 4.14, Çizelge 4.15). Burada Şekil 4.97'de gözlenebilen kontrol ile 9. saat arasındaki, 3. ve 6. saat arasındaki değişimin ve 6. ve 24. saat arasındaki değişimlerin istatistiksel olarak anlamsız olduğu görülmektedir. 12. saatte tespit edilen ekspresyon seviyesinin kontrole ve tüm saatlere karşı istatistiksel olarak $p < 0.001$ düzeyinde anlamlı olduğu görülmektedir. Kontrol ile 3. saat, 3. ve 6. saat ile 9. saat ve yine 6. saat ile 48. saat arasında ekspresyonu yapılan SOD konsantrasyonlarındaki farklılığın istatistiksel olarak $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı olduğu belirlenmiş ve Çizelge 4.15'de * ile gösterilmiştir.

100 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip kuraklık stresi altında geliştirilmiş bitkilerde zamana bağımlı olarak değişen gen ekspresyon seviyesi incelendiğinde; kontrol ile karşılaştırıldığında 3. saat örneklerinde SOD gen ekspresyon seviyesinin 100 mM tuz stresinden farklı olarak arttığı görülmektedir (Şekil 4.68, Şekil 4.126). Oysa tuz ile benzer osmotik stres oluşturan maddelerin (PEG gibi) benzer ekspresyon seviyeleri göstermesi beklenen bir durumdur. Bu artış istatistiksel olarak incelendiğinde artışın istatistiksel olarak anlamsız olduğu görülmektedir. 6., 9. ve 12. saatlerde ise gen ekspresyon seviyelerinin kontrol ile kıyaslandığında dereceli olarak arttığı ancak bu artışın hem kontrole hem de birbirlerine göre istatistiksel olarak anlamsız olduğu

bulunmuştur. 12. saatten sonra 24. saatte SOD gen ekspresyon seviyesinin artmaya devam ettiği tespit edilmiştir. Bu artışın kontrole göre anlamlılık derecesinin $p<0.001$ düzeyinde olduğu görülmekte, aynı zamanda 3. saat ile kıyaslandığında $p<0.05$ düzeyinde, 6. saat ile kıyaslandığında $p<0.001$ düzeyinde ve 12. saat ile kıyaslandığında ise $p<0.05$ düzeyinde anlamlı olduğu görülmektedir. Bu saatten sonra ekspresyon seviyesinin düştüğü görülmektedir (Şekil 4.126). Bu aşamada bitkinin stres ile başa çıkamadığı bitkide meydana gelen plazmoliz ile de gözlenmiştir. Tek yönlü korelasyon analizi (One way ANOVA Dunnett test) ile zamana karşı ekspresyon seviyesindeki değişimin anlamlılık düzeyleri araştırılmış, Çizelgelerde’de görülebileceği gibi 24 ve 48. saatlerdeki ekspresyon seviyesindeki değişimin hem kontrol uygulamasına hem de diğer saatlere göre istatistiksel olarak anlamlı görülmüştür (Çizelge 20, Çizelge 21, Çizelge 22). Bu stres koşulu altında geliştirilen bitkilerden elde edilen SOD gen ekspresyon verileri 100 mM tuz stresi gen ekspresyon verileri ile karşılaştırıldığında; bitkilerin kuraklık stresine karşı daha dirençli oldukları görülmektedir. 100 mM tuz stresi altında geliştirilen bitkilerde 3. saatteki normalize gen ekspresyon ortalaması 0,3249 iken aynı saatte PEG stresi altında geliştirilen bitkilerde bu değerin 1,2419 olduğu görülmektedir. Bu değerin 1’in altında olması kontrol (stresiz) ortama göre gen ekspresyon seviyesinin azalmasını, 1’ün üzerine çıkması ise artışı ifade eder. Şu halde denebilir ki; kuraklık stresi *Lycopersicum esculentum* L. bitkisinde antioksidant savunma mekanizmasını daha hızla uyarmış ve gen ekspresyon seviyesi artmıştır. Ancak yine aynı veriler aracılığı ile 100 mM tuz stresi antioksidant savunma mekanizmasını daha geç uyardığı buna karşın SOD sentezinin hızla gerçekleştiği ve dereceli olarak bu sentezde artış olduğu tespit edilmiştir. Bu koşuldaki normalize gen ekspresyon seviyesi maksimum değerine 9. saatte ulaşmıştır (1,5685). Aynı saatte PEG stresi altında geliştirilen bitkilerde bu değer 1,1405 iken, tuz stresi ile benzer maksimum değere ancak 24. saatte ulaştığı görülmektedir (1,4519). Her iki stres koşulunun 48. saatlerinde ise ortalama normalize gen ekspresyon verilerinin 100 mM tuz stresi için 0,0655, aynı osmotik basıncı oluşturan PEG stresi için ise 0,6016 olduğu görülmektedir. 48 . saatte PEG stresi altındaki gen ekspresyonunun 100 mM tuza göre 10 kat fazla olduğu görülmüştür (Çizelge 4.4, Çizelge 4.18).

150 mM Tuz Stresi ile eş osmotik basınca sahip kuraklık stresi altında geliştirilmiş bitkilerde zamana bağımlı olarak değişen gen ekspresyon seviyesi incelendiğinde;

kontrol ile karşılaştırıldığında 3. saat örneklerinde SOD gen ekspresyon seviyesinin 100 mM tuz ve 150 mM tuz stresinde olduğu gibi düştüğü görülmektedir. Bu azalış istatistiksel olarak incelendiğinde, $p < 0.001$ düzeyinde anlamlı olduğu görülmektedir. 6. saate gelindiğinde dereceli olarak gen ekspresyon seviyesinde 3. saate göre artışın başladığı tespit edilmiş (3h: 0,8259 6h: 0,9525) ve $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı olduğu görülmüştür (Çizelge 4.26). 9. saate gelindiğinde artışın sonlandığı ancak ekspresyon seviyesinde büyük bir düşüş yaşanmadığı hatta korunduğu görülmektedir. 12. saatte düşük oranda artış olduğu devam görülmüştür. 24. saatte görülen düşüşün ise 12. saat ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamsız, bunun dışındaki kontrol, 3., 6., 9., saatlerle kıyaslandığında $p < 0.001$ düzeyinde, 48. saat ile kıyaslandığında ise $p < 0.01$ düzeyinde anlamlı olduğu görülmektedir. 24 ve 48. saatte normalize gen ekspresyon verileri kontrol ile kıyaslandığında yaklaşık %35 oranında azaldığı görülmektedir (kontrol: 1,0003, 24. saat: 0,6403, 48. saat: 0,6564). Bu aşamada bitkinin stres ile başa çıkamadığı bitkide meydana gelen plazmoliz ile de gözlenmiştir. Bu stres koşulu altında geliştirilen bitkiciklerden elde edilen SOD gen ekspresyon verileri 150 mM tuz stresi gen ekspresyon verileri ile karşılaştırıldığında; bitkilerin kuraklık stresine karşı daha dirençli oldukları görülmektedir. 150 mM tuz stresi altında geliştirilen bitkilerde 3. saatteki normalize gen ekspresyon ortalaması 0,7571 iken, aynı saatte aynı osmotik basıncı yaratan PEG stresi altında geliştirilen bitkilerde bu değerin 0,8259, 100 mM tuz stresine eş osmotik basıncı sağlayan PEG için ise 1,2419 olduğu görülmektedir. Bu değerin 1'in altında olması kontrol (stressiz) ortama göre gen ekspresyon seviyesinin azalmasını, 1'ün üzerine çıkması ise artışı ifade eder. 150 mM tuz ile eş osmotik basınca sahip kuraklık stresi normalize gen ekspresyon seviyesi maksimum değerine 6. saatte ulaşmıştır (0,9525). Bu değer kontrol ortamının ekspresyon seviyesi ile yaklaşık bir değerdir.

Literatür bilgilerine göre; bitkiler tuz ve kuraklığa maruz kaldıklarında gelişim seviyelerinde ani bir düşüş meydana gelir. Daha sonra dereceli olarak bir iyileşme meydana gelir ve gelişim seviyesi normale döner. Özellikle bitki yapraklarında gelişim oranlarındaki değişim hızlı ve anlık değişimler olarak gözlenebilmektedir (Munns, 2002). Gelişim seviyelerinin normale dönmesi için geçen süre bitkinin maruz kaldığı tuz konsantrasyonuna bağlıdır (Cramer ve Bowman 1991). Uygulanan tuz

konsantrasyonu ile aynı osmotik basıncı oluşturan PEG (polietilen glikol) gibi osmotik ajanların bitkide tuz ile benzer etkiler oluşturlar (Yeo vd. 1991). Tuz ve kuraklık streslerin bitki üzerindeki etkilerinin benzerliği elbetteki metabolik yollarının benzerliğinden kaynaklanmaktadır. Yapraktaki iyon konsantrasyonu ve fotosentezin redüksiyonu veya stomaların kapanması süreçleri arasında sıkı bir ilişki olduğu öne sürülmüştür (Munns, 2002). Enerjinin kullanımı ve dağılımı için klorofil eskite olur, yayılır (Asada, 2006) ve reaktif oksijen türleri birikir (Apel and Hirt, 2004).

Reaktif oksijen türlerinin oluşumu O_2 ' nin redüksiyonu veya enerjinin oksijene iletilmesi ile başlar. Elektronların transferi süperoksid radikali, hidrojen peroksid ve hidroksil radikalının oluşumuna neden olur. Reaktif oksijen türlerinden korunmayı sağlayan antioksidant enzimlerin sentezi çoğunlukla stres yanıtları boyunca devam eden mekanizmalardır (Mittler, 2002).

Tuz ve kuraklık uygulaması bitkilerde antioksidant enzim olan SOD enzimini de içeren antioksidant koruma mekanizmalarını uyarırlar. Birçok araştırmacı kuraklık ile su kaybının bitkide oksidatif stres düzeyini artırdığını tespit etmiştir (Sgherri vd. 1993, Boo ve Jung, 1999). Donahue vd. 1997 ve El-Saht 1998 ise oksidatif stresin SOD aktivitesini atırdığını vurgulamışlardır. Kuraklık, tuz ve soğuk stresi gibi abiotik stres koşullarının SOD aktivitesinin artışı ile ilişki kuran birçok araştırma da bulunmaktadır (Baek vd. 2006, Dionisio-Sese ve Tobita 1998, Fadzilla vd. 1997, Scandalios 1993, Iturbe-Ormaetxe vd. 1998).

Hernández vd. 2000 mısırdaki stres ile Mn- SOD and Cu/Zn-SOD transkriptlerinin arttığını tespit etmişlerdir. Shalata vd. 2001 ise tuz stresi uygulanan domateslerde SOD aktivitesinin arttığını belirtmişlerdir. Geçmişte yapılan bu araştırma sonuçlarına bakıldığında SOD aktivitesinin artışının bu araştırmanın sonuçları ile uyumlu olduğu görülmektedir.

Ayrıca kuraklık ve tuz stresi sırasında reaktif oksijen türlerinin oluşumunun birbirlerine benzerlik gösterdiği düşünülmektedir. ROT oluşumunun oksijene aktarılan elektron akışının artışından ve ardından karbondioksit fiksasyonunun azalışından kaynaklandığı

düşünülmektedir. Bitkilerin tuz stresine verdikleri yanıtlar çoğunlukla kuraklıkla ilişkili belirtileri de içerir. Sonuç olarak; kuraklık ve tuz streslerinin antioksidatif mekanizmaları uyarak benzer SOD ekspresyon profilleri açığa çıkarmaları şaşırtıcı değildir. Bu durum artan antioksidant enzim aktivitesinin NaCl ve PEG ile ilişkili oksidatif strese mani olabileceği teorisi ile örtüşmektedir (Fadzilla vd. 1997, Tanaka vd. 1999).

Soğuk stresi altında geliştirilmiş bitkilerde zamana bağımlı olarak değişen gen ekspresyon seviyesi incelenmiştir. Bitki stres ile karşılaştığında kontrole göre azalan SOD gen ekspresyon seviyesi, tuz ve kuraklık streslerinin etki seviyeleri ile benzerdir. 2.gün örneklerinde SOD gen ekspresyon seviyesinin düştüğü tespit edilmiştir. Bu sonuç bu aşamada stresin hücresel düzeyde algılanıp savunma mekanizmalarının devreye girdiğini düşündürmektedir. 4. günde ise ekspresyon seviyesinde artış olduğu görülmektedir. Ancak bu değişimlerde p değeri 0.05'den büyük olduğu için bu farklılık istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur. Benzer şekilde 6. gün örneklerinde seviyenin 4. güne oranla yeniden azaldığı görülmekte ise de bu değişim de istatistiksel olarak anlamsızdır. 8. güne gelindiğinde ekspresyon seviyesi düşmeye devam etmiştir. Bu düşüş bizi antioksidant savunma mekanizmasının etkin olmadığı ve bu sebeple bitkide özellikle yapraklarda plazmoliz olduğu sonucuna ulaştırmıştır. 8. gündeki normalize gen ekspresyon verisi ortalamasının 0,3871 olduğu ve bu seviyenin tüm stres koşulları arasında karşılaşılan en düşük seviye olduğu belirlenmiştir. 8. güne kadar var olan tüm değişimlerin istatistiksel olarak anlamsız olduğu göz önüne alındığında bitkinin bu güne kadar var olan ısı değişimini stres olarak algılamadığını tahmin etmekteyiz. 8. günden itibaren soğukun bitkisel bir stres faktörü olarak rol oynadığı görülmektedir. Tuz ve kuraklık uygulamalarının verileri kontrol edilirse; SOD ekspresyon seviyelerinin 3. saatteki düşüşünün ardından genellikle 6. saatte yeniden artmaya başladığı ve stres uygulamasının konsantrasyonuna göre değişmekle birlikte ulaşabileceği en yüksek ekspresyon seviyesine ilerleyen saatlerde ulaştıktan sonra yeniden düşüşe geçtiği görülecektir. Burada 10. günde meydana gelen gen ekspresyon seviyesi artışı muhtemelen dereceli bir artışın başlangıcıdır.

Bu durumda çalışmada soğuk stresi uygulamasının 10. gününe kadar SOD seviyesinin artmaması bu aşamaya kadar soğukun Falcon çeşidi *Lycopersicum esculentum* Mill. için

stres oluşturabilecek düzeye ulaşmadığı anlamına gelebilir.      10. güne kadar SOD seviyesinde artma veya azalma şeklinde değişiklikler meydana gelmiş ancak bu değişiklikler istatistiksel olarak incelendiğinde anlamlı olmadığı görülmüştür.

Günümüze değin elde edilen veriler aracılığı ile açıkça bilinmektedir ki; soğuk stresi hücre membranında önemli zararlar oluşturmaktadır. Hücre membranının yapısını değiştirerek geçirgenliğini artırmakta ve membrana bağlı enzimlerin aktivitesinde değişikliklere sebep olmaktadır (Lyons 1973). Soğuk stresine karşı geliştirilen toleransın artan ABA seviyesi ile olan ilişkisi farklı birçok bitkide çeşitli araştırmacılar tarafından açığa konmuştur (Chen vd. 1983, Guy ve Haskell 1988, Mohapatra vd. 1988, Lang 1994). Artan ABA seviyesi ise stomaların kapanması ve beraberinde CO₂ 'nin bitkiler tarafından alınamaması ile sonuçlanır. Ayrıca ABA sitoplazmik ortamdaki Ca⁺² miktarını da artırarak bitkide ROT'ların toksik düzeye ulaşmasına sebep olur (Jiang ve Huang, 2001).

Soğuk stresi uygulamasının 10. gününe değin geçen s renin; bitkide hücre membranının geçirgenliği atması ve ROT'lar toksik düzeye ulaşması ve hücresel zararlara karşı antioksidant koruyucu sistemin bir elemanı olan SOD'un seviyesinin artışı için geçen süre olduğu düşünülmektedir. Devam eden günlerde SOD gen ekspresyon seviyesi kontrol edilebilmiş olsaydı, muhtemelen tuz ve kuraklık uygulamalarında olduğu dereceli bir artış meydana gelecek ve stres ile başa çıkılamaz noktaya gelindiğinde ise enzimatik savunma mekanizması devreden çıkacak ve üretilen SOD gen ürünlerinin miktarı da buna bağlı olarak düşecektir.

Sonuc olarak; kuraklık, tuz ve soğuk bitkide stomaların kapanmasına ve ROT'ların oluşumuna neden olan stres faktörleridir. Oluşan bu stres ROT'lar enzimatik bir antioksidant olan SOD'un gen ifadesini farklı düzeylerde etkilemektedirler. SOD gen ekspresyon seviyesindeki değişim uygulanan stresin çeşidine, konsantrasyonuna, ve uygulama süresine göre farklılık göstermektedir. Ancak tuz, kuraklık streslerinin farklı konsantrasyonları ile soğuk stresi koşullarında, zamana bağlı olarak oluşan SOD ifade profilleri benzerdir. Bu benzerlik stres ile karşılaşılan ilk zamanlarda SOD gen ifadesinde bir düşüş, savunma mekanizmasının devreye girişi ile ifadede dereceli bir

artış ve bitkinin stresi tolere edemediği seviyeye gelindiğinde yeniden azalış şeklindedir. Bu durum tuz, kuraklık ve soğuğun aynı yolağı aktive ederek abiotik stres faktörlerine karşı savunma geliştirdikleri hipotezini destekler niteliktedir.

KAYNAKLAR

1. Agarwall, S., Sairam, R.K., Srivastava, G.C., Tyagi, A. and Meena, R.C. 2005. Role of ABA, salicylic acid, calcium and hydrogen peroxide on antioxidant enzymes induction in wheat seedlings. *Plant Science*, 169; 559–570.
2. Akman, Y., Küçüköyük, M., Düzenli, M. ve Tuğ, G. N. 2001. *Bitki Fizyolojisi*. 708-747. Ankara.
3. Allen, R.D., Webb, R.P. and Schake, S.A., 1997. Use of transgenic plants to study antioxidant defenses. *Free Radic. Biol. Med.* 23:473-479.
4. Alscher, R.G., Erturk, N. and Heath, L.S., 2002. Role of superoxide dismutase (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *J.Exp.Bot.* 53: 1331-13341.
5. Anonim. 2003. Tomato Paste, Prepared and distributed by Export Promotion Center of Turkey (IGEME, Broşür). Ankara.
6. Anonim. 2009. Web sitesi; <http://tuik.gov.tr> (erişim tarihi: 30.06.2010).
7. Anonymous. 2007. FAO statistics database on the World Wide Web. <http://faostat.fao.org> (erişim tarihi: 28.06.2010).
8. Anonymous. 2009. Web cite; (<http://ncbi.nlm.nih.gov>) Entrez Gene ID: 543981 and 543519 (accession date: 21.12.2009).
9. Apel, K. and H. Hirt. 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology*. 55; 373–399.
10. Aruoma, O.I. 1994. Nutrition and health aspects of free radicals and antioxidants. *Food Chemical Toxicology*. 32(7); 671–683.
11. Asada, K. 2006. Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. *Plant Physiology*. 141; 391–396.
12. Attia, H., Karray, N. and Lachaa, M. 2009. Light interacts with salt stress in regulating superoxide dismutase gene expression in *Arabidopsis*. *Plant Science*. 177;161–167
13. Badga, H. 1954. *Botanik Türk Ansiklopedisi*. Cilt VII.
14. Baek, K., Skinner, D. Z., Ling P. and Chen, X. 2006. Molecular structure and organization of the wheat genomic manganese superoxide dismutase gene. *Genome*. 49; 209-218.

15. Baker, J. E. 1976. Süperoxide Dismutase in Ripening Fruits, *Plant Physiology*. 58; 644-647.
16. Bandoğlu E., Eyidoğan F., Yücel M. ve Öktem, H.A. 2004. Antioxidant responses of shoot and root of lentil to NaCl-salinity stress. *Plant Growth Regulation*. 42; 69-77. Kluwer Academic Publishers. Netherlands.
17. Bayraktar, K. 1970. Sebze Yetiştirme. Kültür Sebzeleri. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. Cilt II (169); 479 s, Ege Üniversitesi Matbaası Bornova-İzmir.
18. Beauchamp, C. and Fridovich, I. 1971. Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*. 44; 276-287.
19. Blum, A. 1986. Breeding Crop Varieties for Stress Environments. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2; 199-237.
20. Corpas, F.J., Sandalio, L.M., del Rio, R.A. and Trelease, R.N., 1998. Copper-zinc superoxide dismutase is a constituent enzyme of the matrix of peroxisomes in cotyledons of oilseed plants. *New Phytol*. 138:307-314.
21. Cramer, G.R. and Bowman, D.C. 1991. Kinetics of maize leaf elongation. I. increased yield threshold limits short-term, steady-state elongation rates after exposure to salinity. *Journal of Experimental Botany*, 42; 1417- 1426.
22. Boo, Y.C. and Jung, J. 1999. Water deficit-induced oxidative stress and antioxidative defenses in rice plants. *J. Plant Physiology*, 155; 255–261.
23. Bowler, C., Van Montagu, M. and Inze, D. 1992. Superoxide Dismutase in Vascular Plant. *Plant Physiology*, 68; 275-278.
24. Chatzidimitriadou, K., Nianiou-Obeidat, I., Madesis, P., Perl-Treves, R. and Tsaftaris, A. 2009. *Electronic Journal of Biotechnology* ISSN: 0717-3458, DOI: 10.2225/vol12-issue4-fulltext-10, 1-4.
25. Chen, H.H. and Gusta, L.V. 1983. Absciscic acid-induced freezing tolerance in cultured plant cells. *Plant Physiology*, 73; 71-75.
26. Chomczynski, P. and Mackey, K. 1995. Modification of the TRIZOL reagent procedure for isolation of RNA from Polysaccharide-and proteoglycan-rich sources. *Biotechniques Short technical report* 19(6); 942-945.
27. Corpas, F.J., Fernandez-Ocana A., Carreras A., Valderrama R., Luque F., Esteban F.J., Rodriguez-Serrano, M., Chaki M. Pedrajas J.R., Sandalio, L.M., del Río

- L.A., Barroso J.B. 2006. The Expression of Different Superoxide Dismutase forms is cell-type dependent in olive (*Olea europaea* L.) leaves. *Plant Cell Physiology*, 47(7); 984–994.
28. Dat, J., Vandenabeele, S., Vranova, E., Van Montagu, M. Inze, D., and Van Breusegem, F. 2000. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. *Cellular Molecular Life Science*, 57; 779–795.
 29. Dilligen, J. B. 1956. *Handbuch des Gesanten Gemusebaues*. Paul Parey in Berlin und Hamburg.
 30. Dionisio-Sese, M.L. and Tobita, S. 1998. Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. *Plant Science*, 135(1); 1–9.
 31. Donahue, J.L., Okpodu, C.M., Cramer, C.L., Grabau, E.A. and Alscher, R.G. 1997. Response of antioxidants to paraquat in pea leaves. *Plant Physiology*, 113; 249–257.
 32. Edreva, A. 1998. *Stress Physiology, Definition and Concepts of Stress. Classification of Stress Factors, Approaches Applied in Stress Research*, Bitkilerde Stress Fizyolojisinin Moleküler Temelleri Sempozyumu, 22-26 Haziran, EBİLTEM, Bornova, İzmir.
 33. El-Saht H.M. 1998. Responses to chilling stress in french bean seedlings: antioxidant compounds. *Biology of Plant*, 41; 395-402.
 34. Eyidoğan F. İ., Öktem, H.A. and Yücel, M. 2003. Superoxide dismutase activity in salt stressed wheat seedlings. *Acta Physiologie Plantarum*, 25(3); 263-269.
 35. Fadzilla, N.M., Finch, P.R. and Burdon, R.H. 1997. Salinity, oxidative stress and antioxidant responses in shoot culture of rice. *Journal of Experimental Botany*, 48(307); 325-331.
 36. Feldman, P.L., Griffith, O.W. and Stuehr, D.J. 1993. The surprising life of nitric oxide. *Chemical and Engineering News*, 71(51); 26-38.
 37. Fink, R.C. and Scandalios, J.G., 2002. Molecular evolution and structure-function relationships of superoxide dismutase gene families in angiosperms and their relationship to other eukaryotic and prokaryotic superoxide dismutases. *Arch. Biochem. Biophys.* 399:19-36.
 38. Fridovich, I. 1986. Biological effect of superoxide radical. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 247;1-11.

39. Gökçek, Ö. 2005. Bit Bitki Aktivatörünün (Huwa-San) Tuz Stresi Altındaki Domates Fideleri Üzerindeki Bazı Biyokimyasal ve Fizyolojik Etkilerinin Araştırılması. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi, İzmir.
40. Gökmen, Ö. 2006. Domateste soğuk stresinin oksidatif mekanizmalar yönünden araştırılması. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Adana.
41. Guy C.L, Haskell, D. and Yelenosky, G. 1988. Changes in freezing tolerance and polypeptide content of Spinach and citrus at 5°C. *Cryobiology*. 25; 264-271.
42. Günay, A. 1992. Özel Sebze Yetiştiriciliği. Patıcan, Domates, Biber, Patates, Tatlı Patates, Bakla, Fasule, Bezelye, Börülce. Saypa Kitap ve Müzikeyi, Ankara. Cilt IV; 23-29.
43. Günay, A. 1981. Serler. Cilt II. Özel Sebze Yetiştiriciliği. Çağ Matbaası, Ankara 323.
44. Güzel, A. 2006. Kuraklık stresi maruz bırakılan domates bitkilerinde bazı parametreler üzerine absisik asit (ABA) ve kalsiyum'un (Ca²⁺) etkisinin incelenmesi. Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi. Mersin.
45. Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. 1989. Protection against oxidants in biological systems: The superoxide theory of oxygen toxicity. In: Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. (eds) *Free radicals in biology and medicine*. Claredon Pres, Oxford.
46. Halliwell, B. 1997. Antioxidant and human disease: a general introduction. *Nutrition Review*, 55(1); 544-552.
47. Hernández, J.A., Jimenez, A., Mullineaux, P.M. and Sevilla, F. 2000. Tolerance of pea (*Pisum sativum* L.) to long-term salt stress is associated with induction of antioxidant defense. *Plant, Cell and Environment*, 23; 853-862.
48. Hoekstra, F.A., Golovina, E.A. and Buitink, J. 2001 Mechanism of plant desiccation tolerance (review). *TRENDS in Plant Science*, 6;9.
49. Iturbe-Ormaetxe, I., Escuredo, P. R., Arrese-Igor, C. and Becana, M. 1998. Oxidative damage in pea plants exposed to water deficit or paraquat. *Plant Physiology*, 116; 173–181.

50. Jiang Y. and Huang B., 2001. Effects of calcium on antioxidant activities and water relations associated with heath tolerance in two cool-season grasses. *Journal of ExPerimental Botany*, 52; 341-349.
51. Jiang, M. and Zhang, J. 2003. Cross-talk between calcium and reactive oxygen species originated from NADPH oxidase in abscisic acid-induced antioxidant defence in leaves of maize seedlings. *Plant, Cell and Environment*, 26; 929-939.
52. Jung, S., 2004. Variation in antioxidant metabolism of young and mature leaves of *Arabidopsis thaliana* subjected to drought. *Plant Science*, 166; 459-466.
53. Kalefetoğlu, T. and Ekmekçi, Y. 2005. The effect of drought on plant and tolerance mechanisms (review). *G.Ü. Fen Bilimleri Dergisi*, 18(4); 723-740.
54. Kaminaka, H., Morita, S., Tokumoto, M., Masumura, T., Tanaka, K. 1999. Differential gene expressions of rice superoxide dismutase isoforms to oxidative and environmental stresses. *Free Radical Research Supplement*, 19-25.
55. Karabal, E., Yücel, M. and Öktem, H.A. 2003. Antioxidant responses of tolerant and sensitive barley cultivars to boron toxicity. *Plant Science*, 164; 925-933.
56. Koçer, C. M., 2007. Tuz stresine maruz bırakılan mısır (*zea mays* L.) bitkisinde, eksojen olarak uygulanan absisik asit (aba) ve salisilik asit (sa)'ın etkilerinin belirlenmesi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri enstitüsü Yüksek Lisans Tezi. Van.
57. Köşkeroğlu, S. 2006. Tuz stresi altındaki mısır bitkisinde (*Zea mays* L.) prolin birikim düzeyleri ve stres parametrelerinin araştırılması. Muğla Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Muğla.
58. Krug, H. 1986. *Gemüseproduktion. Ein Lehr-und Nachschlagewerk für Studium und Praxis* Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg. 446 p.
59. Lang, G.A. 1994. Dormancy the missing links: integrating molecular information into complex plant/environment systems. *HortScience*, 29;1255–1263.
60. Levitt, J. 1980. *Responses of Plants to Environmental Stresses. Volume I: Chilling, freezing and high temperature stresses.* Academic Press, London.
61. Lubban, H. 1959. Bitki Sistematığı Dersleri, E. Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları 24. İzmir.
62. Lyons, J.M. 1973. Chilling injury in plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 24; 445-466.

63. Mac Gallivary, H. J. 1961. Vegetable Production With Special References to Western Crops. Mac Gallivary Company, Inc. New York, Toronto, London, 397.
64. Mahesh, S. 2008. Plant Molecular Biotechnology. Part C-15: Engineering Plants for Stress Tolerance. 186-205.
65. Marletta, M.A. 1993. Nitric oxide synthase structure and mechanism. The journal of Biological Chemistry, 268(17);12231-12234.
66. Marletta, M.A. 1994. Nitric oxide synthase: aspect concerning structure and catalysis. Cell, 78: 927-930.
67. Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance, Trends in Plant Science, 7(9); 405-410.
68. Mohapatra, S.S., Poole, R.J. and Dhindsa, R.S. 1988. Absciscic acid-regulated gene expression in relation to freezing tolerance in alfalfa. Plant Physiology, 87; 468-473.
69. Mori, C.I., Schroeder, I.J. 2004. Reactive oxygen species activation of plant Ca²⁺ channels. a signaling mechanism in polar growth, hormone transduction, stress signaling, and hypothetically mechanotransduction. Plant Physiology, 135; 702-708.
70. Munns, R., 2002. Plant, Cell and Environment, 25; 239–250.
71. Oroman, M. N. 1968. Sebze İlimi. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 323;256. Ankara Üniversitesi Basımevi.
72. Ouyang, B., Yang, T., Li H., Zhang, L., Zhang, Y. and Zhang, J. 2007. Identification of early salt stress response genes in tomato root by suppression subtractive hybridization and microarray analysis. Journal of Experimental Botany, 58(3); 507–520.
73. Özen, H.Ç. ve Onay, A., 2007. Bitki Fizyolojisi, Nobel Yayın Dağıtım Ltd.Şti. 235-290.
74. Pinheiro, H.A., DaMatta, F.M., Chaves, A.R.M., Fontes, E.P.B. and Loureiro, M.E. 2004. Drought tolerance in relation to protection against oxidative stress in clones of *Coffea canephora* subjected to long-term drought. Plant Science, 167;1307-1314.

75. Pirker, K. F., Reichenauer, T. G., Pascual, E. C., Kiefer S., Soja, A. and Goodman, B. A., 2003. Steady state levels of free radicals in tomato fruit exposed to drought and ozone stress in a field experiment. *Plant Physiology and Biochemistry*, 41; 921–927.
76. Ramachandra Reddy, A., Chaitanya, K.V., Jutur, P.P. and Sumithra, K. 2004. Differential antioxidative responses to water stress among five mulberry (*Morus alba* L.) cultivars. *Environmental and Experimental Botany*, 52;33-42.
77. Richards, L.A. 1954. Diagnosis and Improvement of Saline and Alkali Soils. U.S. Department of Agriculture Handbook,60.
78. Scandalios, J.G. 1993. Oxygen stress and superoxide dismutase. *Plant Physiology*, 101; 7-12.
79. Sgherri, C.L.M., Pinzino, C. and Navari-Izzo, F. 1993. Chemical changes and O₂⁻ production in thylakoid membranes under water stress. *Physiologia Plantarum*, 87; 211–216.
80. Shalata, A., Mittova, V., Volokita, M., Guy, M. and Tal, M. 2001. Response of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii* to salt-dependent oxidative stress: The root antioxidant system. *Physiologia Plantarum*, 112; 487-494.
81. Shin S.Y., Lee H.S., Kwon S.Y., Kwon S.T., Kwak S.S., 2005. Molecular characterization of a cDNA encoding copper/zinc superoxide dismutase from cultured cells of *Manihot esculenta*. *Plant Physiology and Biochemistry* 43: 55–60.
82. Shinozaki, KY., Kasuga, M., Lie, Q., Nakabhima, K., Abe, Y. H., Zabta, K., Seki, S.M. and Shinozaki, K. 2002. Biological mechanism of drought stress response. JIRCAS working report. 1-8 Biotechnology. Vol. (3); 229-230.
83. Splittstoesser, W. E. 1979. Vegetable Growing Handbook. Avi Publishing Company. Inc. Westport. Connecticut. 298 p.
84. Srivalli, B., Sharma, G. and Khanna-Chopra, R., 2003. Antioxidative defence system in upland rice cultivar subjected to increasing intensity of water stress followed by recovery. *Physiologia Plantarum*, 119; 503-512.

85. Stuhlfauth, T., Scheuermann, R. and Fock, H.P. 1990. Light energy dissipation under water stress conditions-contribution of reassimilation and evidence for additional processes. *Plant Physiology*, 92; 1053–1061.
86. Sung, D., Kaplan, F., Lee, K. and Guy C. L. 2003. *Trends in Plant Science*, 8(4); 179-186.
87. Şeniz, V. 1984. Sebzecilikte Fide Yetiştiriciliği ve Sorunları. Atatürk Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü, Yalova, 32 s.
88. Şeniz, V. 1992. Domates, Biber ve Patlıcan Yetiştiriciliği. Tarımsal Araştırmaları Destekleme ve Geliştirme Vakfı. Yayın No: 26 Kocaoluk Yayınevi, İstanbul.
89. Taiz, L. and Zeiger, E. 2008. Bitki Fizyolojisi. 3. Baskıdan çeviri. Palme Yayıncılık, 25; 591-615. Ankara.
90. Tanaka, K., Hibino, T., Hayashi, Y., Tanaka, A., Kishitani, S., Takabe, T., Yokota, S. and Takabe, T., 1999. Salt tolerance of transgenic rice overexpression yeast mitochondrial Mn-SOD in chloroplasts. *Plant Science*, 148; 131-138.
91. Tunçer, N. 2007. Patlıcanda tuza toleransın kalıtımı üzerine araştırmalar. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi. Ankara.
92. Turhan, A. 2007. Türkiye’de yetiştirilen bazı domates gen kaynaklarının tuza toleransları ile morfolojik özellikleri. Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi. Bursa.
93. Türk Standartları Enstitüsü.<http://tse.org.tr> Tebliğ no: ICS 67.080. 20 tarih: TS 794-Nisan 2002 (erişim tarihi: 24.04.2010).
94. Williamson, J.D. and Scandalios, J.G. 1992. Differential response of maize catalases and superoxide dismutases to the photoactivated fungal toxin cercosporin. *Plant Journal*, 2; 351-358.
95. Xiong, L. and Zhu, J. K. 2002. Molecular and genetic aspects of plant responses to osmotic stres. *Plant, Cell and Environment*, 25;131–139.
96. Xiong, L., Wang, R-G., Guohong Mao, G. and Koczan, J.M., 2006. Identification of Drought Tolerance Determinants by Genetic Analysis of Root Response to Drought Stres and Absciscic Acid. *Plant Physiology*, 142; 1065–1074.

97. Yeo, A.R., Lee, K.S., Izard P., Boursier, P.J., and Flowers, T.J. 1991. Short and long term effects of salinity on leaf growth in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Experimental Botany*, 42; 881–889.
98. ZhongQun H., ChaoXing, A., ZhiBin, Z., ZhiRong, Z. and HuaiSong, W. 2007. Changes of antioxidative enzymes and cell membrane osmosis in tomato colonized by arbuscular mycorrhizae under NaCl stres. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 59;128–133.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Semra SOYDAM AYDIN

Doğum Yeri: ANKARA

Doğum Tarihi: 28.04.1981

Medeni Hali: Evli

Yabancı Dili: İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Sokullu Mehmet Paşa Lisesi, 1999

Lisans : Analodu Üniversitesi, Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, 2004

Yüksek Lisans : Anadolu Üniversitesi, Eğitim Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Eğitimi, 2006

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

Ankara Üniversitesi, 2007-2011

Yayınları (SCI ve diğer)

- Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitaplarında Basılan Bildirileri

1. *Bazı Meyve Türlerine Ait Gen Kaynaklarının High-Throughput Moleküler Yöntemlerle Tanımlanması –I* Masum BURAK, Hamit AYANOĞLU, M. Emin Akçay, Hilmi KOCATAŞ, Mehmet Hüsrev ÖZ, İsmail DEMİRTAŞ, A.Emre AKPINAR, Şirin ASLANTAŞ, **Semra SOYDAM**, Canan YÜKSEL, Hatice AYGÜN, Melike BAKIR, Funda YILMAZ, Nazif ŞAHİN, Nilgün TAN, Birol KARADOĞAN, Hüseyin VURGUN, Adnan DOĞAN, Gökhan ÖZTÜRK, Mustafa PEKTAŞ, Ayzin KÜDEN, Safder BAYAZIT, Songül ÇÖMLEKÇİOĞLU, Kemal KAZAN, Ali ERGÜL Türkiye V. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi 4-11 Eylül 2007 Cilt 1 Meyvecilik 60-64.

2. *Nar Genetik Tanımlamalarına Yönelik SSR Geliştirme Projesi* Melike BAKIR, Hatice AYGÜN, **Semra SOYDAM**, Ali ERGÜL. Türkiye V. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi 4-11 Eylül 2007 Cilt 1 Meyvecilik 673-676.
3. *Doğu Anadolu Erik Ve Kiraz Gen Kaynaklarının SSR'a Dayalı Moleküler Analizi* Mehmet Hüsrev ÖZ, Hatice AYGÜN, **Semra SOYDAM**, Kemal ÇUKADAR, Melike BAKIR, Funda YILMAZ, H. Murat ÜNLÜ, Birol KARADOĞAN, Hüseyin VURGUN, Ali ERGÜL. Türkiye V. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi 4-11 Eylül 2007 Cilt 1 Meyvecilik 677-680.
4. *Asma Gen Kaynaklarının High-Throughput Moleküler Yöntemlerle Tanımlanması-I* Yılmaz BOZ, Cengiz ÖZER, Ahmet Semih YAŞASIN, Behiç AKMAN, Funda YILMAZ, Melike BAKIR, Şirin ASLANTAŞ, **Semra SOYDAM**, Hatice AYGÜN, Gökhan SÖYLEMEZOĞLU, Hasan ÇELİK, Kemal KAZAN, Ali ERGÜL. Türkiye V. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi 4-11 Eylül 2007 Cilt 2 Sebzecilik- Bağcılık- Süs Bitkileri 349-352.
5. *Asmanın Anavatanı Anadolu: V. Vinifera L.'Nin Gen Merkezlerinden Birisinin Anadolu Olduğunu Kanıtlayan Kloroplast SSR Bulguları* Gökhan. SÖYLEMEZOĞLU, Melike BAKIR, Funda. YILMAZ, Şirin ASLANTAŞ, **Semra SOYDAM**, Yılmaz. BOZ, Cengiz ÖZER, Ali. ERGÜL. Türkiye V. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi 4-11 Eylül 2007 Cilt 2 Sebzecilik- Bağcılık- Süs Bitkileri 379-382.
6. *Bamya (Abelmoschus esculentus L.) genetik yapısı üzerine kadmiyum (Cd) etkilerinin RAPD tekniği ile araştırılması* **Semra SOYDAM**, Esra GÖKÇE, Emine Sümer ARAS. Turkish Journal of Biochemistry Vol. 34 sy:135.

• **Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitaplarında Basılan Bildirileri**

1. *Ecotoxicological Effect of Some Different Alkaline Metal Salt and Strong Acid Concentration on Germination of Cedrus Libani Seeds* Ersin YÜCEL, Kürşat ÖZKAN, **Semra SOYDAM**, In: Proceedings Volume 2 (Ed. H. Gökçekuş, International Conference on Environment: Survival and Sustainability 19-24 February 2007 Near East University, Nicosia- Northern Cyprus), 651-658 (2009).

• **Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayınlanan Makaleler**

1. *Determination of Appropriate Planting Season, Seedling Type and Wooden Species for Restoration of Unproductive Ecosystem at Semi- Arid Zones.* Ersin YÜCEL¹⁾, Sezgin ÇELİK, Kürşat ÖZKAN, **Semra SOYDAM**. Journal of International Research Publications www.eJournalNet.com, Vol. 2. ISSN 1311-8978, 01.12.2007.
2. *Genetic Analysis of Grapevine Cultivars From The Eastern Mediterranean Region of Turkey, Based on SSR Markers* Serpil Gök TANGOLAR, **Semra SOYDAM**, Melike BAKIR, Eda KARRAAĞAÇ, Semih TANGOLAR, Ali ERGÜL. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi 2009, 15 (1) 1-8.
3. *Myriophyllum spicatum (Spiked water-milfoil) as a biomonitor of heavy metal pollution in Porsuk Stream/Turkey.* Ersin YÜCEL, Erhan EDİRNELİOĞLU, **Semra SOYDAM**, Sezgin ÇELİK, Güler ÇOLAK. Biological Diversity and Conservation. 3/2 (2010) 133-144.