



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**BİTKİLERDE HALOTROPİZMİK YANITTA
NİTRİK OKSİT (NO)'İN ROLÜNÜN BELİRLENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Büşra ARAT KARAMAN

Biyoloji Anabilim Dalı

**İzmir
2024**

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü

**BİTKİLERDE HALOTROPİZMİK YANITTA
NİTRİK OKSİT (NO)'İN ROLÜNÜN
BELİRLENMESİ**

Büşra ARAT KARAMAN

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Rengin ÖZGÜR UZILDAY

**Biyoloji Anabilim Dalı
Genel Biyoloji Yüksek Lisans Programı**

**İzmir
2024**





Büşra ARAT tarafından YÜKSEK LİSANS tezi olarak sunulan “**Bitkilerde Halotropizmik Yanıtta Nitrik Oksit (NO)’in Rolünün Belirlenmesi**” başlıklı bu çalışma Ege Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi“nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdandegerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 24/01/2024 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza :

Jüri Başkanı : Doç.Dr. Rengin ÖZGÜR UZİLDAY

Raportör Üye : Prof.Dr. Melike BOR

Üye : Prof.Dr. İsmail TÜRKAN

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI**

Ege Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “**Bitkilerde Halotropizmik Yanıtta Nitrik Oksit (NO)’in Rolünün Belirlenmesi**” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

24/01/2024

imza

Büşra ARAT KARAMAN



ÖZET**BİTKİLERDE HALOTROPİZMİK YANITTA
NİTRİK OKSİT (NO)'İN ROLÜNÜN BELİRLENMESİ**

ARAT KARAMAN, Büşra

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Yöneticisi: Doç. Dr. Rengin Özgür UZİLDAY

Ocak 2024, 62 sayfa.

Bitkilerin topraktaki tuz konsantrasyonuna tepki olarak kök büyüme yönlerini değiştirme yeteneğine halotropizma denir. Bu tez çalışmasında nitrik oksit (NO) etkisine bağlı olarak bitki köklerinin halotropizmik yanıtlarının araştırılması amaçlanmaktadır. Literatürde yer alan çalışmalarda, NO'nun bitki metabolizmasında tuzluluk da dahil olmak üzere çeşitli abiyotik streslere karşı çok önemli düzenleyici roller olduğu gösterilmiştir. Ancak halotropizmik yanıtlar üzerine NO'nun nasıl bir etkisi bulunduğu ile ilgili bilgiler çok kısıtlıdır. Tez çalışmasında, *Arabidopsis thaliana* bitkileri farklı tuz konsantrasyonlarına maruz bırakılarak halotropizmik yanıtlarını belirlenmiştir. Ayrıca, NO donör ve NO süpürücü uygulaması yapılan tüm bitkilerinin kök dokularında NO miktar ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada *Arabidopsis thaliana*'nın halotropizmik özellikleri birbirinden farklı Col-0, Wt-5 ve Uod-7 ekotipleri kullanılmıştır.

Elde edilen sonuçlarda, yüksek tuz konsantrasyonları altında kök dokularında NO üretiminin arttığı bulunmuştur. NO donör ve NO süpürücüsü kullanılan deneylerde, NO üretiminin inhibisyonu ile tuz kaynağına doğru kök büyümesinin bozulduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, NO'nun halotropizmik bitki yanıtında önemli bir rol oynadığı bulunmuştur. Ayrıca, tuz stresine karşı bitki toleransını geliştirmek için NO'nun potansiyel bir hedef olabileceği belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: *Arabidopsis thaliana*, halotropizma, nitrik oksit, tuz stresi



ABSTRACT**DETERMINATION OF THE ROLE OF NITRIC OXIDE (NO) ON
PLANT RESPONSE TO HALOTROPISM**

ARAT KARAMAN, Büşra

MSc in Biology

Supervisor: Associate Prof. Rengin Özgür UZİLDAY

January 2024, 62 pages.

The capacity of plants to change root growth in response to salt stress is called halotropism. In this thesis, it is seen that changes in halotropism can occur due to the effect of nitric oxide (NO) treatments. Previous studies suggested that NO has a crucial role in plant stress response, including salt stress. However, it is not fully understood that the effect of NO during halotropism. The research includes determining the halotropismic responses of the plant by exposure to NO donor and NO scavenger chemicals. Col-0, Wt-5 and Uod-7 ecotypes with different halotropism properties of this effective *Arabidopsis thaliana* were used in the study. The results show that NO production leads to a significant increase due to the exposure of root tissues to high NaCl concentrations. Treatments with NO donors and NO scavengers showed that, NO signaling takes a role in halotropismic response. It appears that NO plays an important role in the plant response to halotropism, can be used as a potential target to induce plant tolerance to salt stress.

Keywords: *Arabidopsis thaliana*, halotropism, nitric oxide signaling, salt stress



ÖNSÖZ

Tarım arazileri günümüz koşullarında topraktaki tuzluluktan dolayı negatif yönde etkilenmektedir.. Bu bağlamda, bitkilerin tuz stresine karşı kendilerini korumak amaçlı geliştirdikleri bir tropizmik hareket olan halotropizmanın, bitki büyüme gelişme üzerine morfolojik, biyokimyasal tepkilerin incelenmesi ve ardında yatan mekanizmalara dair bilgilerin tamamı henüz literatürde mevcut değildir. “Bitkilerde halotropizmik yanıtta Nitrik Oksit (NO)’in rolünün belirlenmesi” başlıklı tezimde literatürdeki bu boşluğu doldurmak amaçlanmıştır.

İZMİR

24/01/2024

Büşra ARAT KARAMAN



İÇİNDEKİLER

| | <u>Sayfa</u> |
|---|---------------------|
| ÖZET | viii |
| ABSTRACT | x |
| ÖNSÖZ..... | xii |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | xvi |
| KISALTMA DİZİNİ | xviii |
| 1. GİRİŞ..... | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER..... | 1 |
| 2. 1. Tropizma..... | 2 |
| 2.2. Halotropizma | 3 |
| 2.3. Glikofit - Halofit..... | 4 |
| 2.4. Kök Mimarisi..... | 5 |
| 2.4.1. Adventif Kök Gelişimi | 5 |
| 2.4.2. Yanal Kök Gelişimi | 6 |
| 2.5. Tuz Stresi & Halotropizma..... | 6 |
| 2.6. Nitrik Oksit - NO..... | 7 |
| 2.7. NO ve Kök Sistemi..... | 8 |
| 2.8. NO Donörü Ve NO Süpürücüleri | 9 |
| 3. MATERYAL METHOD..... | 11 |
| 3.2. Bitkilerin Yetiştirilmesi | 11 |
| 3.2.1. Tohumların Temini..... | 11 |
| 3.2.2. Tohum Sterilizasyonu..... | 11 |
| 3.3. Halotropizmik Yanıtın Ölçülmesi..... | 11 |

İÇİNDEKİLER (Devam)

| | <u>Sayfa</u> |
|---|---------------------|
| 3.4. Kök Bükülme Açısı Ölçümleri | 12 |
| 3.5. Köklerde ONOO- Varlığının Belirlenmesi | 13 |
| 3.6. Köklerde NO Varlığının Belirlenmesi | 13 |
| 4. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER..... | 14 |
| 5. BULGULAR..... | 15 |
| 5.1 Halotropizmik Yanıt Sırasında Köklerdeki NO Miktarı..... | 15 |
| 5.2. Halotropizmik Yanıt Sırasında Köklerde ONOO- Miktarı..... | 16 |
| 5.3. Halotropizmik Yanıtta SNP (NO donörü) ‘ nün Kök Uzamasına Etkileri | 17 |
| 5.4. SNP Uygulamasının Tuz Stresi Altında Halotropizmik Etkileri | 19 |
| 5.5. NO Süpürücüsü cPTIO‘nun Halotropizmik Yanıt Etkileri | 21 |
| 5.6. Halotropizmik Yanıtta cPTIO (NO süpürücüsü) ‘ nün Etkileri..... | 22 |
| 6. TARTIŞMA | 27 |
| 7. SONUÇLAR..... | 29 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| Şekil | Sayfa |
|--|-------|
| Şekil 5.1.1. <i>A. thaliana</i> (Wt-5, Col-0 ve Uod-7) bitkilerinde halotropizmik yanıt sırasında (DAF-FM DA) ile köklerde NO miktarı. Sütun üstündeki ‘*’ işareti istatistiki açıdan anlamlı ($p < 0,05$) olduğunu göstermektedir. | 15 |
| Şekil 5.1.2. <i>A. thaliana</i> (Wt-5, Col-0 ve Uod-7) bitkilerinde halotropizmik yanıt sırasında (DAF-FM DA) ile köklerde NO boyanması..... | 15 |
| Şekil 5.2.1. <i>A. thaliana</i> (Wt-5, Col-0 ve Uod-7) bitkilerinde halotropizmik yanıt sırasında (APF) ile köklerde ONOO- miktarı. Sütun üstündeki ‘*’ işareti istatistiki açıdan anlamlı ($p < 0,05$) olduğunu göstermektedir. | 16 |
| Şekil 5.2.2. <i>A. thaliana</i> (Wt-5, Col-0 ve Uod-7) bitkilerinde halotropizmik yanıt sırasında (APF) ile köklerde ONOO- boyanması. | 16 |
| Şekil 5.3.1. <i>A. thaliana</i> (Wt-5, Col-0 ve Uod-7)’un halotropizmik yanıtlarındaki SNP (NO donörü) ‘ nün kök uzamasına etkileri. Sütun üstündeki ‘*’ işareti istatistiki açıdan anlamlı ($p < 0,05$) olduğunu göstermektedir. | 17 |
| Şekil 5.3.2. <i>A. thaliana</i> (Wt-5, Col-0 ve Uod-7) halotropizmik yanıtlarındaki SNP (No donörü) ‘ nün etkileri. | 18 |
| Şekil 5.3.3. <i>A. thaliana</i> (Wt-5, Col-0 ve Uod-7) halotropizmik yanıtlarındaki SNP (No donörü) ‘ nün kök boy uzunluğuna etkileri. Sütun üstündeki ‘*’ işareti istatistiki açıdan anlamlı ($p < 0,05$) olduğunu göstermektedir. | 19 |
| Şekil 5.4. SNP, SNP+ 50 mM NaCl, SNP + 100 mM NaCl, SNP + 200 mM NaCl vs SNP + 300 mM NaCl içeren ½ MS ortamında büyütülen <i>A. thaliana</i> genotipleri (Wt-5 (Wt), Col-0 (C),Uod-7(U), bitkilerinin genel görünümü. | 21 |
| Şekil 5.5. <i>A. thaliana</i> (Wt-5, Col-0 ve Uod-7) halotropizmik yanıtlarındaki cPTIO (NO süpürücüsü) ‘ nün kök uzamasına etkileri. Sütun üstündeki ‘*’ işareti istatistiki açıdan anlamlı ($p < 0,05$) olduğunu göstermektedir. | 22 |

ŞEKİLLER DİZİNİ (Devam)

| Şekil | Sayfa |
|---|--------------|
| Şekil 5.6.1. <i>A. thaliana</i> (Wt-5, Col-0 ve Uod-7)'un halotropizmik yanıtlarındaki cPTIO (NO süpürücüsü) 'nün etkileri. | 23 |
| Şekil 5.6.2. <i>A. thaliana</i> (Wt-5, Col-0 ve Uod-7)'un halotropizmik yanıtlarındaki cPTIO (No süpürücüsü) ' nün kök boy uzunluğuna etkileri. Sütun üstündeki '*' işareti istatistiki açıdan anlamlı ($p < 0,05$) olduğunu göstermektedir. | 24 |
| Şekil 5.6.3. <i>A. thaliana</i> (Wt-5, Col-0 ve Uod-7)'un halotropizmik yanıtlarındaki cPTIO (NO süpürücüsü) ' nün etkileri. | 26 |

KISALTMA DİZİNİ

| Kısaltmalar | <u>Açıklama</u> |
|---------------------|---------------------------------------|
| Na ⁺ | Sodyum |
| Cl ⁻ | Klor |
| K ⁺ | Potasyum |
| H ⁺ | Hidrojen |
| ROS | Reaktif Oksijen Türleri |
| NADPH | Nikotinamit Adenin Dinükleotid Fosfat |
| NaCl | Sodyum Klorür |
| mM | mili Molar |
| K-P | Potasyum Fosfat |
| dI-H ₂ O | Distile Su |
| NO | Nitrik oksit |
| ONOO ⁻ | Peroksinitrit |
| SNP | Sodyum Nitropürissid |
| cPTiO | Karboksifenil Potasyum Tuzu |
| APF | Aminofenilfloresein |
| DAF | Diaminofloresein |
| RNS | Reaktif Nitrojen Türleri |



1. GİRİŞ

Küresel iklim değışikliği ve çevresel dış etkilerden dolayı bitkiler yaşamları boyunca çeşitli stres durumlarıyla karşı karşıya kalırlar. Bitkilerin bu stres durumlarına maruz kalmaları bitki örtüsündeki değışimleri ve çevresel sorunları beraberinde getirebilir. Bitkilerin karşılaşılabilecekleri bu stres koşulları biyotik ve abiyotik stresler olarak adlandırılmaktadır. Abiyotik stresler tuz stresi, ağır metal stresi, kuraklık ve sıcaklık stresleri olarak sınıflandırılabilirler (Zhu, 2016). Bitkiler buldukları çevre koşullarına uyum sağlamak için çeşitli stratejiler geliştirmişlerdir. Tuzluluk altında köklerin tuzdan kaçınacak şekilde tuzu algılayabilmesini sağlayan halotropizmik yanıtta bunlardan bir tanesidir.

2. GENEL BİLGİLER

Bitkiler buldukları ortam koşullarında yaşamlarına devam edebilmek için çeşitli hareketler yaparlar. Bu hareketler uyarıcıya doğru olabildiği gibi, kaçınma tepkisi olarak ortaya çıkabilmektedir ve bu durum tropizma olarak adlandırılır. Bitki sürgünleri güneş ışığına doğru yönelerek büyürken, bitki kökleri yer çekimi etkisine bağlı olarak, topraktaki besin ve suya doğru hareket etmektedir (Feng, 2016). Bitkilerin yüksek tuz konsantrasyonlarından kaçınarak kök büyümesi göstermesine halotropizma adı verilmektedir (Galva-Ampudia et al., 2013).

Halofitler tuz stesi koşullarına uyum sağlamış, yaşamlarını yüksek tuz koşullarında devam ettirebilen tuza toleranslı bitkilerdir (Flowers ve Colmer 2015). Tuz stresine toleransı olmayan glikofit bitkilerin köklerinin toprağın tuz konsantrasyonu yüksek bölgelerinden kaçınma hareketi gösterdiği buna karşın halofit köklerinde bu kaçınma hareketinin daha az olduğu bildirilmiştir. Buna bağlı olarak, halofitik bitkilerin halotropizmik yanıtlarının glikofitik bitkilerinden farklı olduğu önerilmiştir (Galva-Ampudia et al., 2013). Glikofitik bitkiler arasındada halotropizmik yanıt farklılık gösteren ekotipler bulunmaktadır (Deolu-Ajayi et al., 2019).

Reaktif oksijen türleri (ROS), bitkilerde ikincil mesajcı olarak iş gören ve doza bağlı olarak özellikle bitkilerin stres koşullarına yanıtlarında sinyal görevi üstlenen moleküllerdir (Mittler 2017). ROS'ların yanısıra, nitrik oksit (NO) molekülünde bitki büyüme gelişimi sürecinde ve çevresel streslere verilen yanıtlarda rol alan bir moleküldür (Besson-Bard et al. 2008). NO birikiminin yüksek seviyelerde olması nitrosatif stres olarak adlandırılırken, düşük dozlarda NO birikiminin bitkilerde NO sinyal metabolizmasını tetiklediği bilinmektedir (Neill et al. 2003). NO, hem ROS metabolizmasıyla etkileşerek hem de tek başına bitki hücrelerinde sinyal görevi görmektedir (Corpas et al., 2011). Literatürde, bitkilerin tuz stresine karşı gösterdikleri toleransta NO'nun rolü olduğu bildirilmiştir (Zhao et al., 2007). Bunlara karşın, halotropizmik yanıtın düzenlenmesi ile NO sinyal mekanizması arasındaki ilişki bilinmemektedir. Bu tez çalışmasında model bitki *A. thaliana*'nın Col-0, Wt-5 ve Uod-7 ekotipleri kullanılarak NO molekülünün ve sinyal mekanizmasının halotropizmik yanıtı etkisi araştırılmıştır.

2. 1. Tropizma

Tüm büyüme gelişme süreçleri boyunca bitkilerin organ konumları ve büyüme yönleri tropizmik yönelimlerden etkilenmektedir (Muthert et al., 2020). Uyarana bağlı olarak tanımlanan tropizm çeşitleri: gravitropizm, hidrotropizm, halotropizm, kemotropizm, fototropizm, tigmotropizm, termotropizm, oksittropizm, manyetotropizm, elektrotropizm ve fonotropizm olarak belirlenmiştir. Yönelimin uyarana doğru olduğu hareket pozitif tropizm, uyarandan uzaklaşma şeklinde olduğu yönelim negatif tropizm olarak adlandırılır (Izzo and Aronne, 2021). Köklerde ise tropizm hareketi, uyarının zıt tarafında gerçekleşen hücre büyümesi yoluyla köklerdeki bükülme ile gerçekleşmektedir (Gilroy et al., 2008).

Arabidopsis thaliana gibi model bitkiler üzerinde bugüne kadar yapılan çalışmalar sonucunda, kök uçlarının meristematik, farklılaşma, geçiş ve uzama bölgeleri ile hücresel aktiviteleri, spesifik hücre tipleri ve tropik sinyallere verilen yanıtları tanımlanmıştır (Verbelen et al., 2006).

2.2. Halotropizma

Bitki köklerinin topraktaki NaCl konsantrasyonlarına yanıt olarak hareket göstermesine halotropizma denir (Galvan-Ampudia et al., 2013). Halotropizma, yüksek tuz konsantrasyonlarından bitki köklerinin bükülmesi yolu ile kaçınmalarını sağlamaktadır. Toprakta yüksek tuz konsantrasyonları varlığında bitki kökleri, büyüme gelişme süreçlerinin aksamaması ve en önemlisi hücre ölümleri sonucunda bitkinin ölmesine kadar varabilecek durumları önlemek için tuzdan kaçınmaktadır. Bazı halofit bitki türlerinde ise optimal tuz konsantrasyonunu elde etmelerinin ve tuza doğru pozitif yönelimin optimal büyümeleri için gerekli olduğunu gösteren bulgular vardır (Shelef et al., 2016).

Bitki köklerin bükülerek belirli bir yöne doğru büyümesi için asimetric oksinin asimetric dağılımı gerekmektedir. Bitkilerde oksin, AUX/LAX ailesi taşıyıcıları aracılığıyla pasif ya da aktif olarak hücre içine, PIN taşıyıcıları tarafindanda sadece aktif taşıma yoluyla hücre dışına taşınmaktadır (Rutschow et al., 2014). Kök büyümesi ve kök ucu mimarisinin korunmasında PIN'lerin önemli bir yeri bulunmaktadır ve birden fazla PIN proteininin (PIN1, PIN2, PIN3, PIN4 ve PIN7) uyumlu çalışması ile sinyal yollarının aktifleştigi bildirilmiştir. Bu süreçte kök uçlarından oksinin sürgünlere doğru taşınmasına aracılık eden PIN2 önemli bir rol oynamaktadır (Krecek et al., 2019). PIN2, kök gravitropizmini destekleyerek oksini sürgüne doğru taşıma görevinde görür (Chen et al., 1998; Blilou et al., 1998 ; Rahman et al., 2010). Stres etkisi altında PIN2'nin ekspresyonu değişmektedir. Tuz stresi altında PIN2'nin protein düzeyinin ve transkriptinin azaldığı gösterilmiştir. Bu durumun yanal kök oluşumunu azalttığı bildirilmiştir (Sun et al., 2008; Li, 2009; Gao et al., 2013; Galvan et al., 2013).

Kök uzama bölgesinde (elongation zone), kök tropizmaları sırasında bükülme oluşması için oksinin asimetric artışının gerçekleştiği bilinmektedir ve bu artış PIN2 aracılı olarak gerçekleşir (van den Berg ve ark. 2016). PIN2'nin tuzlulukla karşılaşan kök kısmında biriktiği görülmüştür (Galvan-Ampudia et al., 2013). PIN2

lokalizasyonundaki değişimlerin tuz stresine karşı gösterilen direnci arttırdığı ifade edilmiştir (Wang et al., 2009; Sun et al., 2011) Halotropizm sırasında PIN2'nin yanında, AUX1'in lokalizasyonunda oksinin hücrelere alınmasında aktif olarak öneme sahip olduğu bilinmektedir (Korver et al., 2020).

2.3. Glikofit - Halofit

Bitkiler tuz stresine karşı biyokimyasal ve moleküler mekanizmaları aktifleştirerek yanıt verirler (Parida et al., 2005). Gösterilen bu yanıtlara göre ise kabaca halofitler ve glikofitler olmak üzere ikiye ayrılırlar. Yüksek tuz konsantrasyonları altında yaşamını sürdüren bitkiler halofitlerdir. Glikofit bitkiler ise tuza daha duyarlı olmaları sebebiyle yüksek tuz konsantrasyonları büyüme gelişimleri açısından zararlıdır (Yang and Guo, 2018).

Halofitler tuzluluğa karşı glikofitik bitkilere göre büyüme gelişime devam edebilmek için farklı stratejiler geliştirmiştir. Glikofitlerin zarar gördüğü tuz konsantrasyonlarında (Galva-Ampudia et al., 2013), halofitlerin normal gelişimlerini sürdürebilmeleri için optimal tuz konsantrasyonuna yönelmeleri gerekmektedir. (Shelef et al., 2016).

Glikofitik bir bitki olan *A.thaliana*'nın 333 ekotipinin kullanıldığı bir çalışmada, kök halotropizmasıyla ilişkili çeşitli genetik faktörler tanımlanmıştır ve oksin dağıtımında yer almayan üç gen olan WRKY25, CHX13 ve DOB1'in halotropizmada ifade edildiği bildirilmiştir (Deolu Ajayi et al., 2019).

Aynı çalışmada bu ekotipler arasında kök bükülmeleri açısından sıralanmıştır ve *A. thaliana* Col-0 ekotipinde kök bükülmesi +30 derece olarak bulunmuştur. En güçlü bükülme açısı ile Wt-5 ekotipinde +49 derece bükülme olarak ölçülürken ve en zayıf halotropizmik yanıt -2 derece bükülme ile Uod-7 ekotipinde gözlenmiştir (Deolu Ajayi et al., 2019).

2.4. Kök Mimarisi

Topraktaki tuzluluk ile ilk etkileşimde bulunan bitki kısmı köklerdir ve kökler sodyum varlığını algılamaktadır. Bitki kökleri tuzluluk ile karşı karşıya kaldığında bitki kök sistem mimarisi (RSA) yeniden oluşturulabilir (Koevoets et al., 2016). Tuz stresinin ana ve yan kök uzunlukları arasındaki farkı arttırdığı, yan kök yoğunluğunda ise bir artış göstermediği bildirilmiştir (Julkowska et al., 2017).

NO sinyalleme kök mimarisinin desenlenmesi ve farklılaşmasını ve düzenlemektedir. NO, Kök organogenezinde brassinosteroidler (BR'ler), oksinler, sitokininler ve strigolaktonlar (SL'ler) gibi hormon sinyal yolları iş görmektedir ve NO' nun bu yolları düzenlediği bildirilmiştir (Koevoets et al., 2016).

A. thaliana'da hücre farklılaşması ve proliferasyonu çeşitli içsel ve dışsal sinyal yolları, ROS sinyal yolları ve Aux/CK'ler ile düzenlenir (Wany et al., 2018). Reaktif nitrojen türleri (RNS) arasında bitki büyüme ve gelişimi için en önemli düzenleyicinin NO olduğu tespit edilmiştir (Sanz et al., 2013). NO, kök apikal meristeminde hücre bölünmesini azaltır ve farklılaşmayı destekler (Fernández-Marcos et al., 2011).

2.4.1. Adventif Kök Gelişimi

Adventif kökler, topraktan besinin alınması, bitkilerin çoğalmaları ve karşılaşılan streslere karşı verilen yanıtlarda önemli roller oynamaktadır (Steffens and Rasmussen, 2016).

NO, adventif köklerin gelişiminde yer almaktadır (Alvaro et al., 2023). Bitkiye dışarıdan NO donörleri (SNAP, SNP veya GSNO) uygulamalarının adventif köklerin sayısını ve uzunluğunu konsantrasyonlara bağlı bir şekilde

düzenlediği bilinmektedir (Alvaro S. ve ark. 2023). NO süpürücüsü (cPTIO) varlığında ise adventif köklerin azaldığı görülmüştür (Pagnussat et al., 2002; Lanteri et al., 2008). Uygulamalar ile NO senteziyle ilgili enzimlerin (NOS benzeri ve NR) aktiviteleri sonucu endojen NO üretimi düzenlenir.

2.4.2. Yanal Kök Gelişimi

Toprakta su ve besin alımına katkıda bulunmak için kökler yan kökler yardımıyla yüzey alanını artırır (Dolan et al., 1993). Yan köklerin oluşumu oksin tarafından kontrol edilmektedir (Casimiro et al., 2003) ve oksin aracılı sinyal yolları NO tarafından düzenlenir. Dışarıdan oksin uygulamasının yan kök oluşumunu desteklediği gösterilmiştir (Reed et al., 1998; Casimiro et al., 2001)

Abiyotik streslere yanıt olarak veya normal koşullar altında, yan kök oluşumu ve büyümesi üzerinde NO'nun etkisi bilinmektedir ancak bu düzenlemenin moleküler mekanizmaları henüz tam olarak bilinmemektedir. Tuz stresi altında yan kök oluşumunu teşvik eden diğer moleküllerinde NO ile ilişkilendirildiği gösterilmiştir (Singh and Bhatla, 2018).

2.5. Tuz Stresi & Halotropizma

Tuz stresi, bitki büyüme ve gelişim sürecinde topraktaki tuz miktarının artışıyla doğru orantılı olarak olumsuz etkilere neden olmaktadır. Tuzluluk sebebiyle su potansiyelindeki azalma, ozmotik potansiyelin düşmesine neden olur (Glenn et al., 1997). Tuz stresi, bitki büyüme ve gelişimini, fotosentez, çimlenme gibi pek çok biyolojik olayı etkilemektedir (Taiz and Zeiger, 2008).

Bitkilerde halotropizmik hareket ile büyüme şeklini hem monokot hem de dikot bitki köklerinin yaptığı birçok çalışma ile gösterilmiştir (Galvan-Ampudia et al., 2013). Bu halotropizmik hareket ise tuz stresinin algılanması ile başlayan ve membran lipitlerinin, küçük moleküllerin, iyonların, ikincil bileşiklerin ve

fitohormonların taşınması, fosforilasyon/sinyalleşme basamaklarının başlatılması ile devam eder. Hızla gerçekleşen bu ilerleyiş ile bitkilerin kökler aracılığıyla tuz stresini algılamasından sonra ikincil tepki sistemi ve sinyal yolları ile hızla iletilir (Testerink et al., 2004; Munns and Tester 2008; McLoughlin and Testerink 2013; Maathuis, 2014). Tuz stresine dair sinyal iletiminde plazma zarında yer alır. Tuz stresisiyle karşılaşma sonucunda membran potansiyelinde yaşanan değişimler dışında, lipid sinyal moleküllerinin ve fosfatidik asit (PA) üretimi gözlenmektedir (Torres and Dangl 2005; Mio, 2006; Miller et al., 2010; Peer et al., 2013). Mevcut modellenmiş halotropizmik hareket, tuz stresi etkisi ile olan PA üretiminin tuz indüksiyonu ile başlayarak PIN2 oksin taşıyıcısının yeniden lokalizesine, PIN1 ifadesindeki artışa, AUX1 aktivitesinin azalmasına dolayısıyla oksin bağlantılı büyüme durumu üzerinde değişikliklere sebep olur (Galvan-Ampudia et al., 2013; Julkowska and Testerink 2015; van den Berg, 2016).

Önceki çalışmalarda oksin aracılı asimetric büyüme yoluyla halotropizmik yanıtın glikofitik bitkilerde olduğu gösterilmiştir. Buna karşın sodyumun algılanması yoluyla halotropizmik hareketin tetiklenmesi ve devamında aktifleşen mekanizmalar hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır.

Halotropizmik yanıtın Na'ya özgün olduğu glikofit bitkilerde yapılan bazı çalışmalarda gösterilmiştir (Szepes et al., 2020).

2.6. Nitrik Oksit - NO

Bitkilerin büyüme, gelişme ve stress koşullarına verdikleri yanıtlarda ROS'ların çeşitli görevleri bulunmaktadır (Mittler et al., 2011). Hücre içi konsantrasyonlarına bağlı olarak hasar oluşturabildikleri gibi aynı zamanda düşük konsantrasyonlarda hücre içi sinyal iletimini gerçekleştirmektedirler (Mittler, 2017).

NO hem tek başına hem de ROS'larla etkileşerek sinyal görevi gösterebildiği gibi, yüksek seviyelerde birikimi nitrosatif strese neden olmaktadır (Corpas et al., 2011). NO'nun hastalık direncinde sinyal görevi, çimlenmeyi uyarma, streslere karşı koruma gibi süreçlerde yer aldığı bilinmektedir (Mur et al., 2013). Dışarıdan

NO uygulamasının bitkilerdeki tuz stresine karşı toleransı arttırdığı bildirilmiştir (Zhao et al., 2007).

NO kök tüyü oluşumunda (Lombardo and Lamattina, 2012) ve kök büyümesi sırasında öksin aracılı NADPH oksidaz aktivasyonunda gereklidir (Correa-Aragunde et al., 2015).

Enzimatik olmayan & enzimatik mekanizmalar yoluyla nitritin NO'ya indirgenmesi en bilinen NO üretim yoludur. Nitrat redüktaz (NR) ve nitrik oksit sentaz (NOS) bu üretimin iki ana enzimidir. Hem *in vivo* hem de *in vitro* olarak doğrulanmış NO üretme aktivitesi bulunan tek enzim NR'dir.

Bir sinyal molekülü olarak görev yapan NO'nun cGMP, Ca²⁺ ve ROS'larla ilişkili sinyal yollarıyla etkileşimi bulunmaktadır (Astier et al., 2010; Mur et al., 2013). Gelişme ve savunma mekanizmalarında bulunan fitohormonlarında NO sinyal yolları ile etkileşimi olduğunu gösteren bulgular vardır (Freschi, 2013).

NO sinyalleme yolu spesifik enzimler yoluyla kontrol edilir ve NO'ı nitrata çevirebilen, hücre içindeki GSNO içeriğini düzenleyen S- nitrozoglutasyon redüktaz (GSNOR) aktivitesine bağlı olduğu bilinmektedir (Mur et al., 2013).

Bitki hücrelerinde NO sentezi kimyasal özellikleri açısından indirgeyici yol ve oksidatif yol olarak iki ana yoldan gerçekleştirilebilmektedir. İndirgeyici yol nitritlerin NO'ya indirgenmesi ile, oksidatif yol ise aminlerin oksidasyonu ile gerçekleşmektedir.

2.7. NO ve Kök Sistemi

NO, bitki köklerinde öksin benzeri bir etki göstererek kök büyümesini arttırmaktadır (Gouvêa et al., 1997, Pagnussat et al., 2002). NO'nun gravitropik bükülmeye katılmasına dair yapılmış çalışmalarda bulunmaktadır (Hu ve ark. 2005). Yer çekimi uyarına tepki olarak, Pagnussat ve arkadaşları (2002) tarafından yapılmış çalışmaya benzer şekilde, birincil kökte asimmetrik NO birikimi olduğu gözlenmiştir (Hu et al., 2005).

2.8. NO Donörü Ve NO Süpürücüleri

Literatürde yaygın olarak kullanılan SNP (sodyum *nitroprusside*) bir NO donörü ve cPTIO (2-(4-Carboxyphenyl)-4,4,5,5-tetramethylimidazoline-1-oxyl-3-oxide potassium salt) ise bir NO süpürücüsüdür.

Tuz stresi etkisine karşı bitkilere dışarıdan NO donörü SNP' nin uygulamasını takiben, plazma zarı H⁺-ATPaz ifadeleri artmış ve bu durum tuz stresine karşı toleransı arttırmıştır. Bu bulgular bitkilerde NO'nun sinyal olarak çalıştığını göstermektedir. cPTIO (NO süpürücüsü) uygulanması ile NO'nun etkisinin tersine döndüğü ve NO'nun NR'nin yan ürünü olmadan NOS benzeri aktivite ile üretildiği düşünülmektedir (Zhao et al., 2004). Dışarıdan NO uygulanmasının proton pompası aktivitelerini ve tonoplastın Na⁺/H⁺ antiportunu arttırarak tuz stresine karşı gösterilen toleransı sağladığı bildirilmiştir (Zhang et al., 2006).

Sonuç olarak, ROS'ların yanısıra, NO son yıllarda bitki büyüme gelişmesi ve çevresel streslere verilen yanıtlarda yeni işlevleri yoğun olarak çalışılan bir diğer moleküldür. NO hem tek başına hem de ROS metabolizmasıyla etkileşerek bitki hücrelerinde sinyal görevi görmekte, yüksek seviyede NO birikimi ise nitrosatif stres olarak adlandırılmaktadır (Corpas ve ark. 2011). NO'nun kök tüyü oluşumunda rol oynadığı (Lombardo ve Lamattina 2012), kök büyümesinde öksin aracılı NADPH oksidaz aktivasyonu için gerekli olduğu (Correa-Aragunde ve ark. 2015) ve tuz stresi sırasında kök ucu meristem boyutunun düzenlenmesine katkı sağladığı (Liu ve ark. 2015) bilinmektedir. Ancak, halotropizmik yanıtın düzenlenmesindeki olası rollerine ilişkin bilgi bulunmamaktadır. Literatürdeki bu boşluğu doldurmak için planladığımız tez çalışmasında ilk olarak halotropizmik yanıt veren köklerde bir flüoresan NO boyası olan 4-amino-5-methylamino-2',7'-difluorofluorescein diacetate (DAF-FM DA) ve yine flüoresan bir peroksinitrit (ONOO) boyası olan aminophenyl fluorescein (AMF) ile boyamalar yapılmıştır. Ayrıca bitki köklerinde içsel NO miktarı dışarıdan NO donörü sodium nitroprusside (SNP) ile arttırılarak ve NO süpürücüsü 2-(4-Carboxyphenyl)-4,4,5,5-tetramethylimidazoline-1-oxyl-3-oxide (cPTIO) ile düşürülerek, NO'nun halotropizmik yanıtın düzenlenmesindeki rolü araştırılmıştır. Söz konusu boyama

işlemleri ve NO donörü ve süpürücüsü uygulamaları ile *A. thaliana*'nın halotropizmik yanıtı kuvvetli (Wt-5) ve zayıf (Uod-7) ve referans olarak Col-0 ekotiplerinde NO metabolizmasının halotropizmadaki rolünün aydınlatılması hedeflenmiştir.



3. MATERYAL METHOD

3.2. Bitkilerin Yetiştirilmesi

3.2.1. Tohumların Temini

Yapılan tez çalışmasında model bitki *Arabidopsis thaliana* (Col-0, Wt-5, Uod-7) tohumları kullanılmıştır.

3.2.2. Tohum Sterilizasyonu

Tohumların yüzey sterilizasyonunu gerçekleştirmek için steril kabin içerisinde tohumlar %70 etanolde 1 dakika tutulduktan sonra distile su ile 5 kez yıkanmıştır. Yıkama sonrasında 10 dakika %4 NaCl (sodyum hipoklorit) çözeltisinde tutulduktan sonra distile su ile 5 kez yıkanarak sterilize edilmiştir. Yüzey sterilizasyonları yapılmış tohumlar 7 gün boyunca 4°C'de bekletilmiştir. Tohumlar sonrasında pH'ı 5.7 olan %0,5 sakkaroz (w/v) ve %1 agar içeren 1/2 MS (Murashige ve Skoog) ortamı içeren petrielerde çimlendirilmiştir. 22 °C sıcaklık, 150 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ışık şiddeti ve %70 bağıl nem altında petrilerdeki tohumların çimlendirilmesi kontrollü büyüme odasında (16 saat ışık/8 saat karanlık), petrieler dik konumdayken gerçekleştirilmiştir. 5 gün boyunca dik konumda büyütülmüştür.

3.3. Halotropizmik Yanıtın Ölçülmesi

5 gün boyunca dik konumda büyütülmüş bitkiler SNP (10 μM), cPTİO (100 μM) ortamlarında, tuz stresi oluşturabilmek için NaCl(0 mM, 50 mM, 100 mM, 200 mM, 300 mM) uygulamasına maruz bırakılmıştır. SNP ve cPTİO uygulamaları 48 saat süresince gerçekleştirilmiştir.

12x12 cm kare petrieler sol alt köşeden sağ üst köşeye çizgi ile işaretlenmiştir. Sonrasında petriyi 2 eş parçaya ayırmış olan bu çizgiye 0.5 cm uzaklıkta 2 çizgi daha çizilmiştir. Hazırlanan kare petrielere uygulama gruplarına göre SNP ve cPTİO içeren 1/2 MS ortamı (%0.5 sukroz, %1 agar) dökülmüştür ve sonrasında MS

ortamı sol alt köşeden altta kalan çizgi referans alınarak 45°'lik açı ile kesilmiş, altta kalan MS kısmı çıkarılmıştır ve yerine uygulama grupları için planlanan konsantrasyonlarda NaCl ½ MS ortamı dökülmüştür.

Eşit büyüme gösteren bitkiler, kök ucu yeni dökülen uygulama ortamına 0.5-1 cm uzaklıkta yerleştirilmiştir. 22 °C sıcaklık, 150 µmol m⁻²s⁻¹ ışık şiddeti ve %70 bağıl nem altında kontrollü büyüme odasında (16 saat ışık/8 saat karanlık) kök kısımlarının karanlıkta kalacak şekilde petrileri kapatan ve 70°'lik açıda yatık konumda olmasını sağlayacak şekilde hazırlanmış petri kutularında tutulmuştur.

Bitkilerin halotropizmik yanıtının ölçülebilmesi için 24 saate bir 4 gün boyunca kök uçlarına işaretleme yapılmıştır. Nicel hesaplamaların yapılabilmesi için petriler tarayıcıda (300 dpi çözünürlükte) taranarak, elde edilen fotoğraflar ile ImageJ programı kullanılarak kök büyüme hızı ve kök sapma açısı belirlenmesi için veriler elde edilmiştir.

3.4. Kök Bükülme Açısı Ölçümleri

ImageJ programı ile taranmış petri fotoğrafları kullanılarak, halotropizmik yanıtın şiddetini belirleyebilmek için yer çekimi yönünde uygulamaların başlatıldığı ilk gün kök uçlarına koyulan işaretten bir dikme inilmiştir. Bu dikmeye göre, uygulamaların devam ettiği günlerde kök uçlarına koyulmaya devam edilmiş işaretler ile ilk işaret noktasının oluşturduğu doğrunun açısı hesaplanmıştır.

Bitki köklerinin yaptığı açılar belirlendikten sonra 180°'den çıkarılarak bitkilerin halotropizmik açıları elde edilmiştir. Elde edilen veriler ile şekil grafiği oluşturulmuştur.

ImageJ programı ile taranmış petri fotoğrafları kullanılarak uygulamaların başlamasından itibaren kök büyüme hızları hesaplanmıştır.

3.5. Köklerde ONOO- Varlığının Belirlenmesi

Halotropizmik yanıtı belirlenen bitkiler, Saito ve ark. (2006)'ya göre, halotropizmaya bağlı kök uçlarındaki ONOO- bulunma miktarının farklılıklarının belirlenmesi için aminophenyl fluorescein (APF) ile boyama yapılmıştır. Bitkiler 30 dakika boyunca 2.5 µM DAF-FM DA içeren 0.2 mM K-P (pH 7.4) tamponda bekletildikten sonra, 2 kez K-P (pH 7.4) tamponuyla yıkanmıştır. Yıkama işlemi sonrasında boyanmış bitkiler ile hazırlanan preparatlarda flüoresans mikroskop (Leica DM300) ile kök uçları görüntülenmiştir (eksitasyon 490 nm, emisyon 515 nm). Görüntülemeler sonucunda elde edilen görüntülerdeki flüoresan yoğunlukları ImageJ yazılımı ile hesaplanmış ve köklerdeki ONOO- varlığının dağılımı belirlenmiştir.

3.6. Köklerde NO Varlığının Belirlenmesi

Halotropizmik yanıtı belirlenen bitkiler, Kolbert ve ark. 2012'ye göre halotropizmaya bağlı kök uçlarındaki NO bulunma miktarının farklılıklarının belirlenmesi için köklerde DAF-FM DA (-amino-5-methylamino-2',7'-difluorofluorescein diacetate) ile boyanmıştır. Bitkiler 30 dakika boyunca 10 µM DAF-FM DA içeren 10 mM Tris-HCl (pH 7.2) tamponda bekletilmiş ve 2 defa Tris-HCl (pH 7.2) tamponuyla yıkanmıştır. Yıkama işlemi sonrasında boyanmış bitkiler ile hazırlanan preparatlarda flüoresans mikroskop (Leica DM300) ile kök uçları görüntülenmiştir (eksitasyon 485 nm, emisyon 520 nm). Görüntülemeler sonucunda elde edilen görüntülerdeki kök ucu flüoresan yoğunlukları ImageJ yazılımı ile hesaplanmış ve köklerdeki NO varlığının dağılımı belirlenmiştir.

4. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

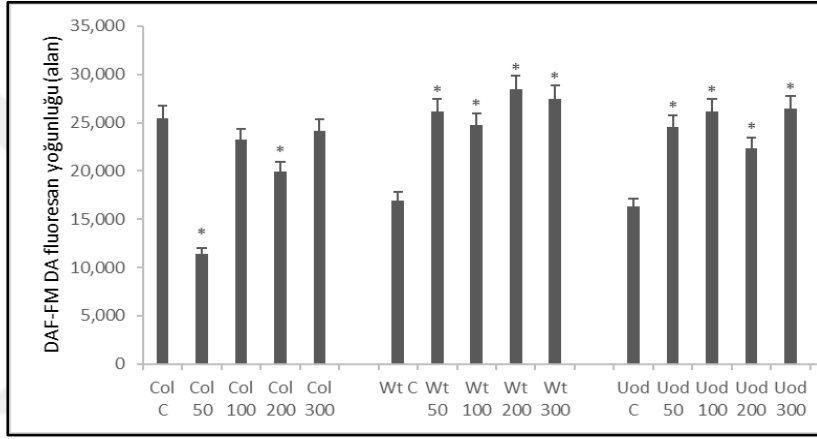
Denemeler iki biyolojik replika ve 3 teknik replika kullanılarak sonuçlandırılmıştır ($n = 2 \times 3 = 6$). Kullanılan grafiklerde ortalama sonuçlar kullanılmış, standart sapmaları hata çubuklarıyla göstermişlerdir. Gruplar kontrol grubuna göre ‘‘ student’ t-test’’ kullanılarak karşılaştırılmış, $p < 0,5$ ise anlamsız, $p < 0,05$ ise anlamlı (*) şeklinde belirtilmiştir.



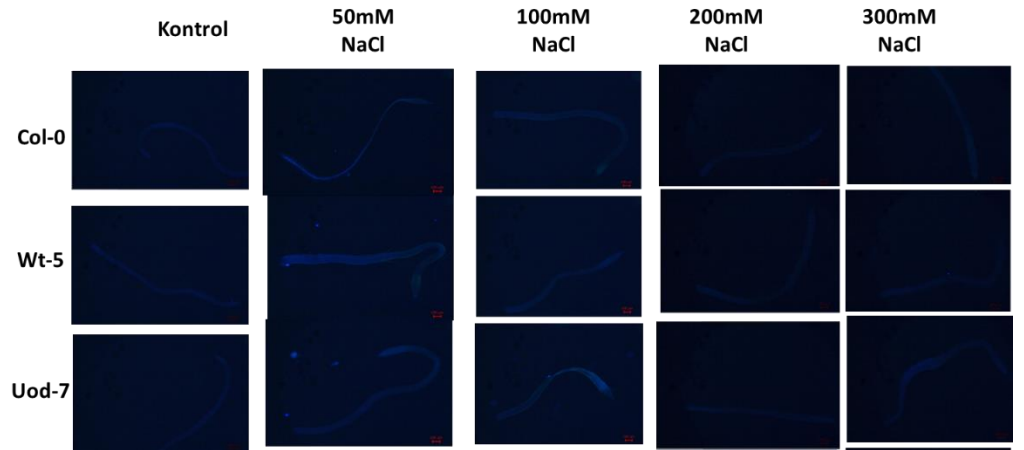
5. BULGULAR

5.1. Halotropizmik Yanıt Sırasında Köklerdeki NO Miktarı

Col-0 ekotipinde 50 mM NaCl ve 200 mM NaCl uygulamaları ile NO miktarı azalmıştır. Wt-5 ekotipinde 50 mM NaCl ile NO miktarı %54, 100mM NaCl ile %59, 200 mM NaCl ile %36 ve 300 mM NaCl ile %61 artmıştır. Uod-7 ekotipinde 50 mM NaCl NO miktarı %50, 100 mM NaCl ile %59, 200 mM NaCl ile %36, 300 mM NaCl ile %61 artmıştır. (Şekil 5.1.1., Şekil 5.1.2.).



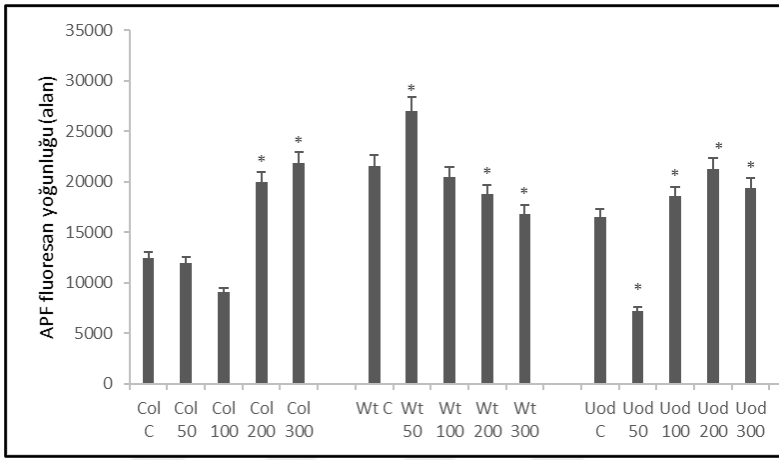
Şekil 5.1.1. *A. thaliana* (Wt-5, Col-0 ve Uod-7) bitkilerinde halotropizmik yanıt sırasında (DAF-FM DA) ile köklerde NO miktarı. Sütun üstündeki ‘*’ işareti istatistiki açıdan anlamlı ($p < 0,05$) olduğunu göstermektedir.



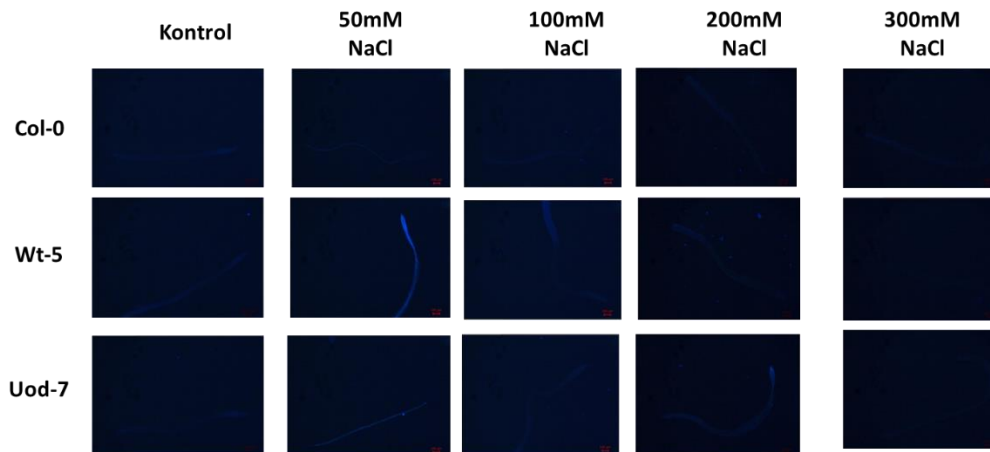
Şekil 5.1.2. *A. thaliana* (Wt-5, Col-0 ve Uod-7) bitkilerinde halotropizmik yanıt sırasında (DAF-FM DA) ile köklerde NO boyanması.

5.2. Halotropizmik Yanıt Sırasında Köklerde ONOO- Miktarı

Col-0 ekotipinde ONOO- miktarı 100 mM NaCl ile %28 azalırken, 200 mM NaCl ile %59, 300 mM NaCl ile %75 artmıştır. Wt-5 ekotipinde ONOO- miktarı 50 mM NaCl ile %25 artmıştır ve 200 mM NaCl ve 300 mM NaCl ile azalma belirlenmiştir. Uod-7 ekotipinde 50 mM NaCl ONOO- miktarını %56 azaltırken, 100 mM, 200 ve 300 NaCl uygulamaları sırasıyla %12, %29 ve %17 arttırmıştır. (Şekil 5.2.1., 5.2.2).



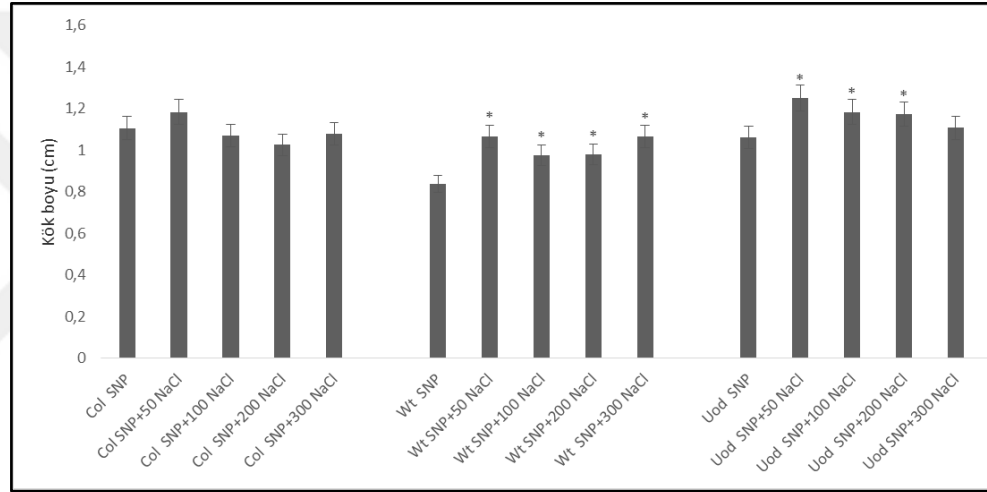
Şekil 5.2.1. *A. thaliana* (Wt-5, Col-0 ve Uod-7) bitkilerinde halotropizmik yanıt sırasında (APF) ile köklerde ONOO- miktarı. Sütun üstündeki '*' işareti istatistiki açıdan anlamlı ($p < 0,05$) olduğunu göstermektedir.



Şekil 5.2.2. *A. thaliana* (Wt-5, Col-0 ve Uod-7) bitkilerinde halotropizmik yanıt sırasında (APF) ile köklerde ONOO- boyanması.

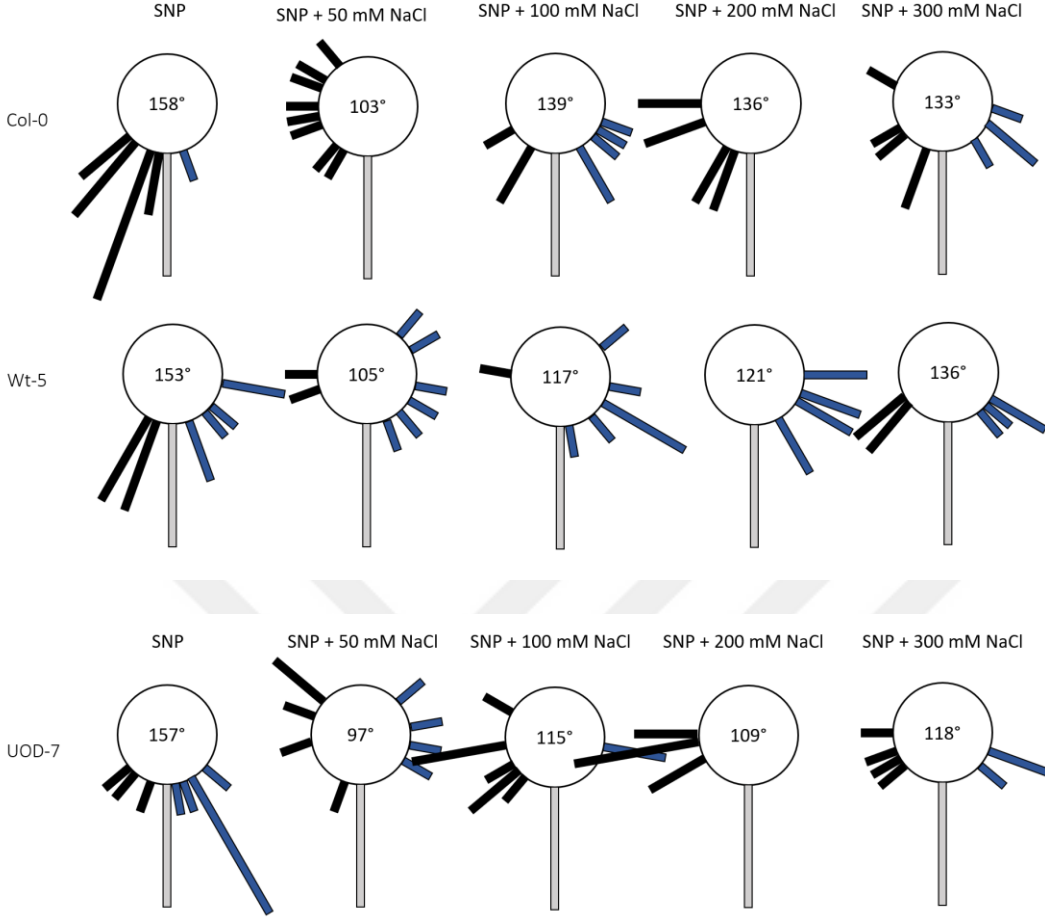
5.3. Halotropizmik Yanıtta SNP (NO donörü) ' nün Kök Uzamasına Etkileri

Col-0 ekotipinde tuz stresi altında SNP uygulamalarının kök uzaması üzerine anlamlı bir etkisi belirlenmemiştir. Wt-5 ekotipinde SNP uygulaması altında kök uzaması 50 mM NaCl ile %27, 100 mM NaCl ile %16, 200 mM NaCl ile %16 ve 300 mM NaCl ile %27 artış olarak ölçülmüştür. Uod-7 ekotipinde SNP uygulaması ile beraber verilen 50 mM NaCl kök uzamasında %17, 100 mM NaCl %11, 200 mM NaCl ile %10 artışlara neden olmuştur. (Şekil 5.3.1.).



Şekil 5.3.1. A. thaliana (Wt-5, Col-0 ve Uod-7) halotropizmik yanıtlarındaki SNP (NO donörü) ' nün kök uzamasına etkileri. Sütun üstündeki '*' işareti istatistiki açıdan anlamlı ($p < 0,05$) olduğunu göstermektedir.

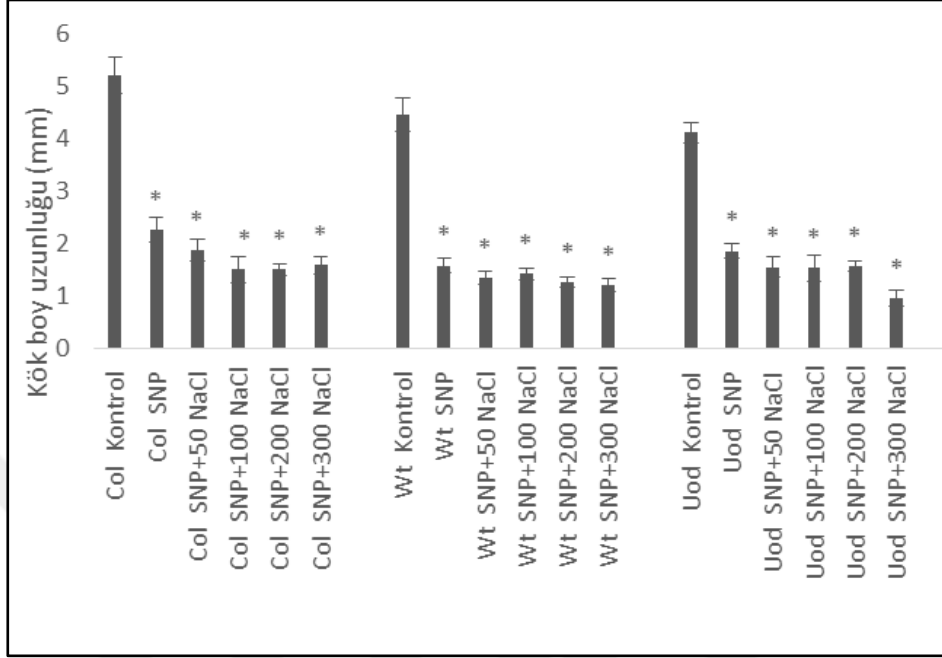
NO donörü olan SNP uygulaması halotropizmik yanıtı etkilemiştir. Örneğin Col-0 ekotipi 50 mM tuz uygulamasında halotropizma şiddetlenirken, özellikle Wt-5 ekotipinde halotropizma SNP uygulaması ile bazı bitkilerde kaybolmuştur ve bitkiler tuza yönelim göstermemiştir. Ancak kök büyüme boylarından da görüleceği gibi SNP uygulaması ya da SNP+NaCl uygulamaları kök büyüme hızını yavaşlatmıştır.



Şekil 5.3.2. *A. thaliana* (Wt-5, Col-0 ve Uod-7) halotropizmik yanıtlarındaki SNP (No donor) etkileri.

Col-0 ekotipi ile yapılan SNP uygulamasının bitkinin halotropizmik yanıtı üzerinde etkisi olduğu gözlenmiştir. Uygulamalar içerisindeki en düşük tuz konsantrasyonu uygulaması olan SNP+50 mM NaCl ise tüm uygulama grupları içerisinde en şiddetli halotropizmik yanıtı göstermiştir. SNP etkisinin azaldığı ve tuza yönelim gösteren uygulama grupları olduğunda görülmüştür. Wt-5 ekotipinin SNP uygulanmış bitki kök yöneliminin, tuz ve SNP uygulanmış bitkilerde SNP'nin etkisinin azaldığı görülmüştür ve bu durum en belirgin olarak SNP+50 mM NaCl uygulamasında görülmektedir. Tuz uygulaması yapılmış bitkilerin genelinde SNP etkisinin azalması ile tuza yönelimin devam ettiği görülmüştür. Uod-7 ekotipinde SNP etkisinin azaldığı ve tuza yönelim gösteren SNP, SNP+50 mM NaCl grupları olduğu görülmüştür. Kök yöneliminin SNP ve SNP+50mM NaCl uygulanmış Uod-7

ekotipine kıyasla, tuz konsantrasyonuna bağılı olarak halotropizmik bir tepki verdiği de görülmektedir. (Şekil 5.3.2.)



Şekil 5.3.3. *A. thaliana* (Wt-5, Col-0 ve Uod-7) halotropizmik yanıtlarındaki SNP (No donörü) 'nün kök boy uzunluğuna etkileri. Sütun üstündeki '*' işareti istatistiki açıdan anlamlı ($p < 0,05$) olduğunu göstermektedir.

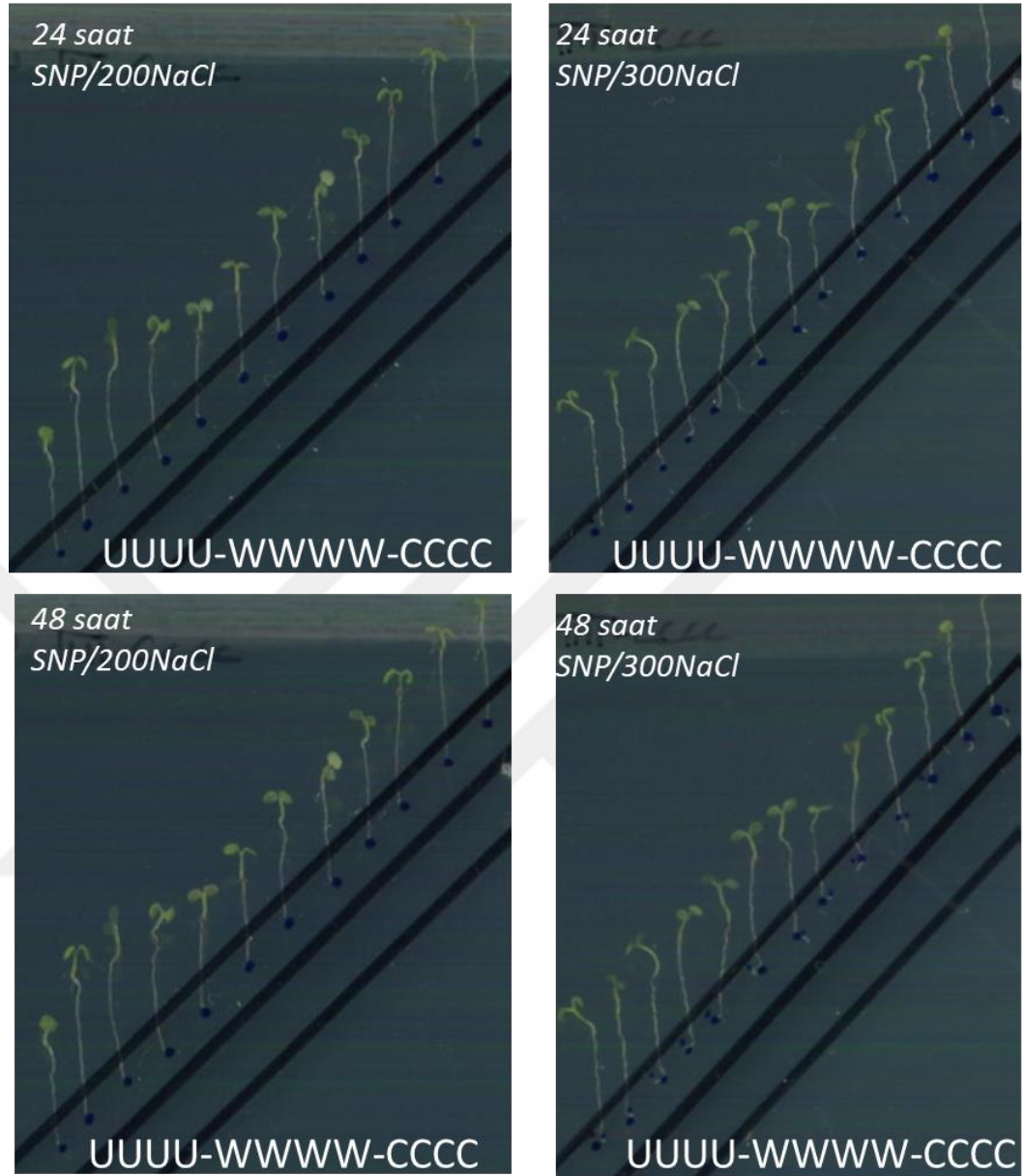
SNP uygulamaları sonucunda kontrol grupları SNP+300 NaCl dışındaki tüm uygulama gruplarında kök boy uzunluğu bakımından anlamlı değişim belirlenmiştir. Col-0 , Wt-5 ve Uod-7 ekotiplerinde SNP uygulamalarına kıyasla artan tuz konsantrasyonu ile birlikte köklerde boy uzamasının azaldığı görülmektedir. r. (Şekil 5.3.3.)

5.4. SNP Uygulamasının Tuz Stresi Altında Halotropizmik Etkileri

SNP, SNP+ 50 mM NaCl, SNP + 100 mM NaCl, SNP + 200 mM NaCl vs SNP + 300 mM NaCl içeren ½ MS ortamında büyütülen *A. thaliana* genotipleri

(Wt-5 (Wt), Col-0 (C), Uod-7(U) bitkilerinin fotoğrafları aşağıda sunulmuştur (Şekil 5.4.).





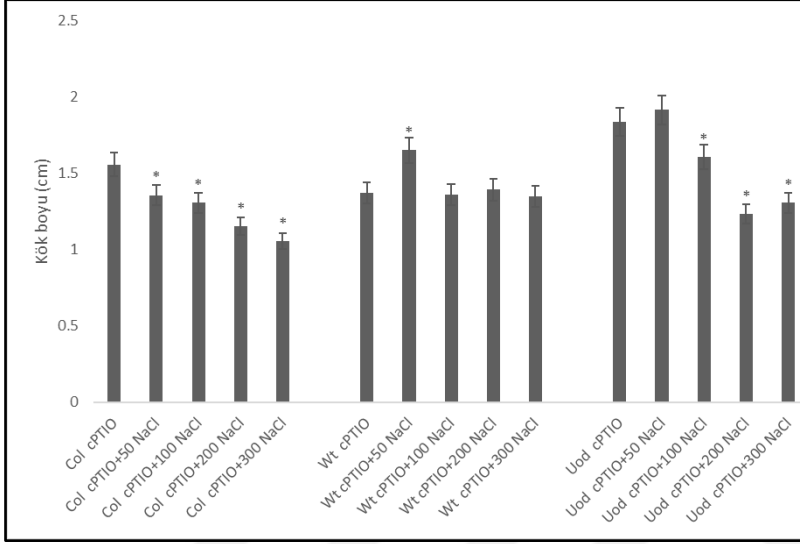
Şekil 5.4. SNP, SNP+ 50 mM NaCl, SNP + 100 mM NaCl, SNP + 200 mM NaCl vs SNP + 300 mM NaCl içeren ½ MS ortamında büyütülen *A. thaliana* genotipleri (Wt-5 (Wt), Col-0 (C), Uod-7(U), bitkilerinin genel görünümü.

5.5. NO Süpürücüsü cPTIO'nun Halotropizmik Yanıtı

Etkileri

NO süpürücüsü cPTIO eklenmiş ortamlarda Col-0'da tuz uygulamaları ile kök uzaması azalmıştır. Bu azalışlar 50 mM NaCl ile %15, 100 mM NaCl ile %17,

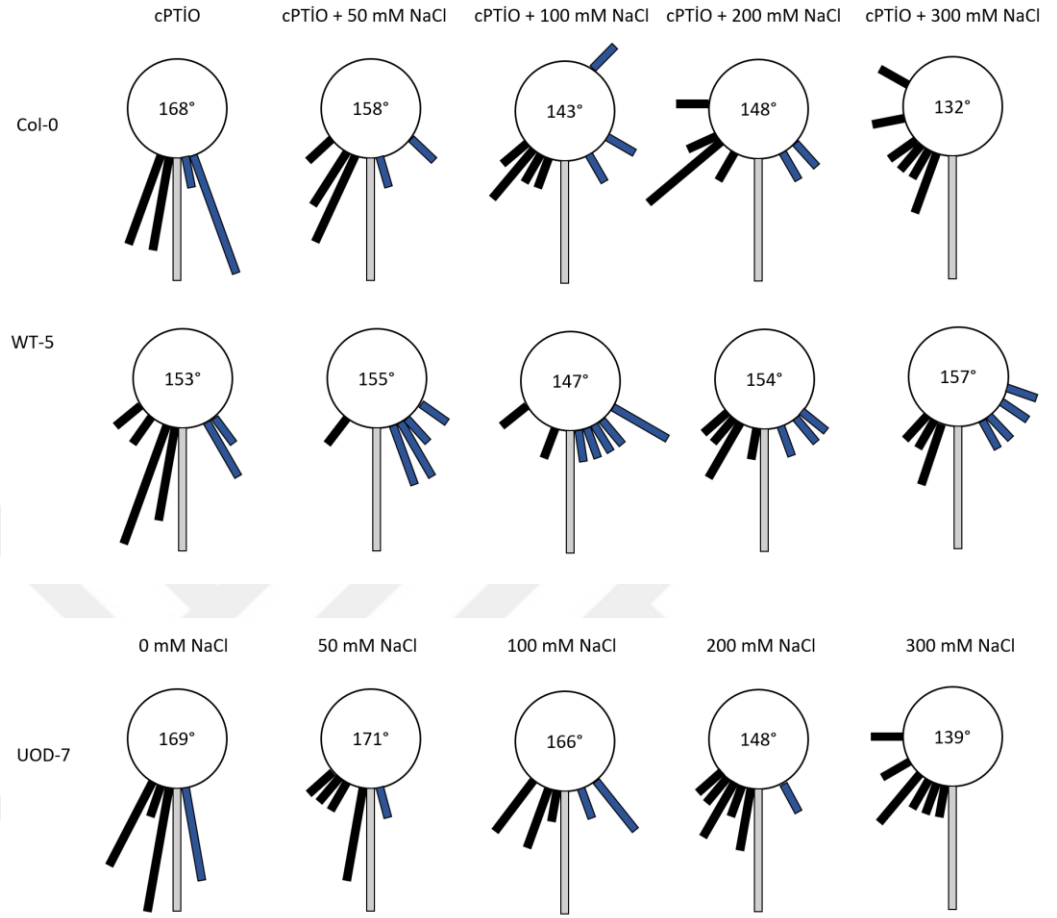
200 mM NaCl ile %27 ve 300 mM NaCl ile %32 olarak belirlenmiştir. Wt-5 ekotipinde cPTIO eklenmiş ortamlarda kök uzaması 50 mM NaCl ile %20 artmıştır. Diğer uygulamalar istatistiki olarak anlamlı değişikliklere yol açmamıştır. Uod-7 ekotipinde cPTIO eklenmiş ortamlarda 100 mM NaCl ile kök uzaması %13, 200 mM NaCl ile %33 ve 300 mM NaCl ile %29 oranlarında azalmıştır. (Şekil 5.5.).



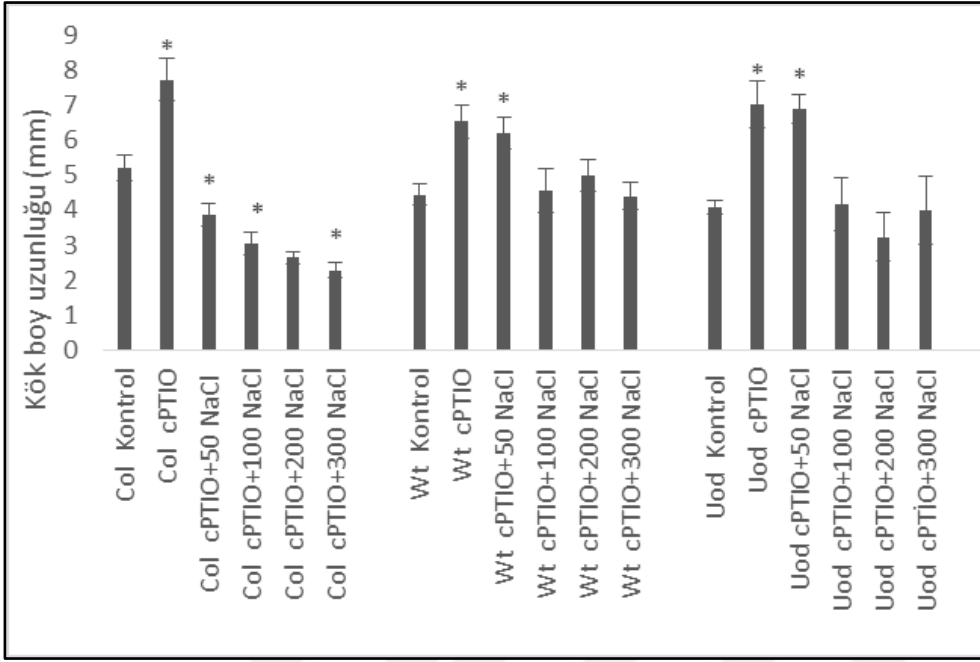
Şekil 5.5. *A. thaliana* (Wt-5, Col-0 ve Uod-7) halotropizmik yanıtlarındaki cPTIO (NO süpürücüsü) 'nün kök uzamasına etkileri. Sütun üstündeki '*' işareti istatistiki açıdan anlamlı ($p < 0,05$) olduğunu göstermektedir.

5.6. Halotropizmik Yanıtta cPTIO (NO süpürücüsü) 'nün Etkileri

Col-0 ekotipi kullanılan cPTIO uygulamalarına bakıldığında en şiddetli halotropizmik yanıtın cPTIO+300 mM NaCl uygulamasında olduğu görülmektedir. Col-0 ekotipinin halotropizmik yanıt veren bitki köklerinden sayıca az olsada tuza yönelim gösteren bitki kökleri olduğu görülmüştür. cPTIO uygulaması çalışmada kullanılan ekotiplerden Wt-5'in halotropizmik yanıtını olumsuz etkilemiştir ve bu ekotipte bazı bitkiler tuzlu ortama doğru yönelmiştir. Bitki sayısı bakımından tüm uygulama gruplarıyla kıyaslandığında Uod-7 ekotipinin cPTIO uygulamaları sonucunda en şiddetli halotropizmik yanıt veren bitki olduğu görülmüştür. Uod-7 ekotipi grupları içerisinde en şiddetli yanıt veren uygulama grubunun cPTIO+300 mM NaCl olduğu tespit edilmiştir. (Şekil 5.6.1.)



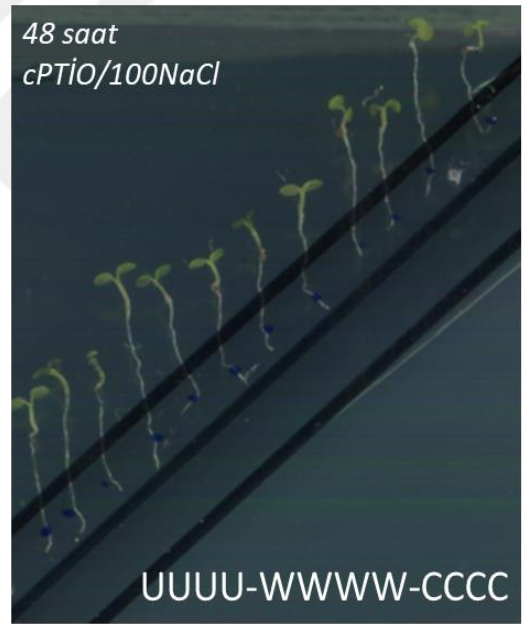
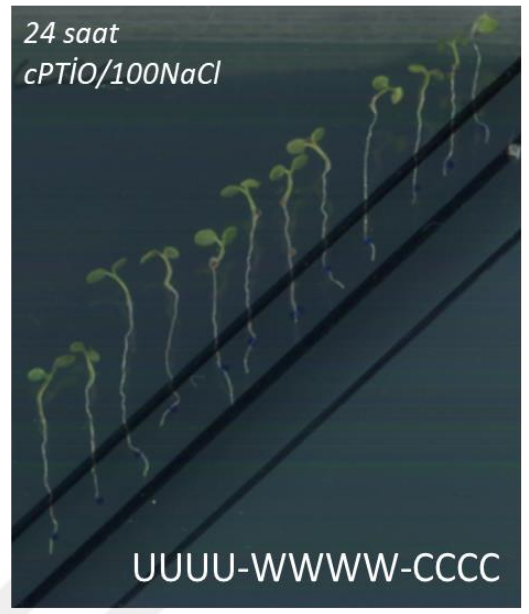
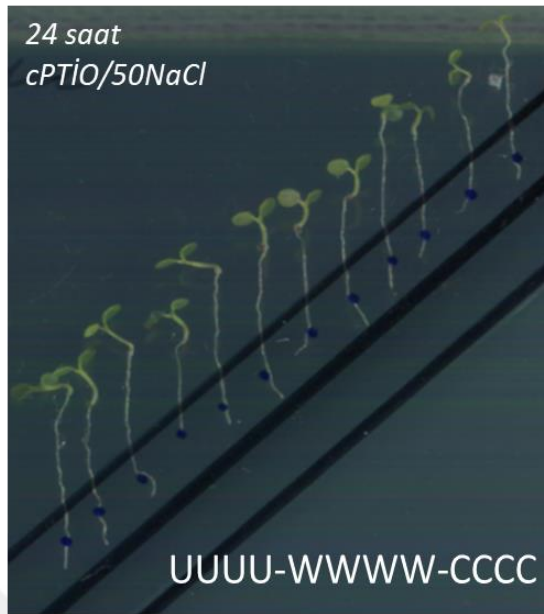
Şekil 5.6.1. *A. thaliana* (Wt-5, Col-0 ve Uod-7) halotropizmik yanıtlarındaki cPTIO (NO süpürücüsü) 'nün etkileri.

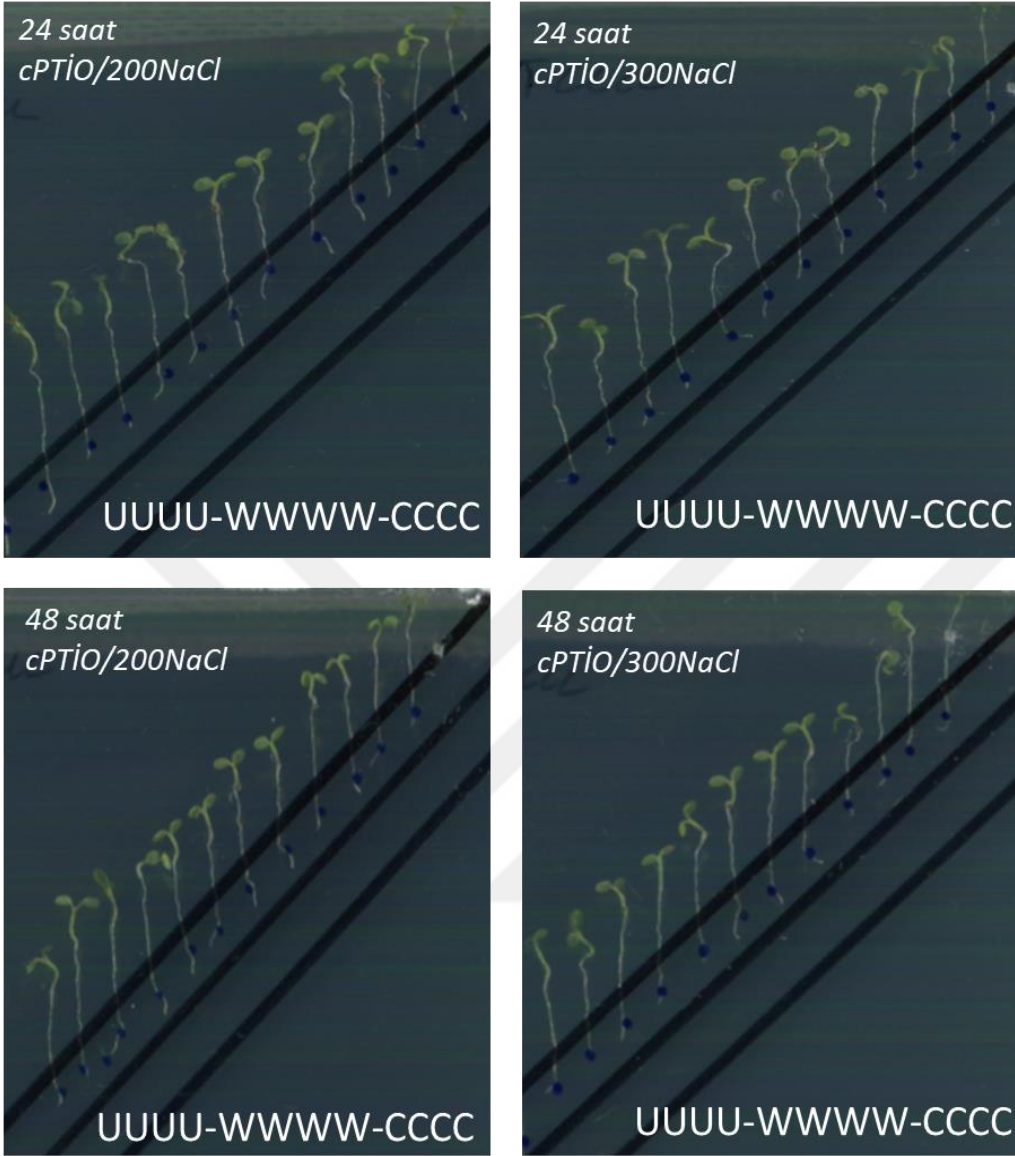


Şekil 5.6.2. *A. thaliana* (Wt-5, Col-0 ve Uod-7) halotropizmik yanıtlarındaki cPTIO (No süpürücüsü) ' nün kök boy uzunluğuna etkileri. Sütun üstündeki '*' işareti istatistiki açıdan anlamlı ($p < 0,05$) olduğunu göstermektedir.

Col-0 ekotipinin cPTIO, 50 mM NaCl, 100 mM NaCl ve 300 mM NaCl uygulamaları arasında anlamlı değişim belirlenmiş, diğer uygulamalar istatistiki olarak anlamlı bir değişime yol açmamıştır. Col-0 ekotipi bitkilerinde cPTIO uygulama grubunun en yüksek kök uzaması yaptığı ve cPTIO+300 mM uygulamasının 3 katı uzama gösterdiği görülmüştür. Wt-5 ve Uod-7 ekotiplerinin cPTIO ve cPTIO+50 mM NaCl gruplarında anlamlı değişim gözlenmiştir. cPTIO uygulanmış grupların cPTIO+50 mM NaCl kıyasla Wt-5 için %5, Uod-7 için %2 daha fazla kök uzunluğuna sahip olduğu görülmektedir. (Şekil 5.6.2.)

A. thaliana ekotiplerinin halotropizmik yanıtlarındaki cPTIO (NO süpürücüsü) ' nün etkilerini gösteren deneme fotoğrafları aşağıda sunulmuştur (Şekil 5.6.3.).





Şekil 5.6.3. *A. thaliana* (Wt-5, Col-0 ve Uod-7) halotropizmik yanıtlarındaki cPTiO (NO süpürücüsü) 'nün etkileri.

6. TARTIŞMA

Yüksek tuzluluk, yağış, sulama ve buharlaşmaya bağlı olarak farklı toprak katmanlarında eşit olmayan bir şekilde dağılan önemli bir abiyotik strestir. Bitkiler, çevresel faktörleri algılamak ve değişken ortamlarda hayatta kalmak için gerekli olan olumsuz koşullardan korunmaları için kompleks sinyal sistemleri geliştirmiştir (Lamers et al., 2020). Bu çalışmada, nitrik oksit metabolizmasının kök halotropizmini nasıl etkilediğini ve kök kıvrılmasındaki rollerinin mekanizmaları aydınlatılmıştır.

Halotropik kök bükülmesi, oksin biyosentezi ve yeniden dağıtımını gerektiren kök gravitropizmini kontrol etmektedir. Daha önce gerçekleştirilen çalışmalarda aux1 ve pin2 de dahil olmak üzere gravitropizmde kusurlu mutantların gelişmiş halotropik kök bükülmesi sergilediği gözlenmiştir. Gravitropizmin halotropik kök bükülmesini antagonize ettiğini gösterilmiştir. PIN2 gravitropizme birincil katkıda bulunurken, çoklu PIN'ler köklerde oksin taşınmasını düzenler. ve Halotropizm sırasında bu PIN proteinlerinin potansiyel işlevleri yüksektir. Oksin taşıyıcısı PIN2, çevresel uyaranlara yanıt olarak hızlı bir şekilde fosforilize edilir (Yuan et al., 2020), ancak SnRK2'lerin PIN proteinlerini uyarmak için fosforile edip etmediği henüz bilinmemektedir. Kök bükülmeden önce gravitropizm için oksin dağılımının tersi olan, kökün düşük tuz konsantrasyonuna bakan tarafında 2-6 saat boyunca artan oksin seviyelerinin gözlemlendiği bildirilmiştir (Galvan-Ampudia et al., 2013). Arabidopsis'deki mutant analizine dayanarak erken aşamada halotropizm için oksin yeniden dağıtımını gerekli görünmediğinden yukarıda bahsedilen asimetric oksin dağılımının halotropik kök bükülmesini kolaylaştırmak için gravitropizme karşı yönelim gösterip göstermediği henüz bilinmemektedir. Sağ taraftaki hücre uzamasının bükülme bölgesinde sınırlı olduğu görülmektedir ve bu da anizotropik hücre genişlemesindeki değişimin nasıl geri kazanıldığına dair başka bir soruyu gündeme getirmektedir. Bu durumun, SP2L'nin fosforilasyonu veya kök gravitropizminin yeniden kurulmasıyla ilişkili olabilir. ABA veya tuz stresinin neden olduğu SnRK2 aktivasyonu 0,5-1 saatte zirve yapar ve 1,5-2 saatte azalır (Komatsu et al., 2013). PIN2'nin endositozu, halo uyarımından 6 saat sonra meydana gelir (Galvan-Ampudia et al., 2013), bu da asimetric oksin dağılımını bir

miktar azaltabilir (Retzer et al., 2019). Bu nedenle, halotropik kök bükülmesi sırasında tropizmlerin antagonistik düzenlemelerini incelemek gerekmektedir.

Bitkilerin topraktaki tuz konsantrasyonuna tepki olarak kök büyüme yönlerini değiştirme yeteneğine halotropizma denir. Çalışmamız halotropizma üzerinde nitrik oksit (NO) etkisinin araştırılması amaçlamaktadır. Önceki çalışmalar, tuzluluk da dahil olmak üzere çeşitli abiyotik streslere karşı bitki tepkilerinde NO'nun çok önemli bir rol oynadığını bildirmiştir. Bununla birlikte, halotropizmada NO'nun rolü tam olarak anlaşılamamıştır. Araştırma, farklı tuz konsantrasyonlarına maruz bırakılan, NO donör ve NO süpürücü uygulaması yapılan tüm grupların flüoresan boyaması ile *Arabidopsis thaliana* ekotiplerinin kök dokularında NO üretiminin ölçümlerini içermektedir. Yapılan çalışmada *Arabidopsis thaliana*'nın halotropizmik özellikleri birbirinden farklı Col-0, Wt-5 ve Uod-7 ekotipleri kullanılmaktadır.

45°'lik açı ile dökülen ortamlarda halotropizmik yanıtları belirlenen *A. thaliana* (Wt-5, Col-0 ve Uod-7) bitkileri kullanılarak boyama prosedürleri gerçekleştirilmektedir. SNP (No donörü) ve cPTIO (NO süpürücüsü) *A. thaliana* ekotipleri Wt-5, Col-0 ve Uod-7' nin halotropizmik yanıtlarındaki değişimler araştırılmıştır. SNP uygulaması 10 µM , cPTIO uygulaması ise 100 µM olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

Kök dokularında yüksek tuz konsantrasyonlarına maruz kalmanın, NO üretiminde önemli bir artışa yol açtığı belirlenmiştir. NO donör ve NO süpürücüsü kullanılan deneylerde, NO üretiminin inhibisyonu tuz kaynağına doğru kök büyümesinin bozulmasına yol açtığı ve yapılan floresan boyamalar sonucunda, tuz konsantrasyonlarının artışına bağlı olarak NO üretiminin arttığı görülmektedir. Yapılan çalışma sonucunda NO'nun halotropizme bitki tepkisinde önemli bir rol oynadığını, tuz stresine karşı bitki toleransını geliştirmek için potansiyel bir hedef olarak kullanılabileceğini ve NO ile tuz stresi ilişkisine dair altta yatan mekanizmaları tam olarak aydınlatmak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğunu göstermektedir.

7. SONUÇLAR

Bitkiler, kök yapılarının esnekliği yoluyla toprak stresine uyum sağlar. Topraktaki bitki köklerinin dağılımı, su, yerçekimi ve ışık gibi birçok çevresel faktörden etkilenir. Bu faktörler arasında kök yapısının ayarlanması öncelikle su ve yerçekiminden etkilenir. Yer çekimine tepki olarak büyüme (gravitropizm), su (hidrotropizm) ve ışık (fototropizm) gibi bitkilerde gözlenen tropizmler detaylı bir şekilde çalışılmasına rağmen tuza karşı yönelim (halotropizm) üzerine literatürde yapılan çalışmalar kısıtlıdır. Nitrik oksit büyüme düzenleyicisi olarak ve sinyal molekülü olarak tanınan bir moleküldür. Bu tez çalışmasında literatürde ilk defa olarak nitrik oksitin tuz stresi altındaki bitkilerde kök kıvrılmasını nasıl etkilediği ve halotropizmdeki rolü aydınlatılmıştır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Albertos, P., Wlk, T., Griffiths, J., Pimenta Lange, M. J., Unterholzner, S. J., Rozhon, W., ... & Poppenberger, B.,** 2022, Brassinosteroid-regulated bHLH transcription factor CESTA induces the gibberellin 2-oxidase GA2ox7, *Plant Physiology*, 188(4), 2012-2025.
- Astier, J., Besson-Bard, A., Wawer, I., Parent, C., Rasul, S., Jeandroz, S., ... & Wendehenne, D.,** 2010, Nitric oxide signalling in plants: cross-talk with Ca²⁺, protein kinases and reactive oxygen species. *Annual Plant Reviews Volume 42*, 42, 147-170.
- Bao, F., Shen, J., Brady, S. R., Muday, G. K., Asami, T., & Yang, Z.,** 2004, Brassinosteroids interact with auxin to promote lateral root development in Arabidopsis, *Plant physiology*, 134(4), 1624-1631.
- Besson-Bard, A., Pugin, A., & Wendehenne, D.,** 2008, New insights into nitric oxide signaling in plants, *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59, 21-39.
- Bielach, A., Podlešáková, K., Marhavý, P., Duclercq, J., Cuesta, C., Müller, B., ... & Benková, E.,** 2012, Spatiotemporal regulation of lateral root organogenesis in Arabidopsis by cytokinin. *The Plant Cell*, 24(10), 3967-3981.
- Casimiro, I., Marchant, A., Bhalerao, R. P., Beckman, T., Dhooge, S., Swarup, R., ... & Bennett, M.,** 2001, Auxin transport promotes Arabidopsis lateral root initiation, *The Plant Cell*, 13(4), 843-852.
- Casimiro, I., Beckman, T., Graham, N., Bhalerao, R., Zhang, H., Casero, P., ... & Bennett, M. J.,** 2003, Dissecting Arabidopsis lateral root development, *Trends in plant science*, 8(4), 165-171.

KAYNAKLAR DİZİNİ(Devam)

- Chen, R., Hilson, P., Sedbrook, J., Rosen, E., Caspar, T., & Masson, P. H.,** 1998, The Arabidopsis thaliana AGRAVITROPIC 1 gene encodes a component of the polar-auxin-transport efflux carrier. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(25), 15112-15117.
- Corpas, F. J., Leterrier, M., Valderrama, R., Airaki, M., Chaki, M., Palma, J. M., & Barroso, J. B.,** 2011, Nitric oxide imbalance provokes a nitrosative response in plants under abiotic stress, *Plant Science*, 181(5), 604-611.
- Correa-Aragunde, N., Cejudo, F. J., & Lamattina, L.,** 2015, Nitric oxide is required for the auxin-induced activation of NADPH-dependent thioredoxin reductase and protein denitrosylation during root growth responses in arabidopsis, *Annals of Botany*, 116(4), 695-702.
- Della Rovere, F., Piacentini, D., Fattorini, L., Girardi, N., Bellanima, D., Falasca, G., ... & Betti, C.,** 2022, Brassinosteroids mitigate cadmium effects in Arabidopsis root system without any cooperation with nitric oxide, *International Journal of Molecular Sciences*, 23(2), 825.
- Deolu-Ajayi, A. O., Meyer, A. J., Haring, M. A., Julkowska, M. M., & Testerink, C.,** 2019, Genetic loci associated with early salt stress responses of roots. *IScience*, 21, 458-473.
- Dolan, L., Janmaat, K., Willemsen, V., Linstead, P., Poethig, S., Roberts, K., & Scheres, B.,** 1993, Cellular organisation of the Arabidopsis thaliana root, *Development*, 119(1), 71-84.
- Falasca, G., & Altamura, M. M.,** 2003, Histological analysis of adventitious rooting in Arabidopsis thaliana (L.) Heynh seedlings, *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 137(3), 265-273.

KAYNAKLAR DİZİNİ(Devam)

- Feng, W., Lindner, H., Robbins, N. E., & Dinneny, J. R.**, 2016, Growing out of stress: the role of cell-and organ-scale growth control in plant water-stress responses, *The Plant Cell*, 28(8), 1769-1782.
- Fernández-Marcos, M., Sanz, L., Lewis, D. R., Muday, G. K., & Lorenzo, O.**, 2011, Nitric oxide causes root apical meristem defects and growth inhibition while reducing PIN-FORMED 1 (PIN1)-dependent acropetal auxin transport, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(45), 18506-18511.
- Flowers, T. J., & Colmer, T. D.**, 2015, Plant salt tolerance: adaptations in halophytes, *Annals of botany*, 115(3), 327-331.
- Freschi, L.**, 2013, Nitric oxide and phytohormone interactions: current status and perspectives, *Frontiers in plant science*, 4, 398.
- Galvan-Ampudia, C. S., Julkowska, M. M., Darwish, E., Gandullo, J., Korver, R. A., Brunoud, G., & Testerink, C.**, 2013, Halotropism is a response of plant roots to avoid a saline environment, *Current Biology*, 23(20)
- Gilroy, S.**, 2008, Plant tropisms, *Current Biology*, 18(7), R275-R277.
- Glenn, E. P., Brown, J. J., & Blumwald, E.**, 1999, Salt tolerance and crop potential of halophytes, *Critical reviews in plant sciences*, 18(2), 227-255.
- González-García, M. P., Vilarrasa-Blasi, J., Zhiponova, M., Divol, F., Mora-García, S., Russinova, E., & Caño-Delgado, A. I.**, 2011, Brassinosteroids control meristem size by promoting cell cycle progression in Arabidopsis roots, *Development*, 138(5), 849-859.

KAYNAKLAR DİZİNİ(Devam)

- Gouvea, C. M. C. P., Souza, J. F., Magalhaes, A. C. N., & Martins, I. S.,** 1997, NO₂-releasing substances that induce growth elongation in maize root segments, *Plant Growth Regulation*, 21, 183-187.
- Grove, M. D., Spencer, G. F., Rohwedder, W. K., Mandava, N., Worley, J. F., Warthen Jr, J. D., ... & Cook Jr, J. C.,** 1979, Brassinolide, a plant growth-promoting steroid isolated from Brassica napus pollen, *Nature*, 281(5728), 216-217.
- Gupta, A., Singh, M., & Laxmi, A.,** 2015, Interaction between glucose and brassinosteroid during the regulation of lateral root development in Arabidopsis, *Plant physiology*, 168(1), 307-320.
- Hacham, Y., Holland, N., Butterfield, C., Ubeda-Tomas, S., Bennett, M. J., Chory, J., & Savaldi-Goldstein, S.,** 2011, Brassinosteroid perception in the epidermis controls root meristem size, *Development*, 138(5), 839-848.
- Hu, X., Neill, S. J., Tang, Z., & Cai, W.,** 2005, Nitric oxide mediates gravitropic bending in soybean roots, *Plant Physiology*, 137(2), 663-670.
- Ishida, T., Kurata, T., Okada, K., & Wada, T.,** 2008, A genetic regulatory network in the development of trichomes and root hairs, *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59, 365-386.
- Izzo, L. G., & Aronne, G.,** 2021, Root tropisms: New insights leading the growth direction of the hidden half, *Plants*, 10(2), 220.
- Julkowska, M. M., & Testerink, C.,** 2015, Tuning plant signaling and growth to survive salt, *Trends in plant science*, 20(9), 586-594.

KAYNAKLAR DİZİNİ(Devam)

- Koevoets, I. T., Venema, J. H., Elzenga, J. T. M., & Testerink, C.**, 2016, Roots withstanding their environment: exploiting root system architecture responses to abiotic stress to improve crop tolerance, *Frontiers in plant science*, 7, 1335.
- Kolbert, Z., Pető, A., Lehotai, N., Feigl, G., & Erdei, L.**, 2012, Long-term copper (Cu 2+) exposure impacts on auxin, nitric oxide (NO) metabolism and morphology of *Arabidopsis thaliana* L., *Plant Growth Regulation*, 68(2), 151-159.
- Korver, R. A., van den Berg, T., Meyer, A. J., Galvan-Ampudia, C. S., Ten Tusscher, K. H., & Testerink, C.**, 2020, Halotropism requires phospholipase D ζ 1-mediated modulation of cellular polarity of auxin transport carriers, *Plant, cell & environment*, 43(1), 143-158.
- Lamers, J., Van Der Meer, T., & Testerink, C.**, 2020, How plants sense and respond to stressful environments, *Plant Physiology*, 182(4), 1624-1635.
- Lanteri, M. L., Laxalt, A. M., & Lamattina, L.**, 2008, Nitric oxide triggers phosphatidic acid accumulation via phospholipase D during auxin-induced adventitious root formation in cucumber, *Plant Physiology*, 147(1), 188-198.
- Laplaze, L., Benkova, E., Casimiro, I., Maes, L., Vanneste, S., Swarup, R., ... & Bennett, M.**, 2007, Cytokinins act directly on lateral root founder cells to inhibit root initiation, *The Plant Cell*, 19(12), 3889-3900.
- Lira-Ruan, V., Mendivil, S. N., & Dubrovsky, J. G.**, 2013, Heuristic aspect of the lateral root initiation index: a case study of the role of nitric oxide in root branching, *Applications in plant sciences*, 1(10), 1300029.

KAYNAKLAR DİZİNİ(Devam)

- Lombardo, M. C., & Lamattina, L.**, 2012, Nitric oxide is essential for vesicle formation and trafficking in Arabidopsis root hair growth, *Journal of experimental botany*, 63(13), 4875-4885.
- Maathuis, F. J.**, 2014, Sodium in plants: perception, signalling, and regulation of sodium fluxes, *Journal of experimental botany*, 65(3), 849-858.
- Marhavý, P., Duclercq, J., Weller, B., Feraru, E., Bielach, A., Offringa, R., ... & Benková, E.**, 2014, Cytokinin controls polarity of PIN1-dependent auxin transport during lateral root organogenesis, *Current Biology*, 24(9), 1031-1037.
- Mata-Pérez, C., Sánchez-Calvo, B., Padilla, M. N., Begara-Morales, J. C., Valderrama, R., Corpas, F. J., & Barroso, J. B.**, 2017, Nitro-fatty acids in plant signaling: new key mediators of nitric oxide metabolism, *Redox Biology*, 11, 554-561.
- McLoughlin, F., & Testerink, C.**, 2013, Phosphatidic acid, a versatile water-stress signal in roots. *Frontiers in Plant Science*, 4, 525.
- Mittler, R.**, 2017, ROS are good, *Trends in plant science*, 22(1), 11-19.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Suzuki, N., Miller, G. A. D., Tognetti, V. B., Vandepoele, K., & Van Breusegem, F.**, 2011, ROS signaling: the new wave?, *Trends in plant science*, 16(6), 300-309.
- Munns, R., & Tester, M.**, 2008, Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59, 651-681.

KAYNAKLAR DİZİNİ(Devam)

- Mur, L. A., Hebelstrup, K. H., & Gupta, K. J.**, 2013, Striking a balance: does nitrate uptake and metabolism regulate both NO generation and scavenging?, *Frontiers in Plant Science*, 4, 288.
- Mur, L. A., Mandon, J., Persijn, S., Cristescu, S. M., Moshkov, I. E., Novikova, G. V., ... & Gupta, K. J.**, 2013, Nitric oxide in plants: an assessment of the current state of knowledge, *AoB plants*, 5, pls052.
- Muthert, L. W. F., Izzo, L. G., Van Zanten, M., & Aronne, G.**, 2020, Root tropisms: Investigations on earth and in space to unravel plant growth direction, *Frontiers in plant science*, 10, 1807.
- Neill, S. J., Desikan, R., & Hancock, J. T.**, 2003, Nitric oxide signalling in plants, *New Phytologist*, 159(1), 11-35.
- Orman-Ligeza, B., Parizot, B., Gantet, P. P., Beekman, T., Bennett, M. J., & Draye, X.**, 2013, Post-embryonic root organogenesis in cereals: branching out from model plants, *Trends in plant science*, 18(8), 459-467.
- Overvoorde, P., Fukaki, H., & Beekman, T.**, 2010, Auxin control of root development, *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 2(6), a001537.
- Pagnussat, G. C., Simontacchi, M., Puntarulo, S., & Lamattina, L.**, 2002, Nitric oxide is required for root organogenesis, *Plant physiology*, 129(3), 954-956.
- Parida, A. K., & Das, A. B.**, 2005, Salt tolerance and salinity effects on plants: a review, *Ecotoxicology and environmental safety*, 60(3), 324-349.

KAYNAKLAR DİZİNİ(Devam)

- Peer, W. A.**, 2013, From perception to attenuation: auxin signalling and responses, *Current opinion in plant biology*, 16(5), 561-568.
- Péret, B., De Rybel, B., Casimiro, I., Benková, E., Swarup, R., Laplace, L., ... & Bennett, M. J.**, 2009, Arabidopsis lateral root development: an emerging story, *Trends in plant science*, 14(7), 399-408.
- Pitts, R. J., Cernac, A., & Estelle, M.**, 1998, Auxin and ethylene promote root hair elongation in Arabidopsis, *The Plant Journal*, 16(5), 553-560.
- Rahman, A., Hosokawa, S., Oono, Y., Amakawa, T., Goto, N., & Tsurumi, S.**, 2002, Auxin and ethylene response interactions during Arabidopsis root hair development dissected by auxin influx modulators, *Plant Physiology*, 130(4), 1908-1917.
- Rahman, A., Takahashi, M., Shibasaki, K., Wu, S., Inaba, T., Tsurumi, S., & Baskin, T. I.**, 2010, Gravitropism of Arabidopsis thaliana roots requires the polarization of PIN2 toward the root tip in meristematic cortical cells, *The Plant Cell*, 22(6), 1762-1776.
- Reed, R. C., Brady, S. R., & Muday, G. K.**, 1998, Inhibition of auxin movement from the shoot into the root inhibits lateral root development in Arabidopsis, *Plant physiology*, 118(4), 1369-1378.
- Rutschow, H. L., Baskin, T. I., & Kramer, E. M.**, 2014, The carrier AUXIN RESISTANT (AUX1) dominates auxin flux into Arabidopsis protoplasts, *New Phytologist*, 204(3), 536-544.

KAYNAKLAR DİZİNİ(Devam)

- Saito, S., Yamamoto-Katou, A., Yoshioka, H., Doke, N., & Kawakita, K.,** 2006, Peroxynitrite generation and tyrosine nitration in defense responses in tobacco BY-2 cells, *Plant and Cell Physiology*, 47(6), 689-697.
- Seevers, P. M., Daly, J. M., & Catedral, F. F.,** 1971, The role of peroxidase isozymes in resistance to wheat stem rust disease, *Plant physiology*, 48(3), 353-360.
- Sanz-Luque, E., Ocaña-Calahorra, F., Llamas, A., Galvan, A., & Fernandez, E.,** 2013, Nitric oxide controls nitrate and ammonium assimilation in *Chlamydomonas reinhardtii*, *Journal of Experimental Botany*, 64(11), 3373-3383.
- Sanz, L., Albertos, P., Mateos, I., Sánchez-Vicente, I., Lechón, T., Fernández-Marcos, M., & Lorenzo, O.,** 2015, Nitric oxide (NO) and phytohormones crosstalk during early plant development, *Journal of experimental botany*, 66(10), 2857-2868.
- Shelef, O., Lazarovitch, N., Rewald, B., Golan-Goldhirsh, A., & Rachmilevitch, S.,** 2010, Root halotropism: salinity effects on *Bassia indica* root, *Plant Biosystems*, 144(2), 471-478.
- Singh, N., & Bhatla, S. C.,** 2018, Nitric oxide regulates lateral root formation through modulation of ACC oxidase activity in sunflower seedlings under salt stress, *Plant signaling & behavior*, 13(5), e1473683.
- Steffens, B., & Rasmussen, A.,** 2016, The physiology of adventitious roots, *Plant physiology*, 170(2), 603-617.

KAYNAKLAR DİZİNİ(Devam)

- Sun, J., Chen, S., Dai, S., Wang, R., Li, N., Shen, X., ... & Xu, Y.**, 2009, NaCl-induced alternations of cellular and tissue ion fluxes in roots of salt-resistant and salt-sensitive poplar species, *Plant physiology*, 149(2), 1141-1153.
- Sun, F., Zhang, W., Hu, H., Li, B., Wang, Y., Zhao, Y., ... & Li, X.**, 2008, Salt modulates gravity signaling pathway to regulate growth direction of primary roots in Arabidopsis, *Plant physiology*, 146(1), 178-188.
- Szepesi, Á.**, 2020, Halotropism: phytohormonal aspects and potential applications, *Frontiers in Plant Science*, 11.
- Taiz, L. and Zeiger, E.**, 2008, Plant Physiology, 4th Edition, Artmed, Porto Alegre, 819p.
- Testerink, C., & Munnik, T.**, 2004, Plant response to stress: phosphatidic acid as a second Messenger, *Encyclopedia of plant and crop science. New York, NY: Marcel Dekker*, 995-998.
- Tewari, R. K., Hahn, E. J., & Paek, K. Y.**, 2008, Function of nitric oxide and superoxide anion in the adventitious root development and antioxidant defence in Panax ginseng, *Plant Cell Reports*, 27, 563-573.
- van den Berg, T., Korver, R. A., Testerink, C., & Ten Tusscher, K. H.**, 2016, Modeling halotropism: a key role for root tip architecture and reflux loop remodeling in redistributing auxin, *Development*, 143(18), 3350-3362.
- Verbelen, J. P., Cnodder, T. D., Le, J., Vissenberg, K., & Baluška, F.**, 2006, The root apex of Arabidopsis thaliana consists of four distinct zones of growth activities: meristematic zone, transition zone, fast elongation zone and growth terminating zone, *Plant signaling & behavior*, 1(6), 296-304.

KAYNAKLAR DİZİNİ(Devam)

- Wang, Y., Li, K., & Li, X.**, 2009, Auxin redistribution modulates plastic development of root system architecture under salt stress in *Arabidopsis thaliana*, *Journal of plant physiology*, 166(15), 1637-1645.
- Wany, A., Foyer, C. H., & Gupta, K. J.**, 2018, Nitrate, NO and ROS signaling in stem cell homeostasis, *Trends in plant science*, 23(12), 1041-1044.
- Wilson, I. D., Neill, S. J., & Hancock, J. T.**, 2008, Nitric oxide synthesis and signalling in plants, *Plant, cell & environment*, 31(5), 622-631.
- Yang, Y., & Guo, Y.**, 2018, Unraveling salt stress signaling in plants, *Journal of integrative plant biology*, 60(9), 796-804.
- Yao, D., Vlessidis, A. G., & Evmiridis, N. P.**, 2004, Determination of nitric oxide in biological samples, *Microchimica Acta*, 147, 1-20.
- Zhao, L., Zhang, F., Guo, J., Yang, Y., Li, B., & Zhang, L.**, 2004, Nitric oxide functions as a signal in salt resistance in the calluses from two ecotypes of reed, *Plant Physiology*, 134(2), 849-857.
- Zhao, M. G., Tian, Q. Y., & Zhang, W. H.**, 2007, Nitric oxide synthase-dependent nitric oxide production is associated with salt tolerance in *Arabidopsis*, *Plant physiology*, 144(1), 206-217.
- Zhu, J. K.**, 2016, Abiotic stress signaling and responses in plants, *Cell*, 167(2), 313-324.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim boyunca eğitimime verdikleri katkılardan dolayı Sayın Prof. Dr. İsmail TÜRKAN, Prof.Dr. Melike BOR, Doç. Dr. Barış UZİLDAY ve Doç. Dr. Rengin ÖZGÜR UZİLDAY'a teşekkür ederim. Yapabileceklerimin sınırını keşfe çıktığım, severek çalıştığım, bursiyeri olduğum bu projeye beni dahil ederek eğitimime ve tez sürecime verdiği maddi-manevi desteği için tez danışmanım Doç. Dr. Rengin ÖZGÜR UZİLDAY hocama teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmaları sırasında birlikte çalıştığım arkadaşım Nil DEMİRCAN'a, daima yanımda olarak gösterdiği desteklerinden ve yaptığı katkılardan ötürü sevgili canım arkadaşım Oktay ÇETİN'e, çalışmalar sırasında ve en önemlisi verdiği manevi destekten dolayı çok kıymetli sevgili arkadaşım Selin AKBAŞ'a, yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen ve her zaman yanımdaki varlığını gösteren hocam Ar.Gör. Selin Su YİRMİBEŞOĞLU'na, teşekkür ederim.

Öğrenim hayatım boyunca maddi, manevi beni her türlü destekleyen ve bugün olduğum kişi olabilmemi sağlayan ve üzerimdeki emeğini asla ödeyemeyeceğim sevgili canım annem Nermin ARAT'a, yanımdaki varlığı için sevgili babam Kazım ARAT'a ve daima yanımda destekçim olan sevgili eşim Coşku KARAMAN'a teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

Büşra ARAT KARAMAN, 2014 yılında İzmir Karabağlar Nevvar Salih Anadolu Lisesinde orta öğrenim hayatını bitirmiştir. Ege Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Fen Bilgisi Öğretmenliği Bölümü'nden 2019 yılında mezun olmuştur. 2019 yılında Ege Üniversitesi, Meslek Yüksekokulu, Optisyenlik Bölümü'nde eğitimine devam etmiştir. 2021 yılında Ege Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Genel Biyoloji A.B.D.'da yüksek lisans eğitimine başlamıştır. 2021 yılında Ege Üniversitesi, Optisyenlik Bölümü'nden mezun olmuştur.

