

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BÜTÜNLEŞİK DOKTORA TEZİ

SOĞUK STRESİ ALTINDA GELİŞTİRİLMİŞ AYÇİÇEĞİ
(*Helianthus annuus* L.) BİTKİSİNDE bZIP, MYB, NAC, NF-YB VE WRKY TİPİ
TRANSKRİPSİYON FAKTÖR GENLERİNİN mRNA İFADE
SEVİYELERİNİN BELİRLENMESİ

Çiğdem DÖNMEZ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2018

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

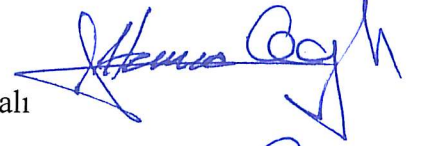
Çiğdem DÖNMEZ tarafından hazırlanan “Soğuk Stresi Altında Geliştirilmiş Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) Bitkisinde bZIP, MYB, NAC, NF-YB ve WRKY Tipi Transkripsiyon Faktör Genlerinin mRNA İfade Seviyelerinin Belirlenmesi” adlı tez çalışması 05/04/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda **BÜTÜNLEŞİK DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. E. Sümer ARAS
Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı



Jüri Üyeleri :

Başkan: Prof. Dr. Ergin HAMZAOĞLU
Gazi Üniversitesi Fen Bilgisi Eğitimi Anabilim Dalı



Üye : Prof. Dr. E. Sümer ARAS
Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı



Üye : Doç. Dr. Nur KOÇBERBER KILIÇ
Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı



Üye : Doç. Dr. Demet CANSARAN DUMAN
Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü



Üye : Dr. Öğr. Üyesi Esin BAŞARAN
Başkent Üniversitesi Anestezi Programı



Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Atila YETİŞEMİYEN
Enstitü Müdürü

ETİK

Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

05/04/2018



Çiğdem DÖNMEZ

ÖZET

Bütünleşik Doktora Tezi

SOĞUK STRESİ ALTINDA GELİŞTİRİLMİŞ AYÇİÇEĞİ (*Helianthus annuus* L.) BİTKİSİNDE bZIP, MYB, NAC, NF-YB VE WRKY TİPİ TRANSKRİPSİYON FAKTÖR GENLERİNİN mRNA İFADE SEVİYELERİNİN BELİRLENMESİ

Çiğdem DÖNMEZ

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. E. Sümer ARAS

Soğuk stresi, bitkilerin tarımsal verimliliğini sınırlayan en önemli çevresel faktörlerden biridir. Soğuk stresi, ciddi membran hasarına neden olabilir. Membran hasarı, soğuk yanıtında görev alan genlerin ve transkripsiyon faktörlerinin stres toleransına aracılık etmesi için bir sinyal oluşturur. bZIP, MYB, NAC, NF-YB ve WRKY transkripsiyon faktörü aileleri abiyotik ve biyotik stres faktörlerine karşı bitki yanıtlarında önemli roller oynamaktadır. Bu çalışmada, bu transkripsiyon faktör ailesi genlerinin mRNA ifade düzeyleri, ayçiçeğinde soğuk stresine karşı potansiyel işlevlerini araştırmak için ilk kez çalışılmıştır. Ayçiçeği fideleri (15 günlük) çeşitli zaman aralıklarında (0, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) bitki büyütme kabinde 4 °C’de inkübe edilerek soğuk stresine maruz bırakılmıştır. Yaprak ve köklerde soğuk stresinin bZIP, MYB, NAC, NF-YB ve WRKY genlerinin ifade profili üzerindeki etkilerini anlamak için kantitatif gerçek zamanlı PZR yapılmıştır. Ayrıca, yapraklarda ve köklerde malondialdehit (MDA) ve toplam çözünebilir protein içerikleri tespit edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda çalışmada kullanılan ayçiçeği çeşitleri arasında Tr-3080 çeşidinin daha duyarlı, Tarsan 1018 çeşidinin ise soğuk stres koşullarına karşı diğerlerine göre daha dirençli olduğu belirlenmiştir. Elde edilen tüm moleküler veriler birlikte değerlendirildiğinde bZIP, MYB, NAC, NF-YB ve WRKY genlerinin soğuk ile indüklendiği ve soğuk stresine yanıtta rol alabileceği söylenebilir. Ayrıca bu çalışmadan elde edilen verilerin soğuk stresine dayanıklı ayçiçeği çeşitlerinin elde edilmesine yönelik daha ileriki çalışmalara da katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Nisan 2018, 229 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Helianthus annuus* L., ayçiçeği, bZIP, MYB, NAC, NF-YB, WRKY, transkripsiyon faktörleri, soğuk stresi, kantitatif gerçek zamanlı PZR

ABSTRACT

Integrated Ph.D. Thesis

DETERMINATION OF mRNA EXPRESSION LEVELS OF bZIP, MYB, NAC, NF-YB AND WRKY TRANSCRIPTION FACTOR GENES IN SUNFLOWER (*Helianthus annuus* L.) PLANT GROWN UNDER COLD STRESS

Çiğdem DÖNMEZ

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. E. Sümer ARAS

Cold stress is one of the most important environmental factors that limits the agricultural productivity of plants. Cold stress can cause serious membrane damage. Membrane damage leads to a signal for cold-responsive genes and transcription factors to mediate stress tolerance. bZIP, MYB, NAC, NF-YB and WRKY transcription factor families play important roles in plant responses to abiotic and biotic stresses. In this study, mRNA expression levels of this transcription factor family genes were investigated for the first time, to investigate their potential functions in response to cold stress in sunflower. Plants (15-day-old) were subjected to cold stress by incubating at 4°C in plant growth cabinet for various time intervals (0, 2d, 4d, 6d, 8d, 10d). To understand the effects of cold stress on expression profile of bZIP, MYB, NAC, NF-YB and WRKY genes in leaves and roots, quantitative real time PCR was performed. In addition, malondialdehyde (MDA) and total soluble protein contents in the leaves and the roots were detected. All results showed that among the varieties of sunflower used in the study, Tr-3080 species was more sensitive species, whereas Tarsan 1018 variety was more resistant to cold stress conditions than the others. When all of the molecular data obtained from this study are evaluated together, we can say that bZIP, MYB, NAC, NF-YB and WRKY genes are induced by cold and may play a role in cold stress response. It is also thought that these results will contribute to further studies on generating new varieties of cold-tolerant sunflower.

April 2018, 229 pages

Key Words: *Helianthus annuus* L., sunflower, bZIP, MYB, NAC, NF-YB, WRKY, transcription factors, cold stress, quantitative real time PCR

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden büyük fayda gördüğüm, iyi niyeti ve hoşgörüsü ile yoluma daima ışık tutan, başarılı bilim insanı duruşuyla bana her zaman örnek olan değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. E. Sümer ARAS'a (Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı),

Doktora tez izleme komitemde yer alan ve her konuda benden desteklerini esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Demet CANSARAN DUMAN'a (Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü) ve Sayın Doç. Dr. Nur KOÇBERBER KILIÇ'a (Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı),

Tez jürimde yer alan ve değerli önerilerde bulunan Sayın hocalarım Prof. Dr. Ergin HAMZAOĞLU (Gazi Üniversitesi Fen Bilgisi Eğitimi Anabilim Dalı) ve Dr. Öğr. Üyesi Esin BAŞARAN'a (Başkent Üniversitesi Anestezi Programı),

Tezimi okuyarak katkıda bulunma nezaketini gösteren Sayın Prof. Dr. Ali DÖNMEZ'e (Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı),

Bu tezin her aşamasında yanımda olan ve hiçbir zaman benden kıymetli yardım ve desteğini esirgemeyen sevgili arkadaşım Öğr. Gör. Dr. Esra GÖKÇE GÜNDÜZER'e (Gazi Üniversitesi Yaşam Bilimleri Uygulama ve Araştırma Merkezi),

Her konuda gösterdikleri karşılıksız özveri ve maddi manevi her türlü destekle beni bugünlere getiren canım aileme en derin duygularıyla teşekkür ederim.

Çiğdem DÖNMEZ
Ankara, Nisan 2018

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI SAYFASI

ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiv
1. GİRİŞ	1
1.1 Ayçiçeği (<i>Helianthus annuus</i> L.)	2
1.1.1 Ayçiçeğinin tarihçesi	2
1.1.2 Ayçiçeğinin toprak ve iklim istekleri.....	3
1.1.3 Ayçiçeğinin ekonomik önemi ve Türkiye’deki üretimi	3
1.2 Bitkilerde Stres	4
1.3 Soğuk Stresinin Bitkiler Üzerindeki Çeşitli Etkileri.....	6
1.4 Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma Sistemleri	10
1.5 Transkripsiyon Faktörleri.....	12
1.5.1 bZIP transkripsiyon faktörleri	14
1.5.2 MYB transkripsiyon faktörleri.....	14
1.5.3 NAC transkripsiyon faktörleri	15
1.5.4 NF-YB transkripsiyon faktörleri.....	16
1.5.5 WRKY transkripsiyon faktörleri	16
2. KAYNAK ÖZETLERİ	18
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	25
3.1 Çalışmada Kullanılan Bitki Materyalinin Temin Edilmesi	25
3.1.1 Saray	25
3.1.2 Tarsan 1018	25
3.1.3 Tr-3080.....	26
3.2 Hoagland Besi Ortamının Hazırlanması.....	26
3.3 Bitki Stres Koşullarının Oluşturulması	27

3.4 Araştırma Basamakları İçin Çalışma Kodlarının Oluşturulması	29
3.5 Lipid Peroksidasyonunun Belirlenmesi (MDA Analizi)	31
3.6 Total Protein Miktarının Belirlenmesi.....	32
3.7 Total RNA İzolasyonu	33
3.7.1 Trizol protokolü	33
3.8 DNaz I Uygulaması	34
3.9 Formaldehit Agaroz Jel Elektroforezi	34
3.10 cDNA (Komplementer DNA) Sentezi	35
3.11 Primer Dizaynı	36
3.12 Real - Time PCR Uygulaması	40
3.13 Normalizasyon ve İstatistiksel Analiz	42
4. BULGULAR	43
4.1 Ayçiçeği Çesitlerinde Stres Uygulaması.....	43
4.2 Lipit Peroksidasyonu (MDA analizi) Sonuçları	45
4.3 Total Protein Miktarı Sonuçları	57
4.4 Total RNA İzolasyonu	69
4.5 cDNA (komplementer DNA) Sentezi.....	69
4.6 RT-PCR Sonuçlarının Normalizasyonu ve İstatistiksel Analizler	71
4.6.1 Soğuk stresine maruz bırakılan ayçiçeği çesitlerinin kök ve yapraklarında bZIP geni mRNA düzeyleri.....	71
4.6.2 Soğuk stresine maruz bırakılan ayçiçeği çesitlerinin kök ve yapraklarında MYB geni mRNA düzeyleri	91
4.6.3 Soğuk stresine maruz bırakılan ayçiçeği çesitlerinin kök ve yapraklarında NAC geni mRNA düzeyleri.....	111
4.6.4 Soğuk stresine maruz bırakılan ayçiçeği çesitlerinin kök ve yapraklarında NF-YB geni mRNA düzeyleri	131
4.6.5 Soğuk stresine maruz bırakılan ayçiçeği çesitlerinin kök ve yapraklarında WRKY geni mRNA düzeyleri	151
5. TARTIŞMA	172
5.1 Soğuk Stresinin MDA Düzeyine Etkisi	172
5.2 Soğuk Stresinin Total Protein Düzeyine Etkisi	177
5.3 Soğuk Stresine Maruz Bırakılan Ayçiçeği Çesitlerinin Kök ve Yapraklarında bZIP Geni mRNA Düzeylerinde Meydana Gelen Değişim	180
5.4 Soğuk Stresine Maruz Bırakılan Ayçiçeği Çesitlerinin Kök ve Yapraklarında MYB Geni mRNA Düzeylerinde Meydana Gelen Değişim	186

5.5 Soğuk Stresine Maruz Bırakılan Ayçiçeği Çesitlerinin Kök ve Yapraklarında NAC Geni mRNA Düzeylerinde Meydana Gelen Değişim	191
5.6 Soğuk Stresine Maruz Bırakılan Ayçiçeği Çesitlerinin Kök ve Yapraklarında NF-YB Geni mRNA Düzeylerinde Meydana Gelen Değişim	197
5.7 Soğuk Stresine Maruz Bırakılan Ayçiçeği Çesitlerinin Kök ve Yapraklarında WRKY Geni mRNA Düzeylerinde Meydana Gelen Değişim	201
6. SONUÇ	204
KAYNAKLAR	206
ÖZGEÇMİŞ.....	227

SİMGELER DİZİNİ

°C	Santigrad
B	Bor
C	Sitozin
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	Kalsiyum Nitrit
Ca ⁺²	Kalsiyum
Cl ⁻	Klor
Cu	Bakır
CuSO ₄ .5H ₂ O	Bakır Sülfat
Fe	Demir
g	Gram
g	Relatif Santrifüj Kuvveti
G	Guanin
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
H ₃ BO ₃	Borik Asit
K	Potasyum
K ₂ SO ₄	Potasyum Sülfat
KCl	Potasyum Klorür
kg	Kilogram
KH ₂ PO ₄	Potasyum Hidrojen Fosfat
L	Litre
M	Molar
mg	Miligram
Mg ⁺²	Magnezyum
MgSO ₄ .7H ₂ O	Magnezyum Sülfat
ml	Mililitre
mM	Milimolar
mmol	Milimol
Mn	Mangan
MnSO ₄	Mangan Sülfat
MOPS	4-Morfolinpropansulfonik asit
Na	Sodyum
NaAc	Sodyum Asetat
NaCl	Sodyum Klorür
NADPH	İndirgenmiş Glutasyon
NaOH	Sodyum Hidroksit
ng	Nanogram
NH ₄	Amonyum
NH ₄ Mo	Amonyum Molibdat
nm	Nanometre
nmol	Nanomol
NO ₃	Nitrat
O ₂	Oksijen
O ₂ ^{•-}	Süperoksit radikali
OH ⁻	Hidroksil radikali

P	Fosfor
pmol	Pikomol
rpm	Dakikadaki devir sayısı
s	Saniye
TBA	2-Tiyobarbiturik Asit
TCA	Triklor Asetik Asit
U	Ünite
Zn	Çinko
ZnSO ₄ .7H ₂ O	Çinko Sülfat
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
µM	Mikromolar

Kısaltmalar

A	Adenin
ABS	Absorbans
ACT	Aktin
APX	Askorbat Peroksidaz
bç	Baz Çifti
BHT	Butil Hidroksi Toluen
bZIP	Bazık lösin fermuar
C	Sitozin
CAT	Katalaz
cDNA	Tamamlayıcı DNA
Ct	PCR ürün miktarında ilk önemli artışın olduğu değer
DEPC	Dietil Pyrokarnonat
dH ₂ O	Distile Su
dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
EtBr	Etidyum Bromür
EtOH	Etil Alkol
FeEDTA	Demir Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
GPX	Guaia kol peroksidaz
GR	Glutasyon Redüktaz
GSH	Glutasyon
Gst1	Glutasyon S-transferaz 1
Hsp	Isı Şoku Proteini
kb	Kilobaz
MDA	Malondialdehit
MYB	Miyelobla stomatoz
mRNA	Mesajcı RNA
NF-Y	Nükleer faktör Y
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PEG	Polietilen Glikol
POD	Peroksidaz
qPCR	Kantitatif PCR

RNA	Ribonükleik Asit
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SOD	Süperoksit Dismutaz
T	Timin
TBA	2-Tiyobarbiturik Asit
TCA	Triklor Asetik Asit
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
U	Ünite



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 Bitkileri etkileyen bazı abiyotik stres faktörleri.....	5
Şekil 1.2 Bitkilerin abiyotik stres faktörlerine verdiği cevapların bazıları	6
Şekil 1.3 Soğuk stresinin bitkilerde etkileri	8
Şekil 1.4 Bitkilerde soğuk stresin genel sinyal iletim yolu	9
Şekil 1.5 Bitki hücrelerinde farklı organallerde antioksidant enzimlerin aktivitesi.....	12
Şekil 3.1 Sanyo MLR-351H bitki büyütme kabininde bitkilerin geliştirilmesi.....	28
Şekil 3.2 Her gün Hoagland besin solüsyonu ile sulanarak 15 gün geliştirilen ayçiçeği çeşitleri.....	28
Şekil 3.3 Plant transcription factor database (PlanTFDB v4.0) veri tabanına ait ekran görüntüsü.....	37
Şekil 3.4 Plant transcription factor database (PlanTFDB v4.0) veri tabanında yer alan bZIP transkripsiyon faktör genlerinden bir tanesine ait bilgi.....	38
Şekil 3.5 bZIP geni MEGA4 alignment görüntüsü.....	38
Şekil 3.6 bZIP geni için dizayn edilen primerlerin bağlanma bölgeleri	39
Şekil 3.7 NF-YB geni için dizayn edilen primerlerin bağlanma bölgeleri	39
Şekil 4.1 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidine ait fideler	43
Şekil 4.2 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidine ait fideler	44
Şekil 4.3 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidine ait fideler	44
Şekil 4.4 Saray ayçiçeği çeşidinin kök ve yapraklarında soğuk stresinin kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde gözlenen MDA düzeyleri.....	54
Şekil 4.5 Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin kök ve yapraklarında soğuk stresinin kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde gözlenen MDA düzeyleri.....	55
Şekil 4.6 Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin kök ve yapraklarında soğuk stresinin kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde gözlenen MDA düzeyleri.....	56
Şekil 4.7 Saray ayçiçeği çeşidinin kök ve yapraklarında soğuk stresinin kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde gözlenen protein düzeyleri.....	66
Şekil 4.8 Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin kök ve yapraklarında soğuk stresinin kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde gözlenen protein düzeyleri.....	67
Şekil 4.9 Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin kök ve yapraklarında soğuk stresinin kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde gözlenen protein düzeyleri.....	68
Şekil 4.10 İzole edilen RNA'lerden bazılarının formaldehit agaroz (FA) jel görüntüsü.....	69
Şekil 4.11 Soğuk stresi uygulanmış Saray çeşidinin kök ve yapraklarında kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde bZIP gen ifade düzeyleri.....	79

Şekil 4.12 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 çeşidinin kök ve yapraklarında kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde bZIP gen ifade düzeyleri.....	80
Şekil 4.13 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 çeşidinin kök ve yapraklarında kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde bZIP gen ifade düzeyleri.....	81
Şekil 4.14 Soğuk stresine maruz kalmış ayçiçeği çeşitlerinin köklerindeki bZIP gen ifade düzeyleri	82
Şekil 4.15 Soğuk stresine maruz kalmış ayçiçeği çeşitlerinin yapraklarındaki bZIP gen ifade düzeyleri	82
Şekil 4.16 Soğuk stresi uygulanmış Saray çeşidinin kök ve yapraklarında kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde MYB gen ifade düzeyleri.....	99
Şekil 4.17 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 çeşidinin kök ve yapraklarında kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde MYB gen ifade düzeyleri.....	100
Şekil 4.18 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 çeşidinin kök ve yapraklarında kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde MYB gen ifade düzeyleri.....	101
Şekil 4.19 Soğuk stresine maruz kalmış ayçiçeği çeşitlerinin köklerindeki MYB gen ifade düzeyleri	102
Şekil 4.20 Soğuk stresine maruz kalmış ayçiçeği çeşitlerinin yapraklarındaki MYB gen ifade düzeyleri	102
Şekil 4.21 Soğuk stresi uygulanmış Saray çeşidinin kök ve yapraklarında kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde NAC gen ifade düzeyleri	119
Şekil 4.22 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 çeşidinin kök ve yapraklarında kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde NAC gen ifade düzeyleri	120
Şekil 4.23 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 çeşidinin kök ve yapraklarında kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde NAC gen ifade düzeyleri	121
Şekil 4.24 Soğuk stresine maruz kalmış ayçiçeği çeşitlerinin köklerindeki NAC gen ifade düzeyleri.....	122
Şekil 4.25 Soğuk stresine maruz kalmış ayçiçeği çeşitlerinin yapraklarındaki NAC gen ifade düzeyleri.....	122
Şekil 4.26 Soğuk stresi uygulanmış Saray çeşidinin kök ve yapraklarında kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde NF-YB gen ifade düzeyleri.....	139
Şekil 4.27 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 çeşidinin kök ve yapraklarında kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde NF-YB gen ifade düzeyleri.....	140
Şekil 4.28 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 çeşidinin kök ve yapraklarında kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde NF-YB gen ifade düzeyleri.....	141
Şekil 4.29 Soğuk stresine maruz kalmış ayçiçeği çeşitlerinin köklerindeki NF-YB gen ifade düzeyleri	142
Şekil 4.30 Soğuk stresine maruz kalmış ayçiçeği çeşitlerinin yapraklarındaki NF-YB gen ifade düzeyleri	142

Şekil 4.31 Soğuk stresi uygulanmış Saray çeşidinin kök ve yapraklarında kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde WRKY gen ifade düzeyleri	159
Şekil 4.32 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 çeşidinin kök ve yapraklarında kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde WRKY gen ifade düzeyleri	160
Şekil 4.33 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 çeşidinin kök ve yapraklarında kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde WRKY gen ifade düzeyleri	161
Şekil 4.34 Soğuk stresine maruz kalmış ayçiçeği çeşitlerinin köklerindeki WRKY gen ifade düzeyleri.....	162
Şekil 4.35 Soğuk stresine maruz kalmış ayçiçeği çeşitlerinin yapraklarındaki WRKY gen ifade düzeyleri.....	162



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1 Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidant savunma sistemleri	11
Çizelge 3.1 Hoagland besi ortamı makro besin çözeltisi içeriği	26
Çizelge 3.2 Hoagland besi ortamı mikro besin çözeltisi içeriği	26
Çizelge 3.3 Hoagland besi ortamında bulunan iyonların son konsantrasyonları	27
Çizelge 3.4 Çalışmada kullanılan kodlamalar	29
Çizelge 3.5 Araştırma basamakları için oluşturulan çalışma kodları ve karşılıkları olan örnek adları	30
Çizelge 3.6 DNaz uygulamasında kullanılan bileşenler ve miktarları	34
Çizelge 3.7 FA jel hazırlamada kullanılan tamponların içeriği	35
Çizelge 3.8 cDNA sentezi için kullanılan bileşenler ve miktarları	35
Çizelge 3.9 Ters Transkripsiyon (RT-PCR) Reaksiyonu Komponentleri	36
Çizelge 3.10 Çalışmada kullanılan gen bölgeleri için tasarlanan primer dizileri	40
Çizelge 3.11 Real Time PCR reaksiyonu komponentleri	41
Çizelge 3.12 Real Time PCR reaksiyonunun gerçekleştiği program	41
Çizelge 4.1 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin köklerinde lipid peroksidasyonuna ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	45
Çizelge 4.2 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin yapraklarında lipid peroksidasyonuna ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	45
Çizelge 4.3 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin köklerinde lipid peroksidasyonuna ait Post Hoc Testi verileri	46
Çizelge 4.4 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin yapraklarında lipid peroksidasyonuna ait Post Hoc Testi verileri	48
Çizelge 4.5 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin köklerinde lipid peroksidasyonuna ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	48
Çizelge 4.6 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında lipid peroksidasyonuna ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	48
Çizelge 4.7 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin köklerinde lipid peroksidasyonuna ait Post Hoc Testi verileri	49
Çizelge 4.8 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında lipid peroksidasyonuna ait Post Hoc Testi verileri	50

Çizelge 4.9 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerinde lipid peroksidasyonuna ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	51
Çizelge 4.10 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında lipid peroksidasyonuna ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	51
Çizelge 4.11 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerinde lipid peroksidasyonuna ait Post Hoc Testi verileri	52
Çizelge 4.12 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında lipid peroksidasyonuna ait Post Hoc Testi verileri	53
Çizelge 4.13 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin köklerinde total proteine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	57
Çizelge 4.14 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin yapraklarında total proteine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	57
Çizelge 4.15 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin köklerinde total proteine ait Post Hoc Testi verileri	58
Çizelge 4.16 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin yapraklarında total proteine ait Post Hoc Testi verileri	59
Çizelge 4.17 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin köklerinde total proteine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	60
Çizelge 4.18 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında total proteine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	60
Çizelge 4.19 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin köklerinde total proteine ait Post Hoc Testi verileri	61
Çizelge 4.20 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında total proteine ait Post Hoc Testi verileri	62
Çizelge 4.21 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerinde total proteine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	63
Çizelge 4.22 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında total proteine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	63
Çizelge 4.23 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerinde total proteine ait Post Hoc Testi verileri	64
Çizelge 4.24 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında total proteine ait Post Hoc Testi verileri	65
Çizelge 4.25 RNA örneklerinden sentezlenmiş cDNA'ların saflık ve miktar tayinleri	70

Çizelge 4.26 Soğuk stresi uygulanmış Saray çeşidinin köklerinde bZIP genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri	72
Çizelge 4.27 Soğuk stresi uygulanmış Saray çeşidinin yapraklarında bZIP genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri	73
Çizelge 4.28 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 çeşidinin köklerinde bZIP genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri	74
Çizelge 4.29 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 çeşidinin yapraklarında bZIP genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri	75
Çizelge 4.30 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 çeşidinin köklerinde bZIP genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri	76
Çizelge 4.31 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 çeşidinin yapraklarında bZIP genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri	77
Çizelge 4.32 Soğuk stresi uygulanan örneklerin bZIP genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verilerinin ortalama, standart hata ve standart sapma değerleri	78
Çizelge 4.33 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin köklerinde bZIP genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	83
Çizelge 4.34 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin yapraklarında bZIP genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	83
Çizelge 4.35 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin köklerinde bZIP genine ait Post Hoc Testi verileri	84
Çizelge 4.36 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin yapraklarında bZIP genine ait Post Hoc Testi verileri	85
Çizelge 4.37 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin köklerinde bZIP genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	86
Çizelge 4.38 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında bZIP genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	86
Çizelge 4.39 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin köklerinde bZIP genine ait Post Hoc Testi verileri	87
Çizelge 4.40 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında bZIP genine ait Post Hoc Testi verileri	88
Çizelge 4.41 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerinde bZIP genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	89
Çizelge 4.42 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında bZIP genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	89

Çizelge 4.43 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerinde bZIP genine ait Post Hoc Testi verileri.....	90
Çizelge 4.44 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında bZIP genine ait Post Hoc Testi verileri.....	91
Çizelge 4.45 Soğuk stresi uygulanmış Saray çeşidinin köklerinde MYB genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri	92
Çizelge 4.46 Soğuk stresi uygulanmış Saray çeşidinin yapraklarında MYB genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri	93
Çizelge 4.47 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 çeşidinin köklerinde MYB genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri	94
Çizelge 4.48 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 çeşidinin yapraklarında MYB genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri	95
Çizelge 4.49 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 çeşidinin köklerinde MYB genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri	96
Çizelge 4.50 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 çeşidinin yapraklarında MYB genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri	97
Çizelge 4.51 Soğuk stresi uygulanan örneklerin MYB genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verilerinin ortalama, standart hata ve standart sapma değerleri	98
Çizelge 4.52 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin köklerinde MYB genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	103
Çizelge 4.53 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin yapraklarında MYB genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	103
Çizelge 4.54 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin köklerinde MYB genine ait Post Hoc Testi verileri.....	104
Çizelge 4.55 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin yapraklarında MYB genine ait Post Hoc Testi verileri.....	105
Çizelge 4.56 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin köklerinde MYB genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	106
Çizelge 4.57 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında MYB genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	106
Çizelge 4.58 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin köklerinde MYB genine ait Post Hoc Testi verileri.....	107
Çizelge 4.59 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında MYB genine ait Post Hoc Testi verileri.....	108

Çizelge 4.60 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerinde MYB genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	109
Çizelge 4.61 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında MYB genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	109
Çizelge 4.62 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerinde MYB genine ait Post Hoc Testi verileri.....	110
Çizelge 4.63 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında MYB genine ait Post Hoc Testi verileri.....	111
Çizelge 4.64 Soğuk stresi uygulanmış Saray çeşidinin köklerinde NAC genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri	112
Çizelge 4.65 Soğuk stresi uygulanmış Saray çeşidinin yapraklarında NAC genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri	113
Çizelge 4.66 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 çeşidinin köklerinde NAC genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri	114
Çizelge 4.67 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 çeşidinin yapraklarında NAC genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri.....	115
Çizelge 4.68 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 çeşidinin köklerinde NAC genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri	116
Çizelge 4.69 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 çeşidinin yapraklarında NAC genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri	117
Çizelge 4.70 Soğuk stresi uygulanan örneklerin NAC genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verilerinin ortalama, standart hata ve standart sapma değerleri	118
Çizelge 4.71 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin köklerinde NAC genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri.....	123
Çizelge 4.72 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin yapraklarında NAC genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	123
Çizelge 4.73 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin köklerinde NAC genine ait Post Hoc Testi verileri.....	124
Çizelge 4.74 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin yapraklarında NAC genine ait Post Hoc Testi verileri.....	125
Çizelge 4.75 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin köklerinde NAC genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	126
Çizelge 4.76 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında NAC genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	126

Çizelge 4.77 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin köklerinde NAC genine ait Post Hoc Testi verileri.....	127
Çizelge 4.78 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında NAC genine ait Post Hoc Testi verileri.....	128
Çizelge 4.79 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerinde NAC genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	129
Çizelge 4.80 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında NAC genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	129
Çizelge 4.81 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerinde NAC genine ait Post Hoc Testi verileri.....	130
Çizelge 4.82 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında NAC genine ait Post Hoc Testi verileri.....	131
Çizelge 4.83 Soğuk stresi uygulanmış Saray çeşidinin köklerinde NF-YB genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri	132
Çizelge 4.84 Soğuk stresi uygulanmış Saray çeşidinin yapraklarında NF-YB genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri	133
Çizelge 4.85 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 çeşidinin köklerinde NF-YB genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri	134
Çizelge 4.86 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 çeşidinin yapraklarında NF-YB genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri	135
Çizelge 4.87 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 çeşidinin köklerinde NF-YB genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri	136
Çizelge 4.88 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 çeşidinin yapraklarında NF-YB genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri	137
Çizelge 4.89 Soğuk stresi uygulanan örneklerin NF-YB genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verilerinin ortalama, standart hata ve standart sapma değerleri	138
Çizelge 4.90 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin köklerinde NF-YB genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	143
Çizelge 4.91 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin yapraklarında NF-YB genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	143
Çizelge 4.92 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin köklerinde NF-YB genine ait Post Hoc Testi verileri	144
Çizelge 4.93 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin yapraklarında NF-YB genine ait Post Hoc Testi verileri	145

Çizelge 4.94 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin köklerinde NF-YB genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	146
Çizelge 4.95 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında NF-YB genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	146
Çizelge 4.96 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin köklerinde NF-YB genine ait Post Hoc Testi verileri	147
Çizelge 4.97 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında NF-YB genine ait Post Hoc Testi verileri	148
Çizelge 4.98 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerinde NF-YB genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	149
Çizelge 4.99 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında NF-YB genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	149
Çizelge 4.100 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerinde NF-YB genine ait Post Hoc Testi verileri	150
Çizelge 4.101 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında NF-YB genine ait Post Hoc Testi verileri	151
Çizelge 4.102 Soğuk stresi uygulanmış Saray çeşidinin köklerinde WRKY genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri	152
Çizelge 4.103 Soğuk stresi uygulanmış Saray çeşidinin yapraklarında WRKY genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri	153
Çizelge 4.104 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 çeşidinin köklerinde WRKY genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri	154
Çizelge 4.105 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 çeşidinin yapraklarında WRKY genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri	155
Çizelge 4.106 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 çeşidinin köklerinde WRKY genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri	156
Çizelge 4.107 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 çeşidinin yapraklarında WRKY genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri	157
Çizelge 4.108 Soğuk stresi uygulanan örneklerin WRKY genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verilerinin ortalama, standart hata ve standart sapma değerleri.....	158
Çizelge 4.109 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin köklerinde WRKY genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	163

Çizelge 4.110 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin yapraklarında WRKY genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	163
Çizelge 4.111 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin köklerinde WRKY genine ait Post Hoc Testi verileri.....	164
Çizelge 4.112 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin yapraklarında WRKY genine ait Post Hoc Testi verileri.....	165
Çizelge 4.113 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin köklerinde WRKY genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	166
Çizelge 4.114 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında WRKY genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	166
Çizelge 4.115 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin köklerinde WRKY genine ait Post Hoc Testi verileri.....	167
Çizelge 4.116 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında WRKY genine ait Post Hoc Testi verileri.....	168
Çizelge 4.117 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerinde WRKY genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	169
Çizelge 4.118 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında WRKY genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri	169
Çizelge 4.119 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerinde WRKY genine ait Post Hoc Testi verileri.....	170
Çizelge 4.120 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında WRKY genine ait Post Hoc Testi verileri.....	171

1. GİRİŞ

Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.), dünyada yaygın olarak yetiştirilen yağ bitkileri arasında yer almaktadır. Bu yaz bitkisi esas olarak, bitki üretiminde sınırlayıcı faktör olarak rol oynayan genellikle bir ya da daha fazla sayıda abiyotik stresin bulunduğu yarı-kurak iklim koşullarında ve marjinal olarak nitelendirilen topraklarda yetiştirilmektedir. Fakat, ayçiçeği bitkisi birçok bitki ile karşılaştırıldığında stres koşullarına en iyi dayanabilen bir bitki olarak karşımıza çıkmaktadır (Škorić 2009).

Ayçiçeği kuraklığa nispeten toleranslı olmasına rağmen verimini düşüren önemli faktörlerden biri de kuraklıktır (Alahdadi vd. 2011, Killi vd. 2017) Ayçiçeği gelişiminin kritik dönemi çiçeklenme ve tahıl dolumu evreleridir (Hewezi vd. 2006). Kritik gelişim evrelerinde kuraklığın olumsuz etkilerini önlemenin çeşitli yolları vardır. Örneğin; toleranslı genotiplerin yetiştirilmesi ve çoğaltılması, büyüme düzenleyicilerinin uygulanması ya da erken ekim yapılması kuraklık döneminden kaçınılmasına olanak tanımaktadır (Allinne vd. 2009, Hussain vd. 2013, Adiredjo vd. 2014, Houmanat vd. 2016, Hniličková vd. 2017).

Ilıman bölgelerde geleneksel ekim yöntemleri ile karşılaştırıldığında, erken ekim yapılması ayçiçeğinin gelişiminin ilk safhalarında uzun bir süre düşük sıcaklığa maruz kalmasına neden olmaktadır. Düşük sıcaklıklar, gen ifadesi ve bitki metabolizmasının çeşitli biyolojik fonksiyonları üzerinde etkilidir (Janmohammadi vd. 2015, Hniličková vd. 2017). Ancak, ayçiçeğinin düşük sıcaklıklara tepkisinin moleküler temelleri hakkında bilgiler hala eksiktir.

bZIP, MYB, NAC, NF-YB ve WRKY tipi transkripsiyon faktörlerine ait genler bitkilerde özel transkripsiyon faktörlerinin en geniş ailelerini oluşturmaktadır. Bu ailelerde yer alan proteinler gelişim, savunma ve abiyotik stres tepkileri gibi birçok süreçle ilişkilidir. bZIP, MYB, NAC, NF-YB ve WRKY tipi transkripsiyon faktörlerine ait genlerin ayçiçeği bitkisinde soğuk stresindeki rollerini anlamaya yönelik çalışmalar literatüre henüz kazandırılmamıştır.

1.1 Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.)

Latince adı *Helianthus annuus* L. olan ayçiçeği, Compositae (Asteraceae) familyasının *Helianthus* cinsine bağlı bir bitkidir. *Helianthus* cinsine bağlı tek yıllık ve çok yıllık 67 tür bulunmaktadır (Heiser 1976). Bu türler içinde yer alan *H. annuus* ve *H. tuberosus* L. gıda amaçlı olarak ülkemizde yetiştirilmekte olup, diğer türler genellikle süs bitkisi olarak kullanılmaktadır (Arıoğlu 1999).

Helianthus adı, Yunanca helios (güneş) ve anthos (çiçek) sözcüklerinden türetilmiştir. Güneşi takip ettikleri ve her zaman doğrudan güneş ışınlarına yöneldikleri varsayımından bu çiçekler İngilizce “sunflower”, İspanyolca "girasol" ve Fransızca "tournesol" yani güneş çiçeği olarak adlandırılmıştır. Işığa yönelme özelliğinden dolayı ayçiçeğine Trakya ve Marmara Bölgesinde “günebakan” veya “gündöndü” de denilmektedir (Fernández-Luqueño vd. 2014, Süzer 2014).

1.1.1 Ayçiçeğinin Tarihçesi

Ayçiçeği bitkisinin kökenini Kuzey Amerika'dan aldığı ve M.Ö. 3000 yıllarında yerli Amerikalılar tarafından yetiştirilmeye başlandığı düşünülmektedir. M.Ö. 3000 yılından bu yana, süs bitkisi, tıbbi, beslenme, ham madde, yem, tekstil endüstrisi için boya, vücut boyama, süslemeler vb. gibi dünya çapında çok çeşitli amaçlarla ayçiçeği kullanımlarının olduğu bildirilmiştir (Fernández-Luqueño vd. 2014). Ayçiçeği bir yağ bitkisi olarak ilk olarak Rusya'da üretilmiş ve ardından tüm Avrupa'ya yayılmıştır. II. Dünya savaşıdan sonra 1945-50'li yıllarda, ayçiçeği ülkemize Bulgaristan'dan ülkemize göç eden vatandaşlarımızın getirdiği tohumlar sayesinde girmiş ve tarımı yapılmaya başlanmıştır. Ancak esas üretim ve ekim alanı artışı, 1980'li yıllardan sonra hibritlerin ülkemize girmesiyle olmuştur (<http://arastirma.tarim.gov.tr> 2014a).

1.1.2 Ayçiçeğinin toprak ve iklim istekleri

Ayçiçeği, karasal ve ılıman iklim koşullarında yetiştirilen bir bitkidir. Çimlenmenin olabilmesi için, toprak sıcaklığının 8-10 °C olması gerekmektedir. Ayçiçeğinin en uygun yetiştirme sıcaklığı 21-26 °C'ler arasındadır. Ayçiçeği bitkisi fide döneminde soğuklara karşı oldukça dayanıklıdır. Fide döneminden 6–8 yapraklı döneme kadar ayçiçeğinin soğuğa direnci kademeli olarak azalmakta olup, düşük sıcaklıklara (-5 °C'ye kadar) kısa süreli olarak dayanabilmektedir. Daha ileri gelişme evrelerinde ise bitki 0 °C'de zarar görmektedir (agr.ege.edu.tr 2004).

Toprak isteği bakımından fazla seçici değildir. Ancak, organik madde bakımından zengin, derin ve su tutma kapasitesi iyi topraklarda yüksek verim potansiyeline sahiptir. Ekim zamanında iyi çimlenmenin olması için toprak sıcaklığının en az 8-10 °C olması gerekmektedir. Bölgelere göre ayçiçeği ekimi değişmekte olup Ege, Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde Mart, Marmara, Orta Anadolu ve Karadeniz Bölgelerinde Nisan, Doğu Anadolu Bölgesinde Mayıs aylarında ayçiçeği ekimi yapılmaktadır. Ayçiçeği kuru şartlarda yetiştirilecekse, ekim olabildiğince erken yapılmalıdır. Erken ekim yapılması, kış ve ilkbahar yağışlarından ayçiçeğinin daha iyi yararlanmasını sağlar (agr.ege.edu.tr 2004).

1.1.3 Ayçiçeğinin ekonomik önemi ve Türkiye'deki üretimi

Dünyada ve ülkemizde en önemli yağ bitkilerinden biri olan ayçiçeği çoğunlukla yağlık olarak yetiştirilmektedir. Ayçiçeği yağı, yemeklik kalitesi yönünden tercih edilen bitkisel yağlar arasında ilk sırayı almaktadır. Dolayısıyla birçok ülkede de, tarımı ekonomik düzeyde yapılmaktadır. Ayçiçeği yağı, içerdiği doymamış yağ asitleri oranının yüksek olması nedeniyle beslenme değeri en yüksek olan bitkisel yağlardan birisidir. Ayçiçeğinin, yemeklik yağ gereksiniminin karşılanması için yetiştirilen önemli bir bitki olmasının yanı sıra kuş yemi, çerezlik, süs bitkisi ve pastanecilik sektöründe ekmek, pasta, kurabiye gibi gıdalarda da kullanılmaktadır. Ayrıca demir, potasyum ve vitamin E bakımından zengin olması, önemli bir linoleik asit kaynağı olması, insan vücudunda A, D, E, K gibi yağda eriyen vitaminleri çözmesi ve kandaki kolesterol

seviyesinin düşmesine yardımcı olması gibi özelliklere sahip olması ayçiçeğinin insan sağlığı ve beslenmesindeki önemini de ortaya koymaktadır (<http://koop.gtb.gov.tr> 2015, Gül vd. 2016).

Amerikan Tarım Bakanlığı Dış Tarım Servisinin (USDA FAS) 2015/16 verilerine göre; dünya yağlı tohum üretiminde 313 milyon tonluk üretim ile soya fasulyesi ilk sırada yer almaktadır. Bunu 313 milyon tonla kanola, 40,56 milyon tonla yerfıstığı, 40,51 milyon tonla ayçiçeği, 35,9 milyon tonla pamuk tohumu ve 15,9 milyon tonla palmye çekirdeği izlemektedir (<http://www.tarsusticaretborsasi.com> 2017). Ülkemizde ise en önemli bitkisel yağ kaynağı olarak ilk sırayı 1,68 milyon ton ile ayçiçeği yer alırken, bunu 1,21 milyon ton ile çiğit, 161 bin ton ile soya ve 120 bin ton ile kolza izlemektedir (<http://www.tuik.gov.tr> 2017).

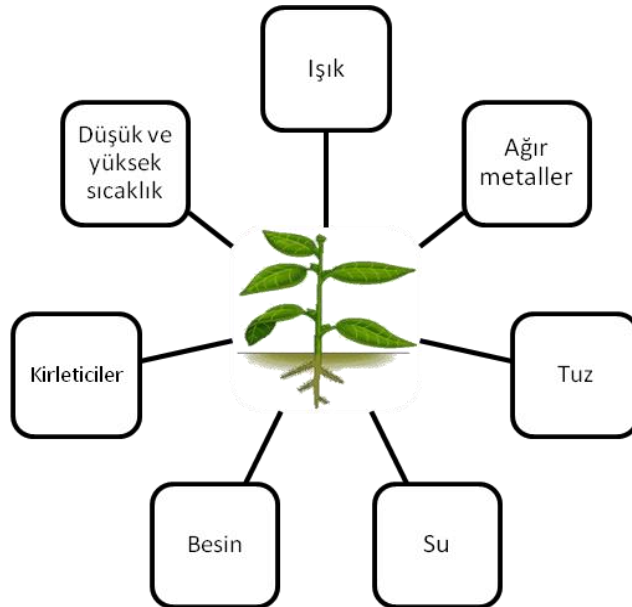
Ayçiçeği ülkemizde neredeyse her bölgemizde yetiştirilebilen önemli bir yağ bitkisidir. Yağlık ayçiçeği tarımı ülkemizde yoğun olarak Trakya bölgesinde yapılmaktadır. Ayrıca Orta Karadeniz, Kıyı Ege, Çukurova ve son yıllarda İç Anadolu Bölgesi'ndeki ekim alanlarında ciddi bir artış söz konusudur. TÜİK kaynaklarına göre son 10 yıl içerisinde yağlık ayçiçeği ekilen alanlarda yaklaşık % 12,7 üretim miktarında % 71,1 ve veriminde ise yaklaşık % 52 artış sağlanmıştır. Türkiye'de bitkisel ham yağ üretimi artan tüketimi dengeleyebilmek için sürekli bir artış eğiliminde olmasına rağmen henüz iç talebi karşılayabilecek düzeyde bile değildir. Türkiye'de yağlık ayçiçeğinin, üretimde sürdürülebilirliğin sağlanması ve arz açığının giderilmesi amacıyla desteklenmesi önemlidir. Bu kapsamda, yağlık ayçiçeği uzun yıllardır üretimini teşvik etmek, bitkisel yağ açığını giderebilmek ve üreticiye yüksek fiyat vermek amacıyla devlet desteklemesi kapsamındadır (<https://arastirma.tarim.gov.tr> 2017, Gürkan vd. 2017).

1.2 Bitkilerde Stres

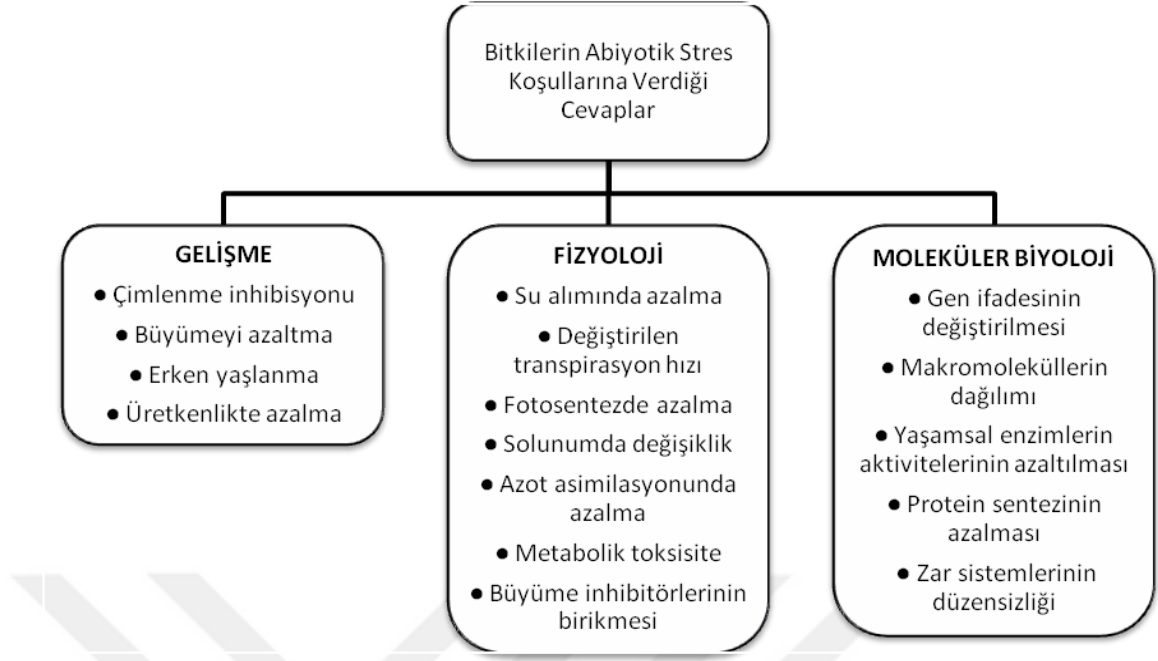
İlk olarak Hans Selye tarafından 1936'da geliştirilen stres kavramı, bitkilerdeki olumsuz ve çevresel kısıtlamaları tanımlamak için kullanılmıştır. Çevresel stres faktörleri bitkilerin büyüme ve gelişimini olumsuz etkilemenin yanı sıra, ürün veriminin azalmasına ve bitkinin yaşamını yitirmesine neden olabilmektedir. Bitkiler sesil

organizmalar oldukları için yaşam döngüleri boyunca abiyotik (kuraklık, yüksek sıcaklık, soğuk, UV-B radyasyonu, tuzluluk ve ağır metaller) ve biyotik (herbisit, patojen ve parazit) olmak üzere birçok çevresel strese maruz kalmaktadırlar. Bununla birlikte, bitkiler, stres etkileri ile baş etmek için farklı tolerans mekanizmalarını geliştirmiştir. Bu mekanizmalar arasında fizyolojik, biyokimyasal, moleküler ve genetik değişiklikler yer almaktadır (Redondo-Gómez 2013). Örneğin, daha soğuk bölgelerde yaşayan bitkilerde, soğuk iklimlendirme olarak bilinen bir fenomen ile donma nedeniyle meydana gelen hücre içi buz kristali oluşumunu ve dehidrasyonu azaltmak için hücre membranı bileşimi ve protein konsantrasyonunda değişiklikler meydana gelmektedir (Thomashow 1998).

Abiyotik stresler genellikle kuraklık, tuzluluk, yüksek veya düşük sıcaklık, ışık, yetersiz veya fazla besin, ağır metaller, kirleticiler gibi faktörlerin bireysel veya kombinasyonlarından kaynaklanmaktadır (Şekil 1.1). Abiyotik faktörlerin yol açtığı stres, bitki metabolizmasını değiştirerek bitkilerin büyüme, gelişme ve verimliliği üzerinde olumsuz etkilere neden olmaktadır (Şekil 1.2). Stresin şiddeti artar veya uzun süre devam ederse, hücrelere dayanılmaz metabolik yük getirir. Bu durum büyümede gerilemeye yol açabilir ve aşırı durumlarda bitki ölümüne neden olabilir (Rao vd. 2006).



Şekil 1.1 Bitkileri etkileyen bazı abiyotik stres faktörleri



Şekil 1.2 Bitkilerin abiyotik stres faktörlerine verdiği cevapların bazıları

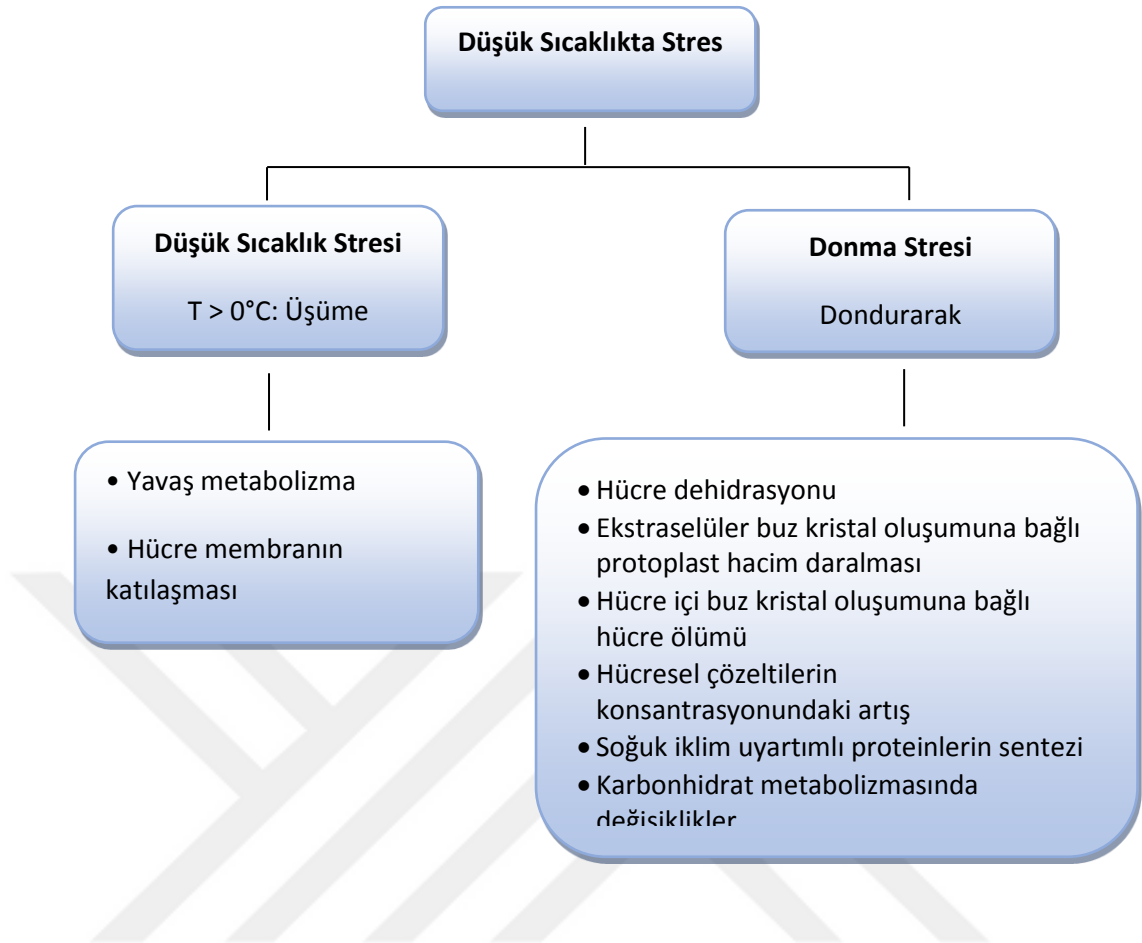
1.3 Soğuk Stresinin Bitkiler Üzerindeki Çeşitli Etkileri

Her bitki, uygun büyüme ve gelişimi için optimum bir sıcaklık aralığına sahiptir. Bir bitki için optimum olan belirli sıcaklık koşulları, başka bir bitki için stresli olabilir. Genellikle sıcak yaşam alanlarına özgü bitkilerin dondurucu olmayan sıcaklıklara maruz kaldıklarında yaralanma belirtileri sergiledikleri fark edilmiştir (Lynch 1990). Örneğin, mısır (*Zea mays* L.), soya fasulyesi (*Glycine max* (L.) Merr.), pamuk (*Gossypium hirsutum* L.), domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.) ve muz (*Musa* sp.) gibi bitkiler, 10-15°C'nin altındaki sıcaklıklara maruz kaldıklarında yaralanma belirtileri gösterirler (Guy 1990, Lynch 1990, Hopkins 1999). Bununla birlikte, yaralanma belirtilerinin ortaya çıkışı bir bitkinin soğuk stresine duyarlılığına bağlıdır ve bitkiden bitkiye değişkenlik gösterir. Strese maruz kaldıktan 48 ila 72 saat sonra, bitkilerde soğuk stresi kaynaklı hasar ortaya çıkabilir. Soğuk stresine maruz kalan bitkiler, yaprak genişlemesinin azalması, solma ve kloroz (yaprakların sararması) gibi çeşitli fenotipik semptomlar gösterir ve stres nekroza (doku ölümü) neden olabilir (Yadav 2010). Bunlara ilaveten, çeşitli bitkiler dondurucu olmayan sıcaklıklara belirli bir süre maruz kaldıklarında soğuğa karşı tolerans kazanmaktadırlar. “Soğuk uyumu” veya “soğuk

aklimasyonu” olarak tanımlanan bu olayın soğuk nedeniyle meydana gelen zararı azalttığı bilinmektedir (Thomashow 1999).

Düşük sıcaklık, bitki üzerinde iki tür baskı oluşturabilir: Birincisi tek başına düşük sıcaklığın etkileri, ikincisi hücresel suyun donması durumunda hücrelerin ve dokuların dehidrasyonudur. Soğuk stresinin neden olduğu bu değişiklikler bitkilerin büyümesini ve gelişimini olumsuz yönde etkiler (Şekil 1.3) (Beck vd. 2004).

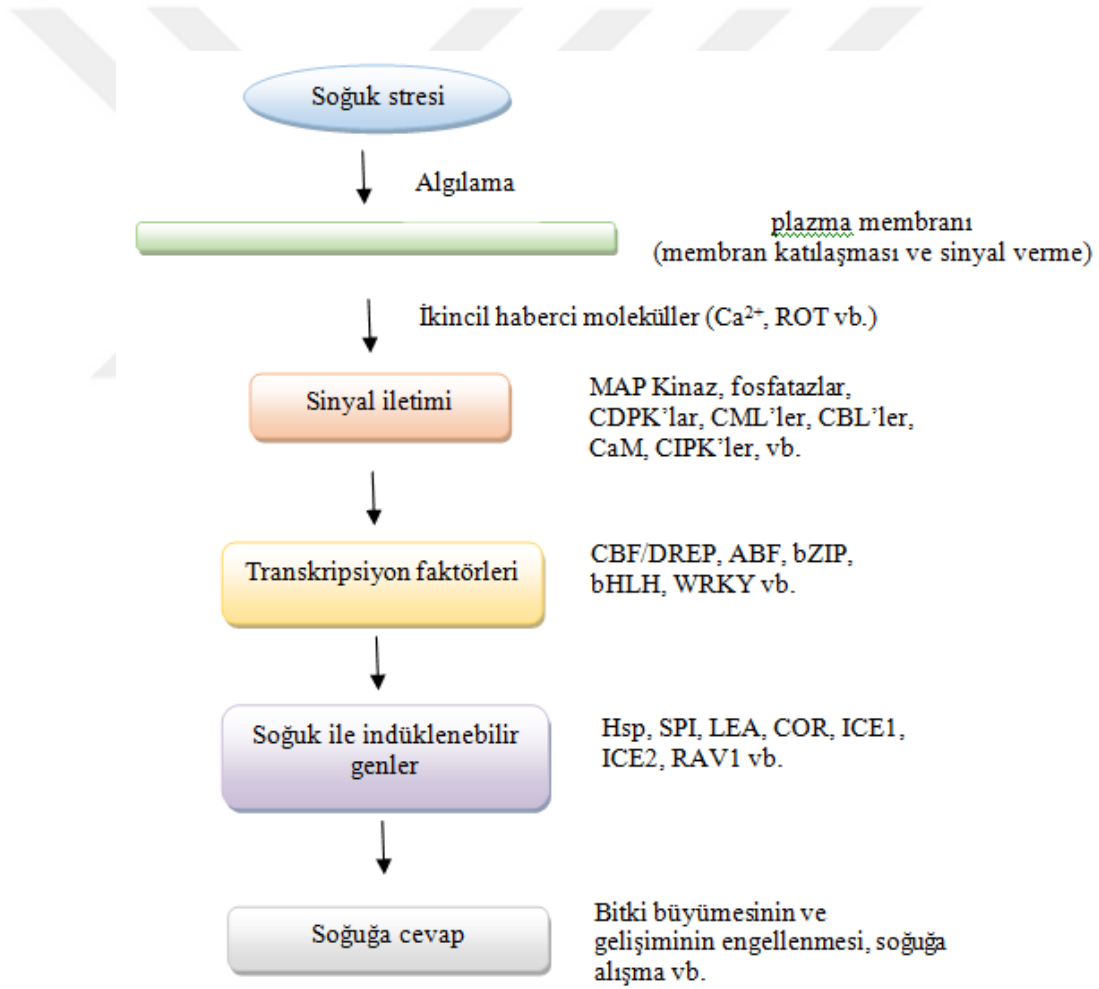
Soğuk stresinin bitkiler üzerindeki en olumsuz etkisi plazma membranı hasarıdır. Bu durum soğuk stresi nedeniyle meydana gelen dehidrasyonun etkisiyle meydana gelmektedir (Steponkus 1984, Steponkus vd. 1993). Plazma membranı, lipidler ve proteinlerden oluşmaktadır. Plazma membranındaki lipidler, doymuş ve doymamış yağ asitleri olmak üzere iki tür yağ asidinden oluşur. Doymamış yağ asitleri, iki karbon atomu arasında bir veya daha fazla çift bağa sahipken, doymuş yağ asitleri hidrojen atomlarıyla tamamen doymuştur. Doymuş yağ asitleri içeren lipidler, doymamış yağ asitleri içeren lipidlerden daha yüksek sıcaklıklarda ve daha hızlı katılışır. Bu nedenle, plazma membranında yer alan lipidlerin içindeki bu iki yağ asidi türünün göreceli oranı membranın akışkanlığını belirler (Steponkus vd. 1993). Geçiş sıcaklığında, bir membran, yarı sıvı halden yarı kristal haline dönüşmektedir. Soğuğa hassas bitkiler genellikle plazma membranında doymuş yağ asitlerinin daha yüksek bir oranına sahiptirler. Bu nedenle soğuğa hassas bitkiler daha yüksek bir geçiş sıcaklığına sahiptir. Aksine, soğuğa dayanıklı bitkiler doymamış yağ asitlerinin daha yüksek bir oranına sahiptir ve dolayısıyla daha düşük bir geçiş sıcaklığına sahiptir (Yadav 2010).



Şekil 1.3 Soğuk stresinin bitkilerde etkileri (Beck vd. 2004)

Bitkilerde soğuk stres yanıtı, sinyalin çeşitli transdüksiyon (sinyal iletimi) bileşenleri içeren bir transkripsiyonel kaskad vasıtasıyla algılanmasını ve aktarılmasını içerir; bu da birkaç genin transkripsiyonunu değiştirir. Membran kompozisyonunda soğuğa tepki olarak nitel ve niceliksel olarak değişiklikler meydana geldiği için plazma membranının soğuğu algılamanın başlıca yeri olduğu ileri sürülmüştür. Soğuk stresi, hücre membranındaki doymamış yağ asidi ve lipid protein bileşimindeki değişiklikler sonucunda membran akışkanlığını azaltır (Wang vd. 2006). Membranın katılaşması, oda sıcaklığında bile soğuk ile indüklenebilir genlerin uyarılmasına neden olabilmektedir (Orvar vd. 2000, Sangwan vd. 2002, Inaba vd. 2003). Dolayısıyla, membran katılaşmasının soğuk algılamada önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Membranda yer alan bazı proteinlerin soğuk yanıtında görevli sensörler olduğu ileri sürülmüştür. Çalışmalardan elde edilen veriler, kalsiyum kanallarının, histidin kinazın, reseptör kinazların ve fosfolipazların soğuk sinyalinin aşağı yönde aktarımında önemli rol

oynadıklarını düşündürmektedir. Mevcut model, soğuk stres sinyalinin PP2A (protein fosfataz 2A), MAP kinaz ile dengelenmiş ve sitozolik kalsiyum ile düzenlenen bir dizi fosforilasyon kaskadı aracılığıyla aşağı yönde yer alan sinyal bileşenlerine iletildiğini öngörmektedir (Solanke ve Sharma 2008). Ayrıca, sinyal iletiminde birçok transkripsiyon faktörü, soğuk stresi ile indüklenen genlerin transkripsiyonel düzenleyicileri olarak tanımlanmıştır (Xiong vd. 2002, Zhu vd. 2007). Özetle, bitkilerde soğuk stresinin genel sinyal iletim yolağında soğukun membran reseptörleri tarafından algılanması üzerine, soğuğa tepki geliştirmek için ikincil moleküller, protein kinazları, TF'lerini vb. içeren karmaşık bir intrasellüler sinyalleme kaskadı aktive edilmektedir (Şekil 1.4).



Şekil 1.4 Bitkilerde soğuk stresin genel sinyal iletim yolu (Koc vd. 2015)

1.4 Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma Sistemleri

Moleküler oksijen, günümüzden yaklaşık 2.7 milyar yıl önce Dünya'nın erken indirgeyici atmosferine O_2^- ile gelişen fotosentetik organizmalar tarafından dahil edilmiştir ve reaktif oksijen türlerinin (ROT) istenmeyen yan ürünler olarak ortaya çıkmasına neden olmuştur (Halliwell 2006). Aerobik metabolizma kloroplast, mitokondri ve peroksizomlar gibi bitkilerin farklı hücresel komponentleri ile sürekli ROT üretmektedir (Jubany-Marí vd. 2009, Roychoudhury ve Basu, 2012) (Şekil 1.5). Oksidatif stres, hücrelere zarar veren ya da hücreleri öldüren reaktif oksijen türlerinin bitki hücrelerinde oluşması ile ortaya çıkar. Uygun koşullar altında ROT bazal seviyelerde üretilmektedir. Ancak, farklı antioksidan mekanizmalar tarafından ortamdan uzaklaştırıldıkları için hasara neden olmamaktadır (Scandalios 2002, Foyer ve Noctor 2005). ROT üretimi ve ROT'un ortamdan uzaklaştırılması arasındaki hassas denge tuzluluk, kuraklık, ekstrem sıcaklıklar, ağır metaller, kirlilik, UV ışığı ile fotoinhibisyonu artıran yüksek ışık miktarı, patojen enfeksiyonu gibi farklı stres faktörleri tarafından bozulmaktadır. Bu nedenle, bitkilerin hayatta kalması büyüme koşullarındaki değişim, stres koşullarının şiddeti ve süresi, bitkilerin değişen enerji denkleminde hızla adapte olma kapasitesi gibi birçok önemli faktöre bağlıdır (Miller vd. 2010).

ROT, esasen O_2 , süperoksit ($O_2^{\bullet-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikalini ($OH^{\bullet}$) içerir. Zarar verici faaliyetlerine rağmen, ROT, çevresel streslere karşı tolerans da dahil olmak üzere çeşitli hücresel işlemlerde iyi tanımlanmış ikinci taşıyıcılardır. ROT'lar düşük konsantrasyonlarda savunma ile ilgili genlerin uyarılmasında ve savunma cevaplarının oluşturulmasında görev alırken, yüksek konsantrasyonlarda rastgele reaksiyonlarla lipid peroksidasyonuna, DNA hasarına, protein denatürasyonuna ve karbonhidratlar da dahil olmak üzere, canlı organizmaların yapısındaki neredeyse bütün biyomoleküllerle reaksiyona girerek bunların üzerinde geriye dönüşü olan veya olmayan etkiler oluşturmaktadır. ROT'un zararlı veya sinyal veren molekül olarak görev alıp almayacağı, ROT üretimi ve ortamdan uzaklaştırılması arasındaki hassas denge üzerine kuruludur. (Paller vd. 1984, Baud ve Ardaillou 1986, Nath ve Norby 2000, Zushi ve Matsuzoe 2009, Sharma vd. 2012).

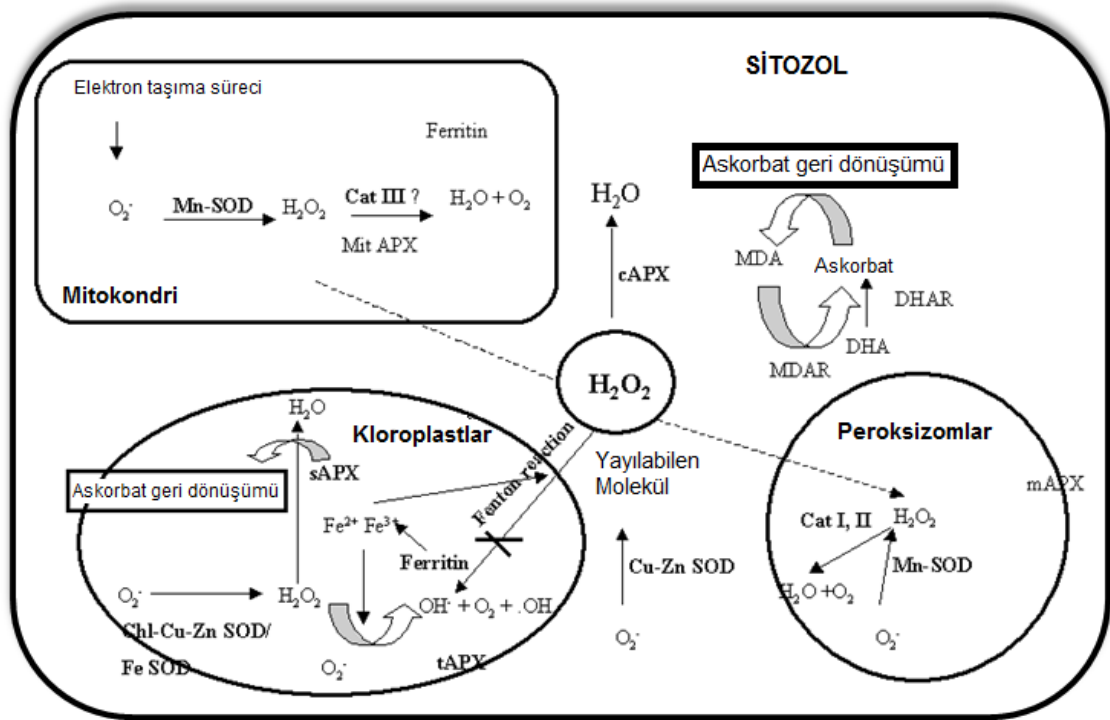
Yüksek bitkilerde, aşırı ROT üretimi, çeşitli stres türleri altında olan bir metabolizmanın esas özelliğidir. Strese tepki mekanizmaları, antioksidan moleküllerin üretimi ile tamamlanmaktadır. Bitkiler reaktif oksijen türlerinin zararlarına karşı hücre içinde bu moleküllerin sentezini arttırarak antioksidan savunma sağlarlar. Stresli koşullardaki bitkilerde redoks homeostazı, süperoksit dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (APX), guaiakol peroksidaz (GPX), glutatyon-S-transferaz (GST) ve katalazı da içeren enzimatik antioksidan savunma sistemi ve enzimatik olmayan askorbik asit (AA), indirgenmiş glutatyon (GSH), α - tokoferol, karotenoidler, fenolikler, flavonoidler ve prolin gibi düşük moleküllü bileşikler aracılığıyla sağlanır (Gill ve Tuteja 2010, Miller vd. 2010, Gill vd. 2011). Bu savunma sistemleri çizelge 1.1’de özetlenmiştir.

Çizelge 1.1 Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri

Enzimatik Savunma Sistemleri	Enzimatik Olmayan Savunma Sistemleri
Superoksit dismutaz (SOD)	α -Tokoferol (E vitamini)
Glutatyon peroksidaz	Askorbat (C vitamini)
Katalaz (CAT)	İndirgenmiş Glutatyon (GSH)
NADPH-kinaz-okside redüktaz	Flavanoidler
Epoksit hidrolaz	Bazı kimyasallar
Konjugasyon enzimleri (Glutatyon-S-transferaz vs)	Karotenoidler (β -Karoten)
Glutatyon redüktaz (GR)	Ürat
NADPH’ya bağlı bazı enzimler (G6FD)	Bazı plazma proteinleri

Oksidatif stres meydana geldiğinde reaktif oksijen türlerinin toksik etkilerini ortadan kaldırmak için hücreler aktivite göstermekte ve redoks dengesini korumaya çalışmaktadırlar. Bütün organizmalar oksidatif strese karşı adaptasyon sağlayan yanıtlar oluşturmaktadır. Bitkinin çeşitli dokularında H_2O_2 ve $O_2^{\bullet-}$ düzeyinde meydana gelen değişiklikler transkripsiyon faktörleri, yapısal proteinler ve savunma enzimlerine ait genlerin kodlanmasını indüklemekte veya inhibe etmektedir (Scandalios 2002).

ROT seviyesi bitkinin ortamdan uzaklaştırma kapasitesini aştığında, biyolojik membranlardaki lipid peroksidasyonu artar ve böylece hücrenin fizyolojik süreçleri etkilenir. Malondialdehit (MDA), lipidlerin oksidatif modifikasyonunun nihai ürünlerinden biridir ve akışkanlık, iyon taşınımı, enzim aktivitesinin kaybı ve proteinlerin çapraz bağlanması gibi membranın asıl özelliklerinde değişiklikler de dahil olmak üzere hücre membranı hasarından sorumludur. Bu değişiklikler sonunda hücre ölümü ile sonuçlanır (Sharma vd. 2012).



Şekil 1.5 Bitki hücrelerinde farklı organelde antioksidant enzimlerin aktivitesi (Jithesh vd. 2006)

1.5 Transkripsiyon Faktörleri

evresel uyaranlara karşı oluşan bitki yanıtları, çevresel sinyalin doğasına bağlı olarak değişen bir moleküler mekanizmalar ağı içerir. Stres sinyallerinin algılanışından strese duyarlı genlerin sentezlenmesine kadar uzanan sinyal iletim ağında, transkripsiyon faktörleri (TF) önemli rol oynamaktadır. TF'leri, genlerin promotör bölgelerinin yukarı yönünde bulunan ve genlerin ifadesini düzenleyen *cis elementleri* ile etkileşen bir grup

ana proteindir. Çoğu TF, metabolizma, hücre döngüsü ilerlemesi, büyüme, gelişme ve üreme gibi birçok fizyolojik süreci etkiler (Fujita vd. 2009, Zhou vd. 2010, Hussain vd. 2011).

Son zamanlarda yapılan çalışmalar, abiyotik streslere maruz kaldıktan sonra birçok genin transkript seviyelerinde önemli artışlar ya da azalmalar olduğunu göstermiştir (Lin vd. 2007, Tran vd. 2009, Qin vd. 2011, Hwang vd. 2014, Chen vd. 2015, Liu ve Chu 2015, Hu vd. 2016). Bu durum transkripsiyonel düzenlemenin stres toleransında anahtar rol oynadığını göstermektedir (Zhu 2002, Dai vd. 2007, Huang vd. 2013). Transkripsiyonel düzeyde abiyotik streslere yanıt olarak birak gen aktive edilir ve bu genlerin ürünleri olan proteinlerin üretilmesi ve aşağı yönde yer alan genlerin düzenlenmesi ile stres toleransı sağlandığı düşünülmektedir (Kavar vd. 2007). Kapsamlı transkriptom analizleri, bu gen ürünlerinin iki gruba ayrıldığını ortaya çıkarmıştır (Bohnert vd. 2001, Fowler ve Thomashow 2002, Seki vd. 2002). Birinci grup, hücreleri su eksikliğinin etkilerinden koruyan proteinleri kodlayan genlerden oluşur. Bu genler, esas olarak, uyumlu çözücülerin birikimini düzenleyen düzenleyicileri (prolin, betain, şekerler gibi ozmotite biyosentezi için gerekli enzimler), membran boyunca pasif ve aktif taşıma sistemlerini (su kanalı proteinleri ve membran transport sistemleri), ROT hasarlarına karşı hücre yapılarının korunması ve stabilizasyonunda görev alan enzimleri (glutatyon S-transferaz, katalaz, süperoksit dismutaz, askorbat peroksidaz, vb. gibi detoksifikasyon enzimleri), yağ asidi metabolizmasında görev alan enzimleri, proteinaz inhibitörlerini, ferritin ve lipid transfer proteinlerini ve makromoleküllerin korunması için gerekli diğer proteinleri (LEA proteini, osmotin, şaperonlar, vs.) içerir. İkinci grupta yer alan abiyotik streslerle uyarılmış bir grup gen ise stres sinyalinin iletilmesini düzenleyen, gen ifadesini değiştiren ve stres tepkisinde işlev gören düzenleyici proteinleri içerir. Bunlar, stres sinyal iletim yolaklarındaki çeşitli transkripsiyon faktörlerini içermektedir; örneğin, protein kinazlar (MAP kinaz, CDP kinaz, reseptör protein kinaz vb.), protein fosfatazlar ve proteinazlar stres sinyalizasyonu ve gen ifadesinin düzenlenmesinde rol oynarlar (Seki vd. 2003, Shinozaki ve Yamaguchi-Shinozaki 2007).

1.5.1 bZIP transkripsiyon faktörleri

Bazik l6sin fermuar (bZIP) ailesi, N-terminal ucunda n6kleer lokalizasyon ve DNA baēlanması i6in olduk6a bazik bir b6lge ve C-terminal ucunda dimerizasyon i6in l6sin-zengin motiften oluēan korunmuē bir bZIP b6lgesi i6erir (Landschulz vd. 1988, Hurst 1994). bZIP proteinleri, heterotipik veya homotipik kompleksler oluēturarak DNA'ya baēlanır. bZIP proteinleri, t6m 6karyotlarda dimerize transkripsiyon fakt6rleridir ve l6sin fermuar, bZIP proteinlerinin dimerleēmesinden sorumludur (Fong vd. 2004, Liu vd. 2015).

Bitkilerde, bazik b6lge/l6sin fermuar motifi (bZIP) TF'lerinin, organ farklılaēması, embriyogenez, tohum olgunlaēması, 6i6ek ve damar geliēimini i6eren biyolojik s6re6lerde 6nemli roller oynadiēını g6steren 6nemli kanıtlar vardır (Wei vd. 2015). Yapılan 6alıēmalar ayrıca, bZIP TF'lerinin bitkilerin biyotik ve abiyotik strese tepkilerinin d6zenlenmesinde yer aldıēını g6stermektedir (Jakoby vd. 2002, Wei vd. 2012, Hu vd. 2016).

1.5.2 MYB transkripsiyon fakt6rleri

İlk MYB geni avian miyeloblastoz vir6s6nden "onkojen" v-MYB olarak tanımlanmıētır.

Sekans karēılaētırmalarından elde edilen veriler, v-Myb'in vir6s6n bir par6ası haline geldiēinde mutasyona uēramıē olan bir omurgalı geninden kaynaklanmış olabileceēini g6stermektedir. Tanımlanan ilk bitki MYB geni ise *Zea mays*'da C1 genidir (Paz-Ares vd. 1987).

MYB transkripsiyon fakt6r ailesi b6y6k, fonksiyonel olarak 6eēitli ve t6m 6karyotlarda temsil edilen bir protein ailesidir. 6oēu MYB proteini, DNA'ya baēlanma yeteneēi kazandıran 6eēitli sayıda MYB alan tekrarlarının bulunduēu transkripsiyon fakt6rleri olarak iēlev g6r6r. Bitkilerde yaygın olarak bulunurlar ve diēer transkripsiyon fakt6rleri ile etkileēime girerler (Ambawat vd. 2013).

Bitkilerdeki MYB ailesinin büyüklüğü, bitkiye özel süreçlerin kontrolündeki önemini göstermektedir. Bitkilerde MYB transkripsiyon faktörlerinin rolleri hakkında çok büyük miktarda veri mevcuttur. MYB proteinlerinin fonksiyonları; *Arabidopsis* Heynh, mısır, pamuk, pirinç (*Oryza sativa* L.), petunya (*Petunia hybrida* E.Vilm.), çavdar böceği (*Antirrhinum majus* L.), üzüm asması (*Vitis vinifera* L.), kavak (*Populus tremuloides* Michx.) ve elma (*Malus domestica* Borkh.) gibi sayısız bitki türünde genetik ve moleküler analizler kullanılarak araştırılmıştır (Urao vd. 1993, Solano vd. 1995, Jiang vd. 2004, Pasquali vd. 2008, Ambawat vd. 2013). Bitkilerde, MYB'ler birincil ve ikincil metabolizma, hücre ölümü ve kimliği, gelişim, biyotik ve abiyotik strese yanıtlar gibi farklı süreçlere katılırlar (Du vd. 2009, Dubos vd. 2010).

1.5.3 NAC transkripsiyon faktörleri

NAC protein ailesi bitki transkripsiyon faktörlerinin büyük bir grubudur ve adı daha önce keşfedilen üç genden türemiştir: NAM (no apical meristem), ATAF1/2 ve CUC2 (cup-shaped cotyledon) (Duval vd. 2002, Ooka vd. 2003, Grant vd. 2010, Su vd. 2013). NAC proteinleri, N-terminal ucunda yaklaşık 150 amino asit ve C-terminal ucunda farklı bir transkripsiyon düzenleyici alanı kapsayan, oldukça korunmuş bir NAC bölgesi içerir (Aida vd. 1997, Ooka vd. 2003). Pirinç ve *Arabidopsis*'de NAC alanının yapısal analizine göre, NAC proteinleri iki büyük gruba ayrılmıştır (I ve II). Grup I'de 14 alt grup (TERN, ONAC022 ve SENU5 vb.) ve grup II'de dört alt grup (ANAC001, ONAC003, ONAC001 ve ANAC063) bulunmaktadır (Ooka vd. 2003). NAC bölgesi beş alt alan (A-E) içerir ve DNA bağlama, homodimerler veya heterodimerler oluşumu ve nükleer lokalizasyonda önemli rol oynar (Olsen vd. 2005, Wang vd. 2016).

NAC proteini, hücre bölünmesi (Kim vd. 2006), embriyo gelişimi (Duval vd. 2002), yaprak yaşlanması (Breeze vd. 2011), vasküler damarlar (Yamaguchi vd. 2010) ve tohum gelişimi (Sperotto vd. 2009), yanal kök (Xie vd. 2000), lif gelişimi (Ko vd. 2007) ve apikal meristem oluşumunu (Kim vd. 2007) içeren gelişimsel süreçlerin yanı sıra çeşitli biyotik (patojen saldırısı) ve abiyotik stres tepkilerinde (tuzluluk, sıcaklık ve kuraklık) rol oynar (Wang vd. 2016).

1.5.4 NF-YB transkripsiyon faktörleri

Nükleer faktör Y (NF-Y), neredeyse tüm ökaryotlarda bulunan evrimsel olarak korunmuş bir üçlü transkripsiyon faktörü kompleksidir. Heterotrimerik NF-Y kompleksi üç altbirim olan NF-YA, NF-YB ve NF-YC'den oluşur ve hedef genlerin promotör bölgelerindeki CCAAT kutusuna bağlanarak gen ifadesini düzenler. Maya ve memeli genomları, genellikle, her NF-Y alt birimini kodlayan çoklu splicing izoformlardan oluşan genlere sahiptir. Buna karşılık, bitki genomları genellikle her alt birimini kodlayan çoklu gen ailelerine sahiptir ve bu genler çeşitli dokularda veya aşamalarda farklı şekilde eksprese edilir. Bu nedenle, farklı alt birim kombinasyonları, çeşitli dokularda, farklı aşamalarda ve büyüme koşullarında çok çeşitli NF-Y komplekslerine yol açabilir ve bu da bu kompleksin bitkilerdeki potansiyel olarak farklı işlevlerini gösterir. Nitekim, birçok yeni araştırma, NF-Y kompleksinin bitki büyümesi, gelişim ve stres tepkilerinde önemli roller oynadığını kanıtlamıştır (Zhao vd. 2016).

1.5.5 WRKY transkripsiyon faktörleri

Bu transkripsiyon faktörleri ile ilgili yayınlanan ilk iki çalışmada, WRKY transkripsiyon faktörleri sükroz (SPF1) veya çimlenme sırasında (ABF1 ve ABF2) gen ifadesinin düzenlenmesinde potansiyel rol oynayan, tam olarak tanımlanmamış DNA bağlama proteinleri olarak bildirilmiştir. Üçüncü çalışmada ise, WRKY1, WRKY2 ve WRKY3 maydanozda (*Petroselinum crispum* (Mill.) Nyman) tanımlanmış ve WRKY (worky) ismi verilmiştir (Ishiguro ve Nakamura 1994, Rushton vd. 1995, Rushton vd. 1996).

Çoğu WRKY ailesi üyeleri, N terminallerinde yüksek oranda korunmuş heptapeptitler (WRKYGQK) ve C terminallerinde bir C₂H₂ veya C₂HC çinko parmak motifi içerir (Rushton vd. 1995, Dong vd. 2003, Eulgem vd. 2007). WRKY proteinleri, WRKY alanlarının sayısına ve çinko parmak benzeri motiflerin özelliklerine göre üç ayrı gruba ayrılır. Grup 1'de C₂H₂ çinko parmak motifleri içeren iki WRKY alanlı WRKY TF'leri yer almaktadır. Grup 2 TF'leri, bir C₂H₂ çinko parmak motifi içeren tek bir WRKY alanına sahiptir ve filogenetik ilişkilerine dayanarak beş alt gruba ayrılmıştır. Grup 3

TF'leri ise C₂HC çinko parmak motifli tek bir WRKY alanı içermektedir (Eulgem vd. 2000).

WRKY ailesi, yüksek bitkilerdeki en büyük on transkripsiyon faktörü (TF) ailesinden biridir (Ulker vd. 2004). Bu TF'ler, tohum dormansisi (Pandey vd. 2010), embriyo morfogenezi (Alexandrova vd. 2002), bitki büyümesi (Chen vd. 2002), yaşlanma (Hinderhofer vd. 2001, Potschin vd. 2014) ve metabolizma gibi gelişimsel ve fizyolojik süreçlerde hayati düzenleyici rol oynamaktadır (Johnson vd. 2002, Sun vd. 2003). Dahası, WRKY TF'leri, bakteriler (Dellagi vd. 2002, Deslandes vd. 2002), mantarlar (Chen vd. 2002, Potschin vd. 2014), nematodlar (Higashi vd. 2008), yaralanma (Eulgem vd. 2007), ısı, kuraklık, tuzluluk ve soğuk gibi çeşitli abiyotik ve biyotik streslere yanıtlarla da ilişkilidir (Ciolkowski vd. 2008).

Gerçekleştirilen bu tez çalışmasında; soğuk stresi altında geliştirilen ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) bitkisinde bZIP, MYB, NAC, NF-YB ve WRKY tipi transkripsiyon faktörlerine ait genlerin mRNA ifade düzeyleri araştırılmıştır. Stresin farklı zaman periyotlarında kök ve yaprak dokularındaki gen ifadelerine bakılarak çalışılan genlerin stres savunmasındaki rolüne açıklık getirilmeye çalışılmıştır. Çalışmada aynı zamanda bitkilerde çevresel stresin neden olduğu oksidatif lipid hasarında yaygın olarak kullanılan bir belirteç olan malondialdehid içeriği MDA analizi ile belirlenirken, oksidatif değişikliklerin diğer önemli hedefi olan protein miktarındaki değişim ise Bradford yöntemiyle saptanmıştır.

bZIP, MYB, NAC, NF-YB ve WRKY tipi transkripsiyon faktörlerine ait genlerin ayçiçeği bitkisinde soğuk stresindeki rollerini anlamaya yönelik çalışmalar henüz yapılmamıştır. Bu çalışmadan elde edilen verilerin soğuk stresine dayanıklı ayçiçeği çeşitlerinin elde edilmesine yönelik daha ileriki çalışmalara da katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Bu tez çalışması ile soğuk stresine maruz kalmış ayçiçeği bitkisinde bZIP, MYB, NAC, NF-YB ve WRKY tipi transkripsiyon faktörlerine ait genler araştırmalarımız ve bilğimiz dahilinde ilk kez çalışılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Södergren (2000), MDA düzeyinin düşük sıcaklık koşullarında daha yüksek olduğunu bildirmiştir. Başka bir çalışmada ise, 4 °C sıcaklığa maruz bırakılan *Forsythia* Vahl türlerinde, MDA içeriğinin kontrole kıyasla yaklaşık % 66,7 artmış olduğunu belirlemişlerdir (Yan vd. 2010).

Zhang vd. (2011) yaptıkları bir çalışmada, buğdayda soğuk stresi ile ilişkili bir gen olarak TaMYB56'yı tespit etmişlerdir. TaMYB56-B ve TaMYB56-D'nin sentezlenme seviyeleri, soğuk stresi muamesesiyle kuvvetli bir şekilde indüklenmiş, ancak tuz stresi tarafından hafifçe indüklenmiştir. TaMYB56-B'yi aşırı ifade eden transgenik *Arabidopsis* bitkilerinin ayrıntılı karakterizasyonu, bitkilerin donma ve tuz streslerine verdiği tepkilere TaMYB56-B'nin muhtemelen dahil olduğunu ortaya koymuştur.

Azyimi vd. (2012)'nin yaptığı çalışmada, 24 saat boyunca 15 °C ve 5 °C sıcaklıklara maruz bırakılan pamuk (*Gossypium hirsutum*) fidelerinin tamamında protein ve prolin konsantrasyonunun arttığı bildirilmiştir.

Liu vd. (2013)'nin yaptıkları çalışmada, geliştirdikleri *Avena nuda* L. (kılçıksız yulaf) fidelerini 3 gruba ayırmış, ilk grup kontrol grubu olarak 20°C'de yetiştirilirken diğer gruplar 7 gün boyunca 1 °C ve -10 °C soğuk sıcaklıklarına maruz bırakılmıştır. Farklı zaman periyotlarında (0., 1., 3., 5. ve 7. günlerde) örneklem alımı gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen veriler incelendiğinde soğuk stresi uygulanan gruplarda kontrol seviyesine kıyasla MDA düzeyinin önemli derecede yüksek bulunduğu bildirilmiştir.

Wang vd. (2013) çalışmalarında, buğdayda 10 farklı WRKY tipi transkripsiyon faktörü geni belirlemiş olup, bunlardan TaWRKY10 geninin transgenik tütünde kuraklık, tuz, soğuk ve H₂O₂ stresleri sonucunda ifadesinin arttığını bildirmişlerdir. Ayrıca, TaWRKY10'un kuraklık ve tuz stresleri altında ozmotik dengenin sağlanması, ROT'un

ortamdan uzaklaştırılmasını ve stresle ilişkili genlerin transkripsiyonunun düzenlenmesinde görev alarak pozitif bir faktör olarak işlev gördüğünü bildirmişlerdir.

Yu vd. (2013)'nin yaptıkları çalışmada ise CaWRKY1A geninin soğuk stresle güçlü bir şekilde indüklendiği ve CaWRKY1A'nın bitkilere soğuk stres toleransı kazandırmada önemli biyolojik rol oynadığı ileri sürülmüştür.

Hwang vd. (2014) yaptıkları bir çalışmada, *Brassica rapa* L. 'de soğuk muamelesinden sonra çalışılan 136 bZIP geninin 36 tanesinin transkript düzeyi artarken, 17 tanesinin transkript düzeyinin azaldığını bildirmişlerdir.

Chen vd. (2015)'nin yaptıkları çalışmada, soğuk stresinin domatestede 10 WRKY genini kuvvetli bir şekilde indüklediğini ve bu genlerin soğuğa bağlı sinyal yollarında yer alan WRKY'lerin gelecekteki fonksiyonel analizi için aday genleri temsil ettiklerini bildirmişlerdir.

Liu ve Chu (2015)'nin yaptıkları çalışmada, 6 saat soğuk stresine maruz bırakılan *Brachypodium distachyon* (L.) P.Beauv.'unda 96 bZIP geninden 12'sinin transkripsiyonel ifadesinin arttığı; 28 tanesinin ise soğuk muamelesi sonrası transkripsiyonel ifadesinin azaldığı bildirilmiştir.

Peng vd. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada, kağıt dutu (*Broussonetia papyrifera* (L.) Vent.) 24 saat soğuk stresine maruz bırakılmıştır. Stresin uygulandığı farklı zaman periyotlarında NF-YB gen ifade düzeyi değişkenlik göstermiş olup, 24. saatten sonra NF-YB geninin ifadesi tespit edilememiştir.

Zhang vd. (2015) tarafından yapılmış olan bu çalışmada, *Picea wilsonii* Mast'den NF-YB (PwNF-YB3) izole edilmiş ve bu genin rolü üzerinde çalışılmıştır. PwNF-YB3 transkripti ısı ve PEG ile büyük oranda indüklenerek gövde ve kökte daha yüksek seviyelerde olmak üzere tüm vejetatif ve üreme dokularında tespit edilmiştir. *Arabidopsis*'teki PwNF-YB3'ün aşırı ifadesinin, çiçeklenmenin hızlanmasına ve daha

etkin tohum çimlenmesi sebep olduğu ve yabancı tipli bitkilerle karşılaştırıldığında tuzluluk, kuraklık ve ozmotik stres altındaki fideler için tolerans ile ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir. Tuzluluğa duyarlı gen (SOS3) ve kuraklık ile ilişkili genin (CDPK1) transkripsiyon seviyeleri, yabancı tür bitkilerden çok transgenik *Arabidopsis*'de önemli derecede yükselmiştir. Sonuç olarak, PwNF-YB3'ün, muhtemelen CBF'ye bağlı yolda gen regülasyonunu modüle ederek, transgenik *Arabidopsis*'de tuz, ozmotik ve kuraklık stresine olumlu bir şekilde tolerans gösterdiği belirlenmiştir.

Hu vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada, manyok bitkisinde test edilmiş bZIP genlerinin MebZIP11 dışındaki tümünün soğuk stresine yanıt olarak transkripsiyonel ifadesinin arttığı bildirilmiştir. İfade analizinden elde edilen verilere göre, MebZIP'lerin kültür bitkileri ve yabancı alt türler arasındaki farklı dokularda benzer veya farklı ifade profilleri gösterdiğini ileri sürmüşlerdir.

Li vd. (2016)'nin çalışmasında, FvMYB1 olarak adlandırdıkları MYB ile ilgili TF genini, *Fraxinus velutina* Torr'nın tuza dayanıklı ağaç türlerinden izole edildiği bildirmişlerdir. Gerçek zamanlı PCR analizinden elde edilen veriler, FvMYB1 transkriptinin tuz muamelesine tepki olarak kayda değer bir şekilde arttığını göstermiştir. Ardından, FvMYB1 geni, *Agrobacterium tumefaciens* aracılığıyla tütün genomuna aktarılmıştır. PCR ve Southern blot, FvMYB1 geninin transgenik tütünde sentezlendiğini doğrulamıştır. Tuz stresi uygulanan transgenik bitkilerde, süperoksit dismutaz, peroksidaz aktiviteleri ve prolin içeriği önemli ölçüde artmış, ayrıca stres ile ilişkili bazı genlerin transkripsiyonel ifadeleri artış göstermiştir. Bu sonuçlar, FvMYB1'in *Fraxinus velutina* Torr'un tuz stres toleransında düzenleyici bir rol oynayan bir transkripsiyonel aktivatör olarak işlev gördüğünü göstermektedir.

Abid vd. (2017) tarafından gerçekleştirilmiş olan çalışmada, iyi korunmuş WRKY bölgelerini hedefleyen dejenere primerler kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) amplifikasyonu ile bakladan bilinen WRKY genleri ile homoloji gösteren iki parça dizi izole edilmiştir. İzole edilen WRKY gen fragmanları, VfWRKY1 ve VfWRKY2 olarak adlandırılmış olup aralarında % 62 benzerlik göstermektedir. Baklanın çeşitli organlarında VfWRKY1 ve VfWRKY2 gen ifadesinin önemli ölçüde

arttığı bildirilmiştir. Ayrıca, kantitatif gerçek zamanlı PCR analizi, hem kuraklık ve tuz stresine tepki olarak hem de genotipe bağlı olarak gen ifade düzeyinin arttığını göstermiştir. Elde edilen gen ifade profillerine bağlı olarak kuraklık ve tuz stres tepkisi ve toleransındaki VfWRKY1 ve VfWRKY2'nin önemli rollerinin olduklarını öne sürmüşlerdir.

Du vd. (2017) tarafından *Reaumuria trigyna* transkriptomu verilerine dayanarak, Grup I WRKY transkripsiyon faktörü geni RtWRKY1, *R. trigyna*'dan klonlanmıştır. RtWRKY1 çoğunlukla kökte eksprese edilmiş ve tuz, soğuk stres ve ABA muamelesi ile indüklenmiştir. *Arabidopsis*'de RtWRKY1'in aşırı ifadesi, tuz stres koşullarında transgenik soyların klorofil içeriğini, kök uzunluğunu ve taze ağırlığını önemli ölçüde arttırmıştır. RtWRKY1 transgenik *Arabidopsis*'te yabancı tür *Arabidopsis*'e kıyasla daha yüksek prolin içeriği, GSH-PX, POD, SOD ve CAT aktiviteleri gösterirken düşük MDA, Na⁺ içeriği ayrıca düşük Na⁺/K⁺ oranı sergilemiştir. Tuz stres, transgenik türlerde AtAPX1, AtCAT1, AtSOD1, AtP5CS1, AtP5CS2, AtPRODH1, AtPRODH2 ve AtSOS1 dahil, iyon taşıma, prolin biyosentezi ve antioksidan ilişkili genlerin ifadesini etkilemiştir. RtWRKY1'in, bitki büyümesini, ozmotik dengeyi, Na⁺/K⁺ homeostazını ve antioksidan sistemi düzenleyerek transgenik *Arabidopsis*'de tuz stresine toleransda rol oynadığı bildirilmiştir.

Hichri vd. (2017) özellikle yaşlı organlarda eksprese edilen ve NaCl, KCl ve kuraklıktan hızlı bir şekilde indüklenen bir gen olan SIWRKY3'ü ele almışlar ve bu genin aşırı ifadesinin, birçok yönden tuzluluk toleransını etkilediğini bildirmişlerdir.

Jin vd. (2017) tarafından yapılmış olan çalışmada, *Pyrus betulifolia* Bunge'den izole edilen NAC TF geni, PbeNAC1'in fonksiyonel karakterizasyonu araştırılmıştır. *Pyrus betulifolia* Bunge bitkilerini, kırk beş gün fide yataklarında yetiştirdikten sonra farklı koşullar altında PbeNAC1'in gen klonlaması ve ifade analizi için kullanılmıştır. PbeNAC1'in soğuk ve kuraklık stres koşulları altında büyük oranda uyarıldığı, tuz stresinin ise transkripsiyonel ifade üzerinde çok az etkili olduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak armut PbeNAC1'in stres toleransını arttırmada, muhtemelen PbeDREB1 ve

PbeDREB2A ile etkileşerek bazı stresle ilişkili genlerin mRNA düzeylerini arttırmada önemli bir rol oynadığını ileri sürmüşlerdir.

Li vd. (2017)'nin çalışmasında daha önceki çalışmalarında tanımladıkları bir bZIP transkripsiyon faktörü olan GmFDL19'un kuraklık ve tuz stresi altında, GmFDL19'u aşırı eksprese eden transgenik ve yabancı tipli soya fasulyelerinde gen ifadesi incelenmiştir. GmFDL19'un soya fasulyesinde kuraklık ve tuz stresine karşı toleransı arttırdığı bildirilmiştir. Ayrıca, GmFDL19'un aşırı ifadesinin çeşitli antioksidan enzim ve klorofil içeriği aktivitelerini arttırdığı, ancak MDA içeriğini azalttığı bildirilmiştir.

Shingote vd. (2017) tarafından yapılmış olan bu çalışmada, şeker kamışının strese dayanıklı, yabancı bir türü olan *Saccharum spontaneum* L'dan izole edilmiş MYB transkripsiyon faktörü olan SsMYB18'in fonksiyonel karakterizasyonu bildirilmiştir. SsMYB18 geninin, *Agrobacterium tumefaciens* aracılığıyla *Nicotiana tabacum* L.'a transformasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. SsMYB18'i içeren transgenik tütün hatları, PCR ve southern blotting yoluyla kuraklık, tuz ve soğuk tolerans açısından değerlendirilmiştir. Transformasyon işlemi gerçekleştirilmeyen tütün bitkileriyle karşılaştırıldığında, SsMYB18 aşırı sentezleyen bitkiler, tuz, soğuk ve kuraklık streslerine karşı önemli ölçüde arttırılmış tolerans sergilemişlerdir. Bu transgenik hatlarda, antioksidan enzimlerin (SOD, POX ve CAT) aktiviteleri, transformasyon işlemi gerçekleştirilmeyen hatlara göre daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca transgenik hatlarda, MDA içeriği daha düşük, klorofil ve prolin seviyeleri ise transformasyon işlemi gerçekleştirilmeyen hatlara göre daha yüksek bulunmuştur. Sonuçlar, SsMYB18 transkripsiyon faktörünü içeren transgenik tütün bitkilerinin, tuz ve soğuğa karşı yüksek tolerans gösterdiğini, ancak kuraklık koşullarında kontrollere kıyasla uyumlu olduğunu ortaya koymuştur.

Tak vd. (2017) tarafından yapılmış olan çalışmada, kuraklık ve tuzluluk toleransını iyileştirmek için kuraklık ve yüksek tuzluluk koşullarında muz NAC042 transkripsiyon faktörünün indüklenmesi ve transgenik muzda aşırı ifadesi üzerinde çalışılmıştır. MusaNAC042 geninin ifadesinin, tuzluluk ve kuraklık gibi stres koşullarıyla pozitif ilişkili olduğunu öne sürmüşlerdir.

Wang vd. (2017) tarafından yapılmış olan çalışmada mısırdaki bZIP transkripsiyon faktörünü kodlayan ABP9 geninin, *Agrobacterium tumefaciens* aracılığıyla pamuk (*Gossypium hirsutum*.) çeşidine transformasyonu yapılmış ve 12 bağımsız transgenik pamuk hattı elde edilmiştir. L24, L66 ve R15 pamuk çeşitlerine uygun büyüme koşullarına sahip bir sera veya laboratuvar ortamında çeşitli stres (tuz (NaCl), kuraklık ve ozmotik (PEG6000) stres) uygulamaları yapılarak ABP9 geninin fonksiyonu araştırılmıştır. Mısırdaki bZIP transkripsiyon faktörünü kodlayan ABP9'un, çoklu streslere karşı toleransı arttırdığı ayrıca, fizyolojik ve biyokimyasal süreçleri ve strese bağlı gen ifadesini değiştirerek transgenik pamukta ABA sinyal yolağında rol alabileceği bildirilmiştir.

Wang vd. (2017) tarafından yapılmış olan çalışmada *Camellia sinensis* (L.) Kuntze'de bZIP transkripsiyon faktörünü kodlayan CsbZIP6 geni, *Arabidopsis thaliana*'da aşırı eksprese edilmektedir. Bu genin aşırı ifadesinin absisik asit (ABA) duyarlılığı, soğuk toleransı ve *Arabidopsis thaliana*'da soğuğa yanıt veren genlerin ifadesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Soğuk stresi koşulları altında yabani tip bitkilerle karşılaştırıldığında, CsbZIP6'yı aşırı ekspre eden hatların, elektrolit sızıntısı seviyeleri ve MDA içeriği artmış ve toplam çözünbilir şeker seviyeleri azalmıştır. İlginç olarak, CsbZIP6'nın aşırı ifadesi, soğuk stres koşulları altında nişasta metabolizmasının yanı sıra soğuk ve kuraklığa duyarlı genlerin çoğunu bastırmıştır. Sonuç olarak, CsbZIP6'nın *Arabidopsis thaliana*'da soğuk stres yanıtının negatif bir düzenleyicisi olarak işlev gördüğü ve potansiyel olarak soğuk yanıt genlerini aşağı regüle ettiğini bildirmişlerdir.

Wang vd. (2017) tarafından *Tamarix hispida* Willd.'da bir NAC geni olan ThNAC13'in tuz ve ozmotik strese tepkisi çalışılmıştır. Transgenik *T. hispida* bitkileri, ThNAC13'ü kısa süreliğine aşırı şekilde eksprese etmektedir. RNAi ile susturulmuş ThNAC13, kazanma ve işlev kaybı deneyleri için üretilmiştir. Tuza ve ozmotik strese maruz bırakıldıktan sonra, ThNAC13'ün aşırı ifadesi ile uyarılan süperoksit dismutaz (SOD) ve peroksidaz (POD) aktivitelerini, klorofil ve prolin içeriğini; reaktif oksijen türlerini (ROS) ve MDA seviyelerini azaltmış; hem transgenik *Tamarix* hem de *Arabidopsis*'de elektrolit sızıntı oranlarını düşürmüştür. Buna karşılık, RNAi ile susturulmuş ThNAC13, transgenik *Tamarix*'te tam tersi sonuç vermiştir. Ayrıca, ThNAC13,

transgenik *Arabidopsis*'de SOD'ların ve POD'ların sentezlenmesini başlatmıştır. Bu sonuçlar, ThNAC13'ün tuz ve ozmotik toleransı arttırdığını düşündürmektedir.

Wang vd. (2017) tarafından krizantem (*Dendranthema grandiflorum* (Ramat.) Kitam) üretimini ciddi şekilde etkileyen yüksek tuzluluk koşullarında, krizantemin tuz toleransını arttırmak amacıyla yapılan çalışmada WRKY transkripsiyon faktörü (TF) ailesinden olan DgWRKY4 *Dendranthema grandiflorum*'dan izole edilmiştir. Daha sonra, DgWRKY4'ün tuz stresi tarafından indüklendiği ve krizantemdeki DgWRKY4'ün aşırı ifadesinin, yabani tür ile karşılaştırıldığında yüksek tuz stresine artan toleransa neden olduğu karakterize edilmiştir. Tuz stresi altında transgenik krizantem, yabani türden daha fazla MDA, hidrojen peroksit (H₂O₂) ve süperoksit anyon (O⁻² (-)) biriktirmiş ve bunlarla beraber yabani türe göre daha fazla prolin, çözünür şeker ve antioksidan enzimlerin aktiviteleri gözlenmiştir. Çalışmadan elde edilen tüm sonuçlar, DgWRKY4'ün, tuz stresine tepki gösteren reaktif oksijen türlerinin (ROS) temizleme sisteminin çalışmasını destekleyerek, membran stabilitesini muhafaza ederek, ozmotik ayarı güçlendirerek ve strese bağlı genlerin transkript seviyelerini arttıran pozitif bir düzenleyici gen olduğunu ortaya koymuştur.

Triticum aestivum L.'da NY-YB geni olan NtNF-YB3'ün moleküler karakterizasyonunun yapıldığı bir çalışmada Yang vd. (2017), TaNF-YB3 transkriptinin kuraklık ve ekzojen absisik asit (ABA) ile kök ve yapraklarda önemli derecede arttığı ve kuraklık tepkisinin muhtemelen ABA ilişkili bir yolakla düzenlendiği ileri sürülmüştür.

Yin vd. (2017) tarafından yapılmış olan çalışmada, MYB ile ilgili yeni bir gen olan OsMYBR1'i pirinçten kopyalamışlar ve fonksiyonel olarak karakterize etmişler. Mikroarray ve qRT-PCR analizleri, OsMYBR1 transkripsiyonel ifadesinin farklı gelişim aşamasındaki farklı dokularda kuraklık ve soğuktan uyarıldığını göstermiştir. Kuraklık stresi uygulanan transgenik bitkilerde, serbest prolin ve çözünebilir şeker seviyeleri, doğal tiptekilerden daha yüksek düzeyde bulunmuştur. Dahası, stresle ilişkili dört genin (OsP5CS1, OsProt, OsLEA3 ve OsRab16) transkripsiyonel ifadesi, kuraklık stresi koşulları ve ABA altında yetiştirilen transgenik bitkilerde önemli derecede artmıştır. Çalışmadan elde edilen sonuçların, OsMYBR1'in ABA'ya ve kuraklığa karşı bitki yanıtlarına aracılık ettiğini bildirmişlerdir.

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1 Çalışmada Kullanılan Bitki Materyalinin Temin Edilmesi

Gerçekleştirilen tez çalışmasında kullanılan ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) çeşitleri (Saray, Tarsan 1018, Tr-3080) Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan bu ayçiçeği çeşitlerinin Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden bildirilen özellikleri aşağıda sunulmuştur.

3.1.1 Saray

Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü ve Macaristan Szeged Enstitüsü tarafından 2013 yılında ortaklaşa geliştirilen MO1A X 9758 R melezinden geliştirilen, orta oleik tip hibrit ayçiçeği çeşididir. İri ve dış bükey tablalara sahiptir. Tabla gövde üzerinde aşağı doğru kıvrık olması nedeniyle, güneş yanığı ve kuş zararına karşı toleranslıdır. Erkenci, yüksek yağ ve tane verim potansiyeline sahip olup, değişik çevre koşullarına adaptasyonu oldukça yüksektir. Canavarotu'nun (*Orobanch* L.) yeni ırklarına yüksek derecede toleranslıdır. Mildiyöye dayanıksızdır. Ayrıca herbisitlere karşı duyarlıdır. Kurağa toleransı iyidir. Taneler iri ve yağ oranı çok yüksek olup, orta oleik asit içeriğine sahiptir (<https://arastirma.tarim.gov.tr> 2014b).

3.1.2 Tarsan 1018

2517-A X 0539-R melezinden geliştirilen, hibrit yağlık ayçiçeği çeşididir. Orta boylu, tablası tam eğik olup erkenci bir çeşittir. Canavarotu'nun eski ırkına dayanıklıdır. Kuraklık stresine dayanıklıdır. Farklı çevresel koşullara karşı adaptasyon kabiliyeti yüksektir. Yüksek ürün potansiyeline sahiptir. Çok yüksek yağ içeriğine sahiptir (% 45-48). Kuru şartlarda 160-330 kg/da, sulu şartlarda 360 kg/da verim elde edilmektedir. Marmara, Karadeniz, Ege, Akdeniz'de kuru şartlarda, İç Anadolu bölgesinde sulu şartlarda önerilmektedir (<https://arastirma.tarim.gov.tr> 2014b).

3.1.3 Tr-3080

2453-A X 01001-R melezinden geliştirilmiş, hibrit yağlık ayçiçeği çeşididir. Orta boylu, tablası tam eğik, kuş zararlarına karşı dayanıklıdır. Stres koşullarına dayanıklıdır. Farklı çevresel koşullara karşı adaptasyon kabiliyeti yüksektir. Çok yüksek yağ içeriğine sahiptir (% 48-50). Optimum bitki yoğunluğuna sahiptir (50,000-55,000 bitki/ha). Verimi kuru şartlarda 180 - 320 kg/da, sulu şartlarda 360 kg/da'dır. Canavarotu'nun eski ırklarına dayanıklıdır. Tane verimi ve oranı yüksektir (<https://arastirma.tarim.gov.tr> 2014b).

3.2 Hoagland Besi Ortamının Hazırlanması

Hogland besi ortamının içeriği çizelge 3.1 - 3.2'de yer almaktadır.

Çizelge 3.1 Hoagland besi ortamı makro besin çözeltisi içeriği

Makro besin çözeltisi (10X)	
K ₂ SO ₄	15.7 g
KH ₂ PO ₄	2.7 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	24 g
Ca (NO ₃) ₂ . 4H ₂ O	47.23 g
KCl	0.0746 g
2 litre dH ₂ O içerisinde çözülür.	

Çizelge 3.2 Hoagland besi ortamı mikro besin çözeltisi içeriği

Mikro besin çözeltisi (1X)	
H ₃ BO ₃	0.124 g
MnSO ₄	0.066 g
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.100 g
NH ₄ Mo	0.048 g
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0.1553 g
2 litre dH ₂ O içerisinde çözülür.	

Hoagland besi ortamını hazırlamak için, 10 litre 10X makro besin çözeltisi içine 50 ml mikro besin çözeltisi eklenmiştir. Daha sonra hazırlanan bu çözelti 1/10 seyreltilmiştir. Elde edilen 1 litre 1X konsantrasyonundaki çözeltiye kullanımdan hemen önce 1 ml 1000X FeEDTA çözeltisi eklenmiş ve hazırlanan çözelti kontrol çalışma ortamı olarak kullanılmıştır (1000X FeEDTA hazırlayabilmek için 365 g FeEDTA 1 litre dH₂O içerisinde çözdürülmüştür).

Çizelge 3.3 Hoagland besi ortamında bulunan iyonların son konsantrasyonları

Çözelti içerisinde yer alan iyonların son konsantrasyonları			
Ca	2 mM	Mn	10 ⁻⁶ M
NO₃	4 mM	Cu²⁺	10 ⁻⁷ M
Mg	1 mM	NH₄	10 ⁻⁸ M
K	2 mM	Zn	10 ⁻⁶ M
P	0.2 mM	Fe	10 ⁻⁴ M
B	10 ⁻⁶ M		

3.3 Bitki Stres Koşullarının Oluşturulması

Saray, Tarsan 1018, Tr-3080 çeşitlerine ait tohumlar % 1 sodyum hipoklorid ve saf su ile yüzey sterilizasyonunun ardından, plastik kaplardaki perlit içine ekilmiştir ve her gün Hoagland besin solüsyonu (Hoagland ve Arnon 1938) ile sulanarak, Sanyo MLR-351H bitki büyütme kabiniinde iki gerçek yapraklı bitkicik (yaklaşık 15 günlük fideler) haline gelinceye kadar geliştirilmiştir (Şekil 3.1). Her bir ayçiçeği çeşidi, üç ayrı kaba ekilerek üç biyolojik tekrar yapılmıştır (Şekil 3.2).

İki gerçek yapraklı fidelere soğuk stresi uygulamak için rastgele seçilen 10 fide hoagland besi yeri içerisinde 10 gün boyunca +4 °C'ye maruz bırakılmıştır. Soğuk stresi uygulanan bitkilerden 0., 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerde örneklem alımı gerçekleştirilmiştir. Örneklem alımları yaprak ve kök olmak üzere 2 farklı dokudan gerçekleştirilmiş olup alınan örnekler sıvı azot ile muamele edilerek RNA izolasyonu aşamasına kadar muhafaza edilmek üzere -80 °C'ye kaldırılmıştır.



Şekil 3.1 Sanyo MLR-351H bitki büyütme kabininde bitkilerin geliştirilmesi



Şekil 3.2 Her gün Hogland besin solüsyonu ile sulanarak 15 gün geliştirilen ayçiçeği çeşitleri

3.4 Araştırma Basamakları İçin Çalışma Kodlarının Oluşturulması

Çalışmanın araştırma basamaklarında herhangi bir karışıklık oluşmaması için çalışmada kullanılan çeşitli parametreler (ayçiçeği çeşitleri, uygulanan stres çeşidi, uygulama süreleri ve doku tipi) için birer sembol verilmiştir. Daha sonra bu sembollerin bir araya getirilmesiyle kodlar oluşturulmuştur. Çalışmada kullanılan kodlamalar çizelge 3.4’ te belirtilmiştir.

Çizelge 3.4 Çalışmada kullanılan kodlamalar

S	Soğuk stresi
1	Saray çeşidi ayçiçeği
2	Tarsan 1018 çeşidi ayçiçeği
3	Tr-3080 çeşidi ayçiçeği
K	Kök
Y	Yaprak
0	Kontrol (Soğuk stresi uygulanmayan)
2	2 gün soğuk stresine maruz bırakılan örnekler
4	4 gün soğuk stresine maruz bırakılan örnekler
6	6 gün soğuk stresine maruz bırakılan örnekler
8	8 gün soğuk stresine maruz bırakılan örnekler
10	10 gün soğuk stresine maruz bırakılan örnekler

Araştırma basamakları için oluşturulan çalışma kodları ve karşılıkları olan örnek adları çizelge 3.5’te yer almaktadır. Örneğin S1K0; S: Soğuk stresi, 1: Ayçiçeğinin çeşit ismi (Saray), K: Kök, 0: Kontrolü sembolize etmektedir.

Çizelge 3.5 Araştırma basamakları için oluşturulan çalışma kodları ve karşılıkları olan örnek adları

Çalışma kodu	Örnek adı
S1K0	Saray çeşidi kök kontrol örneği
S1K2	Saray çeşidi 2. gün soğuk stresi kök örneği
S1K4	Saray çeşidi 4. gün soğuk stresi kök örneği
S1K6	Saray çeşidi 6. gün soğuk stresi kök örneği
S1K8	Saray çeşidi 8. gün soğuk stresi kök örneği
S1K10	Saray çeşidi 10. gün soğuk stresi kök örneği
S1Y0	Saray çeşidi yaprak kontrol örneği
S1Y2	Saray çeşidi 2. gün soğuk stresi yaprak örneği
S1Y4	Saray çeşidi 4. gün soğuk stresi yaprak örneği
S1Y6	Saray çeşidi 6. gün soğuk stresi yaprak örneği
S1Y8	Saray çeşidi 8. gün soğuk stresi yaprak örneği
S1Y10	Saray çeşidi 10. gün soğuk stresi yaprak örneği
S2K0	Tarsan 1018 çeşidi kök kontrol örneği
S2K2	Tarsan 1018 2. gün soğuk stresi kök örneği
S2K4	Tarsan 1018 4. gün soğuk stresi kök örneği
S2K6	Tarsan 1018 6. gün soğuk stresi kök örneği
S2K8	Tarsan 1018 8. gün soğuk stresi kök örneği
S2K10	Tarsan 1018 10. gün soğuk stresi kök örneği
S2Y0	Tarsan 1018 çeşidi yaprak kontrol örneği
S2Y2	Tarsan 1018 çeşidi 2. gün soğuk stresi yaprak örneği
S2Y4	Tarsan 1018 çeşidi 4. gün soğuk stresi yaprak örneği
S2Y6	Tarsan 1018 çeşidi 6. gün soğuk stresi yaprak örneği
S2Y8	Tarsan 1018 çeşidi 8. gün soğuk stresi yaprak örneği
S2Y10	Tarsan 1018 çeşidi 10. gün soğuk stresi yaprak örneği
S3K0	Tr-3080 çeşidi kök kontrol örneği
S3K2	Tr-3080 çeşidi 2. gün soğuk stresi kök örneği

Çizelge 3.5 Araştırma basamakları için oluşturulan çalışma kodları ve karşılıkları olan örnek adları (devam)

Çalışma kodu	Örnek adı
S3K4	Tr-3080 çeşidi 4. gün soğuk stresi kök örneği
S3K6	Tr-3080 çeşidi 6. gün soğuk stresi kök örneği
S3K8	Tr-3080 çeşidi 8. gün soğuk stresi kök örneği
S3K10	Tr-3080 çeşidi 10. gün soğuk stresi kök örneği
S3Y0	Tr-3080 çeşidi yaprak kontrol örneği
S3Y2	Tr-3080 çeşidi 2. gün soğuk stresi yaprak örneği
S3Y4	Tr-3080 çeşidi 4. gün soğuk stresi yaprak örneği
S3Y6	Tr-3080 çeşidi 6. gün soğuk stresi yaprak örneği
S3Y8	Tr-3080 çeşidi 8. gün soğuk stresi yaprak örneği
S3Y10	Tr-3080 çeşidi 10. gün soğuk stresi yaprak örneği

3.5 Lipid Peroksidasyonunun Belirlenmesi (MDA Analizi)

Hücre membranları olumsuz stres koşullarının ilk hedefidir, hücre membran bütünlüğü ve kararlılığının korunması, bitkilerde çevresel stres toleransına katkıda bulunan önemli bir faktördür (Reddy vd. 2004). Morsy vd. (2005) MDA içeriğinin membran hasarının derecesini yansıttığını göstermiştir. MDA, lipid peroksidasyonunun bir ürünüdür ve stres koşulları altında ROT yıkıcı etkilerinin ve membran hasarının önemli bir göstergesidir (Sharma vd. 2012).

Bitkide stres oluşumunu göstermek amacıyla öncelikle MDA analizi ile lipid peroksidasyonu belirlenmiştir (Hodges vd. 1999).

1. 100 mg yaprak örneği % 80'lik 1 ml alkol ile homojenize edilir. 3000 g de +4 °C'de 10 dk santrifüj edilir.
2. Santrifüj sonrası elde edilen süpernatant ikiye bölünür;

- a. 1 hacim alınır + 1 hacim % 20'lik TCA (trichloroacetic acid) + 1 hacim % 0,01'lik BHT (butylated hydroxytoluene) eklenir. (-TBA)
- b. 1 hacim alınır + 1 hacim % 0,65 TBA (2-thiobarbituric acid) içeren % 20'lik TCA + 1 hacim % 0,01'lik BHT eklenir. (+TBA)
3. a ve b şeklinde ayrılmış ve yukarıdaki şekilde hazırlanmış olan tüpler 95 °C'de 25 dk inkübasyon sonrası ani bir şekilde soğutma amacıyla buza alınır.
4. Soğuyan örnek 3000 g'de 10 dk santrifüj edilir ve süpernatant alınır.
5. Birinci aşamada 532-600 nm'de, ikinci aşamada ise 532-600-440 nm'de ölçülür.

Spektrofotometrede okunan değerler ile yüzde MDA seviyelerinin hesaplanmasında aşağıdaki formüller kullanılmıştır.

ABS=Absorbans

MDA=Malondialdehit

1. $((\text{ABS } 532 + \text{TBA}) - (\text{ABS } 600 + \text{TBA}) - (\text{ABS } 532 - \text{TBA}) - (\text{ABS } 600 - \text{TBA})) = A$
2. $((\text{ABS } 440 + \text{TBA}) - (\text{ABS } 600 + \text{TBA})) \times 0,0971 = B$
3. $\text{nmolMDA/ml} = (A - B / 157000) \times 10^6$

3.6 Total Protein Miktarının Belirlenmesi

Soğuk stresi uygulanmış ve stres oluşumu kanıtlanmış ayçiçeği bitkilerinde Bradford metoduna (Bradford, 1976) göre total protein analizi yapılmıştır.

1. 0.08 g bitki örneği, sıvı azot yardımıyla havanda ezilir.
2. 700 µl fosfat tamponu (0.2 M, pH 7.0) ile homojenize edilir.
3. 14.000 rpm'de 20 dk. santrifüj edilerek süpernatantlar yeni tüplere alınır.
4. 2000 µl 1X Bradford çözeltisi ve 200 µl örnek çözeltisi ~10 saniye vortekslenerek karıştırıldıktan sonra 10 dakika oda sıcaklığında bekletilir. Kör olarak 200 µl fosfat tamponu ve 2000 µl 1X Bradford karışımı kullanılır.
5. Absorbans değerleri 595 nm dalga boyunda SpectraMax M5 spektrofotometre cihazında, ölçümler her örnek için 4 tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir

Örneklerin Toplam Çözünür Protein Konsantrasyonunun Hesaplanması:

$$x = \frac{\text{Spektrofotometrede okunan değer}}{\text{Standart eğrinin eğimi}} \times \text{Dilüsyon faktörü}$$

3.7 Total RNA İzolasyonu

Soğuk stresi uygulanmış ve stres oluşumu MDA analizi ile gösterilmiş ayçiçeği bitkilerinden total RNA izolasyonu Trizol protokolüne (Chomczynski ve Mackey, 1995) göre gerçekleştirilmiş olup, RNA miktarı spektrofotometrik ölçümlerle Nanodrop ND-Spectrometer 1000 cihazında belirlenmiş ve % 1,5'lik FA (formaldehit agaroz) jelde yürütülerek teyit edilmiştir.

3.7.1 Trizol protokolü

1. Örnekler sıvı azotta ezilir.
2. 2 ml'lik eppendorf tüpe 1 ml trizol eklenir.
3. Üzerine 300-500 mg örnek eklenir.
4. Tüp kuvvetli bir şekilde elle sallanarak karışım sağlanır, vortekslenir ve örnekler oda sıcaklığında 10 dk bekletilir.
5. Üzerine 250 µl kloroform eklenir, karıştırılır.
6. Oda sıcaklığında 10 dk bekletilir.
7. 14.000 rpm'de 4 °C'de 10 dk santrifüj edilir ve üst sıvı yeni tüpe aktarılır.
8. Üzerine 250 µl 1.2 M NaCl, 250 µl 0.8 M sodyum sitrat ve 250 µl izopropanol eklenir.
9. -20 °C'de 10 saat bekletilir.
10. 14.000 rpm'de 4 °C'de 10 dk santrifüj edilir, üst sıvı atılır, pellet tüp dibinde gözlenir.
11. Pellet % 70 EtOH ile yıkanır ve dikkatlice buz ile teması kesilmeden kurutulur.
12. 20- 50 µl DEPC ile muamele edilmiş suda çözülür.

3.8 DNaz I Uygulaması

Thermo Scientific EN0521 kodlu DNaz enzimi kullanılarak izole edilen tüm RNA örneklerinde olması muhtemel DNA kontaminasyonu minimum düzeye getirilmiştir.

1. Çizelge 3.6’da yer alan bileşenler RNaz’dan arındırılmış tüpe eklenir ve 37 °C’de 30 dk bekletilir.

Çizelge 3.6 DNaz uygulamasında kullanılan bileşenler ve miktarları

Bileşenler	Kullanılan miktar
RNA	1 µg
10X Reaksiyon buffer	1 µl
DNaz I (RNaz’dan arındırılmış)	1 µl
DEPC ile muamele edilmiş ultra saf su ile toplam hacim 10 µl’ye ayarlanır.	

2. 1 µl 50 mM EDTA eklenir.
3. 65 °C’de 10 dk inkübe edilerek DNaz inhibe edilir.

3.9 Formaldehit Agaroza Jel Elektroforezi

1. % 1,2 FA agaroza jel DEPC ile muamele edilmiş su (Çizelge 3.7) ile 100 ml’ye tamamlanarak hazırlanır.
 2. Agaroza kaynatılıp 65 °C’ye soğutulur, üzerine 1,8 ml % 37 formaldehit (12.3 M) ve 5 µl gel red (Biotium, Cat no: 41003) eklenerek jel tepsisine dökülür. Donması için 30 dk bekletilir.
 3. 1 hacim 5x jel yükleme boyası ve 4 hacim RNA karıştırılıp 3-5 dk 65 °C’de inkübe edildikten sonra buz üzerine alınır.
 4. Örnekler 1x FA tamponu içinde 70-80 voltta 1 saat koşturulur.
- DEPC (Dietilpirokarbonat)’ li su:** 0,1 ml DEPC 100 ml saf suda çözülür. 37 °C’de 12 saat inkübe edildikten sonra 121°C’de 20 dakika otoklavlanır.

Çizelge 3.7 FA jel hazırlamada kullanılan tamponların içeriği

10x FA jel tamponu	1x FA jel tamponu	5x jel yükleme boyası
200 mM MOPS	100 ml 10x FA jel tamponu	1,6 µl bromofenol mavisi
50 mM NaAc	20 ml % 37 formaldehit (12.3 M)	8 µl 500 mM EDTA pH 8.0
10 mM EDTA	880 ml DEPC muamele edilmiş su	72 µl % 37 formaldehit (12.3 M)
NaOH ile pH: 7.0		200 µl % 100 gliserol
		300 µl formamid
		400 µl 10x FA jel tamponu
		17,4 µl DEPC ile muamele edilmiş su

3.10 cDNA (Komplementer DNA) Sentezi

RNA örneklerinden cDNA sentezi, Transcriptor High Fidelity cDNA sentez kiti (Transcriptor High Fidelity cDNA Synthesis Kit – Roche – Kat. No: 05 091 284 001) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çizelge 3.8’de cDNA sentezinin ilk aşamasında hazırlanan total RNA - primer karışımı içerisinde bulunan bileşenler ve final konsantrasyonları verilmektedir.

Çizelge 3.8 cDNA sentezi için kullanılan bileşenler ve miktarları (1 adet örnek için)

Bileşenler	Hacim	Son konsantrasyon
Total RNA (DNaz I uygulanmış)	Her örnek için ayrı ayrı ayarlanır	4 µg
Primer (Oligo (dT)₁₈), 50 pmol/µl	1 µl	2,5 µM
Ultra saf su ile toplam hacim 13 µl’ye ayarlanır.	Her örnek için ayrı ayrı ayarlanır	
Toplam Hacim	13 µl	

Çizelge 3.8’de yer alan bileşenler RNaz’dan arındırılmış tüpe eklenir ve santrifüj edilir. Applied Biosystems Veriti ısı döngü cihazında 65 °C’de 10 dk inkübe edilerek kalıp ve primer karışımının denatüre olması sağlanır. Bu basamak RNA’nın ikincil yapısının

denatürasyonunu sağlar. İnkübasyon sonrasında örnekler hemen buz üzerine alınarak, çizelge 3.9’da yer alan ters transkripsiyon reaksiyonunu gerçekleştirecek diğer bileşenler sıra ile buz üzerindeki 0,2 ml eppendorf tüp içine ilave edilmiştir.

Çizelge 3.9 Ters Transkrpsiyon (RT-PCR) Reaksiyonu Komponentleri

Komponent	Hacim	Final Konsantrasyon
Yüksek kesinlikte ters transkriptaz reaksiyon tamponu (Transcriptor Reverse Transcriptase Reaction Buffer), 5x konsantrasyonunda	4 µl	1× (8 mM MgCl ₂)
RNaz inhibitör koruyucu (Protector RNase Inhibitor), 40 U/µl	0,5 µl	20 U
Deoksinükleotid karışımı (Deoxynucleotide Mix), her biri 10 mM	2 µl	Her bir baz 1 mM
DTT (Dithiothreitol), 0,1 M	1 µl	5 mM
Yüksek kesinlikte ters transkriptaz (Transcriptor Reverse Transcriptase), 20 U/µl	1,1 µl	10 U
Toplam Hacim	20 µl	

Ters transkripsiyon reaksiyonu için çizelge 3.9’de yer alan komponentler belirtilen miktarlarda bir tüpe alınarak, pipetle hafifçe karıştırılıp santrifüj edilmiştir. Daha sonra OligodT ve gene spesifik primer ile cDNA sentezi için Applied Biosystems Veriti ısı döngü cihazında 55 °C’de 30 dk inkübe edilmiştir. Arkasından 85 °C’de 5 dk bekletilerek Transcriptor High Fidelity Reverse Transcriptase inaktivasyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen cDNA’lar Real time PCR reaksiyonu gerçekleştirilene kadar -80 °C’de derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

3.11 Primer Dizaynı

Çalışmada housekeeping gen olarak kullanılan Aktin (ACT) gen bölgesine ait primerlerin dizaynı, gen bankasında (NCBI) yer alan ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) bitkisine ait diziler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PCR işlemi için kullanılacak NAC, WRKY ve MYB primerlerin seçimi, referans alınan makaleye göre yapılmıştır (Moschen vd. 2014). Ayçiçeği genomunda bZIP ve NF-YB genlerine ait diziler gen

bankasında (NCBI) yer almadığından, Plant transcription factor database (PlantTFDB v4.0) veri tabanında yer alan bZIP ve NF-YB transkripsiyon faktör genlerine ait kodlanmış olan *Helianthus annuus* dizileri alınarak ayrı ayrı fasta dosyaları oluşturulmuştur (<http://planttfdb.cbi.pku.edu.cn/index.php>) (Jin vd. 2014, Jin vd. 2015, Jin vd. 2017) (Şekil 3.3-3.4). Bu diziler ClustalW (Thompson vd. 2002) ve Mega7 (Kumar vd. 2016) programları ile align edilerek benzerliği en yüksek olan bölge üzerinden Primer-BLAST (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>) yazılımı kullanılarak primer tasarımı gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.5-3.7). Her iki gen bölgesi için de FastPCR Professional version 5.3.64 programı kullanılarak dizayn edilen 10 çift primer, dimer oluşturup oluşturmadığı ve kalitesi yönünden kontrol edilmiştir (Ruslan vd. 2017). Dimer oluşturmayan ve primer kalitesi yüksek olan oligonükleotid dizilerine ait ileri-geri primerler ticari olarak satın alınmıştır (Çizelge 3.10).



Plant Transcription Factor Database

v4.0
Previous version: v1.0, v2.0, v3.0

Home BLAST Prediction RegMap ATRM Download Help About Links

Helianthus annuus bZIP Family

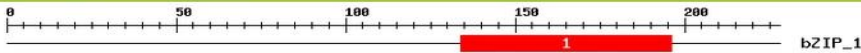
- bZIP Family Introduction
- Download Sequences
- Multiple Sequences Alignment
- Phylogenetic Tree

Species	TF ID	Description
<i>Helianthus annuus</i> (23)	Han000415	bZIP family protein
	Han000508	bZIP family protein
	Han001056	bZIP family protein
	Han001191	bZIP family protein
	Han001253	bZIP family protein
	Han001407	bZIP family protein
	Han001789	bZIP family protein
	Han002438	bZIP family protein
	Han002534	bZIP family protein
	Han002958	bZIP family protein
	Han003954	bZIP family protein
	Han004222	bZIP family protein
	Han004327	bZIP family protein
	Han004519	bZIP family protein
	Han004721	bZIP family protein
	Han007127	bZIP family protein
	Han007469	bZIP family protein
	Han007938	bZIP family protein
	Han008033	bZIP family protein
	Han008177	bZIP family protein
	Han008239	bZIP family protein
	Han008664	bZIP family protein
	Han008672	bZIP family protein

Şekil 3.3 Plant transcription factor database (PlantTFDB v4.0) veri tabanına ait ekran görüntüsü

Transcription Factor Information

[Basic Information](#) | [Signature Domain](#) | [Sequence](#) | [Protein Features](#) | [Gene Ontology](#) |

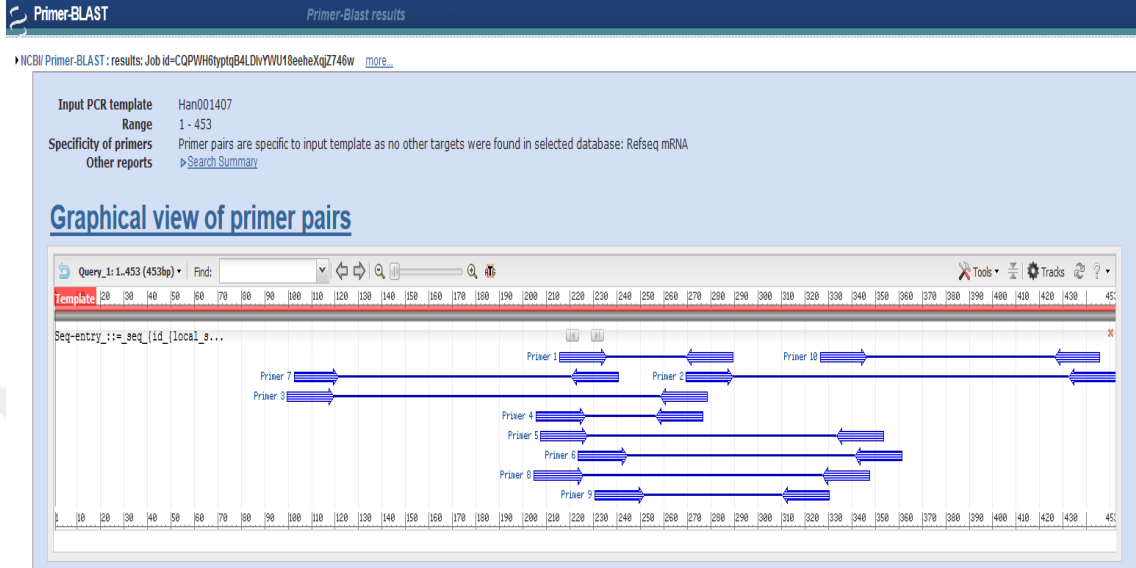
Basic Information		? help		Back to Top			
TF ID	Han000415						
Organism	<i>Helianthus annuus</i>						
Taxonomic ID	4232						
Taxonomic Lineage	cellular organisms; Eukaryota; Viridiplantae; Streptophyta; Streptophytina; Embryophyta; Tracheophyta; Euphyllophyta; Spermatophyta; Magnoliophyta; Mesangiospermae; eudicotyledons; Gunneridae; Pentapetalae; asterids; campanulids; Asterales; Asteraceae; Asteroideae; Heliantheae alliance; Heliantheae; Helianthus						
Family	bZIP						
Protein Properties	Length: 228aa MW: 24812.7 Da PI: 6.3677						
Description	bZIP family protein						
Gene Model	Gene Model ID	Type	Source	Coding Sequence			
	gnl UG Han#S18736330	PU_ref	Unigene	View CDS			
	PUT-169a-Helianthus_annuus-56173	PU_unref	plantGDB	View CDS			
	PUT-169a-Helianthus_annuus-56172	PU_unref	plantGDB	View CDS			
Signature Domain		? help		Back to Top			
							
No.	Domain	Score	E-value	Start	End	HMM Start	HMM End
1	bZIP_1	62.8	6.4e-20	134	196	1	63
<pre>XXX CS bZIP_1 1 ekelkrerrkqkNReAArrsRqRKkaeieeLeekvkeLeseNkaLkkeleelkevklksev 63 e+elkr++rkq NReAArrsR RK+aete L+ v++ +eN++L++el++l++ + kl++e+ Han000415 134 ERELKRQKRKQDNRESARRSRMRQAECALQATVETRNENHSLRDELQRLSEACGLTAEN 196 gg*****9987 PP</pre>							

Şekil 3.4 Plant transcription factor database (PlantTFDB v4.0) veri tabanında yer alan bZIP transkripsiyon faktör genlerinden bir tanesine ait bilgi

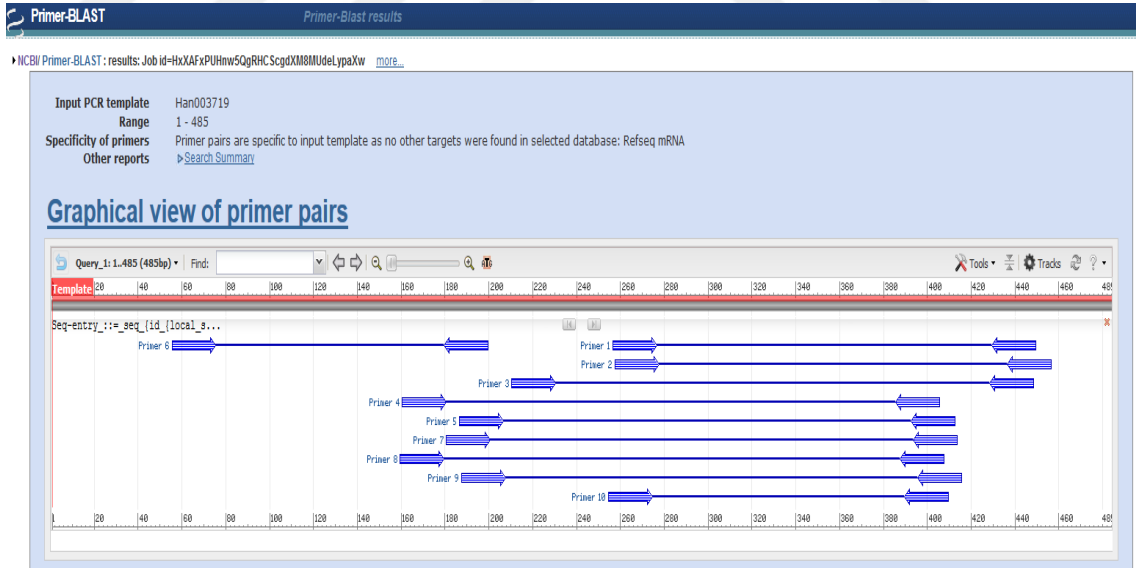


Şekil 3.5 bZIP geni MEGA4 alignment görüntüsü

bZIP ve NF-YB primerlerinin gen bölgeleri üzerindeki primer bağlanma yerleri şekil 3.6-3.7’de görüldüğü gibidir.



Şekil 3.6 bZIP geni için dizayn edilen primerlerin bağlanma bölgeleri



Şekil 3.7 NF-YB geni için dizayn edilen primerlerin bağlanma bölgeleri

Çalışmada kullanılan bZIP, MYB, NAC, NF-YB, WRKY ve ACT gen bölgelerine ait primer dizileri çizelge 3.10’da görülmektedir.

Çizelge 3.10 Çalışmada kullanılan gen bölgelerine ait primer dizileri (F:Forward/İleri, R: Reverse/Geri, Ha: *Helianthus annuus*)

Primer	Sekans (5’→3’)
Ha-Aktin-F	CAATGTTCCCGCCATGTAT
Ha-Aktin-R	CGACCACTGGCATAAAGAGAA
Ha-bZIP-F	GGATCGGAAGGTGCGATGAA
Ha-bZIP-R	CGTCATTCCAGACGCCTCAT
Ha-MYB-F	TACTTGCCCGAAAATCCAGT
Ha-MYB-R	ATTGCTCGTCCAATCAATCC
Ha-NAC-F	ATTTCTGGCGGTCAAACAAC
Ha-NAC-R	CCGGTCTTGTATCTCGGGTA
Ha-NF-YB-F	AGGCGCTTGAAGAGATCGAG
Ha-NF-YB-R	CCGTTTTCTGTGCGATTCTCC
Ha-WRKY-F	CATAATGCCCCATTCAATCC
Ha-WRKY-R	CATTTTGCTTGGTTGGAGGT

3.12 Real-time PCR Uygulaması

Real-time PCR çalışmaları Rotor-Gene Q (QIAGEN's Real-time PCR cyclyer) cihazında KiloGreen 2X qPCR Mastermix (Applied Biological Materials [abm]) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Real Time PCR reaksiyonu üretici firmanın önerdiği koşullarda 3 tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır. Real-time PCR reaksiyonu çizelge 3.11’de verilen komponentler kullanılarak hazırlanmış olup DNA ve RNA’dan arındırılmış saf su ile toplam hacim 20 µl’ye ayarlanarak real time PCR cihazında, çizelge 3.12’de verilen programda amplifikasyonu gerçekleştirilmiştir. Kantitasyonu takiben PCR’ın etkinliğini saptamak ve herhangi bir dimer oluşumu olup olmadığını gözlemlemek amacıyla Erime Analizi yapılmıştır. Gen ifadesi çalışmaları için gerekli şartlardan birisi olan normalizasyon işleminde bir housekeeping gen olan Aktin (ACT) geni kullanılmıştır.

Çizelge 3.11 Real Time PCR reaksiyonu komponentleri

Komponent	Son Konsantrasyon
cDNA	≤100 ng/reaction
İleri (Forward) Primer	300 nM
Geri (Reverse) Primer	300 nM
KiloGreen 2X qPCR MasterMix	1X
Toplam hacim 20 µl'dir.	

Çizelge 3.12 Real Time PCR reaksiyonunun gerçekleştirildiği program

Primer	Sıcaklık	Süre	Döngü sayısı
Enzim aktivasyonu	95 °C	10 dk	1
Denatürasyon	95 °C	10 s	40
Bağlanma/Uzama	* °C	30 s	
Erime Eğrisi Analizi	60-95 °C	Sürekli okuma	1

*Çalışmada kullanılan primerlerin bağlanma sıcaklıkları; Ha-Aktin: 58 °C, Ha-bZIP: 59 °C, Ha-MYB: 55 °C, Ha-NAC: 55 °C, Ha-NF-YB: 59 °C, Ha-WRKY: 55 °C

Soğuk stresi uygulamasının farklı zaman periyotlarında alınmış örnekler kullanılarak ACT, bZIP, MYB, NAC, NF-YB ve WRKY genlerinin Real-time PCR reaksiyonu ile gerçek zamanlı pik profilleri kaydedilmiştir. Eşik döngü (Cycle Treshold (Ct)) değeri polimeraz zincir reaksiyonuna ait pik profilinde logaritmik artışa geçilen ilk noktayı belirtmektedir. Real time PCR reaksiyonları sonrasında elde edilen pik profillerinden her bir örneğe ait Ct değerleri belirlenmiştir. Elde edilen Ct değerleri ve her bir gen için ayrı ayrı oluşturulan standart eğri grafikleri ile mRNA ifade seviyeleri kantitatif olarak tespit edilmiştir.

3.13 Normalizasyon ve İstatistiksel Analiz

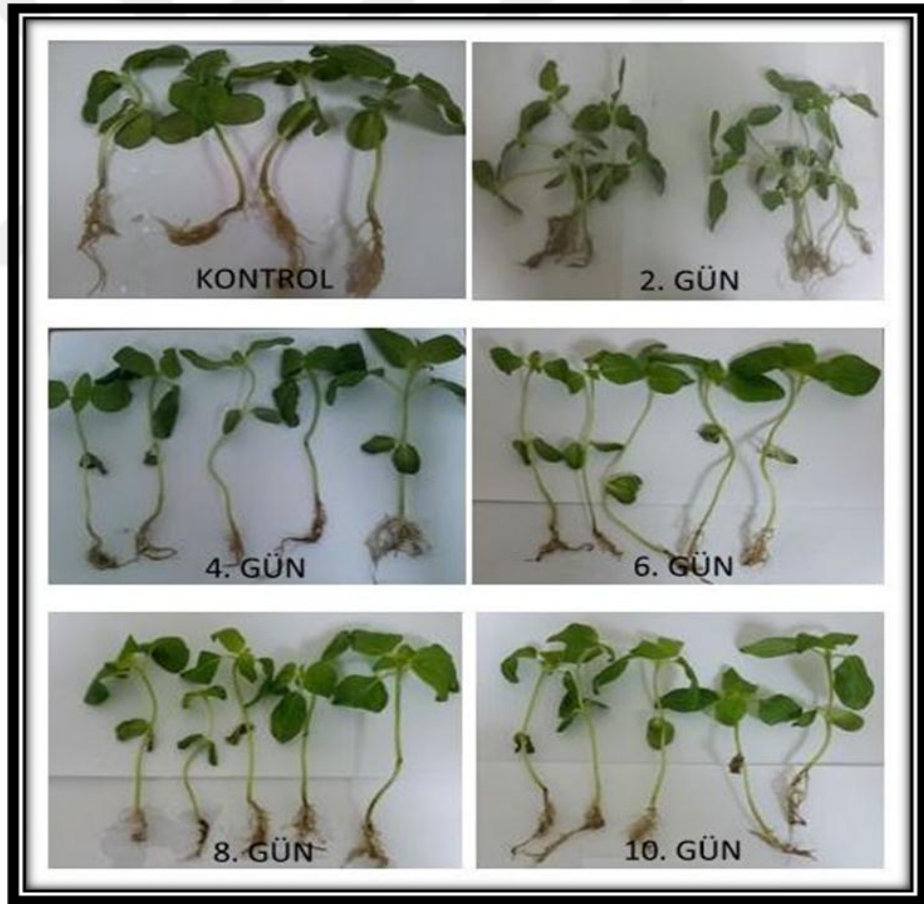
Farklı sürelerde soğuk stresi uygulanmış ayçiçeği fidelerine ait transkript profilleri, kontrol koşullarına göre anlamlılık dereceleri ve housekeeping gen olarak seçilen aktin ile karşılaştırılarak belirlenmiştir. Elde edilen verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi Livak ve Schmittgen'in $2^{-\Delta\Delta CT}$ metoduna göre ve One Way ANOVA (Dunnett) ile yapılmıştır (Livak ve Schmittgen 2001). Karşılaştırması yapılacak gruplar arasındaki farkın belirlenmesinde grup sayısı ikiden fazla ise varyans analizi (ANOVA; Analysis of Variance) kullanılmaktadır. Varyans analizi sonucunda gruplar arasında bir fark bulunmuşsa, farklılığın hangi gruptan kaynaklı olduğunu tespit etmek için post-hoc testi önerilmektedir (Dunnet 1955, Roscoe 1975).

Konsantrasyon ve Ct değeri olarak belirlenen gen ekspresyonu sonuçları housekeeping gen olarak çalışmada kullanılan ACT (aktin) ve stres uygulanmamış kontrol grubu dikkate alınarak normalize edilmiştir (Livak ve Schmittgen 2001). Bu verilerin ortalama, standart sapma, standart hata ve istatistiksel olarak anlamlılık dereceleri SPSS 20.0 istatistik programı ile hesaplanmıştır. Bu şekilde soğuk stresi altında geliştirilmiş olan ayçiçeği fidelerinde bZIP, MYB, NAC, NF-YB ve WRKY geni mRNA ifade düzeyleri tespit edilmeye çalışılmıştır.

4. BULGULAR

4.1 Ayçiçeği Çeşitlerinde Stres Uygulaması

İki gerçek yapraklı fidelere soğuk stresi uygulamak için, rastgele seçilen 5 fide hoagland besi yeri içerisinde 10 gün boyunca bitki büyütme kabininde +4 °C'ye maruz bırakılmıştır. Soğuk stresi uygulanan 3 çeşit ayçiçeği fidelerinden farklı zaman periyotlarında (Kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerde) örneklem alımı gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.1-4.3). Tüm örnekler hemen sıvı azot içinde dondurulmuş ve analiz edilinceye kadar -80 °C'de derin dondurucuda saklanmıştır.



Şekil 4.1 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidine ait fideler



Şekil 4.2 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidine ait fideler



Şekil 4.3 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidine ait fideler

4.2 Lipid Peroksidasyonu (MDA analizi) Sonuçları

Saray, Tarsan 1018 ve Tr-3080 ayçiçeği çeşitlerinde soğuk stresinin kök ve yaprak lipid peroksidasyonu üzerine etkisi, MDA içeriği ölçülerek belirlenmiştir (Şekil 4.4-4.6). Soğuk stresi uygulanan örneklerin kök ve yapraklarında farklı zaman periyotlarında lipid peroksidasyonunda meydana gelen değişimin istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığı tek yönlü varyans analizi (One Way ANOVA Dunnet Test, Post Hoc testi) kullanılarak tespit edilmiştir. Sig değerinin 0,05'den küçük olması, soğuk stresinde zamana bağlı olarak lipid peroksidasyonu seviyesinde meydana gelen değişikliğin $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı olduğunu ifade etmektedir.

Çizelge 4.1 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin köklerinde lipid peroksidasyonuna ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	,004	5	,001	20,961	,001
Gruplar içi	,000	6	,000		
Toplam	,004	11			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05'ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.2 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin yapraklarında lipid peroksidasyonuna ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	1,602	5	,320	1,150	,427
Gruplar içi	1,672	6	,279		
Toplam	3,274	11			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05'ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.3 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin köklerinde lipid peroksidasyonuna ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	,0186641	,0041565	,196	,057920	-,020592
	3	,0083380	,0054242	,793	,066330	-,049654
	4	-,0228567	,0046924	,170	,021459	-,067172
	5	-,0309700	,0069059	,259	,067786	-,129726
	6	-,0104745	,0049057	,589	,037197	-,058146
2 (2. gün)	1	-,0186641	,0041565	,196	,020592	-,057920
	3	-,0103262	,0052284	,649	,051358	-,072010
	4	-,0415208	,0044646	,056	,002840	-,085882
	5	-,0496341	,0067532	,144	,058713	-,157982
	6	-,0291386	,0046883	,124	,019692	-,077969
3 (4. gün)	1	-,0083380	,0054242	,793	,049654	-,066330
	2	,0103262	,0052284	,649	,072010	-,051358
	4	-,0311947	,0056637	,144	,024856	-,087245
	5	-,0393080	,0075994	,169	,040293	-,118909
	6	-,0188124	,0058417	,340	,037033	-,074657
4 (6. gün)	1	,0228567	,0046924	,170	,067172	-,021459
	2	,0415208	,0044646	,056	,085882	-,002840
	3	,0311947	,0056637	,144	,087245	-,024856
	5	-,0081133	,0070956	,916	,082314	-,098540
	6	,0123822	,0051693	,511	,060694	-,035930
5 (8. gün)	1	,0309700	,0069059	,259	,129726	-,067786
	2	,0496341	,0067532	,144	,157982	-,058713
	3	,0393080	,0075994	,169	,118909	-,040293
	4	,0081133	,0070956	,916	,098540	-,082314
	6	,0204956	,0072385	,438	,106517	-,065526
6 (10. gün)	1	,0104745	,0049057	,589	,058146	-,037197
	2	,0291386	,0046883	,124	,077969	-,019692
	3	,0188124	,0058417	,340	,074657	-,037033
	4	-,0123822	,0051693	,511	,035930	-,060694
	5	-,0204956	,0072385	,438	,065526	-,106517

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

Çizelge 4.4 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin yapraklarında lipid peroksidasyonuna ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	-,0569284	,1018053	,998	1,435421	-1,549278
	3	-,1554388	,0481203	,419	,729170	-1,040047
	4	-1,0399801	,9089974	,903	28,311765	-30,391726
	5	-,0036708	,0495401	1,000	,762849	-,770191
	6	-,1552574	,0506835	,414	,546259	-,856773
2 (2. gün)	1	,0569284	,1018053	,998	1,549278	-1,435421
	3	-,0985103	,0929674	,926	2,459492	-2,656513
	4	-,9830516	,9124712	,920	27,351681	-29,317784
	5	,0532577	,0937101	,997	2,452001	-2,345486
	6	-,0983289	,0943196	,931	2,184327	-2,380985
3 (4. gün)	1	,1554388	,0481203	,419	1,040047	-,729170
	2	,0985103	,0929674	,926	2,656513	-2,459492
	4	-,8845413	,9080500	,943	28,756556	-30,525638
	5	,1517680	,0270709	,136	,414070	-,110534
	6	,0001814	,0291107	1,000	,301139	-,300776
4 (6. gün)	1	1,0399801	,9089974	,903	30,391726	-28,311765
	2	,9830516	,9124712	,920	29,317784	-27,351681
	3	,8845413	,9080500	,943	30,525638	-28,756556
	5	1,0363093	,9081264	,904	30,653891	-28,581273
	6	,8847227	,9081895	,943	30,482898	-28,713453
5 (8. gün)	1	,0036708	,0495401	1,000	,770191	-,762849
	2	-,0532577	,0937101	,997	2,345486	-2,452001
	3	-,1517680	,0270709	,136	,110534	-,414070
	4	-1,0363093	,9081264	,904	28,581273	-30,653891
	6	-,1515866	,0314020	,173	,144605	-,447778
6 (10. gün)	1	,1552574	,0506835	,414	,856773	-,546259
	2	,0983289	,0943196	,931	2,380985	-2,184327
	3	-,0001814	,0291107	1,000	,300776	-,301139
	4	-,8847227	,9081895	,943	28,713453	-30,482898
	5	,1515866	,0314020	,173	,447778	-,144605

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

Çizelge 4.5 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin köklerinde lipid peroksidasyonuna ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	,046	5	,009	113,000	,000
Gruplar içi	,000	6	,000		
Toplam	,046	11			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05'ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.6 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında lipid peroksidasyonuna ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	,131	5	,026	10,679	,006
Gruplar içi	,015	6	,002		
Toplam	,145	11			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05'ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.7 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin köklerinde lipid peroksidasyonuna ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	,0088843	,0052202	,734	,060176	-,042407
	3	-,1651380	,0128183	,100	,140901	-,471177
	4	,0141674	,0034721	,329	,081154	-,052820
	5	-,0513090	,0080044	,173	,077179	-,179797
	6	-,0204986	,0043555	,181	,020675	-,061672
2 (2. gün)	1	-,0088843	,0052202	,734	,042407	-,060176
	3	-,1740223	,0130475	,085	,096830	-,444875
	4	,0052831	,0042409	,879	,101030	-,090464
	5	-,0601932	,0083666	,123	,048651	-,169038
	6	-,0293829	,0049900	,138	,023557	-,082323
3 (4. gün)	1	,1651380	,0128183	,100	,471177	-,140901
	2	,1740223	,0130475	,085	,444875	-,096830
	4	,1793054	,0124516	,110	,567998	-,209387
	5	,1138291	,0143895	,101	,291492	-,063834
	6	,1446394	,0127263	,121	,467856	-,178577
4 (6. gün)	1	-,0141674	,0034721	,329	,052820	-,081154
	2	-,0052831	,0042409	,879	,090464	-,101030
	3	-,1793054	,0124516	,110	,209387	-,567998
	5	-,0654763	,0074031	,171	,147276	-,278229
	6	-,0346660	,0031153	,090	,019436	-,088768
5 (8. gün)	1	,0513090	,0080044	,173	,179797	-,077179
	2	,0601932	,0083666	,123	,169038	-,048651
	3	-,1138291	,0143895	,101	,063834	-,291492
	4	,0654763	,0074031	,171	,278229	-,147276
	6	,0308103	,0078562	,336	,171855	-,110235
6 (10. gün)	1	,0204986	,0043555	,181	,061672	-,020675
	2	,0293829	,0049900	,138	,082323	-,023557
	3	-,1446394	,0127263	,121	,178577	-,467856
	4	,0346660	,0031153	,090	,088768	-,019436
	5	-,0308103	,0078562	,336	,110235	-,171855

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

Çizelge 4.8 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında lipid peroksidasyonuna ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	-,2333108	,0353957	,163	,319672	-,786293
	3	,0241410	,0591343	1,000	,696183	-,647901
	4	-,0219802	,0522424	1,000	,498408	-,542368
	5	,0772543	,0437467	,710	,486424	-,331916
	6	,0710465	,0457149	,787	,495339	-,353246
2 (2. gün)	1	,2333108	,0353957	,163	,786293	-,319672
	3	,2574519	,0517828	,279	1,406570	-,891666
	4	,2113307	,0437475	,272	1,060106	-,637444
	5	,3105651	,0331414	,094	,789984	-,168853
	6	,3043574	,0356993	,116	,867519	-,258805
3 (4. gün)	1	-,0241410	,0591343	1,000	,647901	-,696183
	2	-,2574519	,0517828	,279	,891666	-1,406570
	4	-,0461212	,0644815	,994	,577374	-,669616
	5	,0531132	,0578132	,968	,758160	-,651934
	6	,0469055	,0593166	,986	,715279	-,621468
4 (6. gün)	1	,0219802	,0522424	1,000	,542368	-,498408
	2	-,2113307	,0437475	,272	,637444	-1,060106
	3	,0461212	,0644815	,994	,669616	-,577374
	5	,0992344	,0507421	,650	,630892	-,432423
	6	,0930267	,0524485	,709	,612550	-,426497
5 (8. gün)	1	-,0772543	,0437467	,710	,331916	-,486424
	2	-,3105651	,0331414	,094	,168853	-,789984
	3	-,0531132	,0578132	,968	,651934	-,758160
	4	-,0992344	,0507421	,650	,432423	-,630892
	6	-,0062077	,0439927	1,000	,406137	-,418552
6 (10. gün)	1	-,0710465	,0457149	,787	,353246	-,495339
	2	-,3043574	,0356993	,116	,258805	-,867519
	3	-,0469055	,0593166	,986	,621468	-,715279
	4	-,0930267	,0524485	,709	,426497	-,612550
	5	,0062077	,0439927	1,000	,418552	-,406137

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

Çizelge 4.9 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerinde lipid peroksidasyonuna ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	,007	5	,001	13,783	,003
Gruplar içi	,001	6	,000		
Toplam	,007	11			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05'ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.10 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında lipid peroksidasyonuna ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	,126	5	,025	9,934	,007
Gruplar içi	,015	6	,003		
Toplam	,142	11			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05'ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.11 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerinde lipid peroksidasyonuna ait Post Hoc Testi verileri

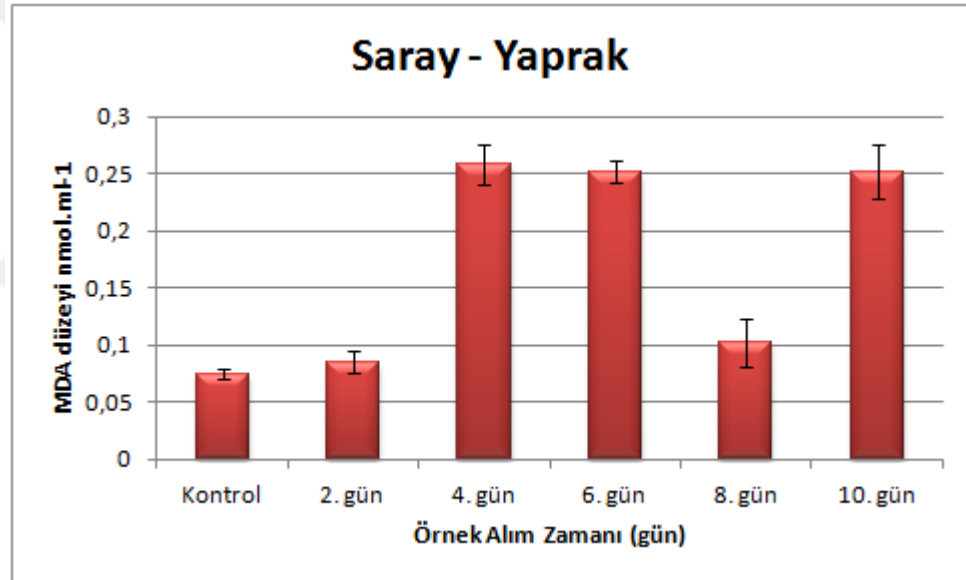
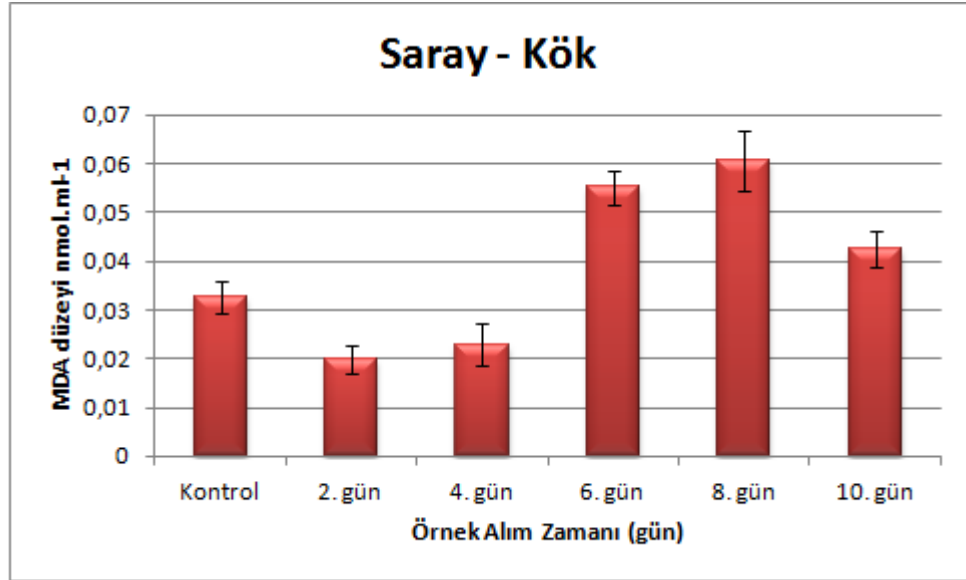
(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	-,0671839*	,0063651	,040	-,007330	-,127038
	3	-,0481518	,0140380	,399	,224982	-,321286
	4	-,0521973	,0047559	,143	,095055	-,199450
	5	-,0711561	,0094094	,110	,046483	-,188795
	6	-,0349792	,0057816	,133	,026684	-,096642
2 (2. gün)	1	,0671839*	,0063651	,040	,127038	,007330
	3	,0190321	,0138860	,844	,311364	-,273300
	4	,0149866	,0042866	,433	,146068	-,116095
	5	-,0039721	,0091812	1,000	,122779	-,130723
	6	,0322047	,0054022	,126	,086038	-,021628
3 (4. gün)	1	,0481518	,0140380	,399	,321286	-,224982
	2	-,0190321	,0138860	,844	,273300	-,311364
	4	-,0040455	,0132260	1,000	,425415	-,433506
	5	-,0230042	,0155192	,811	,161363	-,207372
	6	,0131726	,0136284	,948	,346572	-,320227
4 (6. gün)	1	,0521973	,0047559	,143	,199450	-,095055
	2	-,0149866	,0042866	,433	,116095	-,146068
	3	,0040455	,0132260	1,000	,433506	-,425415
	5	-,0189587	,0081485	,611	,242570	-,280487
	6	,0172181	,0033597	,299	,115810	-,081373
5 (8. gün)	1	,0711561	,0094094	,110	,188795	-,046483
	2	,0039721	,0091812	1,000	,130723	-,122779
	3	,0230042	,0155192	,811	,207372	-,161363
	4	,0189587	,0081485	,611	,280487	-,242570
	6	,0361768	,0087867	,314	,189131	-,116777
6 (10. gün)	1	,0349792	,0057816	,133	,096642	-,026684
	2	-,0322047	,0054022	,126	,021628	-,086038
	3	-,0131726	,0136284	,948	,320227	-,346572
	4	-,0172181	,0033597	,299	,081373	-,115810
	5	-,0361768	,0087867	,314	,116777	-,189131

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

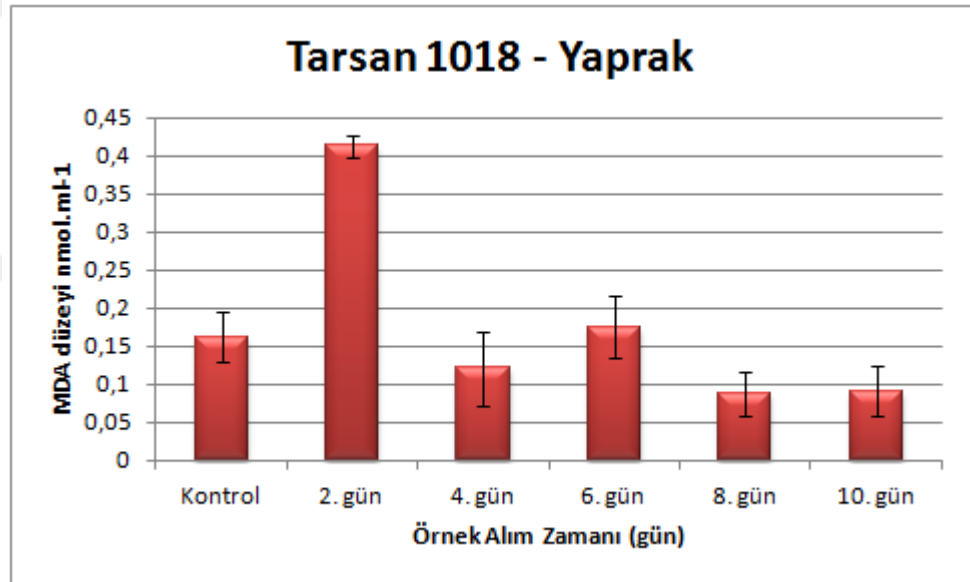
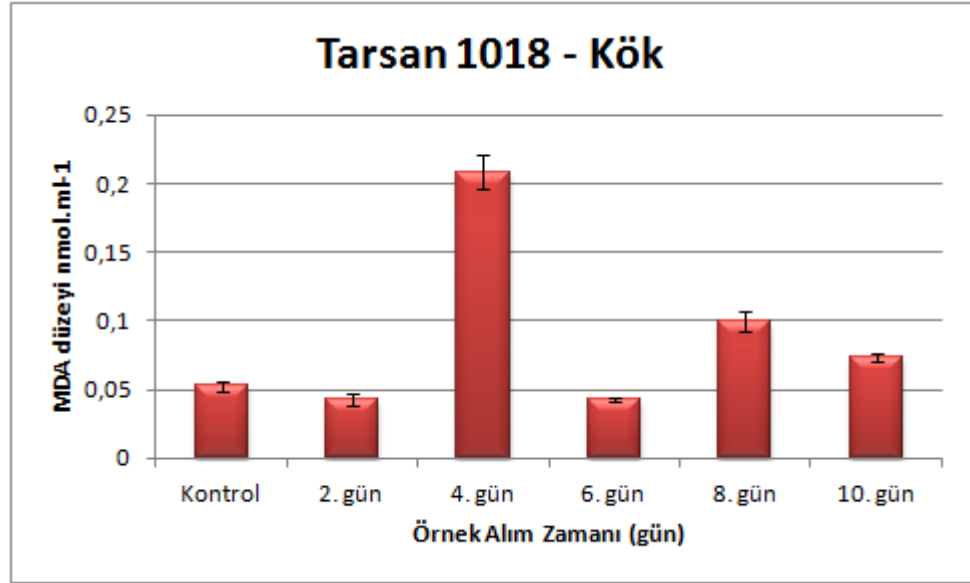
Çizelge 4.12 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında lipid peroksidasyonuna ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	-,1064899	,0715993	,811	,568592	-,781572
	3	-,2025254	,0510833	,334	,728736	-1,133787
	4	-,1997061	,0530987	,328	,577417	-,976829
	5	,0410820	,0525504	,984	,851957	-,769793
	6	-,2185362	,0582590	,285	,401787	-,838860
2 (2. gün)	1	,1064899	,0715993	,811	,781572	-,568592
	3	-,0960355	,0565524	,747	1,035574	-1,227645
	4	-,0932161	,0583793	,775	,859341	-1,045773
	5	,1475719	,0578811	,528	1,140932	-,845788
	6	-,1120462	,0631092	,712	,625037	-,849130
3 (4. gün)	1	,2025254	,0510833	,334	1,133787	-,728736
	2	,0960355	,0565524	,747	1,227645	-1,035574
	4	,0028194	,0298528	1,000	,299055	-,293416
	5	,2436074	,0288662	,064	,522460	-,035246
	6	-,0160107	,0382860	1,000	,488165	-,520187
4 (6. gün)	1	,1997061	,0530987	,328	,976829	-,577417
	2	,0932161	,0583793	,775	1,045773	-,859341
	3	-,0028194	,0298528	1,000	,293416	-,299055
	5	,2407880	,0322991	,077	,541641	-,060065
	6	-,0188301	,0409364	1,000	,419198	-,456858
5 (8. gün)	1	-,0410820	,0525504	,984	,769793	-,851957
	2	-,1475719	,0578811	,528	,845788	-1,140932
	3	-,2436074	,0288662	,064	,035246	-,522460
	4	-,2407880	,0322991	,077	,060065	-,541641
	6	-,2596181	,0402227	,125	,189716	-,708952
6 (10. gün)	1	,2185362	,0582590	,285	,838860	-,401787
	2	,1120462	,0631092	,712	,849130	-,625037
	3	,0160107	,0382860	1,000	,520187	-,488165
	4	,0188301	,0409364	1,000	,456858	-,419198
	5	,2596181	,0402227	,125	,708952	-,189716

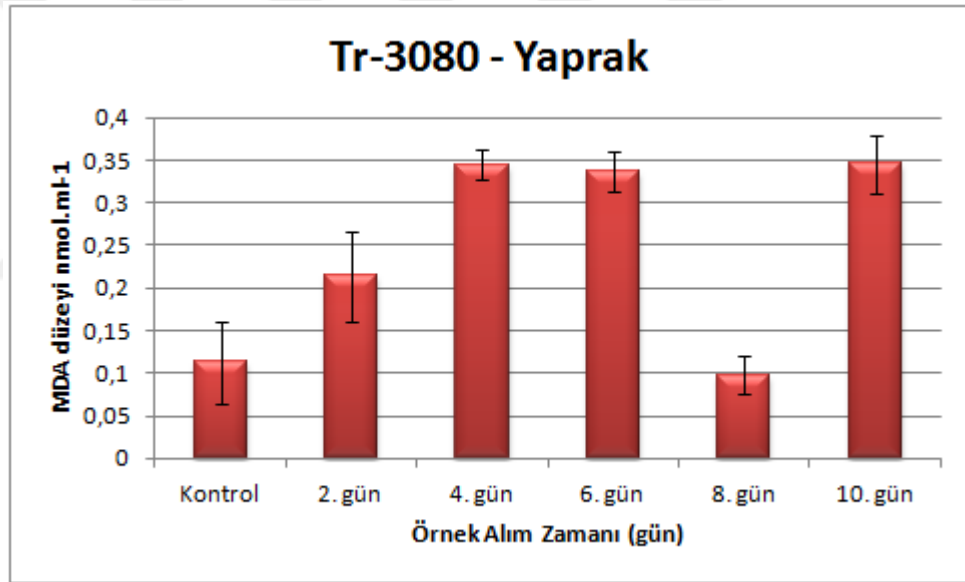
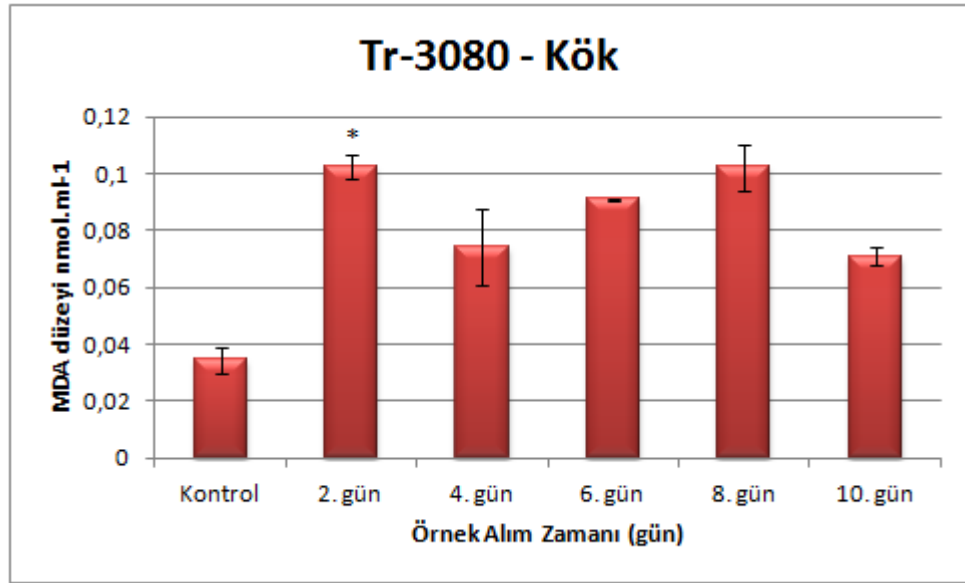
* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.



Şekil 4.4 Saray ayçiçeği çeşidinin kök ve yapraklarında soğuk stresinin kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde gözlenen MDA düzeyleri



Şekil 4.5 Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin kök ve yapraklarında soğuk stresinin kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde gözlenen MDA düzeyleri



Şekil 4.6 Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin kök ve yapraklarında soğuk stresinin kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde gözlenen MDA düzeyleri

4.3 Total Protein Miktarı Sonuçları

Soğuk stresi uygulamasının farklı günlerinde ayçiçeği fidelerinden kök ve yaprak örnekleri alınarak, üç tekrarlı olacak şekilde total protein analizi (Bradford 1976) yapılmıştır (Şekil 4.7-4.9). Soğuk stresi uygulanan örneklerin kök ve yapraklarında farklı zaman periyotlarında total protein miktarında meydana gelen değişimin istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığı tek yönlü varyans analizi (One Way ANOVA Dunnet Test, Post Hoc testi) kullanılarak tespit edilmiştir. Sig değerinin 0,05’den küçük olması, soğuk stresinde zamana bağlı olarak total protein miktarında meydana gelen değişikliğin $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı olduğunu ifade etmektedir.

Çizelge 4.13 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin köklerinde total proteine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	,004	5	,001	1221,707	,000
Gruplar içi	,000	18	,000		
Toplam	,004	23			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05’ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.14 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin yapraklarında total proteine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	,008	5	,002	455,678	,000
Gruplar içi	,000	18	,000		
Toplam	,008	23			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05’ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.15 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin köklerinde total proteine ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	-,0018750	,0004644	,066	,000123	-,003873
	3	,0096500*	,0003410	,000	,011333	,007967
	4	-,0273250*	,0003485	,000	-,025657	-,028993
	5	-,0216250*	,0006283	,000	-,018645	-,024605
	6	-,0194250*	,0007647	,000	-,015533	-,023317
2 (2. gün)	1	,0018750	,0004644	,066	,003873	-,000123
	3	,0115250*	,0003794	,000	,013468	,009582
	4	-,0254500*	,0003862	,000	-,023530	-,027370
	5	-,0197500*	,0006500	,000	-,016776	-,022724
	6	-,0175500*	,0007826	,000	-,013712	-,021388
3 (4. gün)	1	-,0096500*	,0003410	,000	-,007967	-,011333
	2	-,0115250*	,0003794	,000	-,009582	-,013468
	4	-,0369750*	,0002231	,000	-,036017	-,037933
	5	-,0312750*	,0005684	,000	-,028052	-,034498
	6	-,0290750*	,0007163	,000	-,024870	-,033280
4 (6. gün)	1	,0273250*	,0003485	,000	,028993	,025657
	2	,0254500*	,0003862	,000	,027370	,023530
	3	,0369750*	,0002231	,000	,037933	,036017
	5	,0057000*	,0005730	,007	,008887	,002513
	6	,0079000*	,0007200	,007	,012070	,003730
5 (8. gün)	1	,0216250*	,0006283	,000	,024605	,018645
	2	,0197500*	,0006500	,000	,022724	,016776
	3	,0312750*	,0005684	,000	,034498	,028052
	4	-,0057000*	,0005730	,007	-,002513	-,008887
	6	,0022000	,0008898	,362	,006087	-,001687
6 (10. gün)	1	,0194250*	,0007647	,000	,023317	,015533
	2	,0175500*	,0007826	,000	,021388	,013712
	3	,0290750*	,0007163	,000	,033280	,024870
	4	-,0079000*	,0007200	,007	-,003730	-,012070
	5	-,0022000	,0008898	,362	,001687	-,006087

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

Çizelge 4.16 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin yapraklarında total proteine ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	,0435750*	,0020231	,001	,055790	,031360
	3	-,0064500	,0020181	,259	,005823	-,018723
	4	-,0027750	,0021254	,895	,008595	-,014145
	5	,0003750	,0020493	1,000	,012318	-,011568
	6	,0214750*	,0020145	,010	,033791	,009159
2 (2. gün)	1	-,0435750*	,0020231	,001	-,031360	-,055790
	3	-,0500250*	,0004181	,000	-,048229	-,051821
	4	-,0463500*	,0007869	,000	-,042332	-,050368
	5	-,0432000*	,0005492	,000	-,040738	-,045662
	6	-,0221000*	,0004000	,000	-,020359	-,023841
3 (4. gün)	1	,0064500	,0020181	,259	,018723	-,005823
	2	,0500250*	,0004181	,000	,051821	,048229
	4	,0036750	,0007739	,070	,007751	-,000401
	5	,0068250*	,0005305	,000	,009274	,004376
	6	,0279250*	,0003739	,000	,029530	,026320
4 (6. gün)	1	,0027750	,0021254	,895	,014145	-,008595
	2	,0463500*	,0007869	,000	,050368	,042332
	3	-,0036750	,0007739	,070	,000401	-,007751
	5	,0031500	,0008520	,113	,007065	-,000765
	6	,0242500*	,0007643	,000	,028380	,020120
5 (8. gün)	1	-,0003750	,0020493	1,000	,011568	-,012318
	2	,0432000*	,0005492	,000	,045662	,040738
	3	-,0068250*	,0005305	,000	-,004376	-,009274
	4	-,0031500	,0008520	,113	,000765	-,007065
	6	,0211000*	,0005164	,000	,023556	,018644
6 (10. gün)	1	-,0214750*	,0020145	,010	-,009159	-,033791
	2	,0221000*	,0004000	,000	,023841	,020359
	3	-,0279250*	,0003739	,000	-,026320	-,029530
	4	-,0242500*	,0007643	,000	-,020120	-,028380
	5	-,0211000*	,0005164	,000	-,018644	-,023556

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

Çizelge 4.17 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin köklerinde total proteine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	,004	5	,001	628,492	,000
Gruplar içi	,000	18	,000		
Toplam	,004	23			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05'ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.18 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında total proteine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	,008	5	,002	3416,256	,000
Gruplar içi	,000	18	,000		
Toplam	,008	23			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05'ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.19 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin köklerinde total proteine ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	-,0048500*	,0003075	,000	-,003530	-,006170
	3	,0237500*	,0002669	,000	,024989	,022511
	4	,0118750*	,0004706	,000	,014110	,009640
	5	-,0153750*	,0012325	,005	-,008047	-,022703
	6	-,0059500*	,0004296	,000	-,003978	-,007922
2 (2. gün)	1	,0048500*	,0003075	,000	,006170	,003530
	3	,0286000*	,0002475	,000	,029718	,027482
	4	,0167250*	,0004598	,000	,018978	,014472
	5	-,0105250*	,0012284	,018	-,003154	-,017896
	6	-,0011000	,0004178	,329	,000875	-,003075
3 (4. gün)	1	-,0237500*	,0002669	,000	-,022511	-,024989
	2	-,0286000*	,0002475	,000	-,027482	-,029718
	4	-,0118750*	,0004337	,000	-,009514	-,014236
	5	-,0391250*	,0012189	,000	-,031644	-,046606
	6	-,0297000*	,0003889	,000	-,027643	-,031757
4 (6. gün)	1	-,0118750*	,0004706	,000	-,009640	-,014110
	2	-,0167250*	,0004598	,000	-,014472	-,018978
	3	,0118750*	,0004337	,000	,014236	,009514
	5	-,0272500*	,0012790	,000	-,020309	-,034191
	6	-,0178250*	,0005491	,000	-,015464	-,020186
5 (8. gün)	1	,0153750*	,0012325	,005	,022703	,008047
	2	,0105250*	,0012284	,018	,017896	,003154
	3	,0391250*	,0012189	,000	,046606	,031644
	4	,0272500*	,0012790	,000	,034191	,020309
	6	,0094250*	,0012645	,020	,016466	,002384
6 (10. gün)	1	,0059500*	,0004296	,000	,007922	,003978
	2	,0011000	,0004178	,329	,003075	-,000875
	3	,0297000*	,0003889	,000	,031757	,027643
	4	,0178250*	,0005491	,000	,020186	,015464
	5	-,0094250*	,0012645	,020	-,002384	-,016466

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

Çizelge 4.20 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında total proteine ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	-,0174750*	,0003750	,000	-,015553	-,019397
	3	,0262750*	,0003224	,000	,027843	,024707
	4	-,0305750*	,0005949	,000	-,027167	-,033983
	5	-,0117250*	,0002926	,000	-,010353	-,013097
	6	,0020500*	,0002693	,005	,003274	,000826
2 (2. gün)	1	,0174750*	,0003750	,000	,019397	,015553
	3	,0437500*	,0004486	,000	,045692	,041808
	4	-,0131000*	,0006718	,000	-,009975	-,016225
	5	,0057500*	,0004277	,000	,007642	,003858
	6	,0195250*	,0004121	,000	,021397	,017653
3 (4. gün)	1	-,0262750*	,0003224	,000	-,024707	-,027843
	2	-,0437500*	,0004486	,000	-,041808	-,045692
	4	-,0568500*	,0006439	,000	-,053692	-,060008
	5	-,0380000*	,0003824	,000	-,036355	-,039645
	6	-,0242250*	,0003649	,000	-,022632	-,025818
4 (6. gün)	1	,0305750*	,0005949	,000	,033983	,027167
	2	,0131000*	,0006718	,000	,016225	,009975
	3	,0568500*	,0006439	,000	,060008	,053692
	5	,0188500*	,0006295	,000	,022051	,015649
	6	,0326250*	,0006190	,000	,035871	,029379
5 (8. gün)	1	,0117250*	,0002926	,000	,013097	,010353
	2	-,0057500*	,0004277	,000	-,003858	-,007642
	3	,0380000*	,0003824	,000	,039645	,036355
	4	-,0188500*	,0006295	,000	-,015649	-,022051
	6	,0137750*	,0003388	,000	,015231	,012319
6 (10. gün)	1	-,0020500*	,0002693	,005	-,000826	-,003274
	2	-,0195250*	,0004121	,000	-,017653	-,021397
	3	,0242250*	,0003649	,000	,025818	,022632
	4	-,0326250*	,0006190	,000	-,029379	-,035871
	5	-,0137750*	,0003388	,000	-,012319	-,015231

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

Çizelge 4.21 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerinde total proteine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	,004	5	,001	966,413	,000
Gruplar içi	,000	18	,000		
Toplam	,004	23			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05'ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.22 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında total proteine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	,043	5	,009	25472,239	,000
Gruplar içi	,000	18	,000		
Toplam	,043	23			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05'ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.23 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerinde total proteine ait Post Hoc Testi verileri

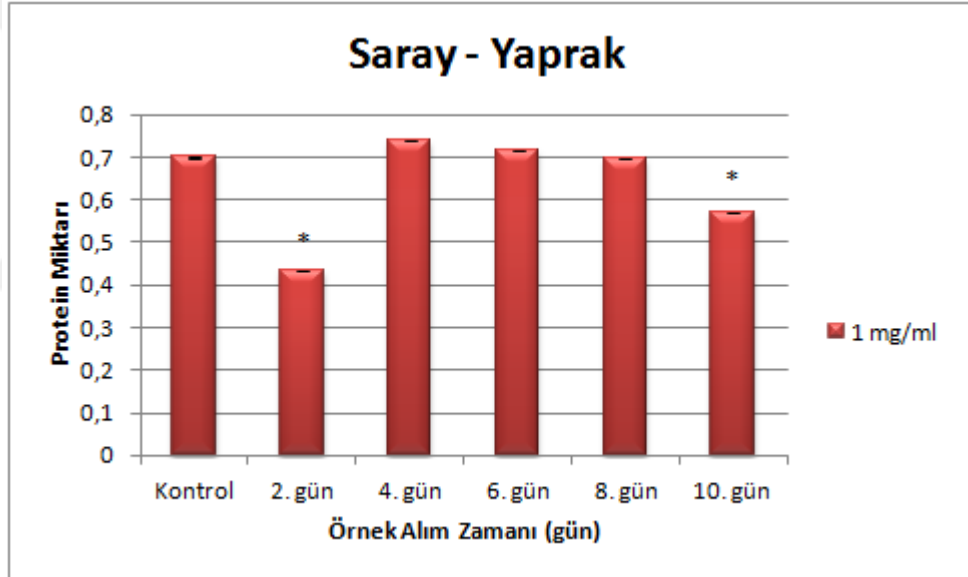
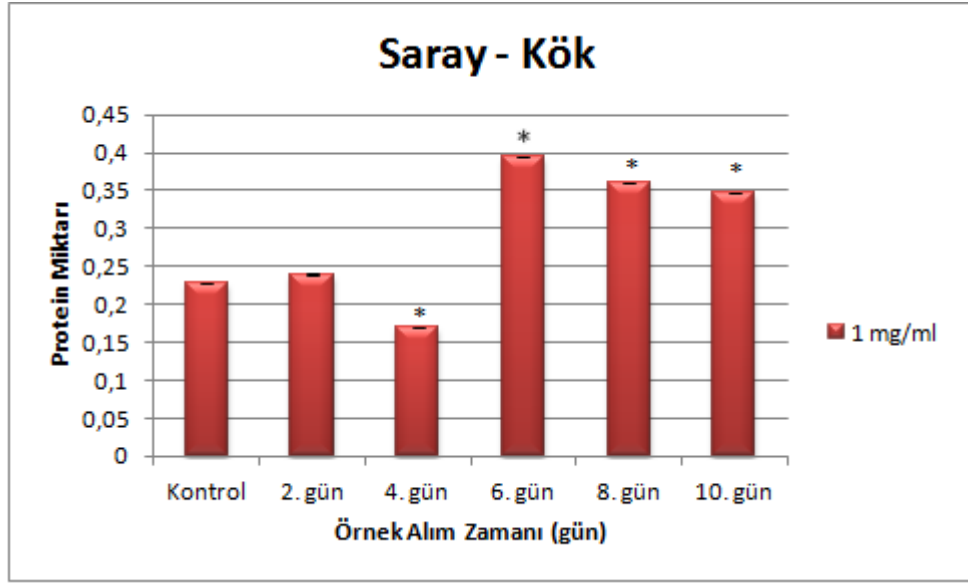
(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	,0059500*	,0008362	,004	,009525	,002375
	3	-,0184000*	,0007165	,000	-,015200	-,021600
	4	-,0257500*	,0007388	,000	-,022509	-,028991
	5	-,0097000*	,0006014	,002	-,006194	-,013206
	6	-,0262750*	,0006163	,000	-,022891	-,029659
2 (2. gün)	1	-,0059500*	,0008362	,004	-,002375	-,009525
	3	-,0243500*	,0007240	,000	-,021104	-,027596
	4	-,0317000*	,0007461	,000	-,028418	-,034982
	5	-,0156500*	,0006103	,000	-,012085	-,019215
	6	-,0322250*	,0006250	,000	-,028782	-,035668
3 (4. gün)	1	,0184000*	,0007165	,000	,021600	,015200
	2	,0243500*	,0007240	,000	,027596	,021104
	4	-,0073500*	,0006090	,000	-,004739	-,009961
	5	,0087000*	,0004320	,001	,011073	,006327
	6	-,0078750*	,0004525	,000	-,005603	-,010147
4 (6. gün)	1	,0257500*	,0007388	,000	,028991	,022509
	2	,0317000*	,0007461	,000	,034982	,028418
	3	,0073500*	,0006090	,000	,009961	,004739
	5	,0160500*	,0004682	,000	,018667	,013433
	6	-,0005250	,0004871	,962	,001982	-,003032
5 (8. gün)	1	,0097000*	,0006014	,002	,013206	,006194
	2	,0156500*	,0006103	,000	,019215	,012085
	3	-,0087000*	,0004320	,001	-,006327	-,011073
	4	-,0160500*	,0004682	,000	-,013433	-,018667
	6	-,0165750*	,0002305	,000	-,015545	-,017605
6 (10. gün)	1	,0262750*	,0006163	,000	,029659	,022891
	2	,0322250*	,0006250	,000	,035668	,028782
	3	,0078750*	,0004525	,000	,010147	,005603
	4	,0005250	,0004871	,962	,003032	-,001982
	5	,0165750*	,0002305	,000	,017605	,015545

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

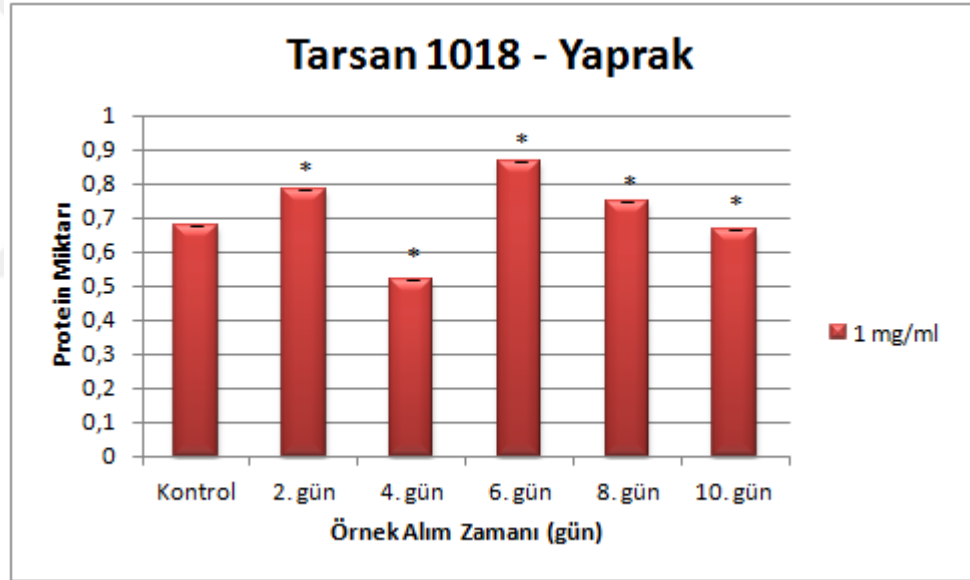
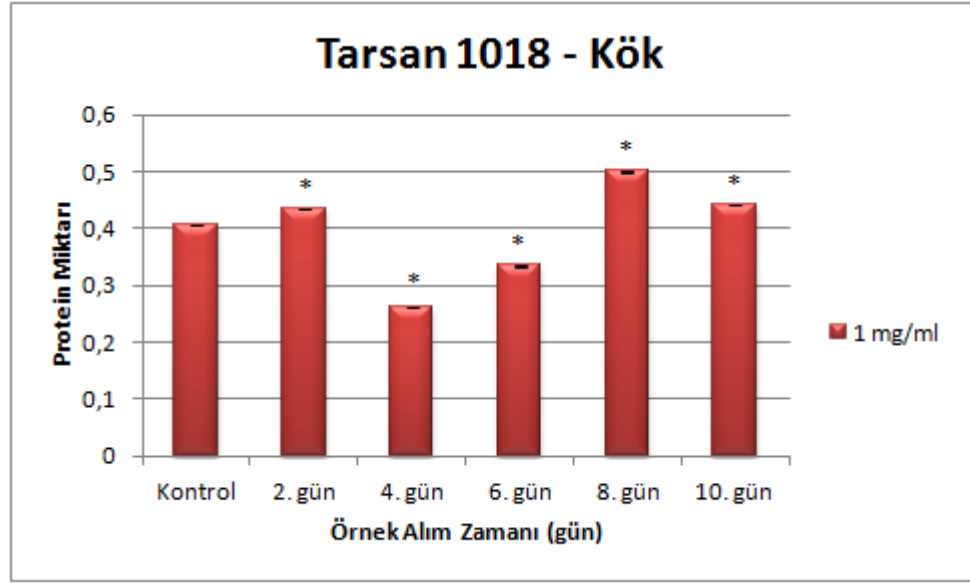
Çizelge 4.24 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında total proteine ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	,0301750*	,0006176	,000	,032856	,027494
	3	,1193000*	,0004178	,000	,121504	,117096
	4	-,0018250	,0004121	,094	,000412	-,004062
	5	,0672750*	,0004580	,000	,069390	,065160
	6	,0606250*	,0004211	,000	,062813	,058437
2 (2. gün)	1	-,0301750*	,0006176	,000	-,027494	-,032856
	3	,0891250*	,0005015	,000	,091897	,086353
	4	-,0320000*	,0004967	,000	-,029192	-,034808
	5	,0371000*	,0005354	,000	,039721	,034479
	6	,0304500*	,0005041	,000	,033203	,027697
3 (4. gün)	1	-,1193000*	,0004178	,000	-,117096	-,121504
	2	-,0891250*	,0005015	,000	-,086353	-,091897
	4	-,1211250*	,0001995	,000	-,120268	-,121982
	5	-,0520250*	,0002825	,000	-,050725	-,053325
	6	-,0586750*	,0002175	,000	-,057744	-,059606
4 (6. gün)	1	,0018250	,0004121	,094	,004062	-,000412
	2	,0320000*	,0004967	,000	,034808	,029192
	3	,1211250*	,0001995	,000	,121982	,120268
	5	,0691000*	,0002739	,000	,070404	,067796
	6	,0624500*	,0002062	,000	,063342	,061558
5 (8. gün)	1	-,0672750*	,0004580	,000	-,065160	-,069390
	2	-,0371000*	,0005354	,000	-,034479	-,039721
	3	,0520250*	,0002825	,000	,053325	,050725
	4	-,0691000*	,0002739	,000	-,067796	-,070404
	6	-,0066500*	,0002872	,000	-,005348	-,007952
6 (10. gün)	1	-,0606250*	,0004211	,000	-,058437	-,062813
	2	-,0304500*	,0005041	,000	-,027697	-,033203
	3	,0586750*	,0002175	,000	,059606	,057744
	4	-,0624500*	,0002062	,000	-,061558	-,063342
	5	,0066500*	,0002872	,000	,007952	,005348

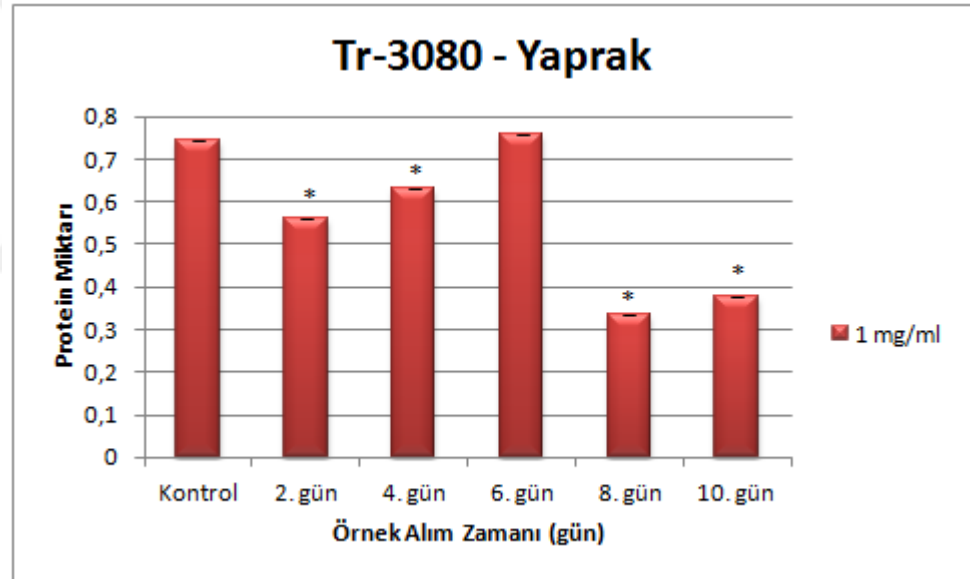
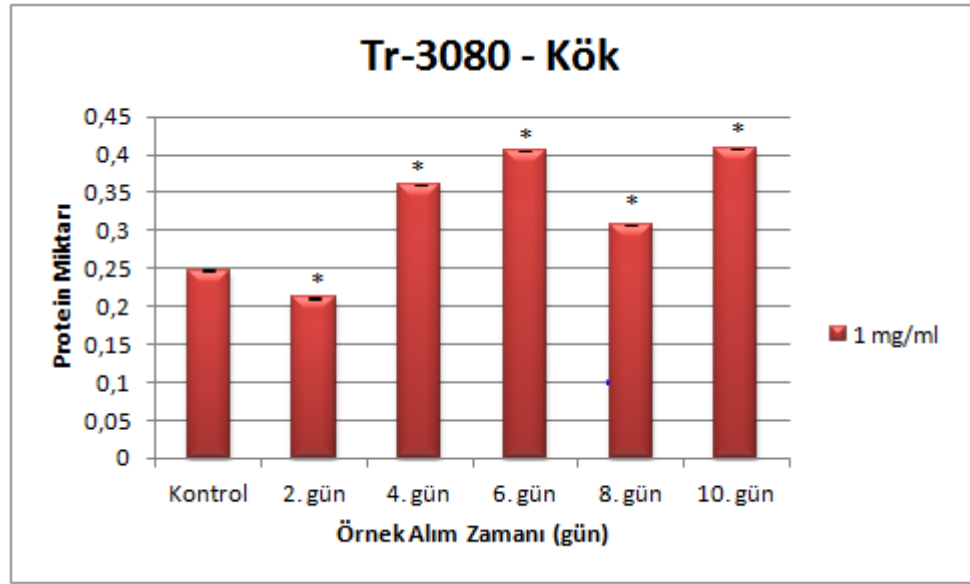
* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.



Şekil 4.7 Saray ayçiçeği çeşidinin kök ve yapraklarında soğuk stresinin kontrol, 2.,4., 6., 8. ve 10. günlerinde gözlenen protein düzeyleri



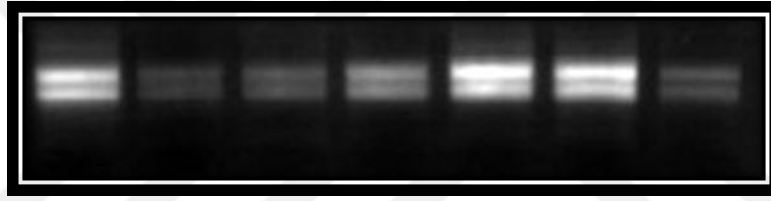
Şekil 4.8 Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin kök ve yapraklarında soğuk stresinin kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde gözlenen protein düzeyleri



Şekil 4.9 Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin kök ve yapraklarında soğuk stresinin kontrol, 2.,4., 6., 8. ve 10. günlerinde gözlenen protein düzeyleri

4.4 Total RNA İzolasyonu

Soğuk stresi uygulaması sonrasında alınan tüm bitki örnekleri, RNA izolasyonu işlemine kadar -80°C 'lik derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Bitki örneklerinden RNA izolasyonu Trizol protokolüne göre gerçekleştirilmiştir. İzole edilen RNA'ların saflık ve miktarlarının kontrol edilmesi, daha sonra yapılacak işlemlerin optimizasyonu ve standartlaştırılması için gereklidir. Bu nedenle izole edilen RNA'lar hem % 1,5'lik FA (formaldehit agaroz) jelde yürütülerek (Şekil 4.10), hem de Nanodrop ND-Spectrometer 1000 cihazı ile spektrofotometrik olarak ölçülerek saflık ve miktarları kontrol edilmiştir. Pürifikasyon sonrasında 260/280 oranının 1,9-2,1; 260/230 oranının ise 2,0-2,5 arasında olması RNA saflığının iyi olduğunun göstergesidir.



Şekil 4.10 İzole edilen RNA'lardan bazılarının formaldehit agaroz (FA) jel görüntüsü

4.5 cDNA (komplementer DNA) Sentezi

RNA örneklerinden cDNA sentezi, Transcriptor High Fidelity cDNA sentez kiti (Roche-Kat. No: 05 091 284 001) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çizelge 4.25'de RNA örneklerinden sentezlenmiş cDNA'ların saflık ve miktar ölçümleri yer almaktadır.

Çizelge 4.25 RNA örneklerinden sentezlenmiş cDNA'ların saflık ve miktar tayinleri

Çalışma kodu	ng/ul	A260	A280	260/280	260/230
S1K0	1522,74	46,144	25,107	1,84	1,82
S1K2	1585,8	48,054	26,005	1,85	1,82
S1K4	1490,63	45,171	24,411	1,85	1,61
S1K6	1533,72	46,476	25,286	1,84	1,61
S1K8	1523,47	46,166	24,858	1,86	1,74
S1K10	1555,12	47,125	25,424	1,85	1,73
S1Y0	1498,55	45,411	24,586	1,85	1,74
S1Y2	1631,2	49,43	26,884	1,84	1,73
S1Y4	1618,9	49,058	26,824	1,83	1,8
S1Y6	1634,82	49,54	27,063	1,83	1,8
S1Y8	1602,29	48,554	26,442	1,84	1,81
S1Y10	1619,24	49,068	26,812	1,83	1,81
S2K0	1596,21	48,37	26,279	1,84	1,78
S2K2	1615,11	48,943	26,569	1,84	1,78
S2K4	1624,73	49,234	26,759	1,84	1,73
S2K6	1648,94	49,968	27,008	1,85	1,75
S2K8	1604,76	48,629	26,472	1,84	1,8
S2K10	1627,09	49,306	26,964	1,83	1,79
S2Y0	1613,81	48,903	26,658	1,83	1,82
S2Y2	1630,54	49,41	26,896	1,84	1,8
S2Y4	1574,82	47,722	26,018	1,83	1,83
S2Y6	1596,51	48,379	26,373	1,83	1,83
S2Y8	1623,6	49,2	26,866	1,83	1,82
S2Y10	1645,68	49,869	27,077	1,84	1,81
S3K0	1580,52	47,895	26,022	1,84	1,85
S3K2	1609,97	48,787	26,536	1,84	1,84
S3K4	1580,66	47,899	26,176	1,83	1,82
S3K6	1598,98	48,454	26,432	1,83	1,83
S3K8	1606,98	48,697	26,673	1,83	1,82
S3K10	1607,16	48,702	26,74	1,82	1,81
S3Y0	1590,26	48,19	26,344	1,83	1,81
S3Y2	1630,04	49,395	26,962	1,83	1,82
S3Y4	1534,67	46,505	25,579	1,82	1,8
S3Y6	1555,39	47,133	26,009	1,81	1,8
S3Y8	1576,63	47,777	26,197	1,82	1,8
S3Y10	1594,83	48,328	26,45	1,83	1,81

4.6 RT-PCR Sonuçlarının Normalizasyonu ve İstatistiksel Analizler

Real-time PCR çalışmalarında hedef genin ifade düzeyinin tespit edilebilmesi için, çeşitli koşullarda ifade düzeyi değişmeyen bir başka gen (referans gen) ile normalize edilmesi gerekmektedir. Farklı sürelerde soğuk stresi uygulanmış Saray, Tarsan 1018 ve Tr-3080 ayçiçeği fidelerinde bZIP, MYB, NAC, NF-YB ve WRKY tipi transkripsiyon faktör hedef genlerine ait ifade profilleri, çalışmada housekeeping gen olarak kullanılan aktin (ACT) ve kontrol şartları dikkate alınarak $2^{-\Delta\Delta CT}$ metoduna göre normalize edilmiştir (Livak ve Schmittgen 2001). Normalizasyon ile elde edilen gen ifadesi verilerinin ortalama, standart sapma, standart hata sonuçlarının analizine ait verilerin istatistiksel olarak anlamlılık dereceleri SPSS 20 istatistik programında yer alan One Way ANOVA (Dunnett) testi ile hesaplanmıştır. P değerinin 0.05'den küçük olması ($P<0.05$) istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Çalışmada kullanılan tüm örneklerin bZIP, MYB, NAC, NF-YB ve WRKY tipi transkripsiyon faktör genlerine ait normalize edilmiş gen ifadesi verilerinin ortalaması ve standart hataları alınarak elde edilen veriler ile her bir gene ait ifade düzeyini gösteren grafikler çizilmiş ve mRNA ifade seviyelerindeki değişimler tespit edilmeye çalışılmıştır.

4.6.1 Soğuk stresine maruz bırakılan ayçiçeği çeşitlerinin kök ve yapraklarında bZIP geni mRNA düzeyleri

Soğuk stresine maruz bırakılan ayçiçeği fidelerinin bZIP genine ait ifade düzeyleri, çalışmada housekeeping gen olarak kullanılan aktin (ACT) ve kontrol şartları hesaba katılarak $2^{-\Delta\Delta CT}$ metoduna göre normalize edilmiştir (Çizelge 4.26-4.31). Normalizasyon ile elde edilen gen ifadesi verilerinin ortalama, standart hata ve standart sapmaları belirlenmiştir (Çizelge 4.32). Normalizasyonu yapılmış gen ifadesi verilerinin ortalaması alınarak, elde edilen veriler ile her bir çeşit için soğuk stresi uygulaması sonucunda zamana bağlı bZIP gen ifade düzeyindeki değişimleri gösteren grafikler oluşturulmuştur (Şekil 4.11-4.13).

Çizelge 4.26 Soğuk stresi uygulanmış Saray çeşidinin köklerinde bZIP genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri

Örnek Alım Zamanı	Saray Çeşidinin Köklerine Ait bZIP Geni Normalize Edilmiş İfade Verileri			
2. gün	1,945309895	2,830388321	1,854461093	2,969047141
2. gün	2,733974904	3,977880675	2,606294299	4,172754374
2. gün	3,147049781	4,578896642	3,000077979	4,80321371
2. gün	1,689972769	2,458877735	1,611048582	2,579336501
4. gün	5,617779503	8,173760662	5,355421028	8,5741877
4. gün	3,874472757	5,637283021	3,693529243	5,913449725
4. gün	4,850051276	7,056730922	4,623546826	7,402435424
4. gün	4,487773922	7,056730922	4,278188352	6,849506276
6. gün	7,412704495	10,78534185	7,066520412	11,3137085
6. gün	3,427127819	4,986404777	3,267075964	5,23068539
6. gün	4,407620464	6,413002635	4,201778176	6,72717132
6. gün	5,763718995	8,386099804	5,494544934	8,79692919
8. gün	0,763129604	1,110338834	0,727490342	1,164733586
8. gün	1,53368266	2,231478645	1,462057448	2,340797283
8. gün	1,092020546	1,5888688	1,041021598	1,666706414
8. gün	1,071773463	1,559409685	1,021720083	1,635804117
10. gün	0,650670928	0,946713631	0,620283649	0,993092495
10. gün	1,231998073	1,792533399	1,174461971	1,880348405
10. gün	0,87539133	1,273677475	0,834509281	1,336074078
10. gün	0,915733686	1,332374825	0,872967591	1,397646972

Çizelge 4.27 Soğuk stresi uygulanmış Saray çeşidinin yapraklarında bZIP genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri

Örnek Alım Zamanı	Saray Çeşidinin Yapraklarına Ait bZIP Geni Normalize Edilmiş İfade Verileri			
2. gün	0,473028823	0,933679945	0,536258308	0,823591017
2. gün	0,50382688	0,994470169	0,571173123	0,877213549
2. gün	0,775930854	1,531557997	0,879649076	1,350974085
2. gün	0,307146745	0,60625641	0,34820287	0,534773544
4. gün	1,414213562	2,791421528	1,603250659	2,462288827
4. gün	0,71400199	1,409320755	0,809442217	1,243149669
4. gün	0,887611337	1,75199663	1,006257823	1,545421099
4. gün	1,137605228	1,75199663	1,289668251	1,980685744
6. gün	1,790050142	3,533260206	2,029325093	3,116658319
6. gün	2,361985323	4,662164793	2,677710514	4,112455307
6. gün	2,084931522	4,115306832	2,363623094	3,630076621
6. gün	2,02791896	4,00277355	2,298989696	3,530811985
8. gün	3,837056477	7,57370905	4,349953563	6,680703355
8. gün	4,459864875	8,803028875	5,056012394	7,765075758
8. gün	3,724379279	7,351303068	4,222214871	6,484520959
8. gün	4,59479342	9,069355302	5,208976758	8
10. gün	4,500233939	8,882710669	5,101777567	7,835362381
10. gün	7,265187342	14,34026719	8,236320667	12,64942587
10. gün	6,671448351	13,16832552	7,563216934	11,61566624
10. gün	4,900741328	9,673245407	5,555820543	8,532686247

Çizelge 4.28 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 çeşidinin köklerinde bZIP genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri

Örnek Alım Zamanı	Tarsan 1018 Çeşidinin Köklerine Ait bZIP Geni Normalize Edilmiş İfade Verileri			
2. gün	4,531535541	4,207607117	3,173335373	6,008479708
2. gün	3,014669819	2,799171731	2,111107435	3,997228372
2. gün	4,272261632	3,966866923	2,991771517	5,664701753
2. gün	3,197623321	2,969047141	2,239225777	4,239811134
4. gün	4	3,714067409	2,801112642	5,303703041
4. gün	3,627561316	3,368251814	2,540301965	4,809876996
4. gün	3,324183446	3,08656035	2,327853069	4,407620464
4. gün	4,365055508	3,08656035	3,056753042	5,787739543
6. gün	16,1112888	14,95960316	11,28238368	21,36237285
6. gün	15,67072476	14,55053203	10,97386631	20,77821764
6. gün	15,27393623	14,18210719	10,69600396	20,2521055
6. gün	16,5298302	15,34822591	11,57547909	21,91732768
8. gün	15,45498126	14,35021055	10,82278585	20,49215778
8. gün	10,87542594	10,09801626	7,615823268	14,4200074
8. gün	8,117300373	7,537050191	5,684368173	10,76293767
8. gün	20,70633047	19,22617679	14,50019101	27,45505697
10. gün	6,36429187	5,909352254	4,456774603	8,438578537
10. gün	2,401606855	2,229932437	1,681792831	3,184352395
10. gün	3,786854525	3,516158244	2,651851521	5,021087965
10. gün	4,036206535	3,747685787	2,826467288	5,351710219

Çizelge 4.29 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 çeşidinin yapraklarında bZIP genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri

Örnek Alım Zamanı	Tarsan 1018 Çeşidinin Yapraklarına Ait bZIP Geni Normalize Edilmiş İfade Verileri			
2. gün	0,52850902	0,870550563	0,817902059	0,562529242
2. gün	0,277392368	0,456915725	0,429282718	0,295248165
2. gün	0,451563255	0,743806881	0,698823486	0,480630464
2. gün	0,324659651	0,534773544	0,50243191	0,345558052
4. gün	0,602903914	0,993092495	0,933032992	0,641712949
4. gün	0,352330189	0,580351957	0,545253866	0,375009747
4. gün	0,414372452	0,682546859	0,641268301	0,441045683
4. gün	0,512633619	0,682546859	0,793333843	0,545631939
6. gün	1,140763716	1,879045498	1,765405993	1,214194884
6. gün	2,248557848	3,70378409	3,479789411	2,393297926
6. gün	1,612165663	2,655530317	2,494931144	1,715941061
6. gün	1,591072968	2,620786808	2,462288827	1,693490625
8. gün	11,55143356	19,02731384	17,87659421	12,29500145
8. gün	11,97538389	19,72563721	18,5326849	12,74624154
8. gün	10,12605275	16,67945217	15,67072476	10,77786861
8. gün	13,66108343	22,5022912	21,14141449	14,54044986
10. gün	17,75311155	29,24260641	27,47409397	18,89588258
10. gün	10,89806428	17,95109569	16,86546277	11,59957466
10. gün	19,78040417	32,58192639	30,61146106	21,0536724
10. gün	9,781122222	16,1112888	15,13692235	10,41073484

Çizelge 4.30 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 çeşidinin köklerinde bZIP genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri

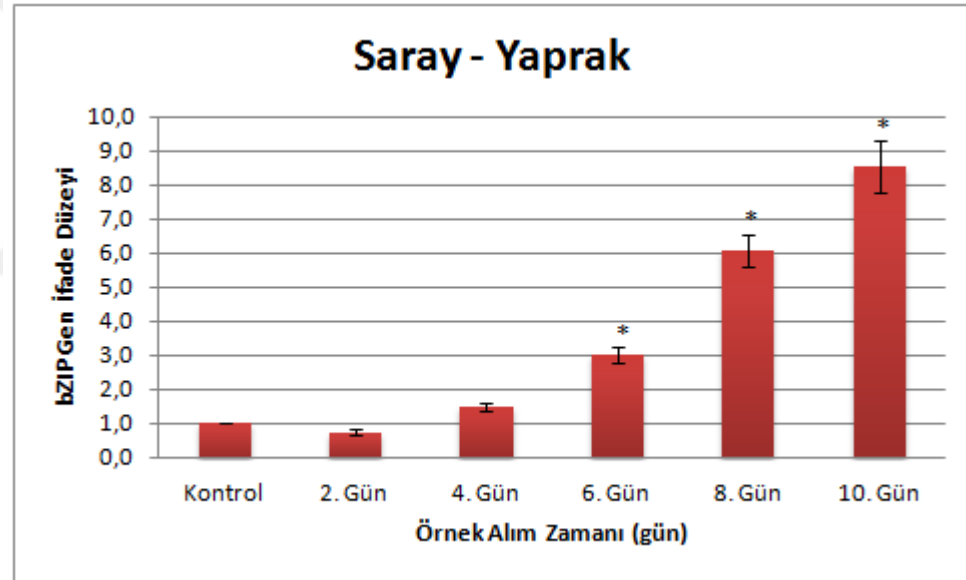
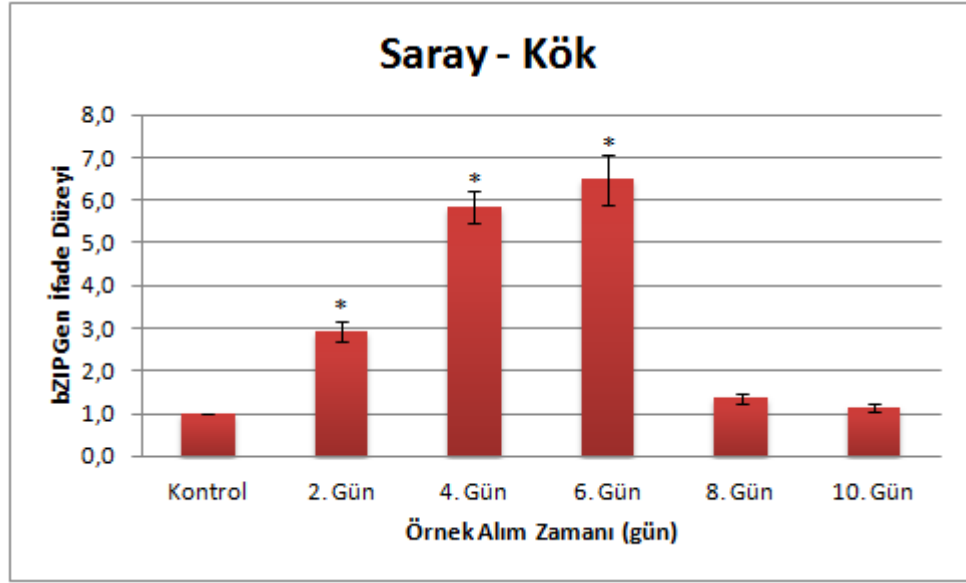
Örnek Alım Zamanı	Tr-3080 Çeşidinin Köklerine Ait bZIP Geni Normalize Edilmiş İfade Verileri			
2. gün	9,31786869	10,1050181	8,94449481	10,5268362
2. gün	11,9174197	12,9241724	11,4398799	13,4636717
2. gün	9,97280955	10,8152867	9,57319171	11,2667538
2. gün	11,1347711	12,0754077	10,6885926	12,5794767
4. gün	0,72698626	0,78840017	0,69785538	0,8213107
4. gün	0,54261469	0,58845337	0,52087171	0,61301743
4. gün	0,49380043	0,53551541	0,47401348	0,55786966
4. gün	0,79885192	0,53551541	0,76684133	0,90250073
6. gün	0,12074204	0,13094202	0,11590382	0,13640798
6. gün	0,07345477	0,07966004	0,07051138	0,08298532
6. gün	0,06915608	0,07499821	0,06638495	0,07812889
6. gün	0,12824727	0,13908127	0,12310831	0,14488699
8. gün	5,35171022	5,80380883	5,13726324	6,04607971
8. gün	4,32290161	4,68808913	4,14967975	4,88378605
8. gün	3,29436407	3,57266341	3,16235647	3,72179863
8. gün	7,02257438	7,61582327	6,74117464	7,93373385
10. gün	1,9588406	2,12431837	1,88034841	2,21299471
10. gün	3,31497962	3,59502051	3,18214594	3,74508899
10. gün	2,46058269	2,66844634	2,36198532	2,77983644
10. gün	2,63901582	2,86195304	2,53326851	2,98142077

Çizelge 4.31 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 çeşidinin yapraklarında bZIP genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri

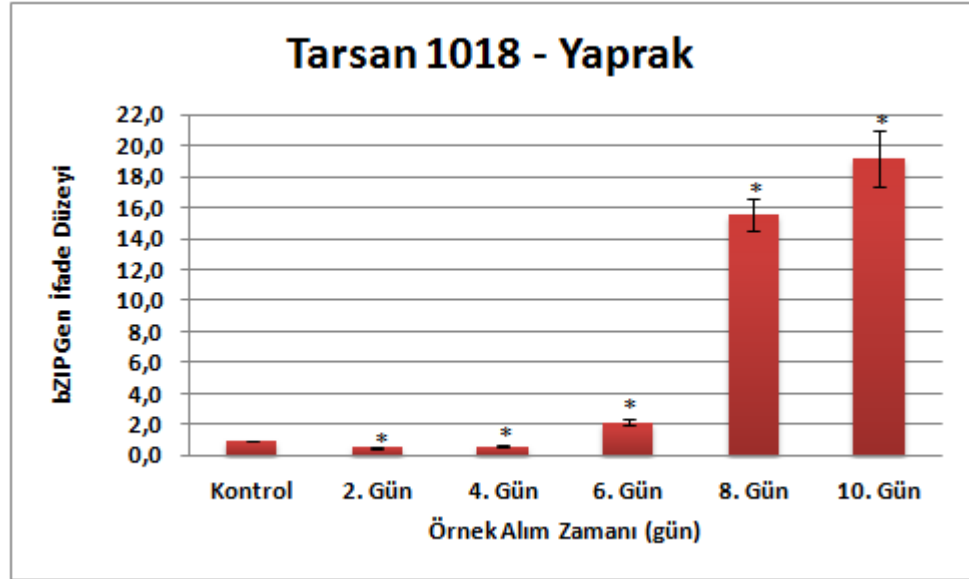
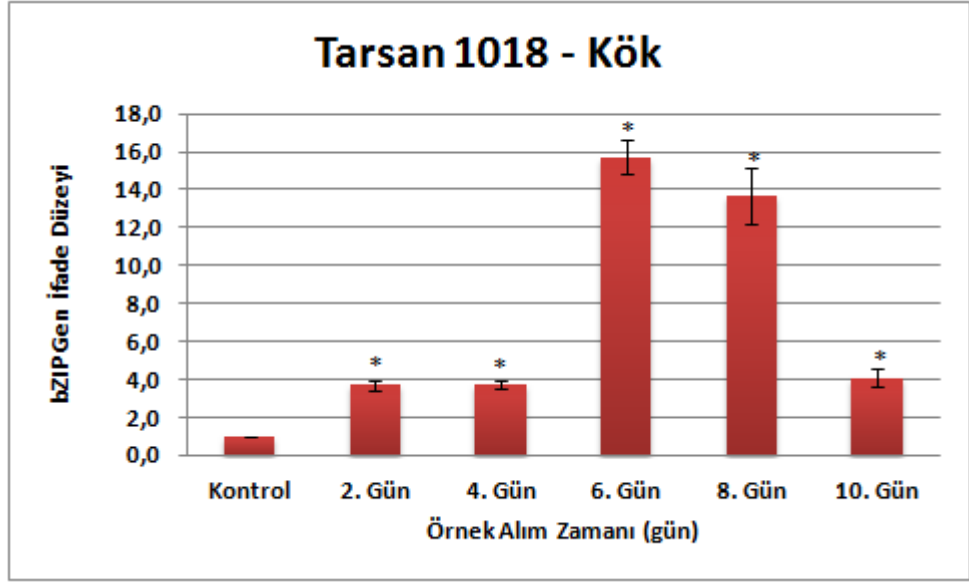
Örnek Alım Zamanı	Tr-3080 Çeşidinin Yapraklarına Ait bZIP Geni Normalize Edilmiş İfade Verileri			
2. gün	0,223756268	0,156583055	0,164824202	0,21256854
2. gün	0,215984547	0,151144459	0,159099367	0,205185402
2. gün	0,312515576	0,218696191	0,230206424	0,296889917
2. gün	0,15464156	0,108217071	0,11391266	0,146909541
4. gün	1,624504793	1,136816973	1,196648963	1,543280175
4. gün	1,418140036	0,992404375	1,044635763	1,347233577
4. gün	1,863480859	1,304050735	1,372684431	1,770307529
4. gün	1,236275261	1,304050735	0,910669834	1,174461971
6. gün	6,453134074	4,515857619	4,75353242	6,130479841
6. gün	6,830541715	4,779964819	5,031539887	6,489017245
6. gün	6,430807926	4,500233939	4,737086447	6,109269992
6. gün	6,854255638	4,796559655	5,049008128	6,511545481
8. gün	0,25	0,174948233	0,184155961	0,237500096
8. gün	0,407536166	0,285190929	0,300200857	0,387159514
8. gün	0,299992846	0,209932873	0,220981883	0,284993318
8. gün	0,339621571	0,237664775	0,250173347	0,322640623
10. gün	1,414213562	0,989656656	1,041743429	1,343503426
10. gün	0,458502022	0,320856474	0,337743521	0,435577096
10. gün	0,727994774	0,509445598	0,536258308	0,691595315
10. gün	0,890692901	0,623300597	0,656105627	0,846158597

Çizelge 4.32 Soğuk stresi uygulanan örneklerin bZIP genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verilerinin ortalama, standart hata ve standart sapma değerleri

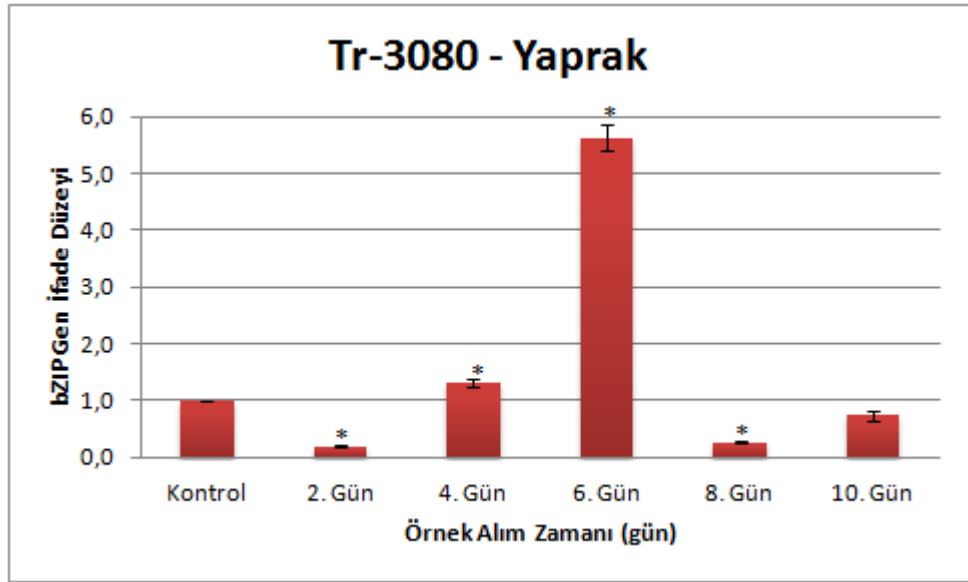
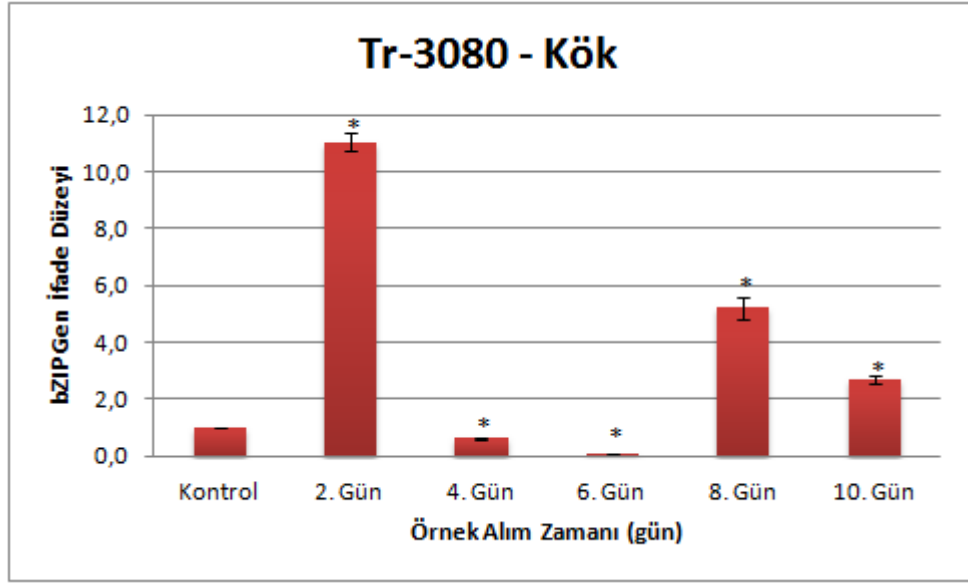
No	Örnek ismi	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata
1	S1K0	1	-	-
2	S1K2	2,934912	0,9941561	0,2485390
3	S1K4	5,840303	1,5247348	0,3811837
4	S1K6	6,480027	2,4025731	0,6006433
5	S1K8	1,375690	0,4653467	0,1163367
6	S1K10	1,133030	0,3647764	0,0911941
7	S1Y0	1	-	-
8	S1Y2	0,752983	0,3409758	0,0852440
9	S1Y4	1,487396	0,5734459	0,1433615
10	S1Y6	3,021128	0,9243091	0,2310773
11	S1Y8	6,073809	1,8422873	0,4605718
12	S1Y10	8,530777	3,0524534	0,7631133
13	S2K0	1	-	-
14	S2K2	3,711528	1,1081459	0,2770365
15	S2K4	3,725450	0,9880559	0,2470140
16	S2K6	15,716500	3,7100218	0,9275055
17	S2K8	13,632426	5,9319695	1,4829924
18	S2K10	4,100294	1,7723897	0,4430974
19	S2Y0	1	-	-
20	S2Y2	0,520036	0,1812014	0,0453003
21	S2Y4	0,608567	0,1833708	0,0458427
22	S2Y6	2,166940	0,7327890	0,1831972
23	S2Y8	15,551852	3,9049344	0,9762336
24	S2Y10	19,134214	7,3494457	1,8373614
25	S3K0	1	-	-
26	S3K2	11,046603	1,3118595	0,3279649
27	S3K4	0,647776	0,1365376	0,0341344
28	S3K6	0,102162	0,0296958	0,0074239
29	S3K8	5,215488	1,5266807	0,3816702
30	S3K10	2,706265	0,5543120	0,1385780
31	S3Y0	1	-	-
32	S3Y2	0,191946	0,0584063	0,0146016
33	S3Y4	1,327478	0,2684706	0,0671176
34	S3Y6	5,623302	0,9110252	0,2277563
35	S3Y8	0,274543	0,0670858	0,0167714
36	S3Y10	0,738959	0,3299833	0,0824958



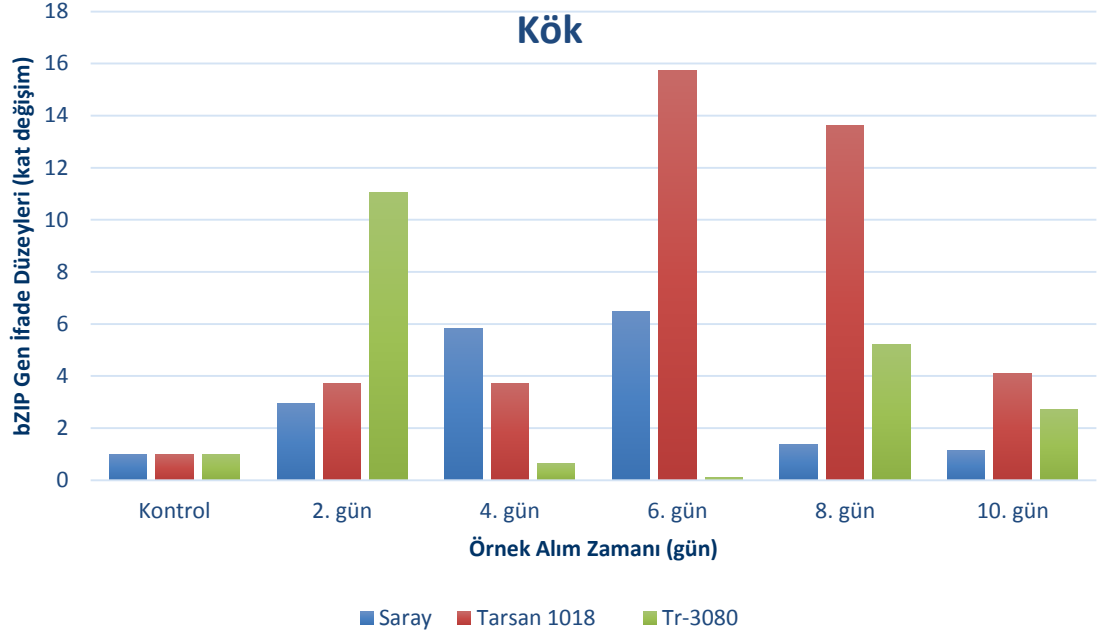
Şekil 4.11 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşitlerinin kök ve yapraklarında kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde bZIP gen ifade düzeyleri



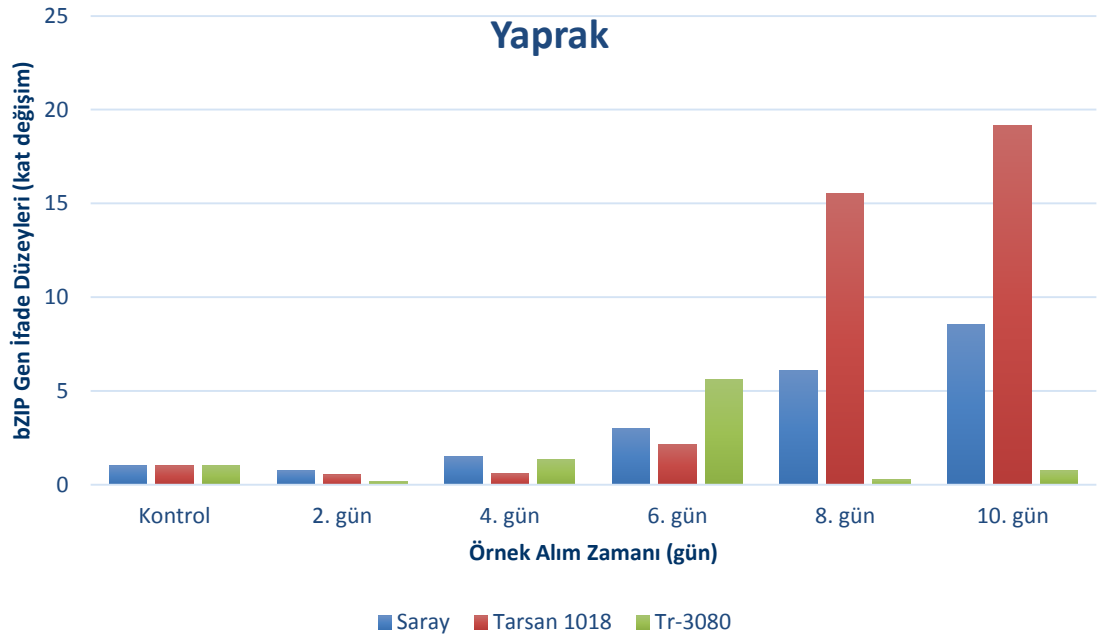
Şekil 4.12 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşitlerinin kök ve yapraklarında kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde bZIP gen ifade düzeyleri



Şekil 4.13 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşitlerinin kök ve yapraklarında kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde bZIP gen ifade düzeyleri



Şekil 4.14 Soğuk stresine maruz kalmış ayçiçeği çeşitlerinin köklerindeki bZIP gen ifade düzeyleri



Şekil 4.15 Soğuk stresine maruz kalmış ayçiçeği çeşitlerinin yapraklardaki bZIP gen ifade düzeyleri

Soğuk stresine maruz bırakılan ayçiçeği fidelerinin zamana karşı değişkenlik gösteren bZIP gen ifade seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığı One Way ANOVA (Dunnet) analizi kullanılarak belirlenmiştir. ANOVA tablosu incelendiğinde, çalışmada kullanılan tüm çeşitlerde Sig. (Anlamlılık) sütunundaki değerin ,00 olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.33-4.34, 4.37-4.38, 4.41-4.42). Sig değerinin 0,05’den küçük olması, soğuk stresinde zamana bağlı olarak bZIP gen ifadesi seviyesinde belirlenen değişikliğin $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı olduğunun göstergesidir.

Soğuk stresine maruz bırakılan ayçiçeği fidelerinin zamana karşı bZIP gen ifadesi seviyesinde meydana gelen değişikliklerin anlamlılık derecelerinin karşılaştırılmasında Post Hoc testinden yararlanılmıştır (Çizelge 4.35-4.36, 4.39- 4.40, 4.43-4.44).

Çizelge 4.33 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin köklerinde bZIP genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı (Gen ifadesi)	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	483,341	5	96,668	61,473	,000
Gruplar içi	141,527	90	1,573		
Toplam	624,868	95			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05’ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.34 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin yapraklarında bZIP genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı (Gen ifadesi)	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	800,100	5	160,020	68,526	,000
Gruplar içi	210,164	90	2,335		
Toplam	1010,264	95			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05’ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.35 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin köklerinde bZIP genine ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	-1,9349115*	,2485390	,000	-2,782162	-1,087662
	3	-4,8403030*	,3811837	,000	-6,139728	-3,540878
	4	-5,4800272*	,6006433	,000	-7,527573	-3,432482
	5	-,3756896	,1163367	,071	-,772272	,020893
	6	-,1330299	,0911941	,874	-,443903	,177844
2 (2. gün)	1	1,9349115*	,2485390	,000	1,087662	2,782162
	3	-2,9053914*	,4550524	,000	-4,361056	-1,449727
	4	-3,5451156*	,6500338	,000	-5,678645	-1,411586
	5	1,5592220*	,2744192	,000	,664696	2,453748
	6	1,8018817*	,2647414	,000	,927591	2,676172
3 (4. gün)	1	4,8403030*	,3811837	,000	3,540878	6,139728
	2	2,9053914*	,4550524	,000	1,449727	4,361056
	4	-,6397242	,7113883	,998	-2,918597	1,639149
	5	4,4646134*	,3985414	,000	3,137770	5,791457
	6	4,7072731*	,3919405	,000	3,391770	6,022776
4 (6. gün)	1	5,4800272*	,6006433	,000	3,432482	7,527573
	2	3,5451156*	,6500338	,000	1,411586	5,678645
	3	-,6397242	,7113883	,998	-1,639149	2,918597
	5	5,1043376*	,6118060	,000	3,040666	7,168010
	6	5,3469973*	,6075267	,000	3,289771	7,404223
5 (8. gün)	1	-,3756896	,1163367	,071	-,020893	,772272
	2	-1,5592220*	,2744192	,000	-2,453748	-,664696
	3	-4,4646134*	,3985414	,000	-5,791457	-3,137770
	4	-5,1043376*	,6118060	,000	-7,168010	-3,040666
	6	-,2426597	,1478194	,783	-,226410	,711729
6 (10. gün)	1	-,1330299	,0911941	,874	-,177844	,443903
	2	-1,8018817*	,2647414	,000	-2,676172	-,927591
	3	-4,7072731*	,3919405	,000	-6,022776	-3,391770
	4	-5,3469973*	,6075267	,000	-7,404223	-3,289771
	5	-,2426597	,1478194	,783	-,711729	,226410

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

Çizelge 4.36 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin yapraklarında bZIP genine ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	,2470167	,0852440	,131	-,043573	,537607
	3	-,4873957	,1433615	,051	-,976104	,001312
	4	-2,0211276*	,2310773	,000	-2,808852	-1,233403
	5	-5,0738093*	,4605718	,000	-6,643862	-3,503756
	6	-7,5307773*	,7631133	,000	-10,132171	-4,929384
2 (2. gün)	1	-,2470167	,0852440	,131	-,537607	,043573
	3	-,7344124*	,1667904	,003	-1,270618	-,198207
	4	-2,2681443*	,2462991	,000	-3,081318	-1,454971
	5	-5,3208259*	,4683940	,000	-6,902113	-3,739539
	6	-7,7777939*	,7678597	,000	-10,385724	-5,169863
3 (4. gün)	1	,4873957	,1433615	,051	-,001312	,976104
	2	,7344124*	,1667904	,003	,198207	1,270618
	4	-1,5337319*	,2719360	,000	-2,405916	-,661547
	5	-4,5864135*	,4823680	,000	-6,191079	-2,981748
	6	-7,0433815*	,7764628	,000	-9,663983	-4,422780
4 (6. gün)	1	2,0211276*	,2310773	,000	1,233403	2,808852
	2	2,2681443*	,2462991	,000	1,454971	3,081318
	3	1,5337319*	,2719360	,000	,661547	2,405916
	5	-3,0526816*	,5152893	,000	-4,725626	-1,379737
	6	-5,5096496*	,7973322	,000	-8,164982	-2,854317
5 (8. gün)	1	5,0738093*	,4605718	,000	3,503756	6,643862
	2	5,3208259*	,4683940	,000	3,739539	6,902113
	3	4,5864135*	,4823680	,000	2,981748	6,191079
	4	3,0526816*	,5152893	,000	1,379737	4,725626
	6	-2,4569680	,8913296	,138	-5,320071	,406135
6 (10. gün)	1	7,5307773*	,7631133	,000	4,929384	10,132171
	2	7,7777939*	,7678597	,000	5,169863	10,385724
	3	7,0433815*	,7764628	,000	4,422780	9,663983
	4	5,5096496*	,7973322	,000	2,854317	8,164982
	5	2,4569680	,8913296	,138	-,406135	5,320071

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

Çizelge 4.37 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin köklerinde bZIP genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı (Gen ifadesi)	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	2974,549	5	594,910	65,738	,000
Gruplar içi	814,472	90	9,050		
Toplam	3789,021	95			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05'ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.38 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında bZIP genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı (Gen ifadesi)	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	5776,859	5	1155,372	99,221	,000
Gruplar içi	1047,995	90	11,644		
Toplam	6824,854	95			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05'ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.39 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin köklerinde bZIP genine ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	-2,7115278*	,2770365	,000	-3,655923	-1,767132
	3	-2,7254501*	,2470140	,000	-3,567501	-1,883399
	4	-14,7165003*	,9275055	,000	-17,878293	-11,554707
	5	-12,6324262*	1,4829924	,000	-17,687830	-7,577022
	6	-3,1002940*	,4430974	,000	-4,610778	-1,589810
2 (2. gün)	1	2,7115278*	,2770365	,000	1,767132	3,655923
	3	-,0139223	,3711672	1,000	-1,187795	1,159951
	4	-12,0049725*	,9679956	,000	-15,230362	-8,779583
	5	-9,9208985*	1,5086469	,000	-15,013189	-4,828607
	6	-,3887662	,5225749	1,000	-2,064127	1,286595
3 (4. gün)	1	2,7254501*	,2470140	,000	1,883399	3,567501
	2	,0139223	,3711672	1,000	-1,159951	1,187795
	4	-11,9910503*	,9598345	,000	-15,202241	-8,779860
	5	-9,9069762*	1,5034235	,000	-14,991370	-4,822582
	6	-,3748439	,5072980	1,000	-2,011744	1,262056
4 (6. gün)	1	14,7165003*	,9275055	,000	11,554707	17,878293
	2	12,0049725*	,9679956	,000	8,779583	15,230362
	3	11,9910503*	,9598345	,000	8,779860	15,202241
	5	2,0840741	1,7491520	,972	-3,523562	7,691711
	6	11,6162063*	1,0279113	,000	8,269455	14,962958
5 (8. gün)	1	12,6324262*	1,4829924	,000	7,577022	17,687830
	2	9,9208985*	1,5086469	,000	4,828607	15,013189
	3	9,9069762*	1,5034235	,000	4,822582	14,991370
	4	-2,0840741	1,7491520	,972	-7,691711	3,523562
	6	9,5321323*	1,5477731	,000	4,374971	14,689294
6 (10. gün)	1	3,1002940*	,4430974	,000	1,589810	4,610778
	2	,3887662	,5225749	1,000	-1,286595	2,064127
	3	,3748439	,5072980	1,000	-1,262056	2,011744
	4	-11,6162063*	1,0279113	,000	-14,962958	-8,269455
	5	-9,5321323*	1,5477731	,000	-14,689294	-4,374971

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

Çizelge 4.40 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında bZIP genine ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	,4799639*	,0453003	,000	,325539	,634389
	3	,3914333*	,0458427	,000	,235159	,547707
	4	-1,1669404*	,1831972	,000	-1,791445	-,542435
	5	-14,5518517*	,9762336	,000	-17,879755	-11,223948
	6	-18,1342140*	1,8373614	,000	-24,397634	-11,870794
2 (2. gün)	1	-,4799639*	,0453003	,000	-,634389	-,325539
	3	-,0885307	,0644490	,923	-,292160	,115099
	4	-1,6469044*	,1887150	,000	-2,279710	-1,014099
	5	-15,0318157*	,9772841	,000	-18,361135	-11,702496
	6	-18,6141779*	1,8379198	,000	-24,878349	-12,350007
3 (4. gün)	1	-,3914333*	,0458427	,000	-,547707	-,235159
	2	,0885307	,0644490	,923	-,115099	,292160
	4	-1,5583737*	,1888459	,000	-2,191396	-,925351
	5	-14,9432850*	,9773094	,000	-18,272639	-11,613931
	6	-18,5256473*	1,8379332	,000	-24,789836	-12,261459
4 (6. gün)	1	1,1669404*	,1831972	,000	,542435	1,791445
	2	1,6469044*	,1887150	,000	1,014099	2,279710
	3	1,5583737*	,1888459	,000	,925351	2,191396
	5	-13,3849113*	,9932740	,000	-16,737330	-10,032493
	6	-16,9672736*	1,8464718	,000	-23,243177	-10,691370
5 (8. gün)	1	14,5518517*	,9762336	,000	11,223948	17,879755
	2	15,0318157*	,9772841	,000	11,702496	18,361135
	3	14,9432850*	,9773094	,000	11,613931	18,272639
	4	13,3849113*	,9932740	,000	10,032493	16,737330
	6	-3,5823623	2,0806078	,728	-10,314668	3,149944
6 (10. gün)	1	18,1342140*	1,8373614	,000	11,870794	24,397634
	2	18,6141779*	1,8379198	,000	12,350007	24,878349
	3	18,5256473*	1,8379332	,000	12,261459	24,789836
	4	16,9672736*	1,8464718	,000	10,691370	23,243177
	5	3,5823623	2,0806078	,728	-3,149944	10,314668

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

Çizelge 4.41 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerinde bZIP genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı (Gen ifadesi)	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	1383,062	5	276,612	379,050	,000
Gruplar içi	65,678	90	,730		
Toplam	1448,740	95			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05'ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.42 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında bZIP genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı (Gen ifadesi)	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	337,108	5	67,422	397,048	,000
Gruplar içi	15,283	90	,170		
Toplam	352,391	95			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05'ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.43 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerinde bZIP genine ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	-10,0466032*	,3279649	,000	-11,164610	-8,928597
	3	,3522239*	,0341344	,000	,235862	,468585
	4	,8978375*	,0074239	,000	,872530	,923145
	5	-4,2154880*	,3816702	,000	-5,516572	-2,914404
	6	-1,7062654*	,1385780	,000	-2,178667	-1,233864
2 (2. gün)	1	10,0466032*	,3279649	,000	8,928597	11,164610
	3	10,3988271*	,3297364	,000	9,278389	11,519265
	4	10,9444408*	,3280489	,000	9,826321	12,062560
	5	5,8311153*	,5032227	,000	4,238432	7,423799
	6	8,3403378*	,3560405	,000	7,173070	9,507606
3 (4. gün)	1	-,3522239*	,0341344	,000	-,468585	-,235862
	2	-10,3988271*	,3297364	,000	-11,519265	-9,278389
	4	,5456137*	,0349324	,000	,428079	,663148
	5	-4,5677118*	,3831935	,000	-5,870874	-3,264549
	6	-2,0584892*	,1427201	,000	-2,537117	-1,579862
4 (6. gün)	1	-,8978375*	,0074239	,000	-,923145	-,872530
	2	-10,9444408*	,3280489	,000	-12,062560	-9,826321
	3	-,5456137*	,0349324	,000	-,663148	-,428079
	5	-5,1133255*	,3817424	,000	-6,414506	-3,812145
	6	-2,6041029*	,1387767	,000	-3,076773	-2,131433
5 (8. gün)	1	4,2154880*	,3816702	,000	2,914404	5,516572
	2	-5,8311153*	,5032227	,000	-7,423799	-4,238432
	3	4,5677118*	,3831935	,000	3,264549	5,870874
	4	5,1133255*	,3817424	,000	3,812145	6,414506
	6	2,5092226*	,4060492	,000	1,167593	3,850853
6 (10. gün)	1	1,7062654*	,1385780	,000	1,233864	2,178667
	2	-8,3403378*	,3560405	,000	-9,507606	-7,173070
	3	2,0584892*	,1427201	,000	1,579862	2,537117
	4	2,6041029*	,1387767	,000	2,131433	3,076773
	5	-2,5092226*	,4060492	,000	-3,850853	-1,167593

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

Çizelge 4.44 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında bZIP genine ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	,8080541*	,0146016	,000	,758278	,857830
	3	-,3274779*	,0671176	,003	-,556277	-,098679
	4	-4,6233022*	,2277563	,000	-5,399705	-3,846899
	5	,7254567*	,0167714	,000	,668284	,782629
	6	,2610408	,0824958	,080	-,020181	,542263
2 (2. gün)	1	-,8080541*	,0146016	,000	-,857830	-,758278
	3	-1,1355320*	,0686876	,000	-1,366638	-,904426
	4	-5,4313563*	,2282239	,000	-6,208393	-4,654320
	5	-,0825974*	,0222371	,012	-,152957	-,012238
	6	-,5470133*	,0837781	,000	-,830067	-,263960
3 (4. gün)	1	,3274779*	,0671176	,003	,098679	,556277
	2	1,1355320*	,0686876	,000	,904426	1,366638
	4	-4,2958243*	,2374399	,000	-5,087385	-3,504264
	5	1,0529346*	,0691813	,000	,821025	1,284844
	6	,5885186*	,1063501	,000	,251444	,925594
4 (6. gün)	1	4,6233022*	,2277563	,000	3,846899	5,399705
	2	5,4313563*	,2282239	,000	4,654320	6,208393
	3	4,2958243*	,2374399	,000	3,504264	5,087385
	5	5,3487589*	,2283730	,000	4,571518	6,125999
	6	4,8843429*	,2422364	,000	4,083876	5,684810
5 (8. gün)	1	-,7254567*	,0167714	,000	-,782629	-,668284
	2	,0825974*	,0222371	,012	,012238	,152957
	3	-1,0529346*	,0691813	,000	-1,284844	-,821025
	4	-5,3487589*	,2283730	,000	-6,125999	-4,571518
	6	-,4644159*	,0841834	,001	-,748092	-,180740
6 (10. gün)	1	-,2610408	,0824958	,080	-,542263	,020181
	2	,5470133*	,0837781	,000	,263960	,830067
	3	-,5885186*	,1063501	,000	-,925594	-,251444
	4	-4,8843429*	,2422364	,000	-5,684810	-4,083876
	5	,4644159*	,0841834	,001	,180740	,748092

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır

4.6.2 Soğuk stresine maruz bırakılan ayçiçeği çeşitlerinin kök ve yapraklarında MYB geni mRNA düzeyleri

Soğuk stresine maruz bırakılan ayçiçeği fidelerinin MYB genine ait gen ifade düzeyleri, çalışmada housekeeping gen olarak kullanılan aktin (ACT) ve kontrol şartları hesaba katılarak $2^{-\Delta\Delta CT}$ metoduna göre normalize edilmiştir (Çizelge 4.45-4.50). Normalizasyon ile elde edilen gen ifadesi verilerinin ortalama, standart hata ve standart sapmaları belirlenmiştir (Çizelge 4.51). Normalizasyonu yapılmış gen ifadesi verilerinin

ortalaması alınarak, elde edilen veriler ile her bir çeşit için soğuk stresi uygulaması sonucunda zamana bağlı MYB gen ifade düzeyindeki değişimleri gösteren grafikler oluşturulmuştur (Şekil 4.16-4.18).

Çizelge 4.45 Soğuk stresi uygulanmış Saray çeşidinin köklerinde MYB genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri

Örnek Alım Zamanı	Saray Çeşidinin Köklerine Ait MYB Geni Normalize Edilmiş İfade Verileri			
2. gün	2,15845647	2,54382601	2,05765342	2,66844634
2. gün	3,43664302	4,05021923	3,27614679	4,24863675
2. gün	3,49187036	4,11530683	3,32879494	4,31691295
2. gün	2,12431837	2,50359292	2,02510961	2,62624225
4. gün	6,23331664	7,3462093	5,94221168	7,70609515
4. gün	4,43212939	5,22343915	4,2251425	5,47933192
4. gün	5,38146883	6,34227309	5,13014641	6,65297679
4. gün	5,13370359	6,34227309	4,89395216	6,34667075
6. gün	5,73582099	6,75989108	5,46794981	7,09105359
6. gün	4,3079455	5,07708354	4,10675818	5,32580645
6. gün	3,41053957	4,01945528	3,25126241	4,21636569
6. gün	7,24507186	8,5386027	6,90671647	8,95690311
8. gün	5,65685425	6,66682566	5,39267093	6,99342896
8. gün	6,79747999	8,01109805	6,48002779	8,40355635
8. gün	8,09482561	9,54007098	7,71678548	10,0074326
8. gün	4,75023866	5,59834346	4,52839561	5,87260254
10. gün	4,53153554	5,34059321	4,31990624	5,60222528
10. gün	9,30496033	10,9662624	8,87040515	11,5034923
10. gün	6,09657932	7,18505898	5,8118602	7,53705019
10. gün	6,91629785	8,15112957	6,59329668	8,55044793

Çizelge 4.46 Soğuk stresi uygulanmış Saray çeşidinin yapraklarında MYB genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri

Örnek Alım Zamanı	Saray Çeşidinin Yapraklarına Ait MYB Geni Normalize Edilmiş İfade Verileri			
2. gün	0,23981603	0,362738052	0,271872098	0,319968103
2. gün	0,404160434	0,611320139	0,458184322	0,539240216
2. gün	0,393381223	0,595015848	0,44596426	0,524858342
2. gün	0,246387334	0,372677597	0,279321785	0,32873569
4. gün	0,128514228	0,194386509	0,14569265	0,171466661
4. gün	0,048596627	0,073505703	0,05509251	0,064838746
4. gün	0,080660156	0,12200397	0,091441951	0,107618649
4. gün	0,077428044	0,12200397	0,087777805	0,10330629
6. gün	0,624165274	0,944092419	0,70759708	0,832775771
6. gün	0,582366793	0,880869374	0,660211421	0,777007269
6. gün	0,726986259	1,099616149	0,824162085	0,96996191
6. gün	0,5	0,756283999	0,566834706	0,667111585
8. gün	3,20427951	4,846690642	3,632593671	4,275223965
8. gün	2,261061134	3,420008712	2,563295848	3,016760153
8. gün	3,110184144	4,704365001	3,525920632	4,149679746
8. gün	2,329467173	3,523477497	2,640845682	3,108029075
10. gün	1,840375301	2,783692784	2,086377187	2,455471368
10. gün	4,19595731	6,346670746	4,75682846	5,598343462
10. gün	2,72829567	4,126732717	3,09298535	3,640155296
10. gün	2,830388321	4,281154794	3,208724665	3,776369677

Çizelge 4.47 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 çeşidinin köklerinde MYB genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri

Örnek Alım Zamanı	Tarsan 1018 Çeşidinin Köklerine Ait MYB Geni Normalize Edilmiş İfade Verileri			
2. gün	0,476319	0,39012274	0,33355579	0,55709683
2. gün	0,58035196	0,47532955	0,4064078	0,67877249
2. gün	0,44906619	0,36780169	0,31447124	0,52522227
2. gün	0,61557221	0,50417623	0,43107177	0,71996566
4. gün	0,81790206	0,6698918	0,57275895	0,95660816
4. gün	0,53329289	0,43678645	0,37345336	0,62373279
4. gün	0,67971412	0,55671081	0,47598895	0,79498525
4. gün	0,64171295	0,55671081	0,44937756	0,75053955
6. gün	1,39474367	1,14234625	0,97670853	1,63127499
6. gün	0,87843047	0,71946679	0,61514567	1,02740144
6. gün	1,32225461	1,08297505	0,92594602	1,54649267
6. gün	0,92658806	0,75890963	0,64886938	1,08372597
8. gün	1,94530989	1,59328019	1,36225803	2,27521046
8. gün	0,78512812	0,64304874	0,54980807	0,91827616
8. gün	1,02172008	0,83682624	0,71548826	1,1949912
8. gün	1,49484925	1,22433639	1,04681028	1,74835724
10. gün	0,11187813	0,0916323	0,07834581	0,13085129
10. gün	0,07085434	0,0580323	0,04961775	0,08287036
10. gün	0,06656926	0,05452267	0,046617	0,07785859
10. gün	0,11907975	0,09753069	0,08338895	0,13927421

Çizelge 4.48 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 çeşidinin yapraklarında MYB genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri

Örnek Alım Zamanı	Tarsan 1018 Çeşidinin Yapraklarına Ait MYB Geni Normalize Edilmiş İfade Verileri			
2. gün	3,55537072	5,09824251	5,50216727	3,29436407
2. gün	3,46534743	4,96915313	5,36285037	3,21094955
2. gün	3,03774338	4,35598806	4,70110531	2,81473675
2. gün	4,05583792	5,81589007	6,27667278	3,758091
4. gün	0,32085647	0,46009383	0,49654625	0,29730178
4. gün	0,21598455	0,30971217	0,33425012	0,2001287
4. gün	0,22052284	0,31621989	0,34127343	0,20433383
4. gün	0,31425334	0,31621989	0,48632747	0,2911834
6. gün	0,59049633	0,84674531	0,91383145	0,54714685
6. gün	0,65929681	0,94540212	1,02030466	0,61089655
6. gün	0,83450928	1,19664896	1,29145735	0,77324634
6. gün	0,4665165	0,66896378	0,7219646	0,43226862
8. gün	2,82842712	4,05583792	4,37717481	2,62078681
8. gün	5,0280535	7,2100037	7,78123958	4,65893435
8. gün	2,4794154	3,55537072	3,83705648	2,29739671
8. gün	5,73582099	8,22491061	8,87655578	5,31474326
10. gün	8,87655578	12,7285837	13,737047	8,22491061
10. gün	11,2044506	16,0666807	17,3396155	10,3819101
10. gün	9,89020209	14,1821072	15,3057305	9,16414318
10. gün	10,056107	14,4200074	15,5624792	9,31786869

Çizelge 4.49 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 çeşidinin köklerinde MYB genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri

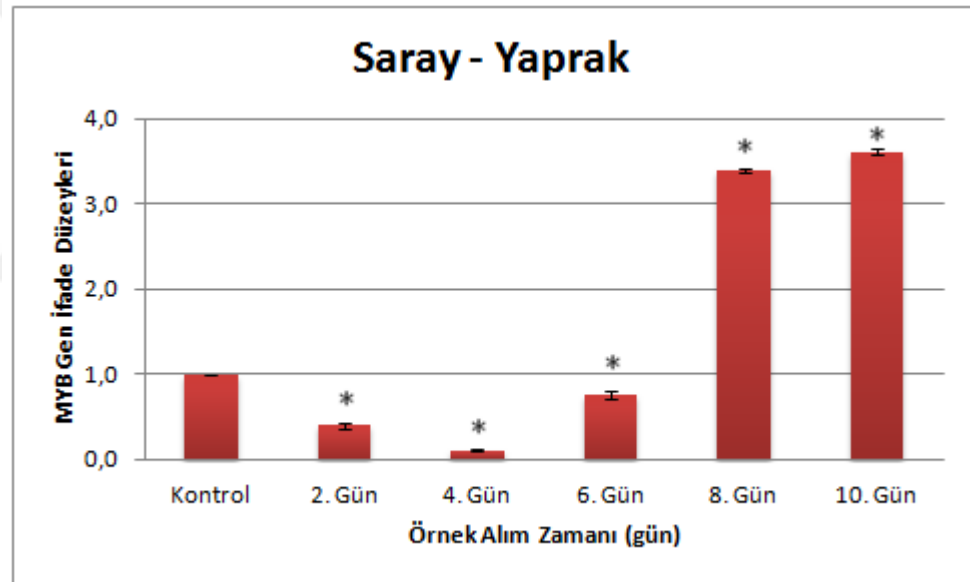
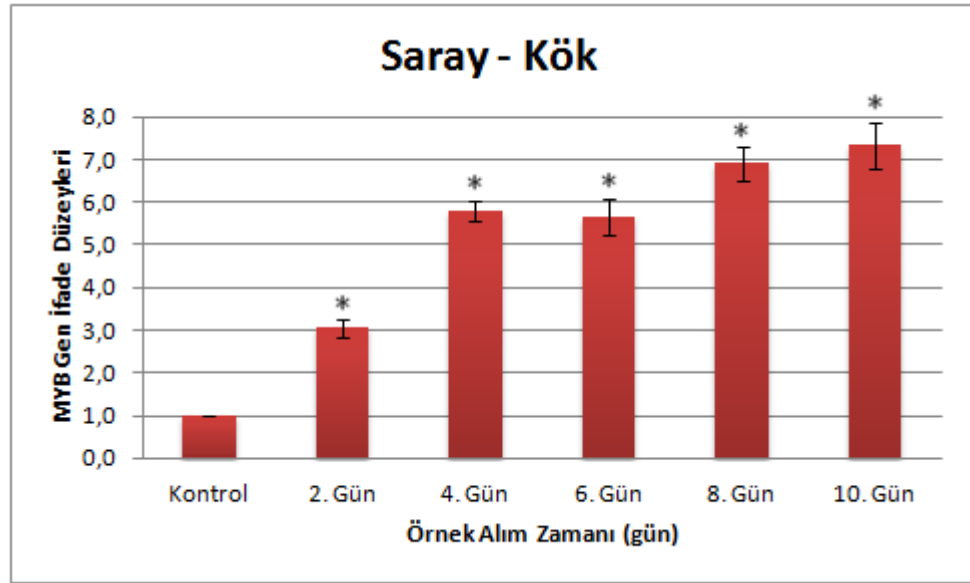
Örnek Alım Zamanı	Tr-3080 Çeşidinin Köklerine Ait MYB Geni Normalize Edilmiş İfade Verileri			
2. gün	19,5622444	13,842187	18,7783709	14,4200074
2. gün	14,4000309	10,1894198	13,823011	10,6147611
2. gün	20,9372491	14,8151364	20,0982781	15,433571
2. gün	13,4543426	9,52025357	12,9152172	9,9176616
4. gün	16,1112888	11,4003009	15,4656976	11,8761886
4. gün	10,2816507	7,27526601	9,86965736	7,57896056
4. gün	10,9434824	7,74357622	10,504969	8,06681964
4. gün	15,1369223	7,74357622	14,5303747	11,1579493
6. gün	5,20536742	3,68330279	4,9967845	3,83705648
6. gün	3,02303986	2,13909418	2,90190442	2,2283873
6. gün	2,98142077	2,10964463	2,86195304	2,19770844
6. gün	5,27803164	3,73471978	5,06653701	3,89061979
8. gün	4,0840485	2,8898608	3,92039766	3,01049349
8. gün	2,33269874	1,65061082	2,23922578	1,71951297
8. gün	2,51402675	1,77891799	2,41328784	1,85317612
8. gün	3,78948028	2,68142518	3,63763301	2,79335706
10. gün	0,24485507	0,17325874	0,23504355	0,18049115
10. gün	0,32511004	0,23004691	0,31208264	0,23964986
10. gün	0,30757284	0,21763764	0,29524817	0,22672258
10. gün	0,25881623	0,18313761	0,24844527	0,1907824

Çizelge 4.50 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 çeşidinin yapraklarında MYB genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri

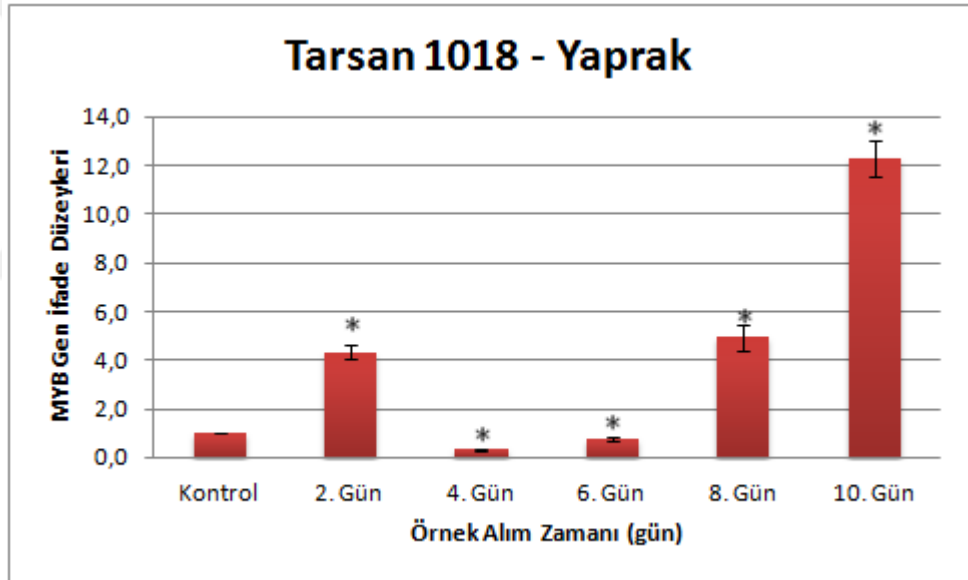
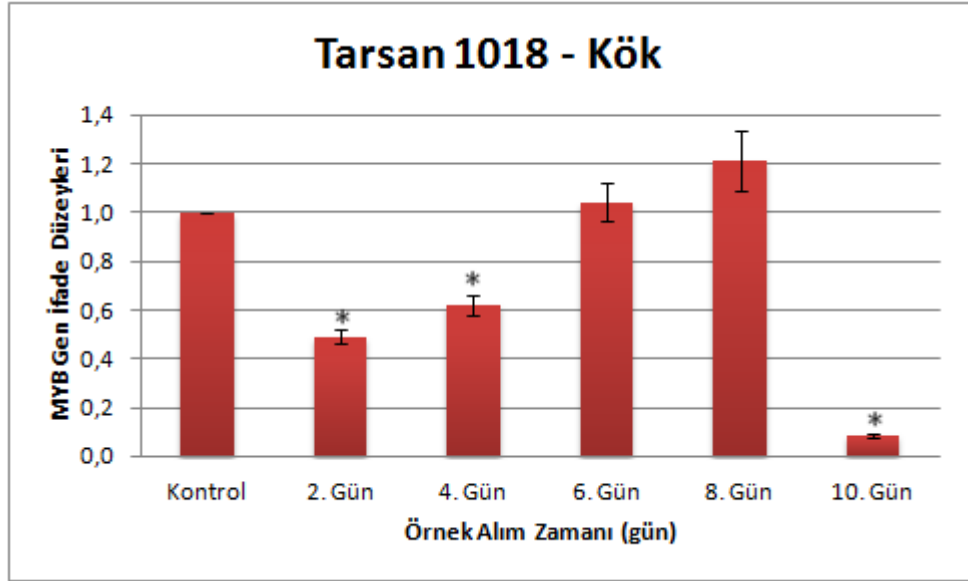
Örnek Alım Zamanı	Tr-3080 Çeşidinin Yapraklarına Ait MYB Geni Normalize Edilmiş İfade Verileri			
2. gün	0,01200684	0,01180057	0,00884452	0,0160198
2. gün	0,01440786	0,01416034	0,01061317	0,0192233
2. gün	0,01676969	0,0164816	0,01235295	0,02237451
2. gün	0,0103158	0,01013858	0,00759887	0,01376358
4. gün	1,58008262	1,55293775	1,16392653	2,10818285
4. gün	1,52837652	1,50211993	1,12583859	2,03919537
4. gün	1,81252388	1,7813858	1,3351483	2,41831135
4. gün	1,33237483	1,7813858	0,98145906	1,77768536
6. gün	6,54321647	6,43080793	4,81988926	8,73011102
6. gün	7,68475891	7,55273935	5,66077664	10,2531834
6. gün	6,52057866	6,40855902	4,80321371	8,69990713
6. gün	7,71143846	7,57896056	5,68042943	10,2887799
8. gün	0,04575268	0,04496667	0,03370251	0,06104428
8. gün	0,05731275	0,05632815	0,04221794	0,076468
8. gün	0,0549019	0,05395872	0,04044205	0,07325139
8. gün	0,04776177	0,04694125	0,03518246	0,06372486
10. gün	0,02664484	0,0261871	0,01962722	0,03555016
10. gün	0,00806002	0,00792156	0,00593721	0,01075387
10. gün	0,01371597	0,01348033	0,01010351	0,01830016
10. gün	0,01565753	0,01538854	0,01153371	0,02089063

Çizelge 4.51 Soğuk stresi uygulanan örneklerin MYB genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verilerinin ortalama, standart hata ve standart sapma değerleri

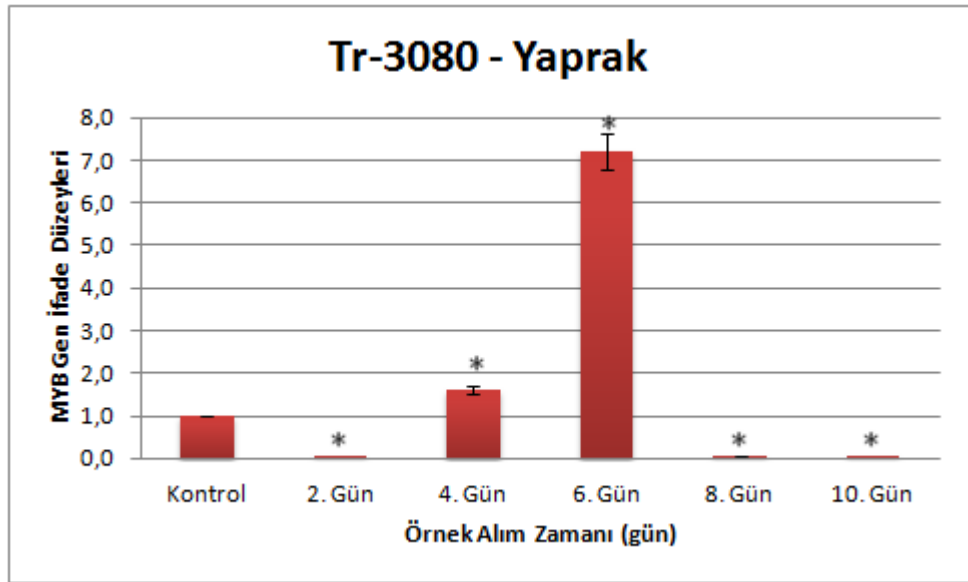
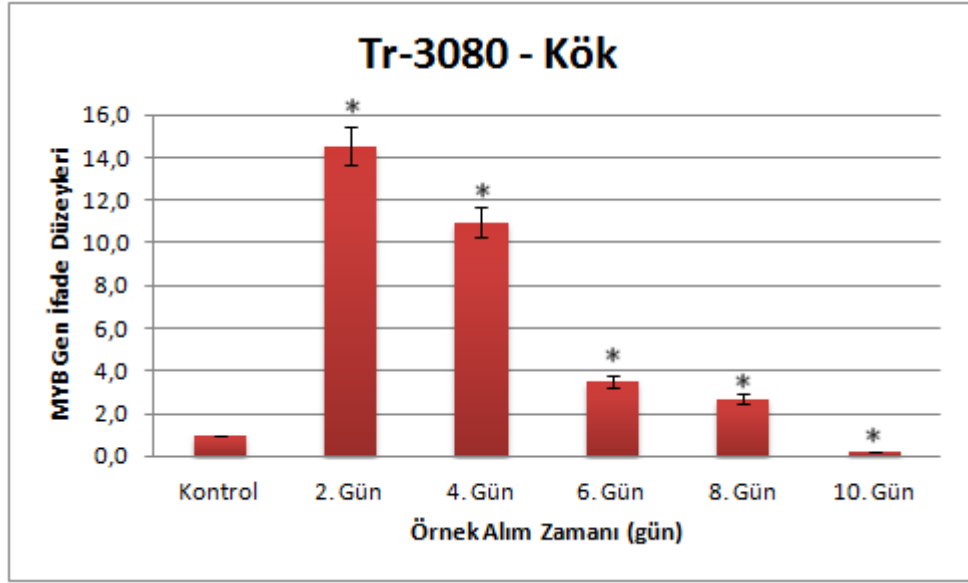
No	Örnek ismi	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata
1	S1K0	1	-	-
2	S1K2	3,060761	0,8252551	0,2063138
3	S1K4	5,800709	0,9839283	0,2459821
4	S1K6	5,651077	1,7673211	0,4418303
5	S1K8	6,906915	1,6182004	0,4045501
6	S1K10	7,330069	2,1215773	0,5303943
7	S1Y0	1	-	-
8	S1Y2	0,399603	0,1202985	0,0300746
9	S1Y4	0,104646	0,0410792	0,0102698
10	S1Y6	0,757503	0,1622505	0,0405626
11	S1Y8	3,394493	0,7866158	0,1966540
12	S1Y10	3,609283	1,2417654	0,3104414
13	S2K0	1	-	-
14	S2K2	0,489081	0,1186346	0,0296586
15	S2K4	0,618135	0,1567546	0,0391886
16	S2K6	1,042580	0,3051946	0,0762987
17	S2K8	1,209731	0,4956897	0,1239224
18	S2K10	0,084933	0,0284679	0,0071170
19	S2Y0	1	-	-
20	S2Y2	4,329657	1,0836959	0,2709240
21	S2Y4	0,320325	0,0927686	0,0231921
22	S2Y6	0,782481	0,2468140	0,0617035
23	S2Y8	4,930108	2,1209924	0,5302481
24	S2Y10	12,278650	2,9700343	0,7425086
25	S3K0	1	-	-
26	S3K2	14,545109	3,6663535	0,9165884
27	S3K4	10,980418	2,9891292	0,7472823
28	S3K6	3,508473	1,1395076	0,2848769
29	S3K8	2,706760	0,8043198	0,2010799
30	S3K10	0,241806	0,0482399	0,0120600
31	S3Y0	1	-	-
32	S3Y2	0,013555	0,0039279	0,0009820
33	S3Y4	1,613808	0,3844424	0,0961106
34	S3Y6	7,210459	1,6815692	0,4203923
35	S3Y8	0,052122	0,0124030	0,0031007
36	S3Y10	0,016235	0,0080193	0,0020048



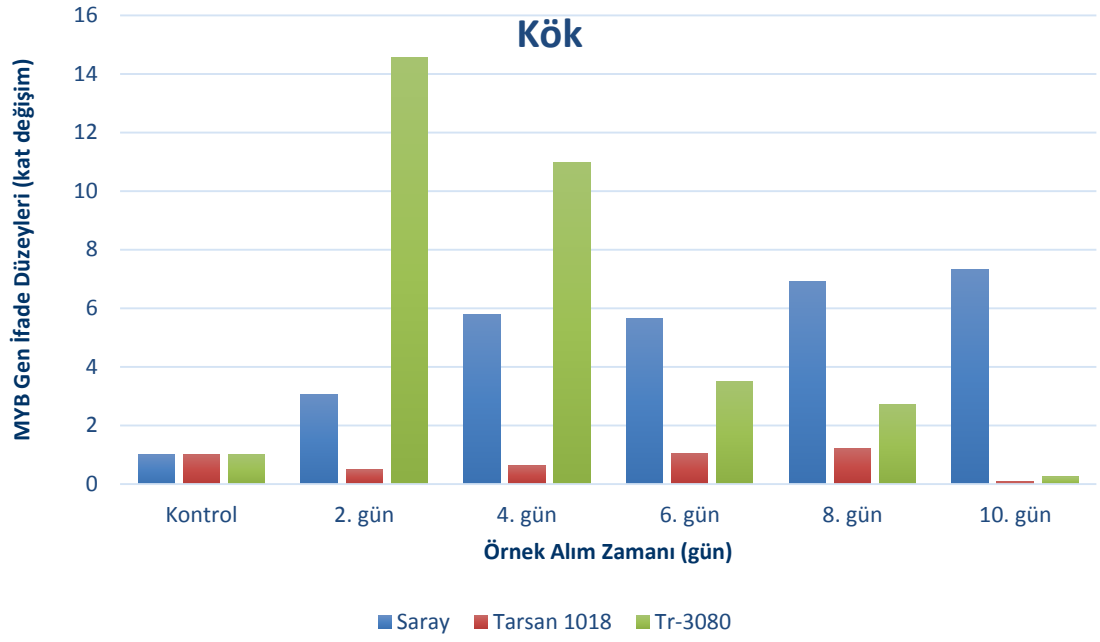
Şekil 4.16 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşitlerinin kök ve yapraklarında kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde MYB gen ifade düzeyleri



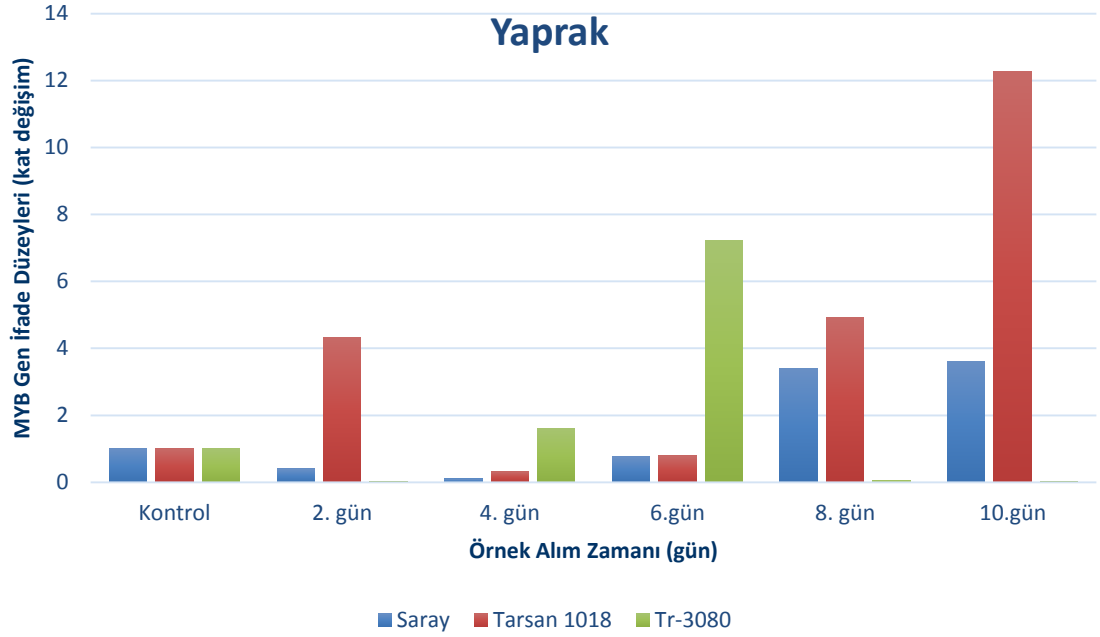
Şekil 4.17 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşitlerinin kök ve yapraklarında kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde MYB gen ifade düzeyleri



Şekil 4.18 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşitlerinin kök ve yapraklarında kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde MYB gen ifade düzeyleri



Şekil 4.19 Soğuk stresine maruz kalmış ayçiçeği çeşitlerinin köklerindeki MYB gen ifade düzeyleri



Şekil 4.20 Soğuk stresine maruz kalmış ayçiçeği çeşitlerinin yapraklardaki MYB gen ifade düzeyleri

Soğuk stresine maruz bırakılan ayçiçeği fidelerinin zamana karşı değişkenlik gösteren MYB gen ifade seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığı One Way ANOVA (Dunnet) analizi kullanılarak belirlenmiştir. ANOVA tablosu incelendiğinde, çalışmada kullanılan tüm çeşitlerde Sig. (Anlamlılık) sütunundaki değerin ,00 olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.52-4.53, 4.56-4.57, 4.60-4.61). Sig değerinin 0,05’den küçük olması, soğuk stresinde zamana bağlı olarak MYB gen ifadesi seviyesinde belirlenen değişikliğin $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı olduğunun göstergesidir.

Soğuk stresine maruz bırakılan ayçiçeği fidelerinin zamana karşı MYB gen ifade seviyesinde meydana gelen değişikliklerin anlamlılık derecelerinin karşılaştırılmasında Post Hoc testinden yararlanılmıştır (Çizelge 4.54-4.55, 4.58-4.59, 4.62-4.63).

Çizelge 4.52 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin köklerinde MYB genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı (Gen ifadesi)	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	478,092	5	95,618	48,242	,000
Gruplar içi	178,384	90	1,982		
Toplam	656,476	95			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05’ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.53 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin yapraklarında MYB genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı (Gen ifadesi)	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	191,770	5	38,354	104,448	,000
Gruplar içi	33,048	90	,367		
Toplam	224,818	95			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05’ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.54 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin köklerinde MYB genine ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	-2,0607610*	,2063138	,000	-2,764068	-1,357454
	3	-4,8007088*	,2459821	,000	-5,639242	-3,962175
	4	-4,6510766*	,4418303	,000	-6,157241	-3,144912
	5	-5,9069148*	,4045501	,000	-7,285994	-4,527835
	6	-6,3300688*	,5303943	,000	-8,138141	-4,521996
2 (2. gün)	1	2,0607610*	,2063138	,000	1,357454	2,764068
	3	-2,7399478*	,3210491	,000	-3,756650	-1,723246
	4	-2,5903156*	,4876262	,000	-4,180054	-1,000577
	5	-3,8461538*	,4541213	,000	-5,319101	-2,373206
	6	-4,2693078*	,5691076	,000	-6,143288	-2,395327
3 (4. gün)	1	4,8007088*	,2459821	,000	3,962175	5,639242
	2	2,7399478*	,3210491	,000	1,723246	3,756650
	4	,1496321	,5056888	1,000	-1,482200	1,781465
	5	-1,1062060	,4734638	,311	-2,626428	,414016
	6	-1,5293600	,5846583	,192	-3,436185	,377465
4 (6. gün)	1	4,6510766*	,4418303	,000	3,144912	6,157241
	2	2,5903156*	,4876262	,000	1,000577	4,180054
	3	-,1496321	,5056888	1,000	-1,781465	1,482200
	5	-1,2558382	,5990616	,455	-3,149696	,638019
	6	-1,6789922	,6903131	,254	-3,865474	,507490
5 (8. gün)	1	5,9069148*	,4045501	,000	4,527835	7,285994
	2	3,8461538*	,4541213	,000	2,373206	5,319101
	3	1,1062060	,4734638	,311	-,414016	2,626428
	4	1,2558382	,5990616	,455	-,638019	3,149696
	6	-,4231540	,6670674	1,000	-2,542011	1,695703
6 (10. gün)	1	6,3300688*	,5303943	,000	4,521996	8,138141
	2	4,2693078*	,5691076	,000	2,395327	6,143288
	3	1,5293600	,5846583	,192	-,377465	3,436185
	4	1,6789922	,6903131	,254	-,507490	3,865474
	5	,4231540	,6670674	1,000	-1,695703	2,542011

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

Çizelge 4.55 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin yapraklarında MYB genine ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	,6003974*	,0300746	,000	,497875	,702919
	3	,8953541*	,0102698	,000	,860345	,930363
	4	,2424974*	,0405626	,000	,104223	,380772
	5	-2,3944927*	,1966540	,000	-3,064871	-1,724115
	6	-2,6092827*	,3104414	,000	-3,667553	-1,551013
2 (2. gün)	1	-,6003974*	,0300746	,000	-,702919	-,497875
	3	,2949567*	,0317797	,000	,189653	,400260
	4	-,3579000*	,0504956	,000	-,518470	-,197330
	5	-2,9948901*	,1989403	,000	-3,668485	-2,321295
	6	-3,2096801*	,3118947	,000	-4,269939	-2,149421
3 (4. gün)	1	-,8953541*	,0102698	,000	-,930363	-,860345
	2	-,2949567*	,0317797	,000	-,400260	-,189653
	4	-,6528567*	,0418425	,000	-,793066	-,512647
	5	-3,2898468*	,1969219	,000	-3,960586	-2,619107
	6	-3,5046368*	,3106112	,000	-4,563135	-2,446138
4 (6. gün)	1	-,2424974*	,0405626	,000	-,380772	-,104223
	2	,3579000*	,0504956	,000	,197330	,518470
	3	,6528567*	,0418425	,000	,512647	,793066
	5	-2,6369900*	,2007937	,000	-3,313402	-1,960578
	6	-2,8517801*	,3130801	,000	-3,913718	-1,789842
5 (8. gün)	1	2,3944927*	,1966540	,000	1,724115	3,064871
	2	2,9948901*	,1989403	,000	2,321295	3,668485
	3	3,2898468*	,1969219	,000	2,619107	3,960586
	4	2,6369900*	,2007937	,000	1,960578	3,313402
	6	-,2147900	,3674869	1,000	-1,392118	,962538
6 (10. gün)	1	2,6092827*	,3104414	,000	1,551013	3,667553
	2	3,2096801*	,3118947	,000	2,149421	4,269939
	3	3,5046368*	,3106112	,000	2,446138	4,563135
	4	2,8517801*	,3130801	,000	1,789842	3,913718
	5	,2147900	,3674869	1,000	-,962538	1,392118

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

Çizelge 4.56 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin köklerinde MYB genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı (Gen ifadesi)	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	14,188	5	2,838	45,003	,000
Gruplar içi	5,675	90	,063		
Toplam	19,862	95			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05'ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol,, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.57 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında MYB genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı (Gen ifadesi)	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	1638,093	5	327,619	134,974	,000
Gruplar içi	218,454	90	2,427		
Toplam	1856,547	95			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05'ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol,, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.58 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin köklerinde MYB genine ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	,5109185*	,0296586	,000	,409815	,612022
	3	,3818646*	,0391886	,000	,248274	,515456
	4	-,0425799	,0762987	1,000	-,302676	,217516
	5	-,2097312	,1239224	,743	-,632173	,212711
	6	,9150673*	,0071170	,000	,890806	,939328
2 (2. gün)	1	-,5109185*	,0296586	,000	-,612022	-,409815
	3	-,1290539	,0491466	,174	-,285208	,027100
	4	-,5534985*	,0818604	,000	-,823061	-,283936
	5	-,7206497*	,1274221	,000	-1,148323	-,292977
	6	,4041488*	,0305006	,000	,301786	,506512
3 (4. gün)	1	-,3818646*	,0391886	,000	-,515456	-,248274
	2	,1290539	,0491466	,174	-,027100	,285208
	4	-,4244445*	,0857743	,001	-,702539	-,146350
	5	-,5915958*	,1299712	,004	-1,023685	-,159506
	6	,5332027*	,0398297	,000	,398693	,667712
4 (6. gün)	1	,0425799	,0762987	1,000	-,217516	,302676
	2	,5534985*	,0818604	,000	,283936	,823061
	3	,4244445*	,0857743	,001	,146350	,702539
	5	-,1671512	,1455275	,979	-,634097	,299795
	6	,9576472*	,0766299	,000	,697098	1,218196
5 (8. gün)	1	,2097312	,1239224	,743	-,212711	,632173
	2	,7206497*	,1274221	,000	,292977	1,148323
	3	,5915958*	,1299712	,004	,159506	1,023685
	4	,1671512	,1455275	,979	-,299795	,634097
	6	1,1247985*	,1241266	,000	,702081	1,547516
6 (10. gün)	1	-,9150673*	,0071170	,000	-,939328	-,890806
	2	-,4041488*	,0305006	,000	-,506512	-,301786
	3	-,5332027*	,0398297	,000	-,667712	-,398693
	4	-,9576472*	,0766299	,000	-1,218196	-,697098
	5	-1,1247985*	,1241266	,000	-1,547516	-,702081

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

Çizelge 4.59 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında MYB genine ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	-3,3296569*	,2709240	,000	-4,253215	-2,406098
	3	,6796745*	,0231921	,000	,600614	,758735
	4	,2175190*	,0617035	,040	,007177	,427861
	5	-3,9301080*	,5302481	,000	-5,737682	-2,122534
	6	-11,2786500*	,7425086	,000	-13,809803	-8,747497
2 (2. gün)	1	3,3296569*	,2709240	,000	2,406098	4,253215
	3	4,0093314*	,2719148	,000	3,084422	4,934240
	4	3,5471759*	,2778617	,000	2,613340	4,481011
	5	-,6004511	,5954518	,993	-2,531594	1,330692
	6	-7,9489931*	,7903915	,000	-10,559912	-5,338074
3 (4. gün)	1	-,6796745*	,0231921	,000	-,758735	-,600614
	2	-4,0093314*	,2719148	,000	-4,934240	-3,084422
	4	-,4621555*	,0659181	,000	-,679589	-,244722
	5	-4,6097825*	,5307551	,000	-6,418040	-2,801525
	6	-11,9583245*	,7428707	,000	-14,489965	-9,426684
4 (6. gün)	1	-,2175190*	,0617035	,040	-,427861	-,007177
	2	-3,5471759*	,2778617	,000	-4,481011	-2,613340
	3	,4621555*	,0659181	,000	,244722	,679589
	5	-4,1476270*	,5338262	,000	-5,960140	-2,335114
	6	-11,4961690*	,7450680	,000	-14,030807	-8,961531
5 (8. gün)	1	3,9301080*	,5302481	,000	2,122534	5,737682
	2	,6004511	,5954518	,993	-1,330692	2,531594
	3	4,6097825*	,5307551	,000	2,801525	6,418040
	4	4,1476270*	,5338262	,000	2,335114	5,960140
	6	-7,3485420*	,9124045	,000	-10,254503	-4,442581
6 (10. gün)	1	11,2786500*	,7425086	,000	8,747497	13,809803
	2	7,9489931*	,7903915	,000	5,338074	10,559912
	3	11,9583245*	,7428707	,000	9,426684	14,489965
	4	11,4961690*	,7450680	,000	8,961531	14,030807
	5	7,3485420*	,9124045	,000	4,442581	10,254503

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

Çizelge 4.60 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerinde MYB genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı (Gen ifadesi)	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	2744,254	5	548,851	135,381	,000
Gruplar içi	364,872	90	4,054		
Toplam	3109,126	95			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05'ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.61 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında MYB genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı (Gen ifadesi)	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	627,886	5	125,577	253,205	,000
Gruplar içi	44,636	90	,496		
Toplam	672,521	95			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05'ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.62 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerinde MYB genine ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	-13,5451089*	,9165884	,000	-16,669686	-10,420531
	3	-9,9804175*	,7472823	,000	-12,527844	-7,432991
	4	-2,5084733*	,2848769	,000	-3,479596	-1,537350
	5	-1,7067596*	,2010799	,000	-2,392225	-1,021294
	6	,7581937*	,0120600	,000	,717082	,799305
2 (2. gün)	1	13,5451089*	,9165884	,000	10,420531	16,669686
	3	3,5646914	1,1826094	,072	-,183340	7,312722
	4	11,0366356*	,9598381	,000	7,843405	14,229867
	5	11,8383493*	,9383855	,000	8,681689	14,995010
	6	14,3033026*	,9166677	,000	11,178618	17,427987
3 (4. gün)	1	9,9804175*	,7472823	,000	7,432991	12,527844
	2	-3,5646914	1,1826094	,072	-7,312722	,183340
	4	7,4719443*	,7997410	,000	4,835832	10,108057
	5	8,2736580*	,7738630	,000	5,685524	10,861792
	6	10,7386112*	,7473796	,000	8,191054	13,286168
4 (6. gün)	1	2,5084733*	,2848769	,000	1,537350	3,479596
	2	-11,0366356*	,9598381	,000	-14,229867	-7,843405
	3	-7,4719443*	,7997410	,000	-10,108057	-4,835832
	5	,8017137	,3486947	,328	-,309441	1,912868
	6	3,2666670*	,2851321	,000	2,295200	4,238134
5 (8. gün)	1	1,7067596*	,2010799	,000	1,021294	2,392225
	2	-11,8383493*	,9383855	,000	-14,995010	-8,681689
	3	-8,2736580*	,7738630	,000	-10,861792	-5,685524
	4	-,8017137	,3486947	,328	-1,912868	,309441
	6	2,4649533*	,2014413	,000	1,778999	3,150908
6 (10. gün)	1	-,7581937*	,0120600	,000	-,799305	-,717082
	2	-14,3033026*	,9166677	,000	-17,427987	-11,178618
	3	-10,7386112*	,7473796	,000	-13,286168	-8,191054
	4	-3,2666670*	,2851321	,000	-4,238134	-2,295200
	5	-2,4649533*	,2014413	,000	-3,150908	-1,778999

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

Çizelge 4.63 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında MYB genine ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	,9864455*	,0009820	,000	,983098	,989793
	3	-,6138084*	,0961106	,000	-,941442	-,286175
	4	-6,2104594*	,4203923	,000	-7,643544	-4,777375
	5	,9478777*	,0031007	,000	,937307	,958448
	6	,9837655*	,0020048	,000	,976931	,990600
2 (2. gün)	1	-,9864455*	,0009820	,000	-,989793	-,983098
	3	-1,6002539*	,0961156	,000	-1,927894	-1,272614
	4	-7,1969049*	,4203935	,000	-8,629991	-5,763819
	5	-,0385678*	,0032525	,000	-,049380	-,027755
	6	-,0026800	,0022324	,968	-,009938	,004578
3 (4. gün)	1	,6138084*	,0961106	,000	,286175	,941442
	2	1,6002539*	,0961156	,000	1,272614	1,927894
	4	-5,5966510*	,4312388	,000	-7,045813	-4,147489
	5	1,5616861*	,0961606	,000	1,233985	1,889387
	6	1,5975739*	,0961315	,000	1,269912	1,925235
4 (6. gün)	1	6,2104594*	,4203923	,000	4,777375	7,643544
	2	7,1969049*	,4203935	,000	5,763819	8,629991
	3	5,5966510*	,4312388	,000	4,147489	7,045813
	5	7,1583370*	,4204037	,000	5,725237	8,591437
	6	7,1942248*	,4203971	,000	5,761134	8,627316
5 (8. gün)	1	-,9478777*	,0031007	,000	-,958448	-,937307
	2	,0385678*	,0032525	,000	,027755	,049380
	3	-1,5616861*	,0961606	,000	-1,889387	-1,233985
	4	-7,1583370*	,4204037	,000	-8,591437	-5,725237
	6	,0358878*	,0036924	,000	,024071	,047705
6 (10. gün)	1	-,9837655*	,0020048	,000	-,990600	-,976931
	2	,0026800	,0022324	,968	-,004578	,009938
	3	-1,5975739*	,0961315	,000	-1,925235	-1,269912
	4	-7,1942248*	,4203971	,000	-8,627316	-5,761134
	5	-,0358878*	,0036924	,000	-,047705	-,024071

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

4.6.3 Soğuk stresine maruz bırakılan ayçiçeği çeşitlerinin kök ve yapraklarında NAC geni mRNA düzeyleri

Soğuk stresine maruz bırakılan ayçiçeği fidelerinin NAC genine ait gen ifade düzeyleri, çalışmada housekeeping gen olarak kullanılan aktin (ACT) ve kontrol şartları hesaba katılarak $2^{-\Delta\Delta CT}$ metoduna göre normalize edilmiştir (Çizelge 4.64-4.69). Normalizasyon ile elde edilen gen ifadesi verilerinin ortalama, standart hata ve standart sapmaları belirlenmiştir (Çizelge 4.70). Normalizasyonu yapılmış gen ifadesi verilerinin

ortalaması alınarak, elde edilen veriler ile her bir çeşit için soğuk stresi uygulaması sonucunda zamana bağlı NAC gen ifade düzeyindeki değişimleri gösteren grafikler oluşturulmuştur (Şekil 4.21-4.23).

Çizelge 4.64 Soğuk stresi uygulanmış Saray çeşidinin köklerinde NAC genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri

Örnek Alım Zamanı	Saray Çeşidinin Köklerine Ait NAC Geni Normalize Edilmiş İfade Verileri			
2. gün	0,9592641	1,4359445	0,9144651	1,5062905
2. gün	1,3986161	2,0936206	1,3332987	2,1961856
2. gün	1,5518617	2,3230175	1,4793875	2,4368205
2. gün	0,8645372	1,2941457	0,8241621	1,357545
4. gün	1,4539725	2,1764849	1,3860699	2,2831094
4. gün	1,8506089	2,7702189	1,7641827	2,9059301
4. gün	1,255272	1,8790455	1,196649	1,9710987
4. gün	2,1435469	1,8790455	2,0434402	3,3659179
6. gün	7,94474	11,892664	7,573709	12,475277
6. gün	5,6962008	8,5267739	5,4301799	8,9444948
6. gün	4,7239706	7,0714202	4,5033543	7,4178444
6. gün	9,5798296	14,340267	9,1324377	15,042787
8. gün	3,0104935	4,5064769	2,8698991	4,7272462
8. gün	5,052509	7,5632169	4,8165495	7,9337338
8. gün	4,3079455	6,4486627	4,1067582	6,7645783
8. gün	3,530812	5,2853536	3,3659179	5,5442795
10. gün	2,2815274	3,4152709	2,1749768	3,5825827
10. gün	2,5632958	3,8370565	2,4435862	4,0250313
10. gün	3,0694922	4,5947934	2,9261424	4,8198893
10. gün	1,905276	2,8520514	1,8162968	2,9917715

Çizelge 4.65 Soğuk stresi uygulanmış Saray çeşidinin yapraklarında NAC genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri

Örnek Alım Zamanı	Saray Çeşidinin Yapraklarına Ait NAC Geni Normalize Edilmiş İfade Verileri			
2. gün	0,3842188	0,82188019	0,4355771	0,72497342
2. gün	0,40416043	0,86453723	0,45818432	0,76260083
2. gün	0,6302517	1,34816773	0,71449707	1,18920712
2. gün	0,24638733	0,52704571	0,27932178	0,46490247
4. gün	2,78948733	5,96697611	3,16235647	5,2634181
4. gün	1,68412591	3,60250392	1,90924203	3,1777376
4. gün	1,75078266	3,74508899	1,98480875	3,30351066
4. gün	2,68328445	3,74508899	3,04195751	5,06302638
6. gün	0,74226179	1,58776786	0,84147948	1,40055632
6. gün	0,7829543	1,67481298	0,88761134	1,47733806
6. gün	0,86453723	1,84932656	0,98009942	1,63127499
6. gün	0,6722175	1,43793653	0,76207242	1,2683914
8. gün	4,0840485	8,73616437	4,62996087	7,70609515
8. gün	2,62442251	5,6138869	2,97522752	4,95196116
8. gün	3,96411825	8,47962227	4,49399961	7,47980158
8. gün	2,70382167	5,78372918	3,06523992	5,10177757
10. gün	2,29739671	4,91434792	2,60448838	4,33490387
10. gün	8,98177138	19,2128548	10,1823595	16,9474934
10. gün	3,40581483	7,28535867	3,8610681	6,42635197
10. gün	6,05866526	12,9600556	6,86852349	11,4319531

Çizelge 4.66 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 çeşidinin köklerinde NAC genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri

Örnek Alım Zamanı	Tarsan 1018 Çeşidinin Köklerine Ait NAC Geni Normalize Edilmiş İfade Verileri			
2. gün	0,19751033	0,17230064	0,13831217	0,24604601
2. gün	0,15832928	0,13812056	0,11087454	0,19723671
2. gün	0,18620968	0,16244238	0,13039857	0,23196837
2. gün	0,16793793	0,14650279	0,11760326	0,20920656
4. gün	1,0942937	0,95462101	0,76630998	1,36320261
4. gün	0,53144784	0,46361527	0,37216131	0,66204446
4. gün	0,90940825	0,79333384	0,63683874	1,13288389
4. gün	0,63949279	0,79333384	0,44782284	0,7966401
6. gün	2,32946717	2,03214029	1,63127499	2,90190442
6. gün	3,44618464	3,00632296	2,41328784	4,29304115
6. gün	2,20839769	1,92652379	1,54649267	2,75108364
6. gün	3,63511247	3,17113655	2,54558987	4,52839561
8. gün	5,57897467	4,86688943	3,90683412	6,94993748
8. gün	1,5888688	1,38606989	1,11265012	1,97931331
8. gün	2,93020175	2,55619873	2,05195629	3,65026195
8. gün	3,02513599	2,63901582	2,11843667	3,7685251
10. gün	0,31208264	0,27224925	0,21854466	0,38877302
10. gün	0,17277903	0,15072598	0,12099338	0,2152373
10. gün	0,18569412	0,16199262	0,13003753	0,23132611
10. gün	0,29037718	0,25331423	0,2033448	0,36173372

Çizelge 4.67 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 çeşidinin yapraklarında NAC genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri

Örnek Alım Zamanı	Tarsan 1018 Çeşidinin Yapraklarına Ait NAC Geni Normalize Edilmiş İfade Verileri			
2. gün	1,10956947	1,75321144	1,71713087	1,13288389
2. gün	0,803294	1,26927089	1,24314967	0,82017291
2. gün	0,94802697	1,49796093	1,46713334	0,96794703
2. gün	0,9401742	1,48555292	1,45498068	0,95992926
4. gün	2,69446715	4,25748073	4,16986304	2,75108364
4. gün	1,59992026	2,5280062	2,47598058	1,63353798
4. gün	1,85189205	2,92614244	2,8659233	1,89080423
4. gün	2,32785307	2,92614244	3,60250392	2,37676621
6. gün	1,29235283	2,04202425	2	1,31950791
6. gün	1,45699911	2,30217898	2,25480082	1,48761376
6. gün	1,8263965	2,88585737	2,82646729	1,86477297
6. gün	1,03096832	1,62901513	1,59549048	1,05263115
8. gün	2,23457428	3,53081199	3,45814893	2,28152743
8. gün	1,67597427	2,64817782	2,59367911	1,71119005
8. gün	1,9588406	3,09512999	3,03143313	2
8. gün	1,91189064	3,02094517	2,95877502	1,95206352
10. gün	3,55537072	5,6177795	5,50216727	3,63007662
10. gün	3,25803025	5,14795699	5,04201357	3,32648839
10. gün	3,96137149	6,25929425	6,13047984	4,04460832
10. gün	2,9241149	4,62034314	4,52525785	2,98555677

Çizelge 4.68 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 çeşidinin köklerinde NAC genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri

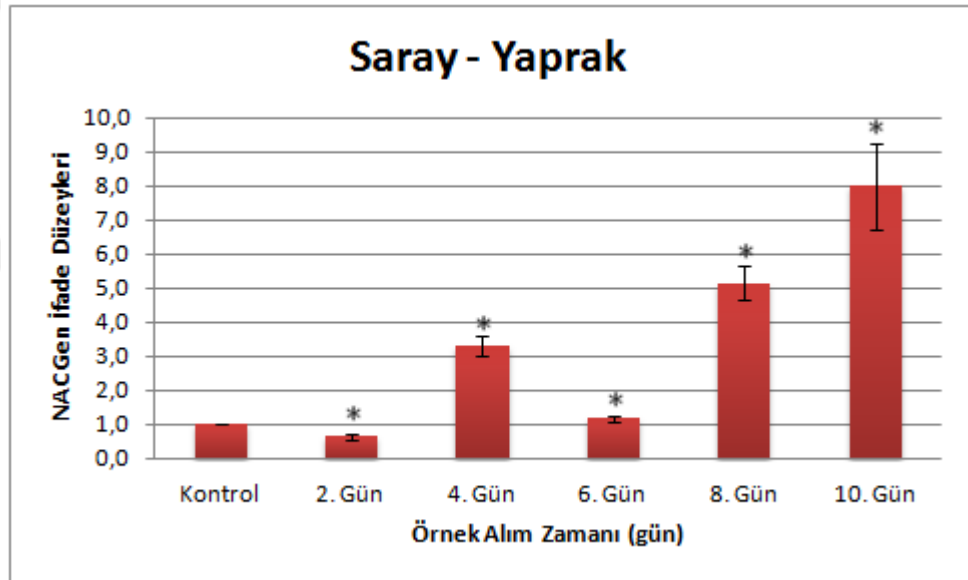
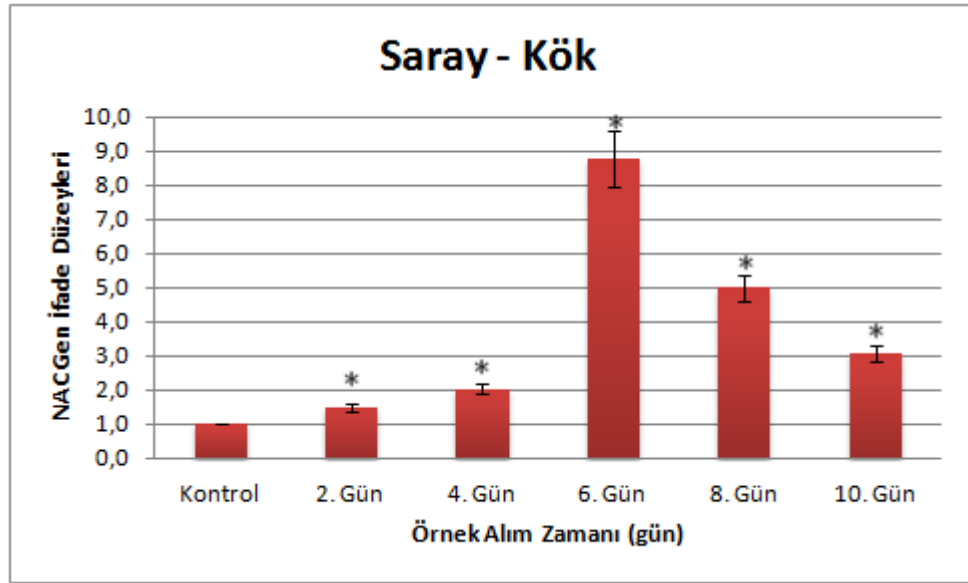
Örnek Alım Zamanı	Tr-3080 Çeşidinin Köklerine Ait NAC Geni Normalize Edilmiş İfade Verileri			
2. gün	0,79004131	0,80832087	0,75838377	0,84206295
2. gün	0,88148016	0,90187538	0,8461586	0,93952275
2. gün	0,84557229	0,86513669	0,81168958	0,90125046
2. gün	0,82359102	0,84264683	0,79058912	0,8778218
4. gün	2,42838977	2,48457656	2,3310824	2,58829131
4. gün	1,2986386	1,32868581	1,24660119	1,38414972
4. gün	1,6494671	1,68763159	1,58337173	1,75807912
4. gün	1,91189064	1,68763159	1,83527976	2,03778239
6. gün	9,00046788	9,20871593	8,63981248	9,59311931
6. gün	2,9608266	3,02933263	2,84218409	3,15578736
6. gün	5,15509852	5,27437446	4,94852991	5,49454493
6. gün	5,16941132	5,28901842	4,96226919	5,50980019
8. gün	2,37841423	2,43344472	2,28310941	2,53502504
8. gün	2,54912125	2,60810147	2,44697608	2,71697257
8. gün	1,4640857	1,49796093	1,4054187	1,56049096
8. gün	4,1410597	4,23687334	3,97512437	4,41373496
10. gün	0,93303299	0,95462101	0,89564567	0,99447017
10. gün	0,91319825	0,93432735	0,87660572	0,97332937
10. gün	1,17202228	1,19913991	1,12505848	1,24919613
10. gün	0,72698626	0,74380688	0,69785538	0,77485593

Çizelge 4.69 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 çeşidinin yapraklarında NAC genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri

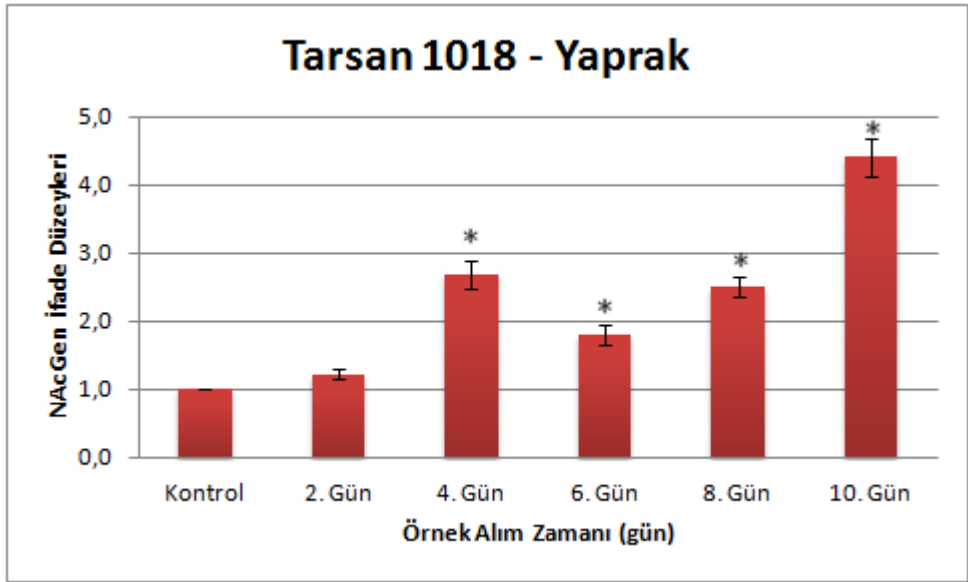
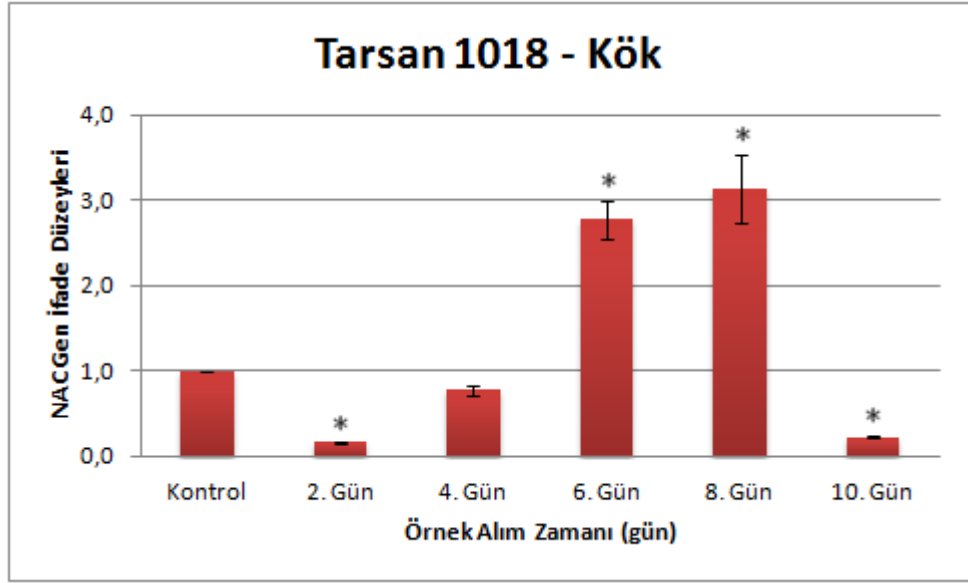
Örnek Alım Zamanı	Tr-3080 Çeşidinin Yapraklarına Ait NAC Geni Normalize Edilmiş İfade Verileri			
2. gün	0,01304825	0,00741674	0,00961165	0,01006855
2. gün	0,02185338	0,01242164	0,01609772	0,01686294
2. gün	0,01822421	0,0103588	0,01342439	0,01406253
2. gün	0,01564668	0,0088937	0,01152571	0,0120736
4. gün	0,03847326	0,02186853	0,02834032	0,02968751
4. gün	0,02828145	0,01607542	0,02083279	0,0218231
4. gün	0,04413295	0,02508554	0,03250938	0,03405475
4. gün	0,02465459	0,02508554	0,01816116	0,01902447
6. gün	1,4240502	0,80944222	1,04898933	1,09885422
6. gün	0,9666061	0,54942711	0,7120251	0,74587201
6. gün	1,41912336	0,80664176	1,0453601	1,09505247
6. gün	0,96996191	0,55133458	0,71449707	0,74846149
8. gün	1,47426922	0,83798713	1,08598186	1,13760523
8. gün	2,55442752	1,45195828	1,88165222	1,97109867
8. gün	1,76908087	1,00556058	1,30314715	1,36509372
8. gün	2,12874036	1,20999409	1,56808091	1,6426214
10. gün	0,15932008	0,09055888	0,11735897	0,12293776
10. gün	0,08747412	0,04972103	0,06443552	0,06749853
10. gün	0,0820132	0,046617	0,06041288	0,06328468
10. gün	0,16992853	0,09658882	0,12517341	0,13112367

Çizelge 4.70 Soğuk stresi uygulanan örneklerin NAC genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verilerinin ortalama, standart hata ve standart sapma değerleri

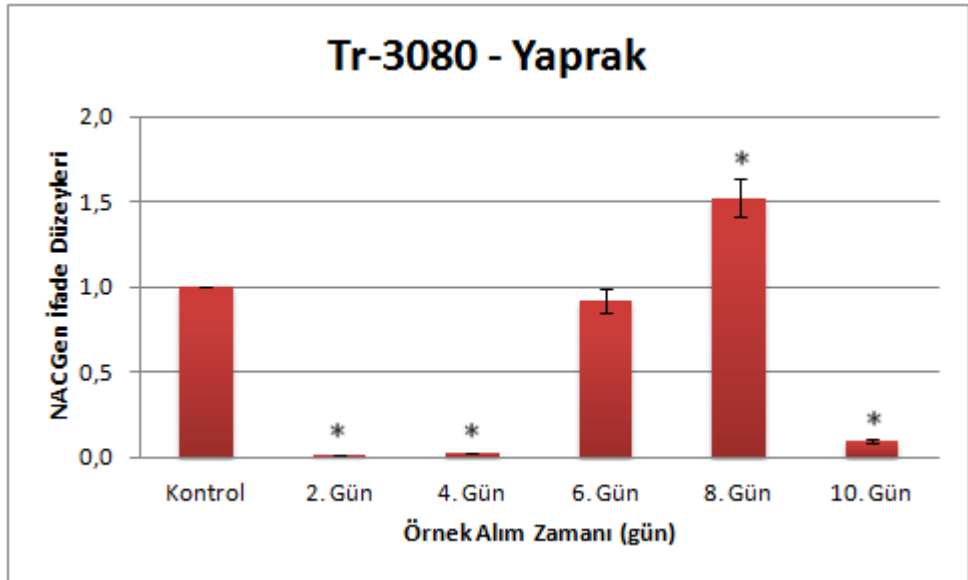
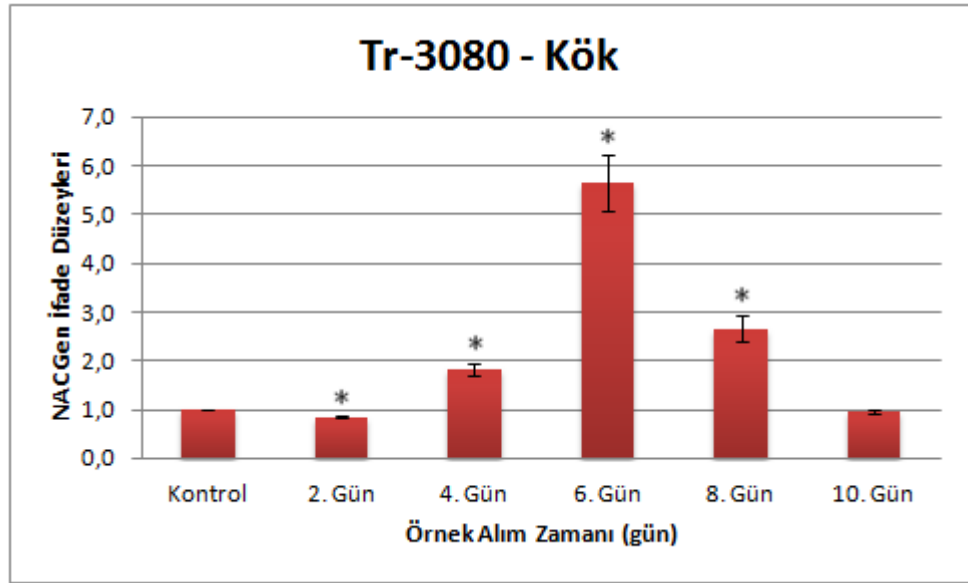
No	Örnek ismi	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata
1	S1K0	1	-	-
2	S1K2	1,498073	0,5161267	0,1290317
3	S1K4	2,020287	0,5994417	0,1498604
4	S1K6	8,768497	3,2324967	0,8081242
5	S1K8	4,989652	1,5431696	0,3857924
6	S1K10	3,081190	0,9070864	0,2267716
7	S1Y0	1	-	-
8	S1Y2	0,640995	0,3097133	0,0774283
9	S1Y4	3,304587	1,2643820	0,3160955
10	S1Y6	1,178790	0,3996222	0,0999055
11	S1Y8	5,149617	2,0207002	0,5051750
12	S1Y10	7,985838	5,0249270	1,2562317
13	S2K0	1	-	-
14	S2K2	0,169437	0,0395824	0,0098956
15	S2K4	0,772341	0,2712017	0,0678004
16	S2K6	2,772897	0,8789486	0,2197372
17	S2K8	3,131829	1,6021821	0,4005455
18	S2K10	0,229325	0,0793095	0,0198274
19	S2Y0	1	-	-
20	S2Y2	1,223149	0,3093066	0,0773267
21	S2Y4	2,679898	0,7987943	0,1996986
22	S2Y6	1,804192	0,5609384	0,1402346
23	S2Y8	2,503948	0,6184899	0,1546225
24	S2Y10	4,408182	1,1088845	0,2772211
25	S3K0	1	-	-
26	S3K2	0,845384	0,0479980	0,0119995
27	S3K4	1,827597	0,4377496	0,1094374
28	S3K6	5,639581	2,2852594	0,5713148
29	S3K8	2,665370	1,0132483	0,2533121
30	S3K10	0,947759	0,1694547	0,0423637
31	S3Y0	1	-	-
32	S3Y2	0,013224	0,0037961	0,0009490
33	S3Y4	0,026756	0,0076598	0,0019149
34	S3Y6	0,919106	0,2641180	0,0660295
35	S3Y8	1,524206	0,4540357	0,1135089
36	S3Y10	0,095903	0,0380923	0,0095231



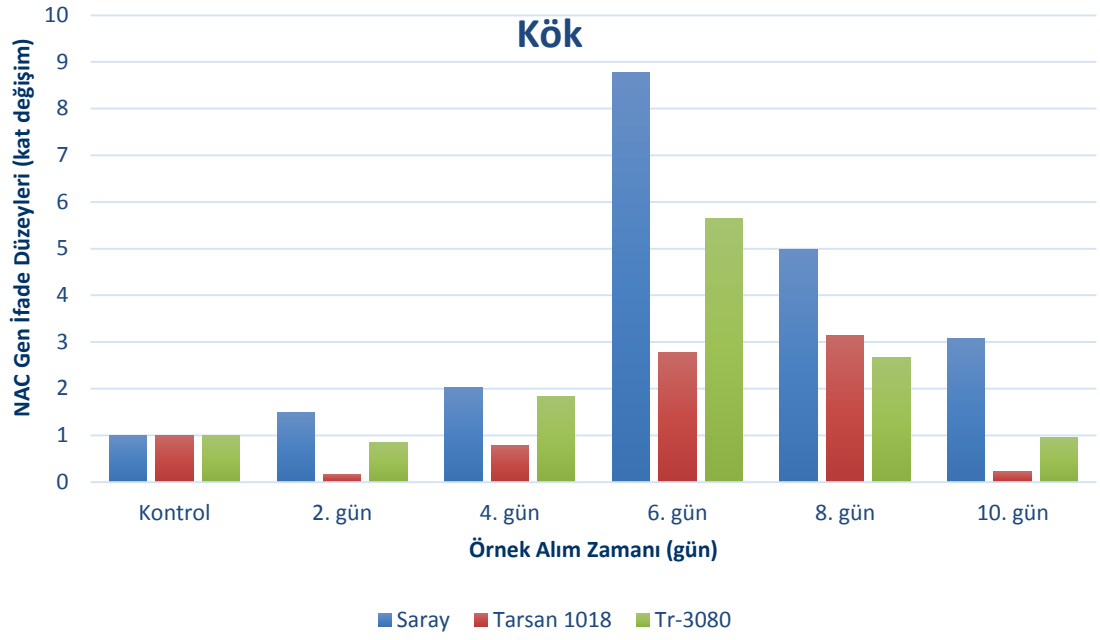
Şekil 4.21 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşitlerinin kök ve yapraklarında kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde NAC gen ifade düzeyleri



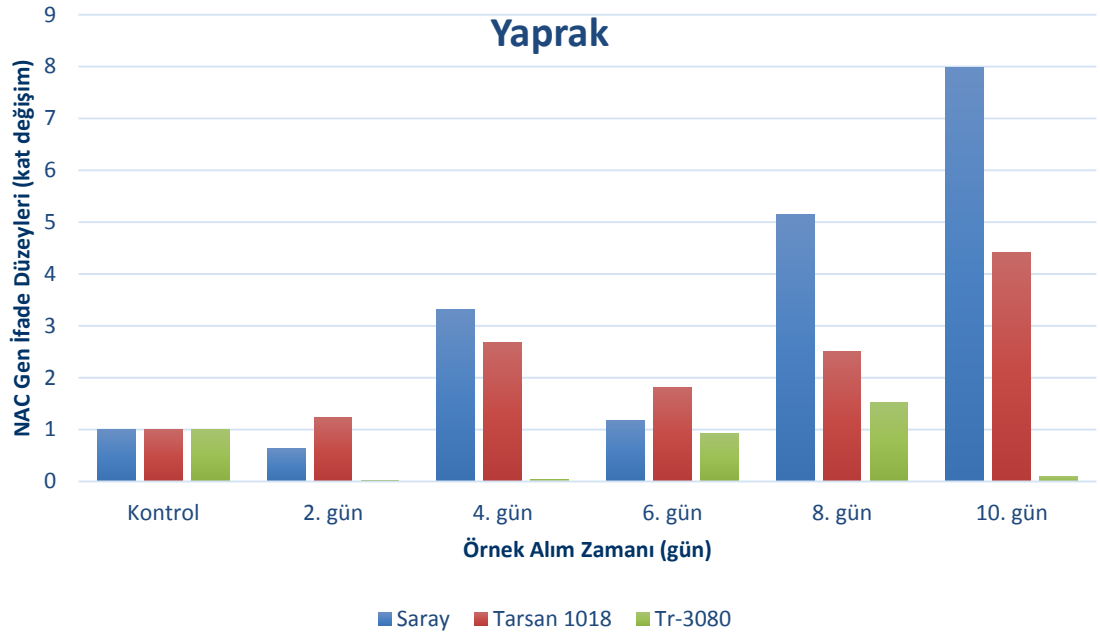
Şekil 4.22 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşitlerinin kök ve yapraklarında kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde NAC gen ifade düzeyleri



Şekil 4.23 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşitlerinin kök ve yapraklarında kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde NAC gen ifade düzeyleri



Şekil 4.24 Soğuk stresine maruz kalmış ayçiçeği çeşitlerinin köklerindeki NAC gen ifade düzeyleri



Şekil 4.25 Soğuk stresine maruz kalmış ayçiçeği çeşitlerinin yapraklardaki NAC gen ifade düzeyleri

Soğuk stresine maruz bırakılan ayçiçeği fidelerinin zamana karşı değişkenlik gösteren NAC gen ifade seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığı One Way ANOVA (Dunnet) analizi kullanılarak belirlenmiştir. ANOVA tablosu incelendiğinde, çalışmada kullanılan tüm çeşitlerde Sig. (Anlamlılık) sütunundaki değerin ,00 olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.71-4.72, 4.75-4.76, 4.79-4.80). Sig değerinin 0,05’den küçük olması, soğuk stresinde zamana bağlı olarak NAC gen ifade seviyesinde belirlenen değişikliğin $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı olduğunun göstergesidir.

Soğuk stresine maruz bırakılan ayçiçeği fidelerinin zamana karşı NAC gen ifade seviyesinde meydana gelen değişikliklerin anlamlılık derecelerinin karşılaştırılmasında Post Hoc testinden yararlanılmıştır (Çizelge 4.73-4.74, 4.77-4.78, 4.81-4.82).

Çizelge 4.71 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin köklerinde NAC genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı (Gen ifadesi)	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	681,239	5	136,248	57,251	,000
Gruplar içi	214,184	90	2,380		
Toplam	895,423	95			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05’ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.72 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin yapraklarında NAC genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı (Gen ifadesi)	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	675,030	5	135,006	25,973	,000
Gruplar içi	467,811	90	5,198		
Toplam	1142,841	95			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05’ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.73 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin köklerinde NAC genine ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	-,4980726*	,1290317	,021	-,937931	-,058214
	3	-1,0202871*	,1498604	,000	-1,531149	-,509425
	4	-7,7684969*	,8081242	,000	-10,523329	-5,013665
	5	-3,9896520*	,3857924	,000	-5,304788	-2,674516
	6	-2,0811900*	,2267716	,000	-2,854237	-1,308144
2 (2. gün)	1	,4980726*	,1290317	,021	,058214	,937931
	3	-,5222144	,1977557	,166	-1,148077	,103648
	4	-7,2704243*	,8183605	,000	-10,039719	-4,501130
	5	-3,4915794*	,4067984	,000	-4,840766	-2,142393
	6	-1,5831174*	,2609110	,000	-2,424007	-,742228
3 (4. gün)	1	1,0202871*	,1498604	,000	,509425	1,531149
	2	,5222144	,1977557	,166	-,103648	1,148077
	4	-6,7482099*	,8219020	,000	-9,522833	-3,973587
	5	-2,9693650*	,4138767	,000	-4,332290	-1,606440
	6	-1,0609030*	,2718152	,009	-1,929816	-,191990
4 (6. gün)	1	7,7684969*	,8081242	,000	5,013665	10,523329
	2	7,2704243*	,8183605	,000	4,501130	10,039719
	3	6,7482099*	,8219020	,000	3,973587	9,522833
	5	3,7788449*	,8954890	,005	,863125	6,694565
	6	5,6873069*	,8393391	,000	2,884203	8,490411
5 (8. gün)	1	3,9896520*	,3857924	,000	2,674516	5,304788
	2	3,4915794*	,4067984	,000	2,142393	4,840766
	3	2,9693650*	,4138767	,000	1,606440	4,332290
	4	-3,7788449*	,8954890	,005	-6,694565	-,863125
	6	1,9084620*	,4475054	,004	,468869	3,348055
6 (10. gün)	1	2,0811900*	,2267716	,000	1,308144	2,854237
	2	1,5831174*	,2609110	,000	,742228	2,424007
	3	1,0609030*	,2718152	,009	,191990	1,929816
	4	-5,6873069*	,8393391	,000	-8,490411	-2,884203
	5	-1,9084620*	,4475054	,004	-3,348055	-,468869

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

Çizelge 4.74 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin yapraklarında NAC genine ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	-4,1279566*	,6194267	,000	-6,239533	-2,016380
	3	-5,6091745*	,6321910	,000	-7,764264	-3,454085
	4	-3,2944484*	,4008348	,000	-4,660863	-1,928034
	5	-4,1496173*	,5051750	,000	-5,871719	-2,427515
	6	-4,0907230*	,5285525	,000	-5,892517	-2,288929
2 (2. gün)	1	4,1279566*	,6194267	,000	2,016380	6,239533
	3	-1,4812179	,8850734	,763	-4,277707	1,315272
	4	,8335082	,7378062	,982	-1,527578	3,194594
	5	-,0216607	,7993067	1,000	-2,554870	2,511549
	6	,0372336	,8142832	1,000	-2,540359	2,614826
3 (4. gün)	1	5,6091745*	,6321910	,000	3,454085	7,764264
	2	1,4812179	,8850734	,763	-1,315272	4,277707
	4	2,3147261	,7485546	,065	-,083323	4,712776
	5	1,4595572	,8092387	,670	-1,106735	4,025849
	6	1,5184514	,8240347	,641	-1,091327	4,128229
4 (6. gün)	1	3,2944484*	,4008348	,000	1,928034	4,660863
	2	-,8335082	,7378062	,982	-3,194594	1,527578
	3	-2,3147261	,7485546	,065	-4,712776	,083323
	5	-,8551689	,6448801	,939	-2,900708	1,190371
	6	-,7962746	,6633523	,971	-2,903789	1,311240
5 (8. gün)	1	4,1496173*	,5051750	,000	2,427515	5,871719
	2	,0216607	,7993067	1,000	-2,511549	2,554870
	3	-1,4595572	,8092387	,670	-4,025849	1,106735
	4	,8551689	,6448801	,939	-1,190371	2,900708
	6	,0588943	,7311426	1,000	-2,251520	2,369308
6 (10. gün)	1	4,0907230*	,5285525	,000	2,288929	5,892517
	2	-,0372336	,8142832	1,000	-2,614826	2,540359
	3	-1,5184514	,8240347	,641	-4,128229	1,091327
	4	,7962746	,6633523	,971	-1,311240	2,903789
	5	-,0588943	,7311426	1,000	-2,369308	2,251520

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

Çizelge 4.75 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin köklerinde NAC genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı (Gen ifadesi)	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	132,885	5	26,577	46,613	,000
Gruplar içi	51,314	90	,570		
Toplam	184,199	95			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05'ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.76 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında NAC genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı (Gen ifadesi)	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	123,525	5	24,705	55,714	,000
Gruplar içi	39,908	90	,443		
Toplam	163,434	95			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05'ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.77 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin köklerinde NAC genine ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	,8305625*	,0098956	,000	,796829	,864296
	3	,2276593	,0678004	,055	-,003467	,458786
	4	-1,7728972*	,2197372	,000	-2,521964	-1,023831
	5	-2,1318294*	,4005455	,001	-3,497258	-,766401
	6	,7706747*	,0198274	,000	,703085	,838265
2 (2. gün)	1	-,8305625*	,0098956	,000	-,864296	-,796829
	3	-,6029032*	,0685188	,000	-,835036	-,370770
	4	-2,6034597*	,2199599	,000	-3,352827	-1,854093
	5	-2,9623919*	,4006678	,000	-4,327984	-1,596799
	6	-,0598879	,0221596	,160	-,131854	,012078
3 (4. gün)	1	-,2276593	,0678004	,055	-,458786	,003467
	2	,6029032*	,0685188	,000	,370770	,835036
	4	-2,0005566*	,2299594	,000	-2,765818	-1,235295
	5	-2,3594887*	,4062433	,000	-3,733015	-,985962
	6	,5430153*	,0706401	,000	,307453	,778578
4 (6. gün)	1	1,7728972*	,2197372	,000	1,023831	2,521964
	2	2,6034597*	,2199599	,000	1,854093	3,352827
	3	2,0005566*	,2299594	,000	1,235295	2,765818
	5	-,3589321	,4568601	,999	-1,834457	1,116593
	6	2,5435719*	,2206299	,000	1,793287	3,293857
5 (8. gün)	1	2,1318294*	,4005455	,001	,766401	3,497258
	2	2,9623919*	,4006678	,000	1,596799	4,327984
	3	2,3594887*	,4062433	,000	,985962	3,733015
	4	,3589321	,4568601	,999	-1,116593	1,834457
	6	2,9025040*	,4010360	,000	1,536414	4,268594
6 (10. gün)	1	-,7706747*	,0198274	,000	-,838265	-,703085
	2	,0598879	,0221596	,160	-,012078	,131854
	3	-,5430153*	,0706401	,000	-,778578	-,307453
	4	-2,5435719*	,2206299	,000	-3,293857	-1,793287
	5	-2,9025040*	,4010360	,000	-4,268594	-1,536414

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

Çizelge 4.78 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında NAC genine ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	-,2231493	,0773267	,134	-,486750	,040451
	3	-1,6798980*	,1996986	,000	-2,360655	-,999141
	4	-,8041923*	,1402346	,001	-1,282241	-,326144
	5	-1,5039476*	,1546225	,000	-2,031043	-,976852
	6	-3,4081819*	,2772211	,000	-4,353207	-2,463157
2 (2. gün)	1	,2231493	,0773267	,134	-,040451	,486750
	3	-1,4567487*	,2141470	,000	-2,162064	-,751433
	4	-,5810430*	,1601411	,020	-1,098098	-,063988
	5	-1,2807983*	,1728801	,000	-1,842179	-,719418
	6	-3,1850326*	,2878037	,000	-4,146400	-2,223666
3 (4. gün)	1	1,6798980*	,1996986	,000	,999141	2,360655
	2	1,4567487*	,2141470	,000	,751433	2,162064
	4	,8757056*	,2440190	,019	,097930	1,653481
	5	,1759503	,2525621	1,000	-,625841	,977742
	6	-1,7282839*	,3416593	,000	-2,816037	-,640531
4 (6. gün)	1	,8041923*	,1402346	,001	,326144	1,282241
	2	,5810430*	,1601411	,020	,063988	1,098098
	3	-,8757056*	,2440190	,019	-1,653481	-,097930
	5	-,6997553*	,2087435	,031	-1,359759	-,039751
	6	-2,6039896*	,3106723	,000	-3,612138	-1,595841
5 (8. gün)	1	1,5039476*	,1546225	,000	,976852	2,031043
	2	1,2807983*	,1728801	,000	,719418	1,842179
	3	-,1759503	,2525621	1,000	-,977742	,625841
	4	,6997553*	,2087435	,031	,039751	1,359759
	6	-1,9042342*	,3174266	,000	-2,928445	-,880023
6 (10. gün)	1	3,4081819*	,2772211	,000	2,463157	4,353207
	2	3,1850326*	,2878037	,000	2,223666	4,146400
	3	1,7282839*	,3416593	,000	,640531	2,816037
	4	2,6039896*	,3106723	,000	1,595841	3,612138
	5	1,9042342*	,3174266	,000	,880023	2,928445

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

Çizelge 4.79 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerinde NAC genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı (Gen ifadesi)	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	272,264	5	54,453	50,484	,000
Gruplar içi	97,076	90	1,079		
Toplam	369,340	95			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05'ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.80 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında NAC genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı (Gen ifadesi)	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	32,687	5	6,537	141,385	,000
Gruplar içi	4,161	90	,046		
Toplam	36,849	95			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05'ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.81 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerinde NAC genine ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	,1546160*	,0119995	,000	,113711	,195521
	3	-,8275968*	,1094374	,000	-1,200660	-,454533
	4	-4,6395808*	,5713148	,000	-6,587148	-2,692014
	5	-1,6653696*	,2533121	,000	-2,528890	-,801849
	6	,0522405	,0423637	,956	-,092174	,196655
2 (2. gün)	1	-,1546160*	,0119995	,000	-,195521	-,113711
	3	-,9822129*	,1100933	,000	-1,356179	-,608247
	4	-4,7941969*	,5714408	,000	-6,741933	-2,846460
	5	-1,8199856*	,2535961	,000	-2,683890	-,956082
	6	-,1023755	,0440303	,336	-,249373	,044622
3 (4. gün)	1	,8275968*	,1094374	,000	,454533	1,200660
	2	,9822129*	,1100933	,000	,608247	1,356179
	4	-3,8119840*	,5817020	,000	-5,774535	-1,849433
	5	-,8377728	,2759412	,084	-1,741336	,065791
	6	,8798373*	,1173509	,000	,493324	1,266350
4 (6. gün)	1	4,6395808*	,5713148	,000	2,692014	6,587148
	2	4,7941969*	,5714408	,000	2,846460	6,741933
	3	3,8119840*	,5817020	,000	1,849433	5,774535
	5	2,9742112*	,6249541	,002	,930765	5,017657
	6	4,6918213*	,5728833	,000	2,742124	6,641518
5 (8. gün)	1	1,6653696*	,2533121	,000	,801849	2,528890
	2	1,8199856*	,2535961	,000	,956082	2,683890
	3	,8377728	,2759412	,084	-,065791	1,741336
	4	-2,9742112*	,6249541	,002	-5,017657	-,930765
	6	1,7176101*	,2568301	,000	,849095	2,586125
6 (10. gün)	1	-,0522405	,0423637	,956	-,196655	,092174
	2	,1023755	,0440303	,336	-,044622	,249373
	3	-,8798373*	,1173509	,000	-1,266350	-,493324
	4	-4,6918213*	,5728833	,000	-6,641518	-2,742124
	5	-1,7176101*	,2568301	,000	-2,586125	-,849095

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

Çizelge 4.82 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında NAC genine ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	,9867756*	,0009490	,000	,983540	,990011
	3	,9732443*	,0019149	,000	,966716	,979772
	4	,0808938	,0660295	,958	-,144196	,305983
	5	-,5242062*	,1135089	,005	-,911149	-,137263
	6	,9040971*	,0095231	,000	,871634	,936561
2 (2. gün)	1	-,9867756*	,0009490	,000	-,990011	-,983540
	3	-,0135313*	,0021372	,000	-,020475	-,006588
	4	-,9058818*	,0660363	,000	-1,130980	-,680783
	5	-1,5109818*	,1135129	,000	-1,897930	-1,124033
	6	-,0826785*	,0095703	,000	-,115207	-,050150
3 (4. gün)	1	-,9732443*	,0019149	,000	-,979772	-,966716
	2	,0135313*	,0021372	,000	,006588	,020475
	4	-,8923505*	,0660573	,000	-1,117477	-,667224
	5	-1,4974505*	,1135251	,000	-1,884415	-1,110486
	6	-,0691473*	,0097137	,000	-,101888	-,036407
4 (6. gün)	1	-,0808938	,0660295	,958	-,305983	,144196
	2	,9058818*	,0660363	,000	,680783	1,130980
	3	,8923505*	,0660573	,000	,667224	1,117477
	5	-,6051000*	,1313171	,002	-1,027787	-,182413
	6	,8232032*	,0667127	,000	,597157	1,049249
5 (8. gün)	1	,5242062*	,1135089	,005	,137263	,911149
	2	1,5109818*	,1135129	,000	1,124033	1,897930
	3	1,4974505*	,1135251	,000	1,110486	1,884415
	4	,6051000*	,1313171	,002	,182413	1,027787
	6	1,4283033*	,1139077	,000	1,040817	1,815789
6 (10. gün)	1	-,9040971*	,0095231	,000	-,936561	-,871634
	2	,0826785*	,0095703	,000	,050150	,115207
	3	,0691473*	,0097137	,000	,036407	,101888
	4	-,8232032*	,0667127	,000	-1,049249	-,597157
	5	-1,4283033*	,1139077	,000	-1,815789	-1,040817

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

4.6.4 Soğuk stresine maruz bırakılan ayçiçeği çeşitlerinin kök ve yapraklarında NF-YB geni mRNA düzeyleri

Soğuk stresine maruz bırakılan ayçiçeği fidelerinin NF-YB genine ait ifade düzeyleri, çalışmada housekeeping gen olarak kullanılan aktin (ACT) ve kontrol şartları hesaba katılarak $2^{-\Delta\Delta CT}$ metoduna göre normalize edilmiştir (Çizelge 4.83-4.88). Normalizasyon ile elde edilen gen ifadesi verilerinin ortalama, standart hata ve standart sapmaları belirlenmiştir (Çizelge 4.89). Normalizasyonu yapılmış gen ifadesi verilerinin

ortalaması alınarak, elde edilen veriler ile her bir çeşit için soğuk stresi uygulaması sonucunda zamana bağlı NF-YB gen ifade düzeyindeki değişimleri gösteren grafikler oluşturulmuştur (Şekil 4.26-4.28).

Çizelge 4.83 Soğuk stresi uygulanmış Saray çeşidinin köklerinde NF-YB genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri

Örnek Alım Zamanı	Saray Çeşidinin Köklerine Ait NF-YB Geni Normalize Edilmiş İfade Verileri			
2. gün	7,51618199	5,81992273	7,16516536	6,10503684
2. gün	13,4636717	10,4251772	12,8348987	10,9358996
2. gün	12,1593989	9,4152539	11,5915372	9,87650086
2. gün	8,32240213	6,44419433	7,93373385	6,75989108
4. gün	3,48220225	2,69633546	3,31957834	2,82842712
4. gün	2,38501774	1,84676462	2,27363395	1,93723638
4. gün	3,00632296	2,32785307	2,8659233	2,44189303
4. gün	2,7625489	2,32785307	2,63353384	2,24388696
6. gün	3,27160823	2,53326851	3,11881937	2,65737163
6. gün	2,71320865	2,10088909	2,58649786	2,20381023
6. gün	1,94530989	1,50629047	1,85446109	1,58008262
6. gün	4,56305486	3,53326021	4,34995356	3,70635225
8. gün	0,27547628	0,21330652	0,26261114	0,22375627
8. gün	0,44349815	0,34340906	0,42278614	0,36023244
8. gün	0,39420009	0,30523663	0,37579037	0,32018997
8. gün	0,30992692	0,23998232	0,29545289	0,25173889
10. gün	0,46009383	0,3562594	0,43860677	0,37371231
10. gün	0,53886657	0,41725464	0,51370072	0,43769566
10. gün	0,61899515	0,47929972	0,59008717	0,50278029
10. gün	0,40053494	0,31014182	0,38182937	0,32533546

Çizelge 4.84 Soğuk stresi uygulanmış Saray çeşidinin yapraklarında NF-YB genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri

Örnek Alım Zamanı	Saray Çeşidinin Yapraklarına Ait NF-YB Geni Normalize Edilmiş İfade Verileri			
2. gün	2,53151319	5,20897676	2,86989907	4,59479342
2. gün	3,86642439	7,95576135	4,38324707	7,01770839
2. gün	4,15255708	8,54452326	4,70762695	7,53705019
2. gün	2,35707882	4,85005128	2,67214816	4,27818835
4. gün	1,71713087	3,53326021	1,94665875	3,11665832
4. gün	1,36983298	2,81864151	1,55293775	2,48629934
4. gün	1,07773315	2,21760129	1,2217931	1,95612695
4. gün	2,18252775	2,21760129	2,47426496	3,96137149
6. gün	0,8122524	1,67133392	0,9208257	1,47426922
6. gün	1	2,05765342	1,13366941	1,81503831
6. gün	0,94605765	1,94665875	1,07251662	1,71713087
6. gün	0,85856544	1,7666301	0,97332937	1,55832916
8. gün	5,09824251	10,4904161	5,77972159	9,25350547
8. gün	3,72437928	7,66348175	4,22221487	6,75989108
8. gün	4,94852991	10,1823595	5,609997	8,98177138
8. gün	3,83705648	7,89533237	4,34995356	6,96440451
10. gün	3,05251842	6,28102495	3,46054676	5,54043787
10. gün	6,96923354	14,3402672	7,90080689	12,6494259
10. gün	4,52525785	9,31141228	5,13014641	8,21351637
10. gün	4,70110531	9,67324541	5,3294993	8,53268625

Çizelge 4.85 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 çeşidinin köklerinde NF-YB genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri

Örnek Alım Zamanı	Tarsan 1018 Çeşidinin Köklerine Ait NF-YB Geni Normalize Edilmiş İfade Verileri			
2. gün	1,10956947	0,59295725	0,77700727	0,84674531
2. gün	0,98760086	0,52777686	0,69159531	0,75366745
2. gün	1,04608494	0,55903093	0,73255044	0,79829839
2. gün	1,04753613	0,55980644	0,73356667	0,79940583
4. gün	1,20580783	0,64438732	0,84440089	0,92018765
4. gün	1,18838311	0,63507549	0,83219873	0,90689033
4. gün	1,00208161	0,53551541	0,70173586	0,76471814
4. gün	1,42998499	0,53551541	1,00138726	1,09126388
6. gün	5,0280535	2,68700685	3,52103605	3,83705648
6. gün	5,13370359	2,74346658	3,59502051	3,91768119
6. gün	4,7667303	2,54735495	3,33803712	3,63763301
6. gün	5,41514512	2,89386977	3,79210786	4,13245755
8. gün	1,76540599	0,94343825	1,23627526	1,34723358
8. gün	0,66480355	0,35527301	0,46554741	0,50733127
8. gün	0,92723055	0,49551478	0,6493193	0,70759708
8. gün	1,26575659	0,67642412	0,8863817	0,96593633
10. gün	1,10190512	0,58886139	0,77164009	0,84089642
10. gün	0,39338122	0,2102241	0,27547628	0,30020086
10. gün	0,65565101	0,35038186	0,45913808	0,50034669
10. gün	0,6611273	0,35330841	0,46297301	0,50452582

Çizelge 4.86 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 çeşidinin yapraklarında NF-YB genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri

Örnek Alım Zamanı	Tarsan 1018 Çeşidinin Yapraklarına Ait NF-YB Geni Normalize Edilmiş İfade Verileri			
2. gün	0,447512535	0,524858342	0,692554734	0,339151082
2. gün	0,366021424	0,429282718	0,566441943	0,277392368
2. gün	0,382359069	0,44844408	0,591725511	0,289773988
2. gün	0,428390977	0,50243191	0,66296288	0,324659651
4. gün	0,046714039	0,054787858	0,072293011	0,035402621
4. gün	0,034172983	0,040079269	0,052884912	0,025898278
4. gün	0,032106295	0,037655385	0,049686578	0,024332022
4. gün	0,04972103	0,037655385	0,076946526	0,037681495
6. gün	0,157126672	0,184283652	0,243163737	0,11907975
6. gün	0,132954084	0,155933196	0,205755086	0,100760354
6. gün	0,222056699	0,260435857	0,343647174	0,168287509
6. gün	0,094077922	0,110337875	0,145591698	0,071297732
8. gün	9,646462622	11,3137085	14,92852786	7,310651602
8. gün	7,900806892	9,26634245	12,22701217	5,987691947
8. gün	8,456144324	9,9176616	13,08643294	6,408559021
8. gün	9,012953828	10,57070725	13,94813183	6,830541715
10. gün	3,530811985	4,141059695	5,464161027	2,67585511
10. gün	6,525099947	7,652865265	10,09801626	4,945101044
10. gün	3,934008296	4,61394242	6,088133523	2,981420774
10. gün	5,856342784	6,868523492	9,063071082	4,438277888

Çizelge 4.87 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 çeşidinin köklerinde NF-YB genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri

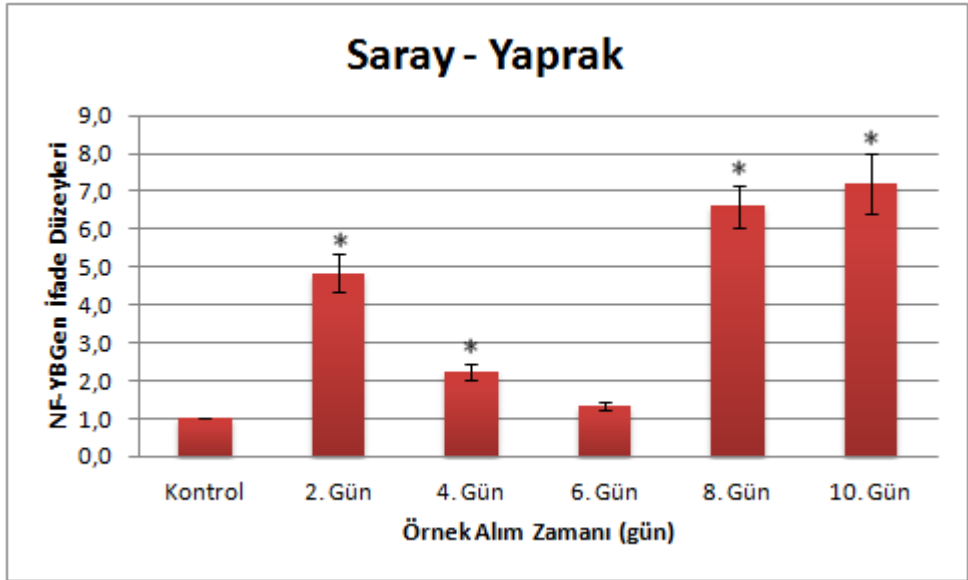
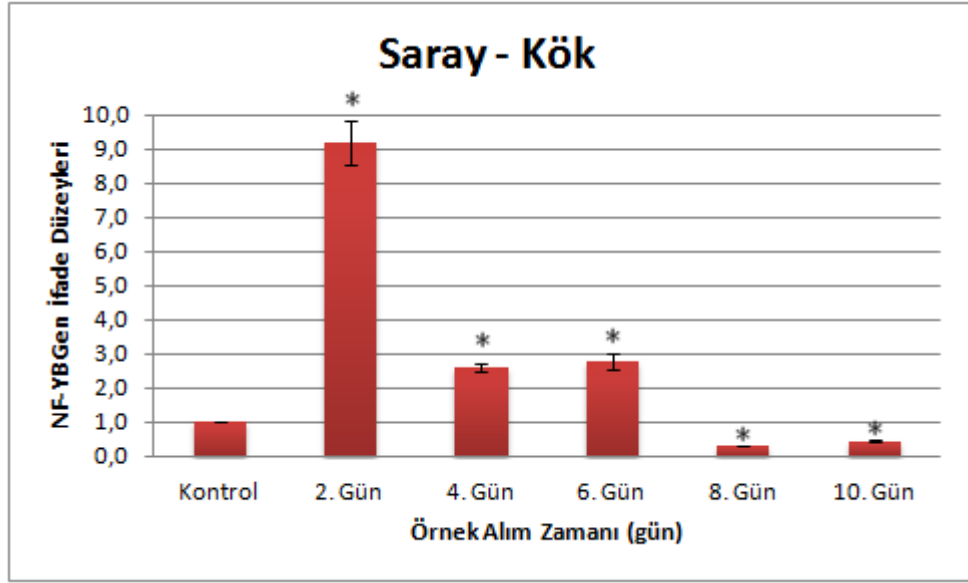
Örnek Alım Zamanı	Tr-3080 Çeşidinin Köklerine Ait NF-YB Geni Normalize Edilmiş İfade Verileri			
2. gün	0,122427537	0,09882364	0,117521775	0,102948877
2. gün	0,10866807	0,087716983	0,10431366	0,091378591
2. gün	0,131032809	0,105769825	0,125782228	0,11018502
2. gün	0,10153155	0,081956376	0,097463105	0,085377516
4. gün	0,146604369	0,118339204	0,140729823	0,123279088
4. gün	0,095523533	0,077106698	0,091695834	0,080325396
4. gün	0,099580012	0,080381093	0,095589767	0,083736475
4. gün	0,140632311	0,080381093	0,13499707	0,118257206
6. gün	1,257013375	1,014662547	1,20664392	1,057018041
6. gün	0,657927263	0,531079593	0,631563631	0,553248677
6. gün	0,719965659	0,581157054	0,691116103	0,605416542
6. gün	1,148698355	0,927230546	1,102669163	0,965936329
8. gün	1,741101127	1,4054187	1,671333918	1,464085696
8. gün	1,140763716	0,920825697	1,095052471	0,959264119
8. gün	1,071773463	0,865136691	1,028826708	0,901250463
8. gün	1,853176124	1,495885758	1,778917987	1,558329159
10. gün	0,073302184	0,059169602	0,070364912	0,061639544
10. gün	0,153786418	0,124136562	0,147624083	0,129318448
10. gün	0,09207798	0,074325445	0,088388348	0,077428044
10. gün	0,122427537	0,09882364	0,117521775	0,102948877

Çizelge 4.88 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 çeşidinin yapraklarında NF-YB genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri

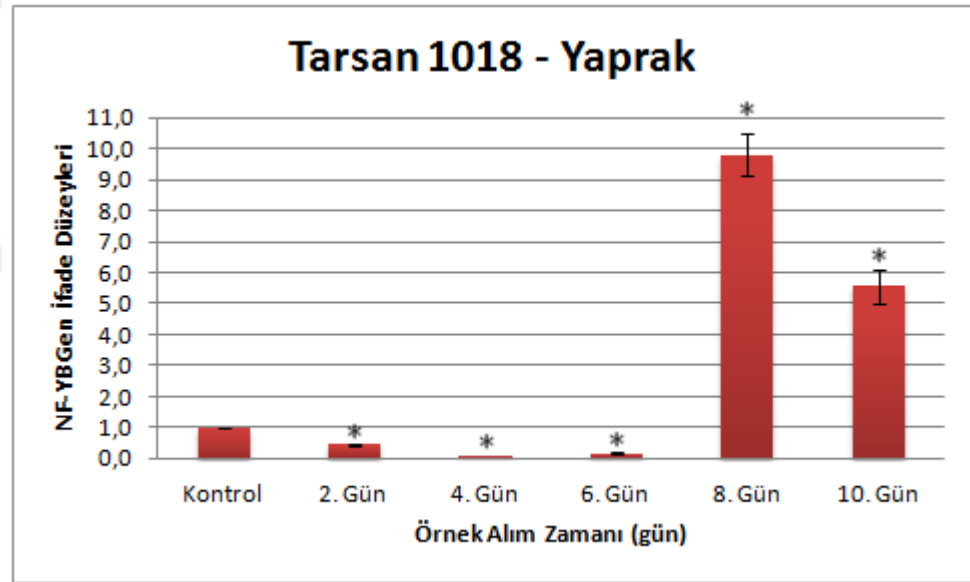
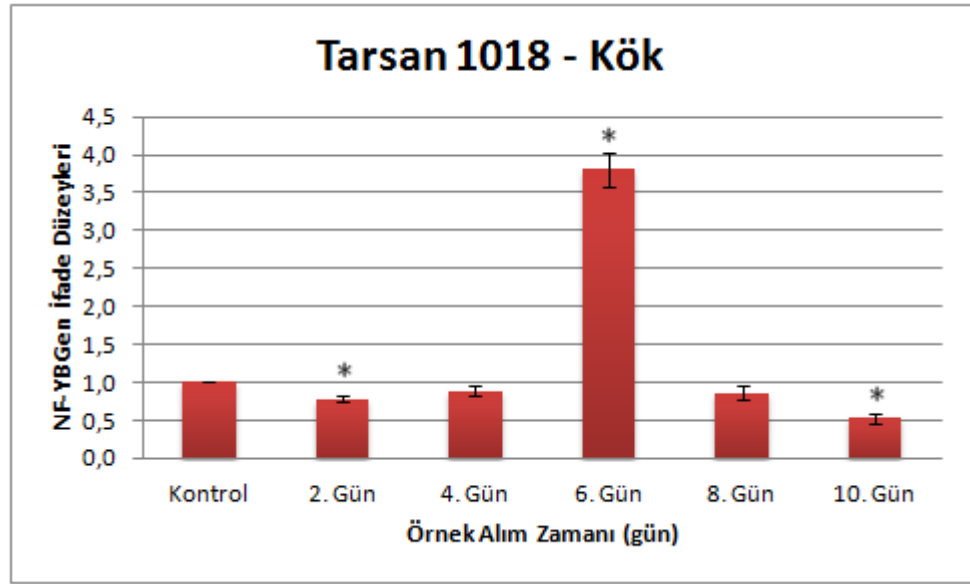
Örnek Alım Zamanı	Tr-3080 Çeşidinin Yapraklarına Ait NF-YB Geni Normalize Edilmiş İfade Verileri			
2. gün	0,876605721	0,609205132	0,645728675	0,827023368
2. gün	0,869947353	0,604577838	0,640823962	0,820741609
2. gün	1,224336392	0,85086373	0,901875378	1,155085785
2. gün	0,622868708	0,432868283	0,458819941	0,587638164
4. gün	4,407620464	3,063115994	3,246758324	4,158317741
4. gün	5,712015919	3,969617499	4,207607117	5,388934307
4. gün	5,056012394	3,513721873	3,724379279	4,770035489
4. gün	4,979496942	3,513721873	3,668016173	4,697847885
6. gün	16,22335168	11,27456604	11,95050766	15,30573053
6. gün	11,9174197	8,282119391	8,778655501	11,2433496
6. gün	16,16722314	11,23555901	11,90916204	15,25277672
6. gün	11,95879399	8,310872826	8,809132785	11,28238368
8. gün	0,882702996	0,613442489	0,650220073	0,832775771
8. gün	0,820741609	0,570381858	0,604577838	0,774319028
8. gün	1,059218335	0,736113431	0,78024548	0,999307093
8. gün	0,683967652	0,475329551	0,50382688	0,645281245
10. gün	1,580082624	1,098092814	1,163926534	1,490710387
10. gün	0,429878243	0,298747801	0,316658563	0,405563578
10. gün	0,813379198	0,565265284	0,599154511	0,767373048
10. gün	0,835087919	0,580351957	0,615145672	0,787853886

Çizelge 4.89 Soğuk stresi uygulanan örneklerin NF-YB genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verilerinin ortalama, standart hata ve standart sapma değerleri

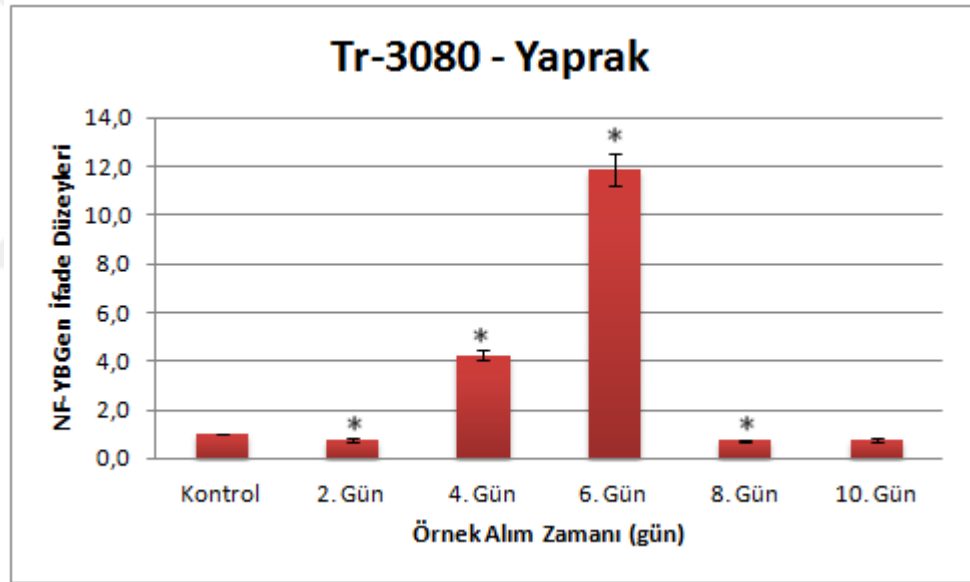
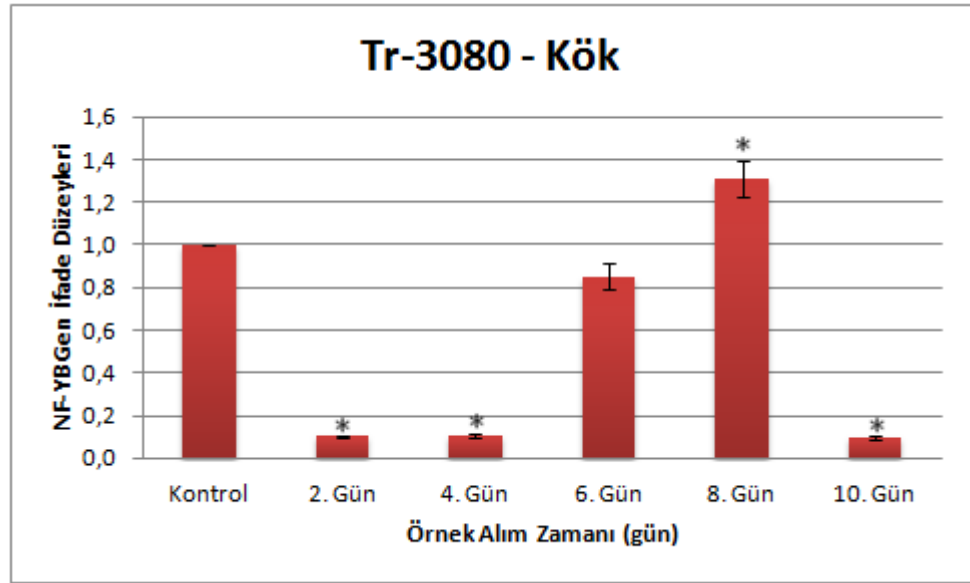
No	Örnek ismi	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata
1	S1K0	1	-	-
2	S1K2	9,173054	2,5136610	0,6284152
3	S1K4	2,586188	0,4529264	0,1132316
4	S1K6	2,764015	0,9291010	0,2322752
5	S1K8	0,314850	0,0702775	0,0175694
6	S1K10	0,446575	0,0901308	0,0225327
7	S1Y0	1	-	-
8	S1Y2	4,845472	1,9609681	0,4902420
9	S1Y4	2,240652	0,8130486	0,2032622
10	S1Y6	1,357766	0,4327241	0,1081810
11	S1Y8	6,610079	2,2642642	0,5660661
12	S1Y10	7,225696	3,1681468	0,7920367
13	S2K0	1	-	-
14	S2K2	0,785200	0,1839681	0,0459920
15	S2K4	0,889971	0,2556318	0,0639079
16	S2K6	3,811648	0,8966085	0,2241521
17	S2K8	0,866217	0,3823734	0,0955934
18	S2K10	0,526877	0,2354357	0,0588589
19	S2Y0	1	-	-
20	S2Y2	0,454623	0,1269745	0,0317436
21	S2Y4	0,044251	0,0148660	0,0037165
22	S2Y6	0,169674	0,0714904	0,0178726
23	S2Y8	9,800771	2,7140346	0,6785086
24	S2Y10	5,554793	2,1061485	0,5265371
25	S3K0	1	-	-
26	S3K2	0,104556	0,0144219	0,0036055
27	S3K4	0,106697	0,0248390	0,0062098
28	S3K6	0,853209	0,2560933	0,0640233
29	S3K8	1,309446	0,3474194	0,0868548
30	S3K10	0,099580	0,0300182	0,0075045
31	S3Y0	1	-	-
32	S3Y2	0,758063	0,2242450	0,0560612
33	S3Y4	4,254826	0,7880422	0,1970106
34	S3Y6	11,868850	2,6663831	0,6665958
35	S3Y8	0,727028	0,1661079	0,0415270
36	S3Y10	0,771705	0,3874723	0,0968681



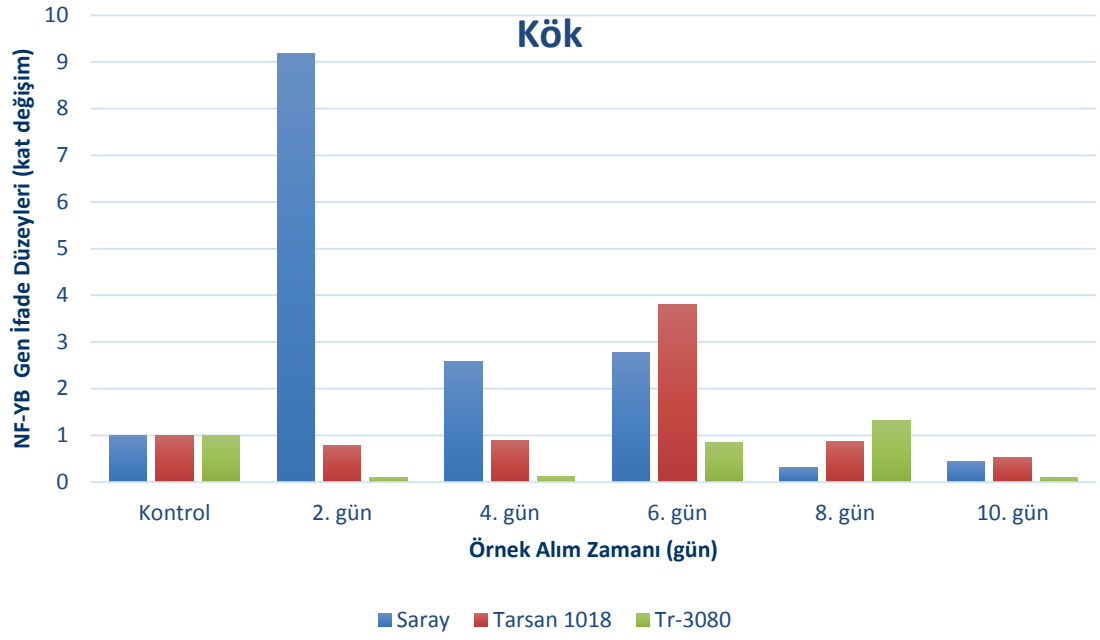
Şekil 4.26 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşitlerinin kök ve yapraklarında kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde NF-YB gen ifade düzeyleri



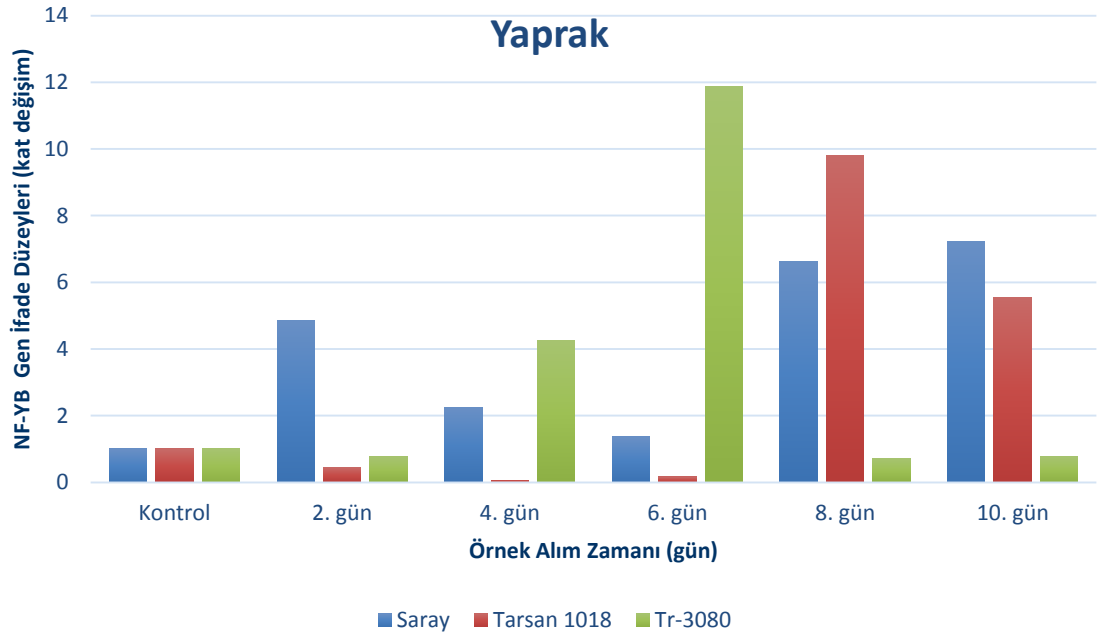
Şekil 4.27 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşitlerinin kök ve yapraklarında kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde NF-YB gen ifade düzeyleri



Şekil 4.28 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşitlerinin kök ve yapraklarında kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde NF-YB gen ifade düzeyleri



Şekil 4.29 Soğuk stresine maruz kalmış ayçiçeği çeşitlerinin köklerindeki NF-YB gen ifade düzeyleri



Şekil 4.30 Soğuk stresine maruz kalmış ayçiçeği çeşitlerinin yapraklardaki NF-YB gen ifade düzeyleri

Soğuk stresine maruz bırakılan ayçiçeği fidelerinin zamana karşı değişkenlik gösteren NF-YB gen ifade seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığı One Way ANOVA (Dunnet) analizi kullanılarak belirlenmiştir. ANOVA tablosu incelendiğinde, çalışmada kullanılan tüm çeşitlerde Sig. (Anlamlılık) sütunundaki değerin ,00 olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.90-4.91, 4.94-4.95, 4.98-4.99). Sig değerinin 0,05’den küçük olması, soğuk stresinde zamana bağlı olarak NF-YB gen ifadesi seviyesinde belirlenen değişikliğin $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı olduğunun göstergesidir.

Soğuk stresine maruz bırakılan ayçiçeği fidelerinin zamana karşı NF-YB gen ifade seviyesinde meydana gelen değişikliklerin anlamlılık derecelerinin karşılaştırılmasında Post Hoc testinden yararlanılmıştır (Çizelge 4.92-4.93, 4.96-4.97, 4.100-4.101).

Çizelge 4.90 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin köklerinde NF-YB genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı (Gen ifadesi)	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	889,170	5	177,834	144,191	,000
Gruplar içi	110,999	90	1,233		
Toplam	1000,169	95			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05’ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.91 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin yapraklarında NF-YB genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı (Gen ifadesi)	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	590,763	5	118,153	35,700	,000
Gruplar içi	297,866	90	3,310		
Toplam	888,629	95			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05’ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.92 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin köklerinde NF-YB genine ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	-8,1730541*	,6284152	,000	-10,315272	-6,030836
	3	-1,5861882*	,1132316	,000	-1,972186	-1,200191
	4	-1,7640149*	,2322752	,000	-2,555823	-,972207
	5	,6851504*	,0175694	,000	,625258	,745043
	6	,5534254*	,0225327	,000	,476613	,630238
2 (2. gün)	1	8,1730541*	,6284152	,000	6,030836	10,315272
	3	6,5868660*	,6385351	,000	4,430162	8,743570
	4	6,4090392*	,6699683	,000	4,197303	8,620775
	5	8,8582045*	,6286608	,000	6,715656	11,000753
	6	8,7264795*	,6288191	,000	6,583718	10,869241
3 (4. gün)	1	1,5861882*	,1132316	,000	1,200191	1,972186
	2	-6,5868660*	,6385351	,000	-8,743570	-4,430162
	4	-,1778267	,2584051	1,000	-1,018176	,662522
	5	2,2713386*	,1145866	,000	1,883432	2,659245
	6	2,1396136*	,1154518	,000	1,750397	2,528831
4 (6. gün)	1	1,7640149*	,2322752	,000	,972207	2,555823
	2	-6,4090392*	,6699683	,000	-8,620775	-4,197303
	3	-,1778267	,2584051	1,000	-,662522	1,018176
	5	2,4491653*	,2329388	,000	1,656456	3,241875
	6	2,3174403*	,2333656	,000	1,524140	3,110741
5 (8. gün)	1	-,6851504*	,0175694	,000	-,745043	-,625258
	2	-8,8582045*	,6286608	,000	-11,000753	-6,715656
	3	-2,2713386*	,1145866	,000	-2,659245	-1,883432
	4	-2,4491653*	,2329388	,000	-3,241875	-1,656456
	6	-,1317250*	,0285728	,001	-,222411	-,041039
6 (10. gün)	1	-,5534254*	,0225327	,000	-,630238	-,476613
	2	-8,7264795*	,6288191	,000	-10,869241	-6,583718
	3	-2,1396136*	,1154518	,000	-2,528831	-1,750397
	4	-2,3174403*	,2333656	,000	-3,110741	-1,524140
	5	,1317250*	,0285728	,001	,041039	,222411

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

Çizelge 4.93 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin yapraklarında NF-YB genine ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	-3,8454717*	,4902420	,000	-5,516668	-2,174275
	3	-1,2406525*	,2032622	,000	-1,933557	-,547748
	4	-,3577663	,1081810	,061	-,726547	,011014
	5	-5,6100786*	,5660661	,000	-7,539753	-3,680404
	6	-6,2256957*	,7920367	,000	-8,925686	-3,525705
2 (2. gün)	1	3,8454717*	,4902420	,000	2,174275	5,516668
	3	2,6048193*	,5307097	,001	,863120	4,346518
	4	3,4877055*	,5020362	,000	1,799132	5,176279
	5	-1,7646069	,7488445	,292	-4,134269	,605055
	6	-2,3802239	,9314824	,206	-5,368159	,607711
3 (4. gün)	1	1,2406525*	,2032622	,000	,547748	1,933557
	2	-2,6048193*	,5307097	,001	-4,346518	-,863120
	4	,8828862*	,2302578	,012	,137906	1,627867
	5	-4,3694261*	,6014535	,000	-6,357744	-2,381108
	6	-4,9850432*	,8177027	,000	-7,723938	-2,246149
4 (6. gün)	1	,3577663	,1081810	,061	-,011014	,726547
	2	-3,4877055*	,5020362	,000	-5,176279	-1,799132
	3	-,8828862*	,2302578	,012	-1,627867	-,137906
	5	-5,2523123*	,5763106	,000	-7,196760	-3,307864
	6	-5,8679294*	,7993906	,000	-8,578174	-3,157685
5 (8. gün)	1	5,6100786*	,5660661	,000	3,680404	7,539753
	2	1,7646069	,7488445	,292	-,605055	4,134269
	3	4,3694261*	,6014535	,000	2,381108	6,357744
	4	5,2523123*	,5763106	,000	3,307864	7,196760
	6	-,6156171	,9735260	1,000	-3,716138	2,484904
6 (10. gün)	1	6,2256957*	,7920367	,000	3,525705	8,925686
	2	2,3802239	,9314824	,206	-,607711	5,368159
	3	4,9850432*	,8177027	,000	2,246149	7,723938
	4	5,8679294*	,7993906	,000	3,157685	8,578174
	5	,6156171	,9735260	1,000	-2,484904	3,716138

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

Çizelge 4.94 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin köklerinde NF-YB genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı (Gen ifadesi)	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	121,861	5	24,372	132,370	,000
Gruplar içi	16,571	90	,184		
Toplam	138,432	95			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05'ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.95 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında NF-YB genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı (Gen ifadesi)	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	1277,518	5	255,504	129,661	,000
Gruplar içi	177,349	90	1,971		
Toplam	1454,867	95			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05'ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.96 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin köklerinde NF- YB genine ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	,2148000*	,0459920	,004	,058017	,371583
	3	,1100291	,0639079	,725	-,107828	,327886
	4	-2,8116475*	,2241521	,000	-3,575764	-2,047531
	5	,1337832	,0955934	,901	-,192087	,459653
	6	,4731226*	,0588589	,000	,272477	,673768
2 (2. gün)	1	-,2148000*	,0459920	,004	-,371583	-,058017
	3	-,1047709	,0787368	,937	-,355459	,145917
	4	-3,0264476*	,2288219	,000	-3,797366	-2,255529
	5	-,0810168	,1060818	1,000	-,426265	,264231
	6	,2583226*	,0746970	,025	,021264	,495382
3 (4. gün)	1	-,1100291	,0639079	,725	-,327886	,107828
	2	,1047709	,0787368	,937	-,145917	,355459
	4	-2,9216767*	,2330845	,000	-3,699660	-2,143693
	5	,0237541	,1149883	1,000	-,343616	,391124
	6	,3630935*	,0868827	,003	,088446	,637741
4 (6. gün)	1	2,8116475*	,2241521	,000	2,047531	3,575764
	2	3,0264476*	,2288219	,000	2,255529	3,797366
	3	2,9216767*	,2330845	,000	2,143693	3,699660
	5	2,9454307*	,2436848	,000	2,146921	3,743940
	6	3,2847702*	,2317510	,000	2,509078	4,060462
5 (8. gün)	1	-,1337832	,0955934	,901	-,459653	,192087
	2	,0810168	,1060818	1,000	-,264231	,426265
	3	-,0237541	,1149883	1,000	-,391124	,343616
	4	-2,9454307*	,2436848	,000	-3,743940	-2,146921
	6	,3393394	,1122607	,077	-,020865	,699543
6 (10. gün)	1	-,4731226*	,0588589	,000	-,673768	-,272477
	2	-,2583226*	,0746970	,025	-,495382	-,021264
	3	-,3630935*	,0868827	,003	-,637741	-,088446
	4	-3,2847702*	,2317510	,000	-4,060462	-2,509078
	5	-,3393394	,1122607	,077	-,699543	,020865

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

Çizelge 4.97 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında NF-YB genine ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	,5453773*	,0317436	,000	,437166	,653589
	3	,9557489*	,0037165	,000	,943080	,968418
	4	,8303257*	,0178726	,000	,769399	,891252
	5	-8,8007710*	,6785086	,000	-11,113754	-6,487789
	6	-4,5547932*	,5265371	,000	-6,349717	-2,759870
2 (2. gün)	1	-,5453773*	,0317436	,000	-,653589	-,437166
	3	,4103716*	,0319604	,000	,301861	,518882
	4	,2849484*	,0364292	,000	,167470	,402427
	5	-9,3461483*	,6792508	,000	-11,660131	-7,032165
	6	-5,1001705*	,5274931	,000	-6,896387	-3,303954
3 (4. gün)	1	-,9557489*	,0037165	,000	-,968418	-,943080
	2	-,4103716*	,0319604	,000	-,518882	-,301861
	4	-,1254232*	,0182549	,000	-,186907	-,063939
	5	-9,7565199*	,6785188	,000	-12,069516	-7,443524
	6	-5,5105421*	,5265502	,000	-7,305483	-3,715601
4 (6. gün)	1	-,8303257*	,0178726	,000	-,891252	-,769399
	2	-,2849484*	,0364292	,000	-,402427	-,167470
	3	,1254232*	,0182549	,000	,063939	,186907
	5	-9,6310967*	,6787440	,000	-11,944396	-7,317798
	6	-5,3851188*	,5268404	,000	-7,180450	-3,589787
5 (8. gün)	1	8,8007710*	,6785086	,000	6,487789	11,113754
	2	9,3461483*	,6792508	,000	7,032165	11,660131
	3	9,7565199*	,6785188	,000	7,443524	12,069516
	4	9,6310967*	,6787440	,000	7,317798	11,944396
	6	4,2459779*	,8588453	,000	1,519679	6,972277
6 (10. gün)	1	4,5547932*	,5265371	,000	2,759870	6,349717
	2	5,1001705*	,5274931	,000	3,303954	6,896387
	3	5,5105421*	,5265502	,000	3,715601	7,305483
	4	5,3851188*	,5268404	,000	3,589787	7,180450
	5	-4,2459779*	,8588453	,000	-6,972277	-1,519679

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

Çizelge 4.98 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerinde NF-YB genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı (Gen ifadesi)	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	23,424	5	4,685	149,506	,000
Gruplar içi	2,820	90	,031		
Toplam	26,244	95			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05'ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.99 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında NF-YB genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı (Gen ifadesi)	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	1585,143	5	317,029	239,008	,000
Gruplar içi	119,379	90	1,326		
Toplam	1704,523	95			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05'ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.100 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerinde NF-YB genine ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	,8954439*	,0036055	,000	,883153	,907735
	3	,8933026*	,0062098	,000	,872134	,914471
	4	,1467908	,0640233	,362	-,071460	,365041
	5	-,3094464*	,0868548	,037	-,605528	-,013365
	6	,9004198*	,0075045	,000	,874837	,926002
2 (2. gün)	1	-,8954439*	,0036055	,000	-,907735	-,883153
	3	-,0021413	,0071806	1,000	-,025257	,020974
	4	-,7486531*	,0641248	,000	-,967041	-,530266
	5	-1,2048903*	,0869296	,000	-1,501072	-,908708
	6	,0049759	,0083257	1,000	-,022123	,032075
3 (4. gün)	1	-,8933026*	,0062098	,000	-,914471	-,872134
	2	,0021413	,0071806	1,000	-,020974	,025257
	4	-,7465117*	,0643238	,000	-,965173	-,527850
	5	-1,2027489*	,0870765	,000	-1,499131	-,906367
	6	,0071172	,0097406	1,000	-,023741	,037975
4 (6. gün)	1	-,1467908	,0640233	,362	-,365041	,071460
	2	,7486531*	,0641248	,000	,530266	,967041
	3	,7465117*	,0643238	,000	,527850	,965173
	5	-,4562372*	,1079016	,003	-,799434	-,113041
	6	,7536290*	,0644617	,000	,534773	,972485
5 (8. gün)	1	,3094464*	,0868548	,037	,013365	,605528
	2	1,2048903*	,0869296	,000	,908708	1,501072
	3	1,2027489*	,0870765	,000	,906367	1,499131
	4	,4562372*	,1079016	,003	,113041	,799434
	6	1,2098661*	,0871785	,000	,913344	1,506389
6 (10. gün)	1	-,9004198*	,0075045	,000	-,926002	-,874837
	2	-,0049759	,0083257	1,000	-,032075	,022123
	3	-,0071172	,0097406	1,000	-,037975	,023741
	4	-,7536290*	,0644617	,000	-,972485	-,534773
	5	-1,2098661*	,0871785	,000	-1,506389	-,913344

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

Çizelge 4.101 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında NF-YB genine ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	,2419369*	,0560612	,008	,050829	,433045
	3	-3,2548262*	,1970106	,000	-3,926420	-2,583233
	4	-10,8688503*	,6665958	,000	-13,141223	-8,596478
	5	,2729718*	,0415270	,000	,131410	,414534
	6	,2282955	,0968681	,328	-,101920	,558511
2 (2. gün)	1	-,2419369*	,0560612	,008	-,433045	-,050829
	3	-3,4967631*	,2048317	,000	-4,180492	-2,813034
	4	-11,1107871*	,6689490	,000	-13,386365	-8,835209
	5	,0310349	,0697664	1,000	-,190823	,252893
	6	-,0136414	,1119209	1,000	-,374001	,346718
3 (4. gün)	1	3,2548262*	,1970106	,000	2,583233	3,926420
	2	3,4967631*	,2048317	,000	2,813034	4,180492
	4	-7,6140241*	,6950993	,000	-9,931044	-5,297004
	5	3,5277980*	,2013396	,000	2,849873	4,205723
	6	3,4831217*	,2195372	,000	2,769530	4,196714
4 (6. gün)	1	10,8688503*	,6665958	,000	8,596478	13,141223
	2	11,1107871*	,6689490	,000	8,835209	13,386365
	3	7,6140241*	,6950993	,000	5,297004	9,931044
	5	11,1418221*	,6678880	,000	8,867701	13,415943
	6	11,0971458*	,6735973	,000	8,814964	13,379328
5 (8. gün)	1	-,2729718*	,0415270	,000	-,414534	-,131410
	2	-,0310349	,0697664	1,000	-,252893	,190823
	3	-3,5277980*	,2013396	,000	-4,205723	-2,849873
	4	-11,1418221*	,6678880	,000	-13,415943	-8,867701
	6	-,0446763	,1053941	1,000	-,389934	,300582
6 (10. gün)	1	-,2282955	,0968681	,328	-,558511	,101920
	2	,0136414	,1119209	1,000	-,346718	,374001
	3	-3,4831217*	,2195372	,000	-4,196714	-2,769530
	4	-11,0971458*	,6735973	,000	-13,379328	-8,814964
	5	,0446763	,1053941	1,000	-,300582	,389934

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

4.6.5 Soğuk stresine maruz bırakılan ayçiçeği çeşitlerinin kök ve yapraklarında WRKY geni mRNA düzeyleri

Soğuk stresine maruz bırakılan ayçiçeği fidelerinin WRKY genine ait gen ifadesi düzeyleri, çalışmada housekeeping gen olarak kullanılan aktin (ACT) ve kontrol şartları hesaba katılarak $2^{-\Delta\Delta CT}$ metoduna göre normalize edilmiştir (Çizelge 4.102-4.107). Normalizasyon ile elde edilen gen ifadesi verilerinin ortalama, standart hata ve standart sapmaları belirlenmiştir (Çizelge 4.108). Normalizasyonu yapılmış gen ifadesi

verilerinin ortalaması alınarak, elde edilen veriler ile her bir çeşit için soğuk stresi uygulaması sonucunda zamana bağlı WRKY gen ifade düzeyindeki değişimleri gösteren grafikler oluşturulmuştur (Şekil 4.31-4.33).

Çizelge 4.102 Soğuk stresi uygulanmış Saray çeşidinin köklerinde WRKY genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri

Örnek Alım Zamanı	Saray Çeşidinin Köklerine Ait WRKY Geni Normalize Edilmiş İfade Verileri			
2. gün	0,726986259	0,724471077	0,693034943	0,759962428
2. gün	1,128964405	1,125058485	1,076240125	1,180174343
2. gün	1,17609125	1,172022284	1,121166078	1,229438867
2. gün	0,697855382	0,695440986	0,665264521	0,729510172
4. gün	1,840375301	1,834008086	1,754427097	1,923854909
4. gün	1,262252032	1,257884972	1,203303026	1,319507911
4. gün	1,5888688	1,583371732	1,514666316	1,660940048
4. gün	1,462057448	1,583371732	1,393777239	1,528376521
6. gün	3,20427951	3,193193545	3,054634996	3,34962595
6. gün	1,255271991	1,25092908	1,196648963	1,312211255
6. gün	1,905275996	1,898684242	1,816296835	1,991699506
6. gün	2,111107435	2,103803558	2,012515647	2,20686748
8. gün	1,945309895	1,938579634	1,854461093	2,033549347
8. gün	1,796264746	1,790050142	1,712376569	1,877743495
8. gün	2,783692784	2,774061938	2,653690281	2,909961367
8. gün	1,255271991	1,25092908	1,196648963	1,312211255
10. gün	7,012845771	6,988583167	6,685335671	7,330949157
10. gün	14,45002416	14,40003088	13,77518701	15,10547871
10. gün	9,434852738	9,402210627	8,99423139	9,862818604
10. gün	10,74058002	10,70342044	10,23897931	11,22777381

Çizelge 4.103 Soğuk stresi uygulanmış Saray çeşidinin yapraklarında WRKY genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri

Örnek Alım Zamanı	Saray Çeşidinin Yapraklarına Ait WRKY Geni Normalize Edilmiş İfade Verileri			
2. gün	0,0238478	0,036931611	0,027035522	0,032577055
2. gün	0,0336092	0,052048486	0,038101722	0,04591152
2. gün	0,039118639	0,060580614	0,044347605	0,053437636
2. gün	0,020489094	0,031730191	0,023227859	0,027988927
4. gün	0,070316155	0,108894274	0,079715274	0,096054699
4. gün	0,043164827	0,066846693	0,048934644	0,058964891
4. gün	0,04413295	0,068345966	0,050032176	0,060287387
4. gün	0,068773663	0,068345966	0,077966598	0,093947592
6. gün	0,179244406	0,277584708	0,2032039	0,244855074
6. gün	0,214641359	0,332401777	0,243332344	0,293208737
6. gün	0,20877198	0,323312233	0,236678408	0,285190929
6. gün	0,184283652	0,285388677	0,20891674	0,251738888
8. gün	1,424050196	2,205338326	1,614402149	1,945309895
8. gün	1,742308384	2,698205069	1,975201723	2,380063393
8. gün	1,382232207	2,140577397	1,566994374	1,888184838
8. gün	1,795020101	2,77983644	2,034959384	2,45206972
10. gün	0,993092495	1,537940831	1,125838586	1,356604327
10. gün	1,893427262	2,932233514	2,146520573	2,586497864
10. gün	1,472226862	2,279946545	1,669018562	2,011121161
10. gün	1,277213759	1,977941833	1,447938172	1,744725412

Çizelge 4.104 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 çeşidinin köklerinde WRKY genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri

Örnek Alım Zamanı	Tarsan 1018 Çeşidinin Köklerine Ait WRKY Geni Normalize Edilmiş İfade Verileri			
2. gün	1,283425898	0,596667872	0,898755127	0,852044095
2. gün	1,325007017	0,615999037	0,927873476	0,879649076
2. gün	1,209994089	0,562529242	0,847332435	0,803293997
2. gün	1,4054187	0,653382627	0,984184022	0,933032992
4. gün	1,879045498	0,873572896	1,315854525	1,247465572
4. gün	1,155085785	0,537002236	0,808881348	0,76684133
4. gün	1,561572985	0,72597914	1,093535457	1,036701101
4. gün	1,38991822	0,72597914	0,973329374	0,922742493
6. gün	2,042024251	0,949342121	1,429984986	1,355664327
6. gün	1,190031696	0,553248677	0,833353207	0,790041312
6. gün	1,935894054	0,90000193	1,355664327	1,285206337
6. gün	1,255271991	0,583579051	0,879039561	0,833353207
8. gün	5,979396995	2,77983644	4,187241128	3,969617499
8. gün	3,08656035	1,434949535	2,161450804	2,049113646
8. gün	3,140512475	1,460032011	2,199232299	2,084931522
8. gün	5,876674533	2,732080514	4,115306832	3,901421846
10. gün	1,257013375	0,584388624	0,880259014	0,834509281
10. gün	0,517632462	0,240648611	0,362486708	0,343647174
10. gün	0,747942879	0,347720493	0,523768064	0,496546248
10. gün	0,869947353	0,404440674	0,609205132	0,577542892

Çizelge 4.105 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 çeşidinin yapraklarında WRKY genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri

Örnek Alım Zamanı	Tarsan 1018 Çeşidinin Yapraklarına Ait WRKY Geni Normalize Edilmiş İfade Verileri			
2. gün	0,062068281	0,090058109	0,096054699	0,058193426
2. gün	0,041492661	0,060203868	0,06421259	0,03890232
2. gün	0,053031744	0,076946526	0,08207007	0,04972103
2. gün	0,048562954	0,070462526	0,075154328	0,045531222
4. gün	0,00638986	0,009271381	0,009888723	0,005990948
4. gün	0,003991094	0,005790887	0,006176477	0,003741934
4. gün	0,004391715	0,006372168	0,006796464	0,004117545
4. gün	0,005806965	0,006372168	0,008986655	0,005444442
6. gün	0,006992383	0,010145614	0,010821168	0,006555857
6. gün	0,01268265	0,018401919	0,019627225	0,011890886
6. gün	0,009881871	0,014338123	0,015292838	0,009264957
6. gün	0,008974206	0,013021144	0,013888167	0,008413956
8. gün	0,114228931	0,16574072	0,176776695	0,107097744
8. gün	0,090684513	0,131578894	0,140340178	0,085023178
8. gün	0,100133735	0,145289263	0,154963462	0,093882495
8. gün	0,103449602	0,150100428	0,160094983	0,096991357
10. gün	0,289172046	0,419574819	0,447512535	0,271119352
10. gün	0,27206061	0,394746943	0,421031477	0,255076165
10. gün	0,322193658	0,467487599	0,498615626	0,302079461
10. gün	0,244177132	0,354289349	0,377879982	0,228933422

Çizelge 4.106 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 çeşidinin köklerinde WRKY genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri

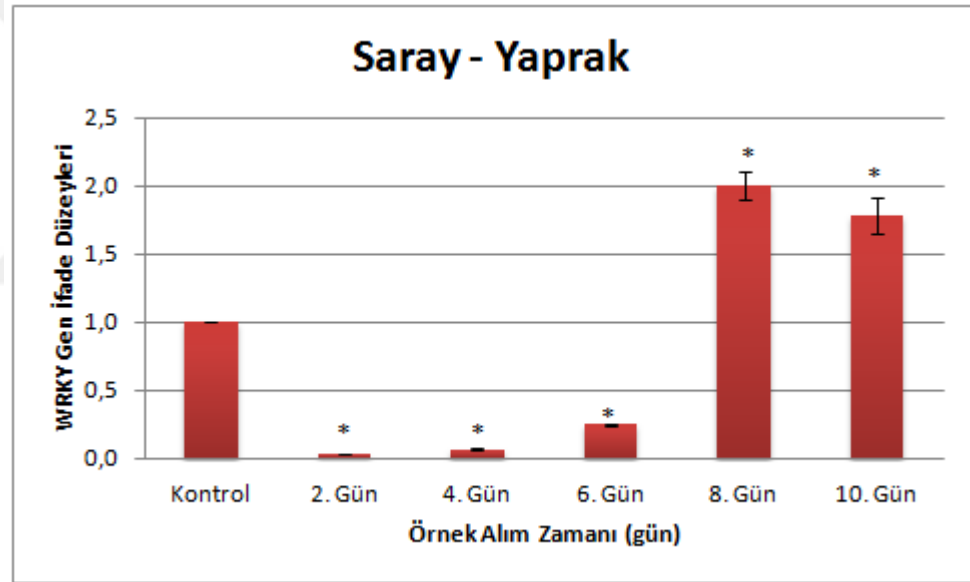
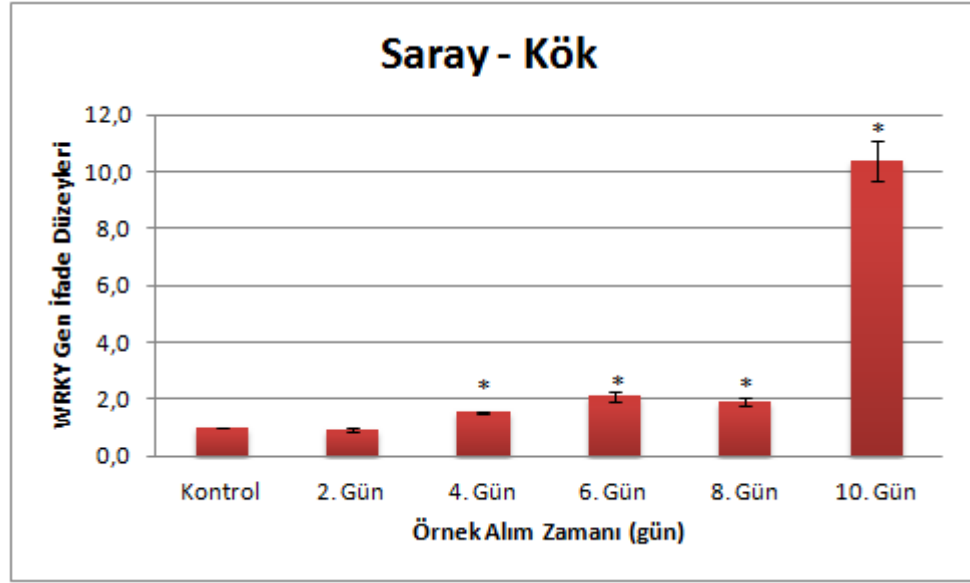
Örnek Alım Zamanı	Tr-3080 Çeşidinin Köklerine Ait WRKY Geni Normalize Edilmiş İfade Verileri			
2. gün	11,79415374	12,15939885	11,32155328	12,66697385
2. gün	11,32940351	11,68025609	10,87542594	12,16783003
2. gün	12,62314945	13,01406717	12,11733053	13,55731896
2. gün	10,58537152	10,91318268	10,16120786	11,36873635
4. gün	11,47164198	11,82689945	11,01196481	12,32059479
4. gün	8,450285003	8,711976123	8,111675838	9,075643879
4. gün	7,792034148	8,033340346	7,479801582	8,368679518
4. gün	12,44073657	8,033340346	11,94222707	13,36140671
6. gün	0,316439148	0,326238737	0,303759198	0,33985706
6. gün	0,150308656	0,154963462	0,144285677	0,161432169
6. gün	0,181243354	0,186856156	0,173980799	0,194656173
6. gün	0,262429171	0,270556161	0,25191344	0,281850103
8. gün	15,56247916	16,04442297	14,93887912	16,71417221
8. gün	10,58537152	10,91318268	10,16120786	11,36873635
8. gün	9,579829637	9,876500855	9,195958784	10,28877987
8. gün	17,19598677	17,72851757	16,50693087	18,46856668
10. gün	0,586417475	0,604577838	0,562919293	0,62981499
10. gün	1,851892045	1,909242028	1,777685362	1,988940337
10. gün	0,736623843	0,759435845	0,707106781	0,791137301
10. gün	1,474269217	1,519924856	1,41519416	1,583371732

Çizelge 4.107 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 çeşidinin yapraklarında WRKY genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verileri

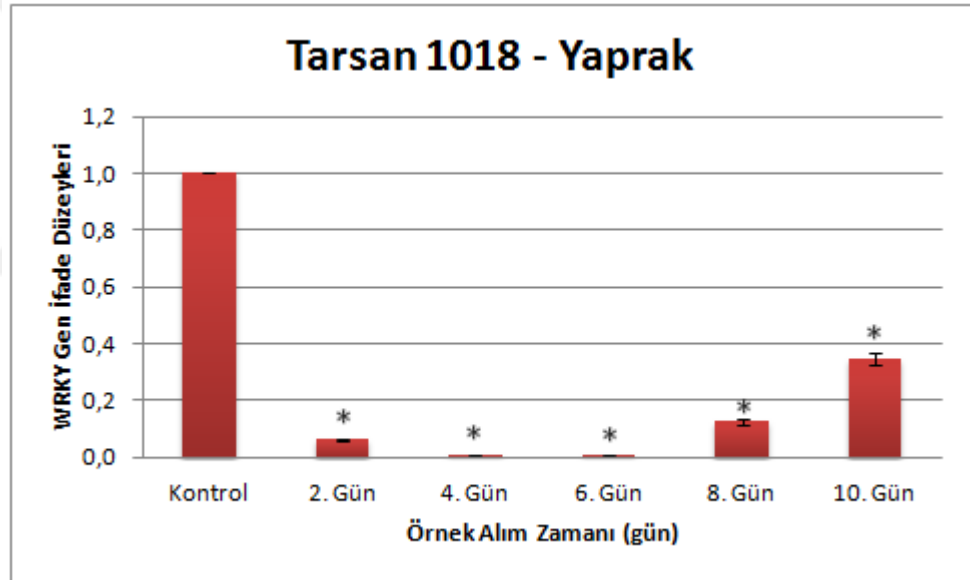
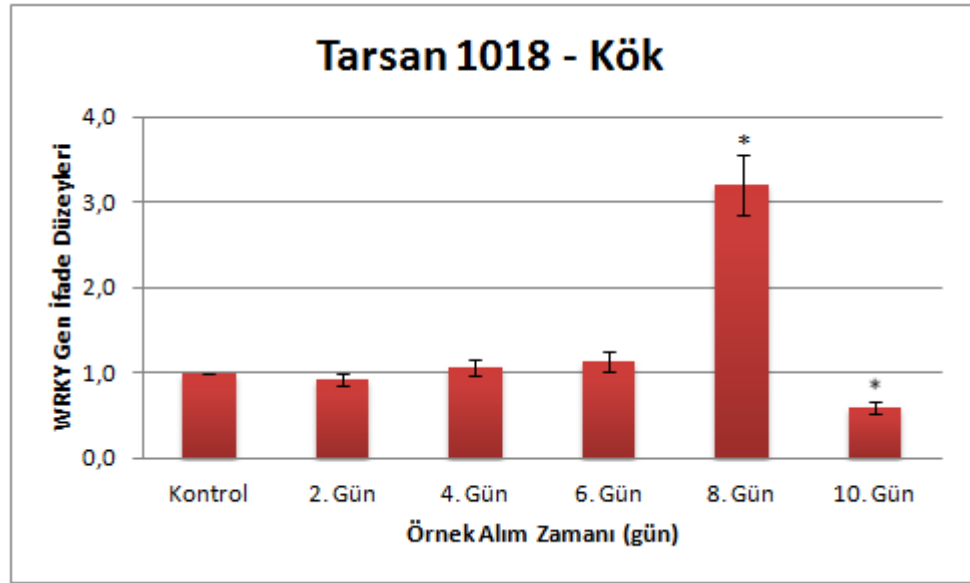
Örnek Alım Zamanı	Tr-3080 Çeşidinin Yapraklarına Ait WRKY Geni Normalize Edilmiş İfade Verileri			
2. gün	0,562529242	0,405001737	0,414372452	0,549808075
2. gün	0,750539549	0,540362701	0,552865327	0,733566672
2. gün	0,785672517	0,565657231	0,578745108	0,767905135
2. gün	0,537374586	0,386891248	0,395842933	0,525222272
4. gün	14,12324794	10,16825351	10,40352117	13,80386151
4. gün	11,80233166	8,497273492	8,6938789	11,53543097
4. gün	16,20087692	11,66407503	11,93395221	15,8345065
4. gün	10,28877987	11,66407503	7,578960565	10,056107
6. gün	7,412704495	5,336892679	5,460374872	7,245071864
6. gün	7,695419637	5,540437872	5,668629586	7,52139362
6. gün	7,387058486	5,318428433	5,44148341	7,22000582
6. gün	7,722136199	5,559672879	5,688309642	7,547506007
8. gün	0,287174589	0,206755842	0,211539649	0,280680356
8. gün	0,43951978	0,316439148	0,32376075	0,429580377
8. gün	0,344601288	0,248101094	0,253841525	0,336808394
8. gün	0,366275219	0,263705579	0,269807059	0,357992185
10. gün	1,283425898	0,924022572	0,945402117	1,254402205
10. gün	0,529242197	0,381036208	0,389852421	0,517273791
10. gün	0,660669203	0,475659138	0,486664687	0,645728675
10. gün	1,028113827	0,740206649	0,757333158	1,00486382

Çizelge 4.108 Soğuk stresi uygulanan örneklerin WRKY genine ait normalize edilmiş gen ifadesi verilerinin ortalama, standart hata ve standart sapma değerleri

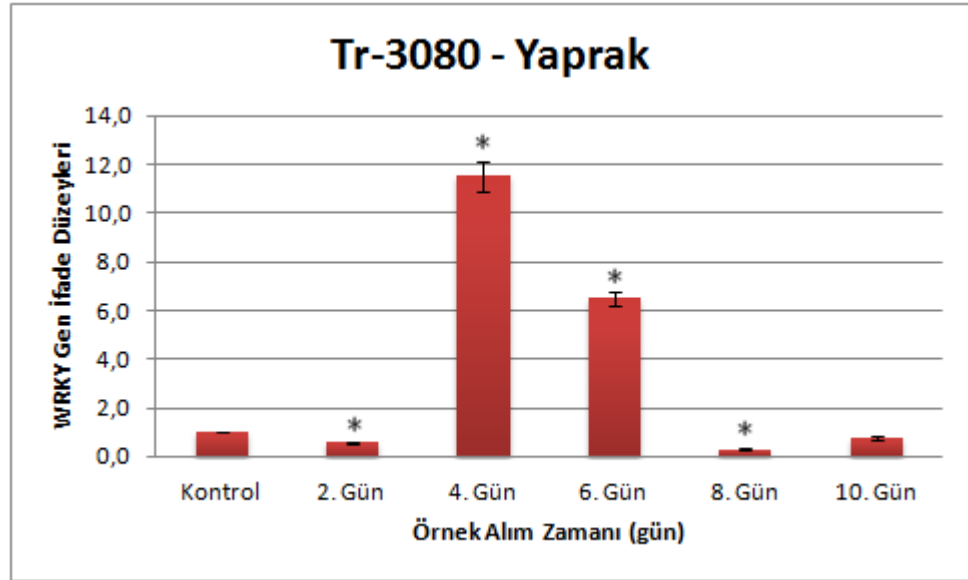
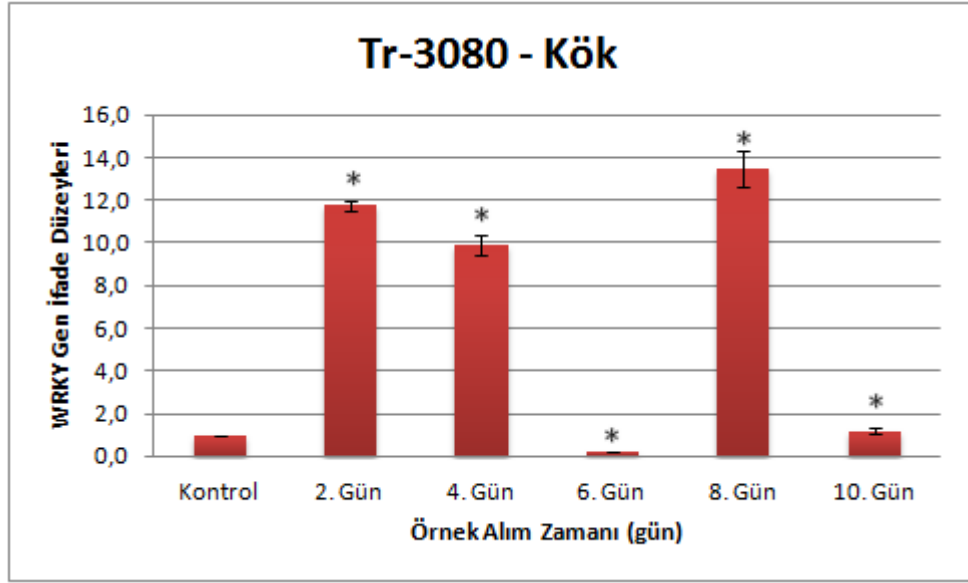
No	Örnek ismi	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata
1	S1K0	1	-	-
2	S1K2	0,931355	0,2301644	0,0575411
3	S1K4	1,544440	0,2217203	0,0554301
4	S1K6	2,116440	0,7277403	0,1819351
5	S1K8	1,942800	0,5693752	0,1423438
6	S1K10	10,397081	2,7973278	0,6993320
7	S1Y0	1	-	-
8	S1Y2	0,036936	0,0117369	0,0029342
9	S1Y4	0,069045	0,0189265	0,0047316
10	S1Y6	0,248297	0,0473576	0,0118394
11	S1Y8	2,001547	0,4228179	0,1057045
12	S1Y10	1,778268	0,5306683	0,1326671
13	S2K0	1	-	-
14	S2K2	0,923662	0,2634897	0,0658724
15	S2K4	1,063344	0,3511094	0,0877774
16	S2K6	1,135731	0,4310653	0,1077663
17	S2K8	3,197397	1,3901819	0,3475455
18	S2K10	0,599856	0,2629635	0,0657409
19	S2Y0	1	-	-
20	S2Y2	0,063292	0,0172255	0,0043064
21	S2Y4	0,006221	0,0018387	0,0004597
22	S2Y6	0,011887	0,0037760	0,0009440
23	S2Y8	0,126024	0,0303550	0,0075887
24	S2Y10	0,347872	0,0863878	0,0215969
25	S3K0	1	-	-
26	S3K2	11,770960	0,9236160	0,2309040
27	S3K4	9,902016	2,0476238	0,5119060
28	S3K6	0,231298	0,0696354	0,0174089
29	S3K8	13,445595	3,4308549	0,8577137
30	S3K10	1,181160	0,5495594	0,1373899
31	S3Y0	1	-	-
32	S3Y2	0,565772	0,1328778	0,0332195
33	S3Y4	11,515571	2,4792373	0,6198093
34	S3Y6	6,485345	1,0282142	0,2570535
35	S3Y8	0,308536	0,0688650	0,0172162
36	S3Y10	0,751494	0,2923519	0,0730880



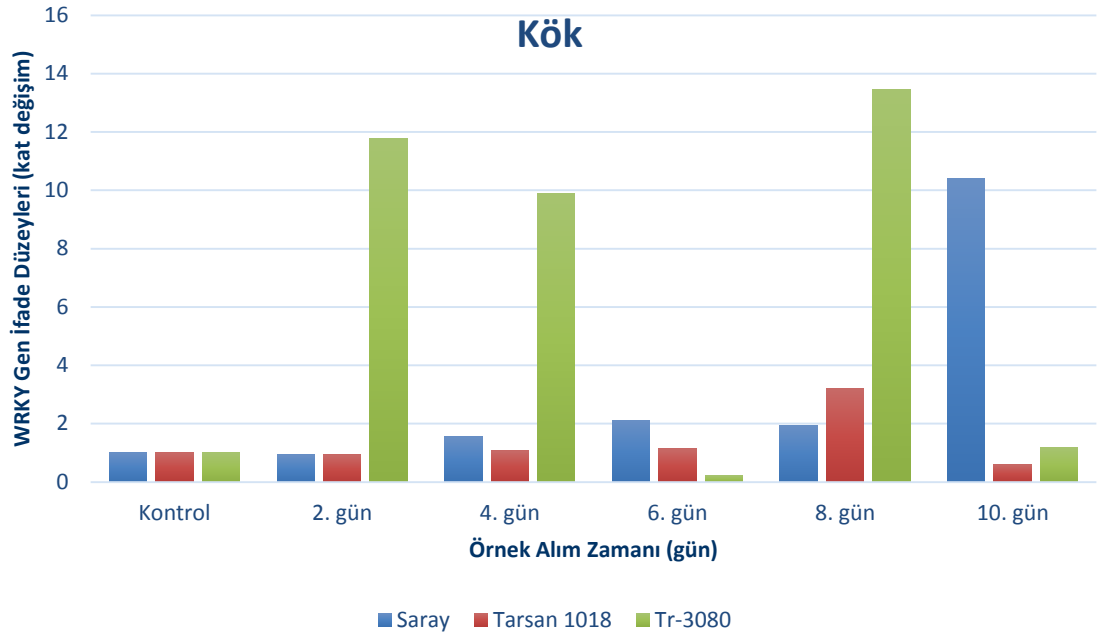
Şekil 4.31 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşitlerinin kök ve yapraklarında kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde WRKY gen ifade düzeyleri



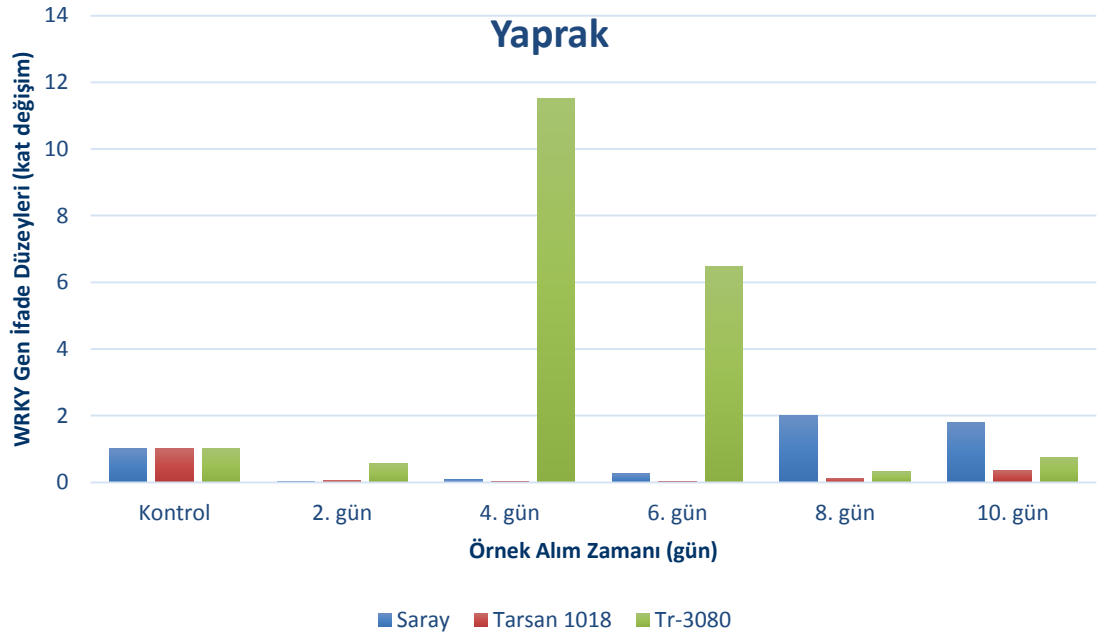
Şekil 4.32 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşitlerinin kök ve yapraklarında kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde WRKY gen ifade düzeyleri



Şekil 4.33 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşitlerinin kök ve yapraklarında kontrol, 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerinde WRKY gen ifade düzeyleri



Şekil 4.34 Soğuk stresine maruz kalmış ayçiçeği çeşitlerinin köklerindeki WRKY gen ifade düzeyleri



Şekil 4.35 Soğuk stresine maruz kalmış ayçiçeği çeşitlerinin yapraklardaki WRKY gen ifade düzeyleri

Soğuk stresine maruz bırakılan ayçiçeği fidelerinin zamana karşı değişkenlik gösteren WRKY gen ifade seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığı One Way ANOVA (Dunnet) analizi kullanılarak belirlenmiştir. ANOVA tablosu incelendiğinde, çalışmada kullanılan tüm çeşitlerde Sig. (Anlamlılık) sütunundaki değerin ,00 olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.109-4.110, 4.113-4.114, 4.117-4.118). Sig değerinin 0,05’den küçük olması, soğuk stresinde zamana bağlı olarak WRKY gen ifadesi seviyesinde belirlenen değişikliğin $p<0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı olduğunun göstergesidir.

Soğuk stresine maruz bırakılan ayçiçeği fidelerinin zamana karşı WRKY gen ifade seviyesinde meydana gelen değişikliklerin anlamlılık derecelerinin karşılaştırılmasında Post Hoc testinden yararlanılmıştır (Çizelge 4.111-4.112, 4.115-4.116, 4.119-4.120).

Çizelge 4.109 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin köklerinde WRKY genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı (Gen ifadesi)	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	1072,197	5	214,439	146,526	,000
Gruplar içi	131,715	90	1,463		
Toplam	1203,912	95			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05’ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.110 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin yapraklarında WRKY genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı (Gen ifadesi)	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	61,489	5	12,298	159,324	,000
Gruplar içi	6,947	90	,077		
Toplam	68,436	95			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05’ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.111 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin köklerinde WRKY genine ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	,0686449	,0575411	,965	-,127508	,264798
	3	-,5444402*	,0554301	,000	-,733397	-,355483
	4	-1,1164404*	,1819351	,000	-1,736643	-,496238
	5	-,9428002*	,1423438	,000	-1,428039	-,457561
	6	-9,3970813*	,6993320	,000	-11,781049	-7,013114
2 (2. gün)	1	-,0686449	,0575411	,965	-,264798	,127508
	3	-,6130851*	,0798966	,000	-,865546	-,360624
	4	-1,1850853*	,1908176	,000	-1,819456	-,550715
	5	-1,0114451*	,1535342	,000	-1,515999	-,506891
	6	-9,4657262*	,7016952	,000	-11,852911	-7,078542
3 (4. gün)	1	,5444402*	,0554301	,000	,355483	,733397
	2	,6130851*	,0798966	,000	,360624	,865546
	4	-,5720002	,1901917	,096	-1,205239	,061238
	5	-,3983600	,1527555	,200	-,901331	,104611
	6	-8,8526411*	,7015253	,000	-11,239591	-6,465691
4 (6. gün)	1	1,1164404*	,1819351	,000	,496238	1,736643
	2	1,1850853*	,1908176	,000	,550715	1,819456
	3	,5720002	,1901917	,096	-,061238	1,205239
	5	,1736402	,2310024	1,000	-,559439	,906719
	6	-8,2806410*	,7226102	,000	-10,699995	-5,861287
5 (8. gün)	1	,9428002*	,1423438	,000	,457561	1,428039
	2	1,0114451*	,1535342	,000	,506891	1,515999
	3	,3983600	,1527555	,200	-,104611	,901331
	4	-,1736402	,2310024	1,000	-,906719	,559439
	6	-8,4542812*	,7136715	,000	-10,859110	-6,049453
6 (10. gün)	1	9,3970813*	,6993320	,000	7,013114	11,781049
	2	9,4657262*	,7016952	,000	7,078542	11,852911
	3	8,8526411*	,7015253	,000	6,465691	11,239591
	4	8,2806410*	,7226102	,000	5,861287	10,699995
	5	8,4542812*	,7136715	,000	6,049453	10,859110

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

Çizelge 4.112 Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin yapraklarında WRKY genine ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	,9630635*	,0029342	,000	,953061	,973066
	3	,9309548*	,0047316	,000	,914825	,947085
	4	,7517029*	,0118394	,000	,711343	,792062
	5	-1,0015471*	,1057045	,000	-1,361885	-,641209
	6	-,7782680*	,1326671	,000	-1,230520	-,326016
2 (2. gün)	1	-,9630635*	,0029342	,000	-,973066	-,953061
	3	-,0321088*	,0055676	,000	-,049966	-,014251
	4	-,2113606*	,0121976	,000	-,252259	-,170462
	5	-1,9646106*	,1057452	,000	-2,325004	-1,604218
	6	-1,7413315*	,1326995	,000	-2,193627	-1,289036
3 (4. gün)	1	-,9309548*	,0047316	,000	-,947085	-,914825
	2	,0321088*	,0055676	,000	,014251	,049966
	4	-,1792519*	,0127499	,000	-,221177	-,137327
	5	-1,9325019*	,1058103	,000	-2,292983	-1,572021
	6	-1,7092228*	,1327514	,000	-2,161588	-1,256858
4 (6. gün)	1	-,7517029*	,0118394	,000	-,792062	-,711343
	2	,2113606*	,0121976	,000	,170462	,252259
	3	,1792519*	,0127499	,000	,137327	,221177
	5	-1,7532500*	,1063655	,000	-2,114499	-1,392001
	6	-1,5299709*	,1331943	,000	-1,982942	-1,077000
5 (8. gün)	1	1,0015471*	,1057045	,000	,641209	1,361885
	2	1,9646106*	,1057452	,000	1,604218	2,325004
	3	1,9325019*	,1058103	,000	1,572021	2,292983
	4	1,7532500*	,1063655	,000	1,392001	2,114499
	6	,2232791	,1696290	,942	-,314706	,761264
6 (10. gün)	1	,7782680*	,1326671	,000	,326016	1,230520
	2	1,7413315*	,1326995	,000	1,289036	2,193627
	3	1,7092228*	,1327514	,000	1,256858	2,161588
	4	1,5299709*	,1331943	,000	1,077000	1,982942
	5	-,2232791	,1696290	,942	-,761264	,314706

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

Çizelge 4.113 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin köklerinde WRKY genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı (Gen ifadesi)	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	70,441	5	14,088	35,512	,000
Gruplar içi	35,704	90	,397		
Toplam	106,145	95			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05'ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.114 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında WRKY genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı (Gen ifadesi)	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	11,807	5	2,361	1628,782	,000
Gruplar içi	,130	90	,001		
Toplam	11,937	95			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05'ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.115 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin köklerinde WRKY genine ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	,0763381	,0658724	,972	-,148216	,300892
	3	-,0633442	,0877774	1,000	-,362570	,235882
	4	-,1357313	,1077663	,949	-,503098	,231636
	5	-2,1973974*	,3475455	,000	-3,382153	-1,012642
	6	,4001438*	,0657409	,000	,176038	,624249
2 (2. gün)	1	-,0763381	,0658724	,972	-,300892	,148216
	3	-,1396823	,1097453	,954	-,488492	,209127
	4	-,2120695	,1263042	,757	-,617496	,193357
	5	-2,2737355*	,3537330	,000	-3,467404	-1,080067
	6	,3238057*	,0930647	,022	,029766	,617845
3 (4. gün)	1	,0633442	,0877774	1,000	-,235882	,362570
	2	,1396823	,1097453	,954	-,209127	,488492
	4	-,0723871	,1389908	1,000	-,512901	,368127
	5	-2,1340532*	,3584588	,000	-3,335296	-,932811
	6	,4634880*	,1096664	,003	,114902	,812074
4 (6. gün)	1	,1357313	,1077663	,949	-,231636	,503098
	2	,2120695	,1263042	,757	-,193357	,617496
	3	,0723871	,1389908	1,000	-,368127	,512901
	5	-2,0616661*	,3638701	,000	-3,272318	-,851014
	6	,5358751*	,1262357	,004	,130624	,941126
5 (8. gün)	1	2,1973974*	,3475455	,000	1,012642	3,382153
	2	2,2737355*	,3537330	,000	1,080067	3,467404
	3	2,1340532*	,3584588	,000	,932811	3,335296
	4	2,0616661*	,3638701	,000	,851014	3,272318
	6	2,5975412*	,3537085	,000	1,403910	3,791172
6 (10. gün)	1	-,4001438*	,0657409	,000	-,624249	-,176038
	2	-,3238057*	,0930647	,022	-,617845	-,029766
	3	-,4634880*	,1096664	,003	-,812074	-,114902
	4	-,5358751*	,1262357	,004	-,941126	-,130624
	5	-2,5975412*	,3537085	,000	-3,791172	-1,403910

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

Çizelge 4.116 Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında WRKY genine ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	,9367084*	,0043064	,000	,922028	,951388
	3	,9937794*	,0004597	,000	,992212	,995346
	4	,9881129*	,0009440	,000	,984895	,991331
	5	,8739765*	,0075887	,000	,848107	,899846
	6	,6521281*	,0215969	,000	,578506	,725750
2 (2. gün)	1	-,9367084*	,0043064	,000	-,951388	-,922028
	3	,0570711*	,0043309	,000	,042357	,071785
	4	,0514046*	,0044086	,000	,036574	,066235
	5	-,0627319*	,0087255	,000	-,090858	-,034606
	6	-,2845802*	,0220221	,000	-,358819	-,210341
3 (4. gün)	1	-,9937794*	,0004597	,000	-,995346	-,992212
	2	-,0570711*	,0043309	,000	-,071785	-,042357
	4	-,0056665*	,0010500	,000	-,009081	-,002252
	5	-,1198029*	,0076027	,000	-,145691	-,093915
	6	-,3416513*	,0216018	,000	-,415280	-,268022
4 (6. gün)	1	-,9881129*	,0009440	,000	-,991331	-,984895
	2	-,0514046*	,0044086	,000	-,066235	-,036574
	3	,0056665*	,0010500	,000	,002252	,009081
	5	-,1141365*	,0076472	,000	-,140087	-,088186
	6	-,3359848*	,0216176	,000	-,409635	-,262335
5 (8. gün)	1	-,8739765*	,0075887	,000	-,899846	-,848107
	2	,0627319*	,0087255	,000	,034606	,090858
	3	,1198029*	,0076027	,000	,093915	,145691
	4	,1141365*	,0076472	,000	,088186	,140087
	6	-,2218484*	,0228914	,000	-,297601	-,146096
6 (10. gün)	1	-,6521281*	,0215969	,000	-,725750	-,578506
	2	,2845802*	,0220221	,000	,210341	,358819
	3	,3416513*	,0216018	,000	,268022	,415280
	4	,3359848*	,0216176	,000	,262335	,409635
	5	,2218484*	,0228914	,000	,146096	,297601

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

Çizelge 4.117 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerinde WRKY genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı (Gen ifadesi)	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	2961,201	5	592,240	207,519	,000
Gruplar içi	256,852	90	2,854		
Toplam	3218,053	95			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05'ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.118 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında WRKY genine ait One Way ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) verileri

Varyansın Kaynağı (Gen ifadesi)	Kareler Toplamı	Serbestlik Dereceleri (df)	Kareler Ortalaması	Farklılık (F) ¹	Anlamlılık (Sig.) ²
Gruplar arası ³	1691,806	5	338,361	277,660	,000
Gruplar içi	109,676	90	1,219		
Toplam	1801,481	95			

¹ F, verilerdeki sistematik varyans miktarını sistematik olmayan varyansla karşılaştırmaktadır.

² sig. değerinin 0,05'ten küçük olması karşılaştırılan grupların ortalamaları arasında anlamlı bir fark olduğunu ifade etmektedir.

³ Gruplar arası ifadesi ile anlatılmak istenen, soğuk (kontrol, 2g, 4g, 6g, 8g, 10g) verilerinin kendi içinde değerlendirilmesidir.

Çizelge 4.119 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerinde WRKY genine ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standart Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	-10,7709600*	,2309040	,000	-11,558094	-9,983826
	3	-8,9020155*	,5119060	,000	-10,647063	-7,156968
	4	,7687019*	,0174089	,000	,709356	,828047
	5	-12,4455952*	,8577137	,000	-15,369474	-9,521717
	6	-,1811596	,1373899	,931	-,649511	,287192
2 (2. gün)	1	10,7709600*	,2309040	,000	9,983826	11,558094
	3	1,8689445*	,5615731	,044	,034514	3,703375
	4	11,5396619*	,2315593	,000	10,751638	12,327686
	5	-1,6746352	,8882508	,614	-4,645286	1,296015
	6	10,5898004*	,2686869	,000	9,726046	11,453555
3 (4. gün)	1	8,9020155*	,5119060	,000	7,156968	10,647063
	2	-1,8689445*	,5615731	,044	-3,703375	-,034514
	4	9,6707174*	,5122019	,000	7,925272	11,416163
	5	-3,5435797*	,9988596	,023	-6,754090	-,333070
	6	8,7208559*	,5300223	,000	6,948080	10,493632
4 (6. gün)	1	-,7687019*	,0174089	,000	-,828047	-,709356
	2	-11,5396619*	,2315593	,000	-12,327686	-10,751638
	3	-9,6707174*	,5122019	,000	-11,416163	-7,925272
	5	-13,2142971*	,8578904	,000	-16,138413	-10,290181
	6	-,9498615*	,1384884	,000	-1,419737	-,479986
5 (8. gün)	1	12,4455952*	,8577137	,000	9,521717	15,369474
	2	1,6746352	,8882508	,614	-1,296015	4,645286
	3	3,5435797*	,9988596	,023	,333070	6,754090
	4	13,2142971*	,8578904	,000	10,290181	16,138413
	6	12,2644356*	,8686477	,000	9,325104	15,203767
6 (10. gün)	1	-,1811596	,1373899	,931	-,287192	,649511
	2	-10,5898004*	,2686869	,000	-11,453555	-9,726046
	3	-8,7208559*	,5300223	,000	-10,493632	-6,948080
	4	-,9498615*	,1384884	,000	-,479986	1,419737
	5	-12,2644356*	,8686477	,000	-15,203767	-9,325104

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

Çizelge 4.120 Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında WRKY genine ait Post Hoc Testi verileri

(I) Zaman saat	(J) Zaman saat	(I-J) Ortalama Fark	Standar t Hata	Anlamlılık	% 95 Güven Aralığı	
					Üst Sınır	Alt Sınır
1 (kontrol)	2	,4342277*	,0332195	,000	,320985	,547470
	3	-10,5155708*	,6198093	,000	-12,628452	-8,402690
	4	-5,4853453*	,2570535	,000	-6,361621	-4,609070
	5	,6914636*	,0172162	,000	,632775	,750152
	6	,2485065	,0730880	,051	-,000645	,497658
2 (2. gün)	1	-,4342277*	,0332195	,000	-,547470	-,320985
	3	-10,9497985*	,6206989	,000	-13,063881	-8,835716
	4	-5,9195730*	,2591912	,000	-6,798817	-5,040329
	5	,2572359*	,0374157	,000	,135992	,378480
	6	-,1857212	,0802832	,332	-,447861	,076418
3 (4. gün)	1	10,5155708*	,6198093	,000	8,402690	12,628452
	2	10,9497985*	,6206989	,000	8,835716	13,063881
	4	5,0302254*	,6709993	,000	2,828152	7,232299
	5	11,2070343*	,6200484	,000	9,093832	13,320237
	6	10,7640772*	,6241037	,000	8,645264	12,882890
4 (6. gün)	1	5,4853453*	,2570535	,000	4,609070	6,361621
	2	5,9195730*	,2591912	,000	5,040329	6,798817
	3	-5,0302254*	,6709993	,000	-7,232299	-2,828152
	5	6,1768089*	,2576294	,000	5,299753	7,053864
	6	5,7338518*	,2672422	,000	4,841770	6,625933
5 (8. gün)	1	-,6914636*	,0172162	,000	-,750152	-,632775
	2	-,2572359*	,0374157	,000	-,378480	-,135992
	3	-11,2070343*	,6200484	,000	-13,320237	-9,093832
	4	-6,1768089*	,2576294	,000	-7,053864	-5,299753
	6	-,4429571*	,0750883	,000	-,695089	-,190825
6 (10. gün)	1	-,2485065	,0730880	,051	-,497658	,000645
	2	,1857212	,0802832	,332	-,076418	,447861
	3	-10,7640772*	,6241037	,000	-12,882890	-8,645264
	4	-5,7338518*	,2672422	,000	-6,625933	-4,841770
	5	,4429571*	,0750883	,000	,190825	,695089

* Ortalama fark 0,05 düzeyinde anlamlıdır.

5. TARTIŞMA

Büyüme mevsiminde maksimum ürün almak için erken ekim yapabilmek ve kuraklık stresinden kaçınmak, ayçiçeğinde düşük sıcaklık toleransının önemini arttırmıştır. Ancak, ayçiçeğinin düşük sıcaklıktaki tepkisinin moleküler mekanizması hakkındaki bilgiler literatürde hala eksiktir. Bitkilerde abiyotik stres tepkisi, büyük gen ailelerinin katılımı ve hedef genlerin promotörleri üzerindeki TF'ler ve *cis elementleri* arasındaki çok yönlü etkileşimler nedeniyle son derece karmaşık bir süreçtir. Bu nedenle, strese duyarlı TF'leri, bitki stres tepkilerinde yer alan sinyal ağlarının karmaşıklığını gösteren çeşitli abiyotik stres tepkilerinde bağımsız olarak işlev yapmakla kalmaz aynı zamanda çeşitli abiyotik streslere tepki olarak birbirleri arasında etkileşimi de sağlar (Shao vd. 2015).

Bu araştırmada; farklı zaman periyotlarında (0., 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerde) soğuk stresine maruz bırakılan 3 farklı ayçiçeği (Saray, Tarsan 1018 ve Tr-3080) bitkisinde gelişim, savunma ve abiyotik stres tepkileri gibi birçok süreçle ilişkili olduğu düşünülen bZIP, MYB, NAC, NF-YB ve WRKY tipi transkripsiyon faktör ailesine ait genlerin kök ve yapraktaki ifade seviyelerindeki farklılıklar kantitatif Real Time PCR ile belirlenerek, ilgili genlerin soğuk stresi ile ilişkili olup olmadıkları ve bu bağlamda geliştirdikleri stres cevabı hakkında bilgi edinilmeye çalışılmıştır. Çalışmada aynı zamanda bitkilerde çevresel stresin neden olduğu oksidatif lipid hasarında yaygın olarak kullanılan bir belirteç olan malondialdehit içeriği MDA analizi ile belirlenirken, oksidatif değişikliklerin diğer önemli hedefi olan total protein miktarındaki değişim ise Bradford yöntemiyle saptanmıştır.

5.1 Soğuk Stresinin MDA Düzeyine Etkisi

ROT, üşütücü ve dondurucu sıcaklıklar gibi ekstrem sıcaklıkların bir sonucu olarak üretilmektedir (Wang vd. 2003). ROT'lar membrandaki lipidlerin doymamış çift bağlarına saldırırlar ve lipid peroksidasyonuna neden olurlar. MDA, lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden biri olup, oksidatif hasar ve soğuğa karşı duyarlılık göstermektedir (Halliwell ve Chirico 1996). Bu nedenle, MDA düzeyi abiyotik

streslerden kaynaklanan hasarın bir ölçüsü olarak kullanılmaktadır (Sathiyaraj vd. 2011).

Bitkilerde, aşırı ROT üretimi, çeşitli stres türleri altında olan bir metabolizmanın esas özelliğidir. Bitkiler ROT'ların zararlarına karşı hücre içinde enzimatik (SOD, APX, GPX, CAT vb.) ve enzimatik olmayan (askorbik asit, indirgenmiş glutatyon, α - tokoferol, karotenoidler, fenolikler, flavonoidler ve prolin gibi düşük moleküllü bileşikler) antioksidan savunma sisteminde görev alan moleküllerin sentezini arttırarak antioksidan savunma sağlarlar (Gill ve Tuteja 2010, Miller vd. 2010, Gill vd. 2011).

Yapılan birçok çalışmada abiyotik stresin lipid peroksidasyonuna yol açarak MDA birikimine neden olduğu bildirilmiştir (Liu ve Zhu 1997, Wu vd. 2008, Kong vd. 2011).

Ancak bunun aksini yani; MDA düzeyinde azalma olduğu bildiren çalışmalar da vardır (Sergio vd. 2012, Khoshgoftarmanesh vd. 2014). Bu çalışmaların yanısıra stresin şiddeti ve süresine bağlı olarak MDA düzeyinin değişkenlik gösterdiği ve MDA düzeyinde değişimin olmadığı stres uygulaması çalışmaları da literatürde bulunmaktadır (Ming ve Wang 2002, Voronin vd. 2014).

Bulgularımıza göre uygulanan soğuk stresi, Saray ayçiçeği çeşidinin köklerinde 2. ve 4. günlerde kontrole göre MDA düzeyini düşürmüştür (Şekil 4.4). Bu durum stresin 2. ve 4. günlerinde Saray ayçiçeği çeşidinin köklerinde uygulanan soğuk stresine yanıt olarak ROT'ların seviyesinin arttığını ve buna karşı bitkinin antioksidan savunma sistemini devreye sokmuş olabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte 2. günden itibaren 8. güne kadar MDA düzeyinde doğrusal bir artış gözlenmiş olup, 6. ve 8. günlerde MDA seviyesi kontrole göre yaklaşık olarak 2 kat artmıştır. Meydana gelen doğrusal artışın antioksidan savunma sisteminin yetersiz kalmasından dolayı olduğu düşünülmektedir. 10. günde ise 8. güne göre MDA düzeyinde bir miktar azalma meydana gelmiştir. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde MDA düzeyinde görülen bu değişimler $p < 0.05$ seviyesinde anlamlı bulunmuştur (Çizelge 4.1).

Soğuk stresi ile Saray ayçiçeği çeşidinin yapraklarında meydana gelen değişim incelendiğinde, genel olarak soğuk stresi uygulanan tüm günlerde MDA düzeyinin kontrol seviyesinin üstünde olduğu görülmektedir (Şekil 4.4). MDA düzeyinin yüksek olmasının nedeninin soğuk uygulama süresinin artması ile antioksidan savunma sisteminin yetersiz kalmasından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Stres uygulamasında örnek alınan günler ayrı ayrı değerlendirildiğinde 2. ve 4. günlerde kademeli olarak MDA düzeyi kontrole göre artmış olup, bu artış 4. günde kontrole göre 3,5 kat olarak belirlenmiştir. 6. güne gelindiğinde ise Saray ayçiçeği çeşidinin yapraklarında 4. güne kıyasla bir miktar azalma olduğu görülmektedir (Şekil 4.4). 8. günde ise antioksidan miktarı artmış olabileceği için 6. güne göre MDA düzeyinde gözle görülür bir düşüş kaydedilmiştir. MDA seviyesinin tekrar yükseldiği 10. günde savunma sisteminin yetersiz kaldığı varsayılmaktadır. Saray ayçiçeği çeşidinin yapraklarında MDA düzeyinde gözlenen bu artış ve azalışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Çizelge 4.2).

Saray ayçiçeği çeşidinin kök ve yapraklarına ait MDA düzeyi sonuçları karşılaştırıldığında, stres uygulamasının 2. gününde soğukun kökler tarafından hızlı bir şekilde algılanarak, oluşan ROT'lara karşı bir yanıt olarak MDA düzeyini düşürdüğü görülmektedir (Şekil 4.4). Ancak soğuk stresi uygulamasının ilerleyen günlerinde MDA düzeyi tekrar artış göstermiştir. Yapraklarda ise MDA düzeyinin stres uygulaması süresince kontrol düzeyinin üzerinde olduğu belirlenmiştir. Kök ve yaprak dokularında soğuk stresine tepki olarak MDA düzeyinde meydana gelen bu farklılığın nedeninin, stres süresi boyunca Hoagland sıvı besiyeri içerisinde kalan köklerin soğuk hava ile temas halinde olan yapraklara nazaran daha hızlı algılamasından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin köklerinde stres uygulamasının 2. gününde alınan örneklerde MDA düzeyi kontrole kıyasla % 18 oranında azalmıştır (Şekil 4.5). Bu aşamanın bitkinin stres ile karşılaşması ve antioksidan savunma sisteminin devreye girmesi arasındaki süreç olduğunu düşünmekteyiz. Stres uygulamasının 4. gününde ise Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin köklerinde kontrole kıyasla yaklaşık 4 kat, 2. güne kıyasla 4,8 kat artış meydana gelmiştir. 4. günde MDA seviyesinin stres uygulanan

zamanlardaki en yüksek değere ulaştığı görülmektedir (0,208385477). Bu zaman diliminde hücrenin antioksidan savunma sisteminin ROT'ları hücreden uzaklaştırmada yetersiz kaldığı, bitkinin stres ile başa çıkamadığı varsayılmaktadır. 6. günde MDA seviyesi 4. güne kıyasla neredeyse 5 kat azalarak kontrol seviyesine yaklaşmıştır. Bu aşamada Tarsan 1018 çeşidinin köklerinde strese karşı antioksidan savunma sistemini hızlı bir şekilde aktif hale getirerek, plazma zarında oksidatif stresin zararını en aza indirdiği düşünülmektedir. 8. günde MDA düzeyi kontrole göre yaklaşık 2 kat artış gösterirken, 10. gün alınan örneklerde tekrar bir miktar azalma gözlenmiştir. Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında ise köklerde görülen etkinin tam tersi yani; 2. ve 6. günlerde kontrole göre MDA düzeyinde artış, 4., 8. ve 10. günlerde ise kontrole göre MDA düzeyinde düşüş gözlenmiştir (Şekil 4.5). Bu durum kök ve yapraklarda MDA düzeyinde meydana gelen değişime bağlı olarak antioksidan savunma sisteminin stres uygulamasının farklı zamanlarında devreye girdiğini düşündürmektedir.

Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerinde örneklem alımının gerçekleştirildiği tüm günlerde MDA düzeyinde bazı iniş çıkışlar görülsede, MDA düzeyinin tüm uygulama sürelerinde kontrolün üzerinde bir profil çizdiği görülmüştür. MDA düzeyinde en fazla artış (kontrole göre neredeyse 3 kat) 2. günde tespit edilmiştir. 2. günde meydana gelen bu artış istatistiksel olarak $p < 0.05$ düzeyinde anlamlıdır (Çizelge 4.11). 4. günde 2. güne kıyasla bir miktar azalma görüldükten sonra ilerleyen günlerde 8. güne kadar kademeli bir artış gözlenmiştir (Şekil 4.6). Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemlerinin tekrar devreye girmesi ile 10. günde MDA düzeyi bir miktar azalmıştır. MDA düzeylerindeki değişimler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, kontrole göre meydana gelen artışlar 2. günde dışında anlamlı bulunmamıştır ($p > 0.05$). Aynı çeşidin yapraklarında ise 8. gün dışındaki diğer günlerde alınan örneklerde kontrole göre MDA düzeyinde artış gözlenmiştir. 8. günde MDA düzeyinde kontrole ve 6. güne kıyasla sırasıyla % 14 ve % 71 oranında düşüş meydana gelmiştir (Şekil 4.6). Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında MDA düzeylerinde meydana gelen değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0.05$) (Çizelge 4.12). Stres uygulamasının tüm günlerinde MDA seviyesinde gözlenen artışın stres karşısında savunma sistemlerinin yetersiz kaldığını ve lipid peroksidasyonun gerçekleştiğini göstermektedir.

Gerçekleştirilen tez çalışmasında MDA analizinden elde edilen veriler incelendiğinde, üç ayçiçeği çeşidinde de belirlenen sürelerde uygulanan soğuk stresi altında MDA düzeylerinde artma ve azalmalar görülse de çoğunlukla kontrole göre artış gözlenmiştir (Şekil 4.4-4.6). Çalışmada kullanılan üç ayçiçeği çeşidinin kök MDA düzeylerinde meydana gelen değişimler istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$) bulunurken, yapraklarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0.05$) (Çizelge 4.1-4.2, Çizelge 4.5-4.6, Çizelge 4.9-4.10). Bu veriler, çalışmada kullanılan ayçiçeği çeşitlerinde soğuk stresinin lipid peroksidasyonu üzerinde etkili olduğunu göstermiştir. Membran yapısının kararlılığının belirlenmesinde önemli bir parametre olan MDA düzeyinden elde edilen veriler değerlendirildiğinde, çalışılan çeşitler arasında Tr-3080'deki membran hasarının, soğuk stresi altındaki diğer ayçiçeği çeşitlerinden daha ciddi düzeyde olduğunu düşündürmektedir. Bu nedenle Tr-3080 en hassas çeşit olarak belirlenirken, MDA düzeyinde en fazla azalmanın gözlemlendiği çeşit olan Tarsan 1018 ise en dirençli çeşit olarak belirlenmiştir.

Liu vd. (2013)'nin yaptıkları çalışmada, geliştirdikleri *Avena nuda* (kılçıksız yulaf) fidelerini 3 gruba ayırmış, ilk grup kontrol grubu olarak 20 °C'de yetiştirilirken diğer gruplar 7 gün boyunca 1 °C ve -10 °C soğuk sıcaklıklarına maruz bırakılmıştır. Farklı zaman periyotlarında (0., 1., 3., 5. ve 7. günlerde) örneklem alımı gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen veriler incelendiğinde soğuk stresi uygulanan gruplarda kontrol seviyesine kıyasla MDA düzeyinin önemli derecede yüksek bulunduğu bildirilmiştir. Södergren (2000), MDA düzeyinin düşük sıcaklık koşullarında daha yüksek olduğunu bildirmiştir. Başka bir çalışmada ise, 4 °C sıcaklığa tabi tutulan Forsythia Vahl türlerinde, MDA içeriğinin kontrole kıyasla yaklaşık olarak % 66,7 oranında artmış olduğunu belirlemişlerdir. (Yan vd. 2010). Benzer şekilde, sırasıyla 4 °C ve 0 °C'ye maruz bırakılan çilek (*Fragaria ananassa*) ve buğday (*Triticum aestivum*) fidelerinin yapraklarında MDA seviyelerinin daha yüksek olduğunu ortaya koymuşlardır. (Hou vd. 2010, Luo vd. 2011). Meyan kökü ile yapılan başka bir çalışmada ise MDA düzeyinde artma ve azalmanın birlikte gözlemlendiği tespit edilmiştir (Ming ve Wang 2002). Bu tez çalışmasından elde edilen verilere ait MDA düzeylerindeki değişimleri gösteren grafikler (Şekil 4.4-4.6) incelendiğinde genel olarak literatürde yer alan bu çalışmaların (Södergren 2000, Ming ve Wang 2002, Hou

vd. 2010, Yan vd. 2010, Luo vd. 2011, Liu vd. 2013) sonuçlarıyla benzerlik gösterdiği görülmektedir.

5.2 Soğuk Stresinin Total Protein Düzeyine Etkisi

Düşük sıcaklık, bitkilerin dağılımını, hayatta kalmalarını ve verimini sınırlayan önemli bir çevresel faktördür. Ölümcül olmayan düşük bir sıcaklığa maruz kalmak genellikle bitkilerde ortama alışma yanıtına neden olabilecek çeşitli biyokimyasal, fizyolojik ve moleküler değişiklikler meydana getirmektedir (Levitt 1980). Düşük ve yüksek molekül ağırlıklı proteinlerin sentezlenmesi ve birikimi, protein içeriği ve enzim aktivitelerinde değişikliklere neden olabilmektedir (Roberts 1982, Cloutier 1984, Guy ve Carter 1984, Calderon ve Pontis 1985, Li 1985, Hansen vd. 1997, Steponkus vd. 1998, Nanjo vd. 1999).

Bitkinin soğuk stresine tepkisi, soğuk sinyalinin iletimine bağlıdır (Chinnusamy vd. 2007, Miura ve Furumoto 2013, Seo vd. 2013). Soğuk toleransı ve uyumu ya TF'lerin transkripsiyonu ya da efektör proteinler aracılığıyla soğuğa tepki veren genlerin kaskadı tarafından düzenlenir (Guy 1990, Jaglo vd. 2001, Lee vd. 2005, Chinnusamy vd. 2007).

Bitkiler strese maruz kaldığında, çeşitli genlerin ifadesini değiştirerek stresin etkilerine karşı kendilerini korurlar. Bunu ya önemli metabolik proteinler üreterek ya da strese duyarlı genlerin ürünlerinin, sinyal iletim yollarındaki genlerin düzenlenmesinde rol oynamalarını sağlayarak gerçekleştirirler (Fowler ve Thomashow 2002, Kreps vd. 2002).

Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar incelendiğinde soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin köklerindeki total protein düzeyinde 2. günde kontrole göre % 5 oranında artış meydana geldiği görülmektedir (Şekil 4.7). 2. günde kontrole kıyasla meydana gelen bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Çizelge 4.15). 4. gün alınan örneklerde ise kontrole göre % 25, 2. güne göre % 29 oranında azalma görülmüştür. Total protein miktarı düzeyinin en yüksek seviyeye ulaştığı 6. günde ise

total protein miktarında kontrole göre 1,7 kat artış tespit edilmiştir. 6. günden sonra, stres uygulamasının 8. ve 10. günlerinde total protein miktarında kademeli bir azalma meydana gelmiştir. 6. günden 10. güne kadar devam eden bu azalma istatistiksel olarak $p<0.05$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur (Çizelge 4.15). Saray ayçiçeği çeşidinin köklerinde stres uygulanan zamanlarda meydana gelen total protein miktarı değişim profili incelendiğinde, genel olarak total protein miktarı düzeyinde kontrole kıyasla artış olduğu görülmektedir (Şekil 4.7). Stres uygulama süresince protein seviyesinde meydana gelen bu artış, proteinlerin yeni oluşumları kadar önceden var olan proteinlerin sentezinin artmasından kaynaklı olabilir.

Saray ayçiçeği çeşidinin yapraklarında, stres uygulamasının 2. gününde total protein düzeyinde kontrole göre 1,6 katlık bir azalma meydana geldiği tespit edilmiştir (Şekil 4.7). 4. günde ise total protein miktarında 2. güne kıyasla keskin bir artış (% 42 oranında) meydana gelmiştir. Stres uygulamasının sonraki günlerinde total protein miktarında kademeli bir azalma görülmüş olup, 8. ve 10. günlerde total protein miktarı kontrol seviyesinin altına inmiştir (Şekil 4.7). Çizelge 4.16 incelendiğinde 2. ve 10. günler dışındaki stres uygulanan günlerde total protein miktarında meydana gelen değişimin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmadığı ancak, stres uygulama günleri birbirleri ile değerlendirildiğinde genel olarak anlamlı olduğu görülmektedir (Çizelge 4.13 ve Çizelge 4.16). Saray ayçiçeği çeşidinin yapraklarında stres uygulaması süresince total protein miktarı düzeyi genellikle kontrol seviyesine yakın bir profil çizmiştir. Aynı çeşidin köklerinde ise total protein miktarında stres uygulanan sürelerde çoğunlukla artış gözlenmiştir. Bu durum köklerin stres süresi boyunca Hoagland sıvı besiyeri içerisinde yer almasından dolayı soğuğu daha fazla algılamasına sebep olmuş olabileceğinden, hava ile temas halinde olan yapraklara kıyasla soğuk stresine daha hızlı cevap vermiş olabileceğini düşündürmektedir.

Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin köklerinde, soğuk stresi uygulamasının 2. gününde kontrole kıyasla total protein miktarında % 3'lük artış görülürken, 4. günde 1,5 kat düşüş meydana gelmiştir (Şekil 4.8). 2. ve 4. günde meydana gelen bu değişimler $p<0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Şekil 4.8 incelendiğinde 4. günde meydana gelen düşüşün ardından 6. ve 8. günlerde kademeli bir artış olduğu

görülmektedir. 10. güne gelindiğinde ise 8. güne göre bir miktar azalma meydana gelmiştir (Şekil 4.8). Stres uygulamasının tüm zamanlarında meydana gelen bu artış ve azalışlar istatistiksel olarak $p<0.05$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur (Çizelge 4.19).

Tarsan 1018 çeşidinin yapraklarında ise 4. ve 10. günlerde kontrole kıyasla azalma görülürken, diğer günlerde kontrole göre artış tespit edilmiştir (Şekil 4.8). Soğuk stresi uygulamasının tüm zamanlarında meydana gelen bu artış ve azalışlar köklerdeki total protein miktarı sonuçlarıyla paralellik göstermektedir. Soğuk stresi uygulanmış Tarsan 1018 çeşidinin yapraklarında, kontrole karşılaştırıldığında, zamana bağlı total protein miktarı seviyelerindeki değişimin istatistiksel olarak $p<0.05$ düzeyinde anlamlı olduğu görülmektedir (Çizelge 4.18 ve Çizelge 4.20).

Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerinde total protein miktarında 2. günde kontrole göre bir miktar azalma (% 15 oranında) görülürken, 4. ve 6. günlerde köklerde kontrole göre sırasıyla yaklaşık 1,5 kat ve 1,6 kat artış meydana geldiği görülmüştür (Şekil 4.9). Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerindeki total protein miktarında 8. günde 6. güne göre azalma, 10. günde ise hem kontrole hem de 8. güne göre artma görülmektedir. Stres uygulamasının tüm günlerinde meydana gelen artma ve azalmalar istatistiksel olarak $p<0.05$ düzeyinde anlamlıdır (Çizelge 4.21 ve Çizelge 4.23). Soğuk stresi süresince (2. gün dışında) Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerinde total protein miktarında artış meydana gelmiştir. Bu artışın stres yanıtında görev alan metabolik proteinlerin üretiminden ya da önceden var olan proteinlerin sentezinin artmasından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Aynı çeşidin yapraklarında ise sadece 6. günde kontrole göre total protein düzeyinde artış meydana gelirken, diğer günlerde kontrole göre azalma görülmüştür (Şekil 4.9). 6. günde meydana gelen azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Şekil 4.24). Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerinde stres uygulaması boyunca total protein miktarı düzeyi genel olarak kontrole kıyasla artış gösterirken, yapraklarda total protein miktarı düzeyinde azalma gözlenmiştir.

Azymi vd. (2012)'nin yaptığı çalışmada, 24 saat boyunca 15 °C ve 5 °C sıcaklıklara maruz bırakılan pamuk (*Gossypium hirsutum*) fidelerinin hepsinde protein ve prolin

konsantrasyonunun arttığı bildirilmiştir. Başka bir çalışmada ise soğuğa alıştırılmış kış buğdayı ve lahana türlerinde çözünebilir protein içeriği ve farklı protein kalıplarında artış gözlenmiştir (Atici vd. 2003). Soğuk stresinin, *Medicago sativa* (yonca)'daki çözünebilir protein içeriğinde artışı indüklediği bildirilmiştir (Mohapatra vd. 1987). Spesifik proteinlerin sentezi, soğuğa iklimlendirme sırasında donma toleransını arttırmada önemli bir mekanizmadır ve düşük sıcaklık, proteinlerin sentezlenmesine neden olabilmektedir (Antikainen vd. 1996, Hughes ve Dunn 1996). Elde ettiğimiz sonuçlar, literatürde yer alan çalışmalar doğrultusunda değerlendirildiğinde, soğuk stresi uygulaması sonucu, total protein miktarında gözlenen değişimler, konuyla ilgili daha önce yapılan çalışmaları (Mohapatra vd. 1987, Atici vd. 2003, Azymi vd. 2012) destekler niteliktedir. Soğuk stresi uygulamasının Saray, Tarsan 1018 ve Tr-3080 çeşitleri üzerinde bir etki oluşturduğu ve strese maruziyetin süresinin artmasıyla, total protein miktarında bazı iniş çıkışlar görülse de, genel olarak artma eğiliminde olduğu tespit edilmiştir. Tarsan 1018 çeşidinin hem kök hem de yaprak dokularında total protein miktarı düzeyinin çalışmada kullanılan diğer çeşitlere göre yüksek olması ve stres uygulama sürecinde total protein seviyesinin genel olarak kontrol seviyesinin üzerinde olması nedeniyle bu çeşidin diğerlerine kıyasla soğuk stresine karşı tolerans mekanizmalarını daha erken aktif hale getirdiği ve dolayısıyla daha toleranslı olabileceğini söyleyebiliriz.

5.3 Soğuk Stresine Maruz Bırakılan Ayçiçeği Çeşitlerinin Kök ve Yapraklarında bZIP Geni mRNA Düzeylerinde Meydana Gelen Değişim

Bitkiler kökleri ile toprağa bağlı olarak yaşarlar ve aktif olarak yer değiştiremezler. Bu nedenle, olumsuz çevre koşulları altında hayatta kalmanın tek yolu, değişen çevre koşullarına hızlı ve etkili bir şekilde uyum sağlamaktır. Yüksek bitkilerin esnek doğası, büyüme, gelişme ve metabolizma ile ilgili spesifik tepkiler aracılığıyla farklı stres koşullarına tepki vermelerini sağlar. Yapılan moleküler çalışmalar, bZIP TF'lerinin bitkilerin biyotik ve abiyotik strese tepkilerinin düzenlenmesinde yer aldığını göstermektedir. Bu nedenle, bu gibi bitki tepkilerinin anlaşılması, strese toleranslı ürün çeşitlerinin geliştirilmesi bakımından yararlı olabileceğinden tarım için büyük önem arz etmektedir (Jakoby vd. 2002, Yadav 2010, Wei vd. 2012, Hu vd. 2016).

oğuk stresi uygulanan Saray ayçiçeği çeşidinin köklerinden alınan örneklerde stresin 2. gününde normalize bZIP gen ifade seviyesi kontrole kıyasla 3 kat artmıştır. Normalize gen ifade düzeyi verileri değerlendirilirken ortalamanın 1'in altında olması gen ifade düzeyinin kontrole göre azaldığını, 1'in üzerinde olması ise gen ifadesinin kontrole göre arttığını belirtmektedir. Bitki, hücre membran reseptörleri aracılığıyla düşük sıcaklığı algıladıktan sonra, soğuk sinyal transdüksiyonu, ROT, kalsiyum akışı, Ca^{2+} bağlı protein kinaz kaskadlarının (arka arkaya gelen bir dizi sürecin) aktivasyonu, prolin, çözünür şeker ve antioksidanlar da (SOD, POD vb.) dahil olmak üzere, hücre metabolizmasında değişiklikleri başlatmaktadır (Zhang vd. 2017). Bu durum stres uygulamasının 2. güne göre daha erken zamanlarında, stresin hücresel düzeyde algılanıp antioksidan savunma sistemleri aracılığıyla ROT'ların seviyesinin hücrelerde düşürüldüğünü ve bu uzaklaştırma işlemi sırasında ROT'ların soğuk stresi sinyal kaskadında aşağı akım sinyal olaylarını tetikleyerek bZIP transkript düzeyinde artışa neden olduğunu düşündürmüştür. Stresin 4. ve 6. günlerinde alınan örneklerde MDA sonuçlarıyla paralel olarak bZIP transkript düzeyinde de artış meydana gelmiştir. 6. gün neredeyse 7 katlık artışla tepe değerine ulaşmıştır. bZIP geninin kökteki ifadesinin kontrole göre $p<0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdiği gözlenmiştir (Çizelge 4.33 ve Çizelge 4.35). 8. ve 10. günlerde ise bZIP transkript düzeyinde keskin bir düşüş meydana gelmiş olup, bu azalmalar istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur. Bununla birlikte, Saray fidelerinin köklerinde stres uygulamasının yapıldığı tüm günlerde bZIP geninin transkripsiyonel ifade düzeyi kontrol gruplarının üzerindedir. Soğuk stresi hücresel dehidratasyona ve tuz konsantrasyonunun yükselmesine yol açtığı için, soğuk stresi sinyal yolağı ile dehidratasyon ve tuz stresi ile ilişkili diğer sinyal yolları arasında dinamik bir etkileşim vardır (Xiong vd. 2002, Huang vd. 2012). Sinyal iletim yolları birçok enzim, protein ve gen faktörü tarafından kombine edilen oldukça kompleks diğer birçok yolla etkileşim halindedir. Bu sebeple başka bir protein ya da enzim aracılığıyla bZIP geninin ifadesi baskılanmış olabilir. Gen ifade profilleri incelendiğinde, bZIP gen ifadesinde meydana gelen değişiklikler soğuk stresine hücresel adaptasyonda savunma mekanizmalarının karmaşıklığını ortaya koymaktadır.

Aynı koşullar altında Saray çeşidinin yapraklarındaki bZIP geninin ifadesine bakıldığında ise 2. gün gen ifade seviyesinin kontrole kıyasla % 25 oranında düştüğü belirlenmiştir (Çizelge 4.32). 2. gün haricindeki diğer günlere ait örneklerde ise bZIP geninin ifadesinin kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı ve kademeli bir artış gösterdiği gözlenmiştir ($p<0.05$) (Çizelge 4.36). Soğuk stresi altında yetiştirilen ayçiçeği fidelerinin yapraklarında zamana bağlı bZIP gen ifade seviyesi kontrol ile karşılaştırıldığında 4. günde yaklaşık 1,5 katlık artış görülürken 6. günde 3 kat, 8. günde 6 kat, 10. günde ise neredeyse 9 katlık artış ile en yüksek seviye kaydedilmiştir. (Şekil 4.11). Bu artışların kontrole ve birbirlerine göre istatistiksel olarak $p<0.05$ seviyesinde anlamlı olduğu görülmüştür (Çizelge 4.15). Tüm bu sonuçlar değerlendirildiğinde stresin 2. gününden sonra Saray çeşidinin yapraklarında strese yanıt mekanizmalarının aktifleştirilmeye başlandığı düşünülmüştür. Kökler ve yapraklar farklı özel hücreler içerdiği için stres yanıt mekanizmalarının bu dokular arasında farklılık gösterdiği, farklı stres koşulları altında çok farklı transkriptom yanıtları oluşturdıkları Kreps vd. (2002)'nin yaptıkları çalışma ile ortaya koyulmuştur. Saray ayçiçeği çeşidinin kök ve yaprak bZIP geni ifade profilleri incelendiğinde farklı zamanlarda farklı yanıtlar vermelerinin sebebi kök ve yaprak dokularında farklı özel hücreler içerdiklerinden farklı stres yanıt mekanizmalarının aktifleştirilmesinden dolayı olması muhtemeldir (Kreps vd. 2002).

Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin köklerinde 2. ve 4. günlerde kontrol seviyesinin 3 kat üzerinde ve birbirine yakın ifade profilleri gözlenmiştir (Şekil 4.12). 6. günde bZIP'in transkript miktarında ani bir artış gözlenirken, neredeyse 16 katlık artışla tepe değerine ulaşmıştır. bZIP'in transkript düzeyinde 8. ve 10. günlerde ise kademeli olarak düşüş gözlenmiştir. Tek yönlü varyans analizi (One Way ANOVA Dunnet test, Post Hoc testi) ile zamana karşı gen ifade seviyesinde meydana gelen değişikliklerin anlamlılık dereceleri karşılaştırılmıştır (Çizelge 4.37 ve 4.39). Stres uygulama sürelerinin gen ifade seviyelerindeki değişimin kontrol grubuna ve birbirlerine göre değendirildiğinde anlamlı olduğu görülmektedir ($p<0.05$). MDA sonuçlarını içeren grafikler bZIP gen ifadesindeki değişiklikleri gösteren grafikler ile birlikte değerlendirildiğinde stresin 4. ve 6. günleri dışında diğer günlerde sonuçların paralellik gösterdiği görülmektedir. 4. ve 6. günlerde bitkinin stres koşullarına beklenen paralel yanıttan farklı yanıt

vermesinin sebebi soğuk stresi sinyal yolağı ile ilişkili diğer sinyal yolları arasındaki etkileşim (Xiong vd. 2002, Huang vd. 2012) nedeniyle soğuk stresinin farklı günlerinde farklı tepkiler verdiği düşünülebilir.

Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin yaprak dokularında, soğuk stresine maruz bırakıldığı ilk 4 gün boyunca bZIP'in transkript miktarında kontrol fidelerinin yaprak dokularına kıyasla azalma görülürken, 6., 8. ve 10. günlerde artış gözlenmiştir (sırasıyla % 54, % 94, % 95). Soğuk stresine yanıt olarak hem kök hem de yaprak dokularında bZIP ifadesinde meydana gelen değişiklikler kontrole kıyasla istatistiksel olarak $p < 0.05$ düzeyinde anlamlıdır (Çizelge 4.37-4.38). MDA stres oluşumunun belirlenmesinde bitkide meydana gelen tahribatın göstergelerinden biridir (Mittler 2003). Oksidatif stres meydana geldiğinde ROT'ların ortadan uzaklaştırılması için bütün organizmalar antioksidan savunma mekanizmaları aracılığıyla homeostazisi korumaya çalışmaktadırlar. Bitkilerde çeşitli dokularda H_2O_2 ve $O_2^{\bullet -}$ düzeyinde meydana gelen değişiklikler transkripsiyon faktörleri, yapısal proteinler ve savunma enzimlerine ait genlerin kodlanmasını indüklemekte veya inhibe etmektedir (Scandalios 2002). Bu bilgiler doğrultusunda MDA sonuçları ile Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidi yaprak örneklerine ait bZIP gen ifade sonuçları değerlendirildiğinde stres uygulanan günlerde MDA artışının yapraklarda bZIP gen ifadesini inhibe edici etki gösterdiği görülmektedir (Şekil 4.5 ve Şekil 4.12).

Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerinde en yüksek bZIP gen ifade düzeyi 2. günde tespit edilmiş olup kontrole kıyasla 11 kat artış belirlenmiştir (Çizelge 4.32). Bu durum stresin 2. gününde en yüksek düzeyde olan MDA içeriği ile uyumludur. Gen transkripsiyonunun düzenlenmesi, belirli gen ürünlerinin (RNA ve protein) konsantrasyonunu arttırmak veya azaltmak için hücreler tarafından kullanılan ana mekanizmalardan biridir (Lewin 2004). Gen transkripsiyonu, belirli mekanizmaların seçiminde, bir dış sinyale cevap olarak indüklenen gen ifadesinin zamanlamasını etkileyen birçok düzenleme basamağı ile kontrol edilir. Örneğin hücresel strese belirli gen grupları, düzenleyici sinyallere çok hızlı tepki verebilmektedir. Bu gibi süreçlerde yer alan genler erken yanıt geni (Immediately Early Gene) olarak bilinirler (Bahrami ve Drabløs 2016). bZIP geninin soğuk stresi uygulamasının 2. gününde strese hızlı bir

şekilde yanıt vermesi erken yanıt geni olmasından kaynaklı olabilir. Stresin 4. gününde bZIP gen ifade düzeyi keskin bir azalma göstererek neredeyse kontrol seviyesine göre yarı yarıya azalmıştır (Çizelge 4.32). MDA içeriğini gösteren grafik incelendiğinde aynı günde MDA düzeyinde de azalma olduğu görülmektedir (Şekil 4.13). Stresin 6. gününde alınan örneklerde bZIP gen ifade düzeyi stres uygulanan tüm zamanların en düşük seviyesindedir (0,102162). Tr-3080 ayçiçeği çeşidi fidelerinin köklerinde, soğuk stresi uygulamasının 6. gününde alınan örneklerde MDA düzeyi kontrole ve 4. güne kıyasla artmış olmasına rağmen aynı zaman diliminde bZIP gen ifade düzeyinin azalmış olması dikkat çekicidir. 8. ve 10. günlerde ise hem MDA hem de bZIP gen ifade düzeyi grafikleri birlikte incelendiğinde iki grafik arasında bir korelasyon olduğu açıkça görülmektedir. Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerinde soğuk stresi uygulamasının tüm zamanlarında bZIP gen ifade seviyesinde meydana gelen değişimlerin tamamı istatistiksel olarak $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur (Çizelge 4.43).

Soğuk stresi altında yetiştirilen Tr-3080 ayçiçeği çeşidi fidelerinin yapraklarında zamana bağlı bZIP gen ifade düzeyi kontrol ile karşılaştırıldığında, en düşük seviye 2. günde tespit edilmiştir (Şekil 4.13). 2. günde meydana gelen bu düşüşün istatistiksel olarak $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı olduğu görülmektedir (Çizelge 4.44). bZIP gen ifade düzeyi ve MDA içeriğini gösteren grafikler birlikte incelendiğinde iki grafik arasında bir korelasyon olduğu açıkça görülmektedir. Bu bulgular; 2. günde MDA düzeyindeki keskin artışın hücredeki stres artışını ve buna bağlı olarak membran tahribatını gösterdiğini ve bu aşamada muhtemelen tüm antioksidan savunma sistemlerinin devreye giremediğini düşündürmektedir. Bu çeşidin yaprak dokularında stresin 4. ve 6. günlerinde bZIP ifade düzeyinde kontrole göre artış gözlenmiştir (sırasıyla 1,3 ve 5,6 kat). Bu durum, MDA düzeyinde stresin 4. ve 6. günlerinde meydana gelen artış sebebiyle ortaya çıkan ROT'ların soğuk stresinde görev alan aşağı akım sinyal olaylarını tetikleyerek bZIP transkript düzeyinde artışa neden olduğunu düşündürmüştür. Stres uygulamasının 8. gününde bZIP transkript düzeyinde kontrole kıyasla % 72, 6. güne göre ise % 95 oranında keskin bir azalma meydana gelmiştir. MDA içeriğini gösteren grafik incelendiğinde stresin 8. gününde MDA düzeyinde de keskin bir düşüş olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.6). Bu aşamada antioksidan savunma sisteminin devreye girerek ROT'ların hücreden uzaklaştırılmasında görev almış

olabileceği varsayılmaktadır. 10. günde ise yapraklarda hem MDA düzeyinde hem de bZIP transkript düzeyinde artış gözlenmiştir. bZIP gen ifadesinde meydana gelen bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). Soğuğa dayanıklılık, bitkinin gelişim evresine, incelenen dokulara ve her genotipin genetik potansiyeline bağlı olarak çeşitli tolerans veya hasardan kaçınma mekanizmalarını kapsar (Callahan vd. 1991). Ayrıca, soğuk stresine karşı bitki tepkisi, genotip ve çevre etkileşimlerine güçlü bir şekilde bağlıdır (Tester ve Bacic 2005). Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin kök ve yaprak dokularında bZIP gen ifade düzeyinde 2. ve 6. günlerde görülen değişkenlik, incelenen dokularda (kök ve yaprak) farklı özel hücrelere sahip olmalarının yanı sıra soğuğa dayanıklılık mekanizmalarının çok seviyeli ve karmaşık doğasının bir sonucu olabilir.

Saray, Tarsan 1018 ve Tr-3080 ayçiçeği çeşitlerinin yaprak dokuları arasındaki gen ifade profilleri karşılaştırıldığında, en yüksek bZIP gen ifade profilini 10. günde Tarsan 1018 çeşidi göstermiştir. Saray ve Tarsan 1018 ayçiçeği çeşitlerinin kök dokularında bZIP gen ifade düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla artış gösterdiği, yaprak dokularında ise stres uygulamasının ilk günlerinde kontrol grubuna kıyasla azalma gösterdiği, ancak daha sonraki günlerde artış gösterdiği görülmüştür (Şekil 4.11-4.12). Soğuk stresi uygulamasının farklı zamanlarında alınan örneklerin kök ve yaprak dokularından elde edilen gen ifade profilleri incelendiğinde bZIP geninin ifade düzeylerinin en düşük ve en yüksek olduğu kat değişiklikleri ≥ 0.1 ve ≤ 19.13 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.32).

Hu vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada, manyok bitkisinde test edilmiş bZIP genlerinin MebZIP11 dışındaki genlerin tümünün soğuk stresine yanıt olarak gen ifade düzeyinin arttığını bildirmişlerdir. Gen ifade analizinden elde edilen verilere göre, MebZIP'lerin kültür bitkileri ve yabani alt türler arasındaki farklı dokularda benzer veya farklı gen ifade profilleri gösterdiğini ileri sürmüşlerdir. Yapılan başka bir çalışmada ise, 6 saat soğuk stresine maruz bırakılan *Brachypodium distachyon* 'unda 96 bZIP geninden 12'sinin gen ifade düzeyinin arttığı; 28 tanesinin soğuk muamelesi sonrası gen ifade düzeyinin azaldığı bildirilmiştir (Liu ve Chu 2015). Bir diğer çalışmada ise, *Brassica rapa* L. 'de soğuk muamalesinden sonra çalışılan 136 bZIP geninin 36 tanesinin gen ifade düzeyi artarken, 17 tanesinin gen ifade düzeyinin azaldığı

bildirilmiştir (Hwang vd. 2014). Bizim çalışmamızdan elde edilen veriler yapılan bu çalışmaların sonuçları ile paralellik göstermekte olup farklı zaman periyotlarında, çalışmada kullanılan 3 ayçiçeği çeşidinin kök ve yaprak dokularında kontrole kıyasla artan ve azalan bZIP gen ifade profilleri görülmüştür. Çalışmadan elde edilen veriler, bZIP geninin ayçiçeğinde soğuk stresi tepkisinde rol alabileceğini göstermektedir.

5.4 Soğuk Stresine Maruz Bırakılan Ayçiçeği Çesitlerinin Kök ve Yapraklarında MYB Geni mRNA Düzeylerinde Meydana Gelen Değişim

Soğuk stresi altında yetiştirilen Saray çeşidi ayçiçeği fidelerinin köklerinde zamana bağlı MYB gen ifade düzeyi incelendiğinde, 2. günde MYB geninin ifadesinin soğuk stresi ile kuvvetli bir şekilde indüklendiği ve kontrole kıyasla 3 kat artmış olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.16). Aynı gün alınan örneklerin MDA düzeyi incelendiğinde ise MDA düzeyinin kontrolün altında olduğu görülmektedir (Şekil 4.4). Bu durum stres uygulamasının 2. güne göre daha erken zamanlarında, stresin hücresel düzeyde algılanıp antioksidan savunma sistemleri aracılığıyla ROT'ların seviyesinin hücrelerde düşürüldüğünü ve bu uzaklaştırma işlemi sırasında ROT'ların soğuk stresi sinyal kaskadında aşağı akım sinyal olaylarını tetikleyerek MYB transkript düzeyinde artışa neden olduğunu düşündürmüştür. Stres uygulanan diğer günlerde köklerde MYB transkript düzeyi kademeli olarak artmıştır ve şekil 4.4'te yer alan Saray ayçiçeği çeşidinin MDA düzeyine ilişkin verilerle korelasyon göstermektedir. Saray ayçiçeği çeşidinin köklerinde MYB gen ifadesi düzeyinin kontrole ve diğer zaman dilimlerine göre $p < 0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.52 ve 4.54).

Saray ayçiçeği çeşidinin yapraklarında ise MYB gen ifadesi miktarında 2., 4. ve 6. günlerde kontrole kıyasla azalma (sırasıyla % 60, % 89 ve % 24), 8. ve 10. günlerde ise kontrole göre 3 kattan fazla bir artışın meydana geldiği görülmüştür (Şekil 4.16). Tek yönlü varyans analizi (One Way ANOVA Dunnet test, Post Hoc testi) ile zamana karşı gen ifade seviyesinde meydana gelen değişikliklerin anlamlılık dereceleri karşılaştırılmış (Çizelge 4.55), kontrole göre meydana gelen azalma ve artışların $p < 0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.53). Bitkiler

abiyotik stres şartları altında lipidler, proteinler ve nükleik asitler gibi biyomoleküllerin üretiminde hasara yol açabilen ROT'ların oluşumunu teşvik etmektedir. ROT'un en önemli zarar verici etkisi, membranlarda lipid peroksidasyonu oluşumuna neden olmasıdır. MDA hücreler ve hücre içi membranlar ile ROT'lar arasındaki etkileşimden sonuçlanan lipid peroksidasyonunun son ürünüdür (Uzun vd. 2010). Bitkilerde membran lipid peroksidasyonu, genellikle MDA miktarı ölçülerek tespit edilmektedir. MDA, çevresel stresin neden olduğu oksidatif lipid hasarının yaygın olarak kullanılan bir belirteçidir (Gill ve Tuteja 2010). Hücre membran sistemleri, bitkilerde soğuk hasarının birincil bölgeleridir (Hodgson ve Raison 1991). Düşük sıcaklıklara maruz kalan bitkilerde de, membranlarda meydana gelen hasar, MDA üretimi ile değerlendirilebilmektedir (Hodges vd. 1999). Reaktif oksijen türlerinin ortadan kaldırılması, özellikle stres koşullarında, oksijen açısından zengin bir ortamda hücrelerin hayatta kalması için gereklidir. Çalışmadan elde edilen MDA sonuçları göz önüne alındığında genel olarak stresin uygulandığı zaman dilimlerinde MDA düzeyinde artışa paralel olarak MYB gen ifadesinin yapraklarda kontrole kıyasla artmış olduğu görülmüştür. Membranda lipid peroksidasyonu artışına paralel olarak ROT'ların artmış olduğu göz önüne alınırsa soğuk sinyali iletim yolağında bir TF olan MYB geninin transkripsiyonunu uyarmış olabileceği düşünülmektedir.

Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin köklerinde zamana bağlı MYB gen ifade düzeyleri incelendiğinde soğuk stresi uygulamasının ilk 4 gününde alınan örneklerdeki MYB gen ifade düzeylerinin kontrol düzeyinin altında kaldığı (sırasıyla 0,489081 ve 0,618135) tespit edilmiş olup istatistiksel olarak da anlamlı ($p < 0.05$) bulunmuştur (Şekil 4.17, Çizelge 4.58). Aynı çeşidin kökteki MDA düzeyleri incelendiğinde stresin 2. gününde MDA düzeyinin kontrol düzeyinde kaldığı, 4. günde ise keskin bir şekilde artış gösterdiği görülmektedir (Şekil 4.5). 4. günde MDA düzeyinde meydana gelen bu artış, 4. gün alınan örneklerin MYB gen ifade düzeyinde 2. güne göre artışa neden olmuştur. Ancak 4. günde alınan örneklerde MYB gen ifade düzeyi hala kontrol grubunun altındadır. MYB gen ifade düzeyindeki artış 6. ve 8. günlerde de kademeli olarak artmaya devam etmiş olup, 8. gün tepe noktasına (kontrole göre % 20) ulaşmıştır. Her iki günde de görülen bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Çizelge 4.58). 10. gün alınan örneklerde MYB gen ifade düzeyinde kontrol ile karşılaştırıldığında %

91 oranında keskin bir düşüş gözlenmiştir (Çizelge 4.51). 10. günde görülen bu azalma kontrol ve diğer zamanlar ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Çizelge 4.58). Bitkiler strese, erken ya da geç olabilen ve zaman içerisinde geçici veya kalıcı hale gelebilen, geniş çaplı gen ifadesi değişiklikleri yoluyla cevap verirler. Gen ifadesindeki değişiklikler, soğuğa karşı bitkinin hassasiyetindeki farklılıklardan etkilenebilmektedir. Örneğin, pirinçte yapılan bir çalışmada soğuğa dayanıklı bir genotipte genel olarak genin transkripsiyonel ifadesinde artma eğilimi varken, duyarlı bir genotipte genel olarak transkripsiyonel ifadenin azalma eğiliminde olduğu bildirilmiştir (Caldana vd. 2011, Zhang vd. 2017). Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin köklerinde gen ifade düzeyinin stres uygulama süresince kademeli bir artış göstermesinin nedeni bu çeşidin soğuğa dirençli bir çeşit olmasından kaynaklı olabilir.

Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin fidelerinde zamana bağlı MYB gen ifade düzeylerindeki değişim kontrole göre incelendiğinde kök ve yaprak dokularında farklılıklar belirlenmiştir (Şekil 4.17). Bu farklılıkların, kök ve yaprak dokularının farklı özel hücreler içermesinden dolayı olabileceği düşünülmektedir (Kreps vd. 2002). Soğuk stresi altında yetiştirilen fidelerin yaprak dokularında stres uygulamasının 2. gününde kontrol ile karşılaştırıldığında 4 katlık bir artış gözlenmiştir (Şekil 4.17). 2. günde meydana gelen bu değişim MDA sonuçları ile birlikte değerlendirildiğinde (Şekil 4.5) MDA düzeyinde görülen artış sebebiyle hücrede ROT seviyesinin yükseldiği ve böylece soğuk stresi sinyal yolağında birbirleri ile etkileşim halinde olan reaksiyonları tetikleyerek MYB transkript düzeyinde artışa neden olduğu düşünülmektedir. 4. ve 6. günlerde MYB gen ifade düzeyinin MDA düzeyiyle korelasyon göstererek kontrole kıyasla azalma gösterdiği, diğer günlerde ise kontrole göre arttığı ve 10. günde kontrole kıyasla 12 katı geçen bir gen ifade profili sergileyerek maksimum değere ulaştığı tespit edilmiştir. 10.gün MDA düzeyinin kontrol seviyesinin altına düşmesine rağmen MYB gen ifade düzeyinin kontrole göre 12 kat artış göstermesi şaşırtıcıdır. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin yaprak örneklerinde MYB gen ifadesinde meydana gelen değişiklikler, kontrole ve diğer zamanlarda alınan örneklerle göre $p<0.05$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur (Çizelge 4.59). Bitkilerin soğuğa alışma süreci oldukça karmaşık olup bu süreçte meydana gelen çeşitli fizyolojik, metabolik ve gelişimsel değişiklikler genetik olarak sıkı bir şekilde kontrol edilmektedir

(Chinnusamy vd. 2006). Bitkilerde soğuk stresini algılayan spesifik bir molekül henüz bilinmemektedir (Kaplan vd. 2004). Bununla birlikte, hücre iskeletinin yeniden düzenlenmesine yol açan membran sertleşmesindeki bazı erken değişikliklerin, metabolik veya redoks durum değişikliklerine ek olarak, soğuk stresi için hücrel bir algılayıcı olabileceği önerilmiştir (Örvar vd. 2000, Abdrakhamanova vd. 2003). Membran akışkanlığındaki değişiklikler, Ca^{2+} kanallarının geçici olarak uyarılmasına ve düşük sıcaklıkların erken algılanmasında ikinci bir haberci molekül olarak görev alan Ca^{2+} 'nın sitozolik seviyesinin yükselmesine yol açar (Kudla vd. 2010). Bitkilerim düşük sıcaklıklara uyum sağlaması; kriyoprotektan (donma etkisinden koruyan) moleküllerin ve membran fosfolipidlerinin sentezlenmesi, protein stabilizasyonu, iyon homeostazının korunması ve esas olarak ROT'ların uzaklaştırılması aracılığıyla stres cevabı oluşturulması gibi çeşitli süreçler aracılığıyla sağlanmaktadır (Hare vd. 1998, Wang vd. 2006, Chen vd. Murata 2008). Bu bilgiler göz önüne alındığında bitkilerde soğuk stresi sinyalinin algılanmasında spesifik bir algılayıcı molekülün olmaması, soğuk stresine cevabın çok seviyeli ve karmaşık doğası gereği bazı sonuçların öngürülerimizin dışında olduğu görülmüştür.

Çalışmada kullanılan ayçiçeği çeşitleri arasında Tr-3080 çeşidinin köklerinde MYB gen ifadesi, ikinci gün en yüksek değere ulaşmış olup kontrole göre yaklaşık 15 katlık artış olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.18). İstatistiksel olarak incelendiğinde bu artışın $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı olduğu görülmektedir (Çizelge 4.62). Soğuk stresine maruz kalmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerinde MYB gen ifadesi düzeyinin 10. gün dışındaki örneklerde kontrol seviyesinin üzerinde olduğu ve örneklem alım zamanları ilerledikçe kademeli bir azalma gösterdiği belirlenmiştir. 10. gün alınan örneklerde ise MYB gen ifade düzeyi kontrol düzeyinin altına inmiştir (Şekil 4.18). MDA düzeyine ait sonuçlar ile birlikte değerlendirildiğinde; MDA düzeyinin kontrol seviyesinin üzerinde bir profil çizdiği 10. günde MYB gen ifade düzeyinin bu kadar düşük olması şaşırtıcıdır. Tek yönlü varyans analizi (One Way ANOVA Dunnet test, Post Hoc testi) ile zamana karşı gen ifade seviyesinde meydana gelen değişikliklerin anlamlılık seviyeleri karşılaştırılmıştır (Çizelge 4.62). Kontrole göre gen ifadesinde meydana gelen bu artma ve azalmaların $p < 0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.60). Genlerin ifadesinde meydana gelen değişiklikler, bitkinin soğuğa karşı

hassasiyetindeki farklılıklardan kaynaklanabilmektedir. Yapılan bir çalışmada, hassas bir pirinç çeşidinde transkripsiyonel ifadenin genel olarak azaldığı belirlenmiştir (Caldana vd. 2011, Zhang vd. 2017). Tr-3080 çeşidinin köklerinde, artan zamana bağlı olarak MYB gen ifade profilinde görülen kademeli azalma bu çeşidin soğuğa hassas bir çeşit olabileceğini düşündürmüştür.

Tr-3080 çeşidinin yapraklarında ise MYB gen ifade düzeylerindeki değişim kontrole göre incelendiğinde farklılıklar tespit edilmiştir. 2., 8. ve 10. günlerde alınan örneklerde MYB geni yok denecek kadar az miktarda ifade bulmuştur (Şekil 4.18). 4. gün alınan örneklerde MYB geni ifade düzeyi kontrole göre % 50 artış göstermiş olup 6. günde ise kontrole göre 7 kat artış göstererek en yüksek seviyeye ulaşmıştır (Çizelge 4.51). Soğuk stresi uygulamasının farklı zamanlarında alınan örneklerin kök ve yaprak dokularından elde edilen gen ifade profilleri incelendiğinde MYB geninin ifade düzeylerinin en düşük ve en yüksek olduğu kat değişiklikleri ≥ 0.01 ve ≤ 14.54 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.51). Tr-3080 çeşidinin yapraklarında MYB gen ifadesinde görülen bu değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Çizelge 4.61 ve Çizelge 4.63). MYB gen ifade düzeylerindeki değişim MDA sonuçları ile birlikte değerlendirildiğinde çok fazla ilişkilendirilememiştir (Şekil 4.6). Bitkinin soğuğu algılayıp stres cevabı oluşturmada çeşitli süreçler aracılığıyla sağlanmaktadır (Hare vd. 1998, Wang vd. 2006, Chen vd. Murata 2008). Sinyal iletim yolları birçok enzim, protein ve gen faktörü tarafından kombine edilen oldukça kompleks diğer birçok yolla etkileşim halindedir (Xiong vd. 2002, Huang vd. 2012). Bu nedenle Tr-3080 çeşidinin yaprak dokularında soğuk stresinin farklı günlerinde MYB geninin ifade seviyesinde farklı tepkiler verdiği varsayılmaktadır.

MYB genlerinden bazıları farklı dokularda çeşitli uygulamalar sonrasında eksprese edilirken bazıları ise sadece çok spesifik koşullarda eksprese edilmektedir. Örneğin, AtMYB19 transkriptlerinin yalnızca *Pseudomonas syringae* ile enfekte olduktan sonra eksprese edildikleri tespit edilmiştir. Benzer gözlemler bitki dokularına özgü ifade kalıpları bakımından da yapılmıştır. Örneğin; AtMYB7, AtMYB44 ve AtMYB73 incelenen tüm bitki dokularında ifade edilirken, AtMYB46 sadece silikalarda ve AtMYB21 ise çiçek tomurcuklarında tespit edilmiştir (Shin vd. 2002). MYB geni bu tez

çalışmasında kullanılan ayçiçeği çeşitlerinin hem kök hem de yaprak dokularında eksprese edilmiş olup, gen ifade düzeyleri çeşitler arasında farklılık göstermiştir. Saray ve Tr-3080 çeşitlerinde MYB gen ifade düzeyinin yaprak dokusuna kıyasla köklerde daha yüksek olduğu, Tarsan 1018 çeşidinde ise MYB gen ekspresyonunun yaprak dokusunda daha fazla olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.19-4.20).

Zhang vd. (2011) yaptıkları bir çalışmada, buğdayda soğuk stresi ile ilişkili bir gen olarak TaMYB56'yı tespit etmişlerdir. TaMYB56-B ve TaMYB56-D'nin sentezlenme seviyeleri, soğuk stresi muamalesiyle kuvvetli bir şekilde uyarılmış, ancak tuz stresi ile düşük seviyede uyarılmıştır. TaMYB56-B'yi aşırı ifade eden transgenik *Arabidopsis* bitkilerinin ayrıntılı karakterizasyonu, bitkilerin dondurucu ve tuz streslerine verdiği tepkilere TaMYB56-B'nin muhtemelen dahil olduğunu ortaya koymuştur. Bunun yanı sıra, başka bir çalışmada üç MYB proteininin pirinçte abiyotik stres tepkisinde rol oynadığı bildirilmiştir. Örneğin, OsMYB4'ün aşırı ifadesinin, transgenik *Arabidopsis*'de üşüme ve dondurma stresine karşı toleransı belirgin olarak arttırdığını saptamışlardır (Vannini vd. 2004, Pasquali vd. 2008). Ayrıca başka bir araştırmada, OsMYBS3'ün, pirinç bitkilerinde soğuk stresine karşı tolerans sağlanması için esas teşkil ettiğini ileri sürmüşlerdir (Su vd. 2010). Bu tez çalışmasından elde edilen veriler soğuk stresine maruziyetin çalışmada kullanılan ayçiçeği fidelerinin hem kök hem de yaprak dokularında MYB gen ifadesi düzeyinde genel olarak kontrole kıyasla bir artışa neden olduğunu göstermektedir. Elde edilen verilere göre, MYB geninin ayçiçeğinde soğuk stresi tepkisi ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

5.5 Soğuk Stresine Maruz Bırakılan Ayçiçeği Çeşitlerinin Kök ve Yapraklarında NAC Geni mRNA Düzeylerinde Meydana Gelen Değişim

Soğuk uygulaması Saray ayçiçeği çeşidinin köklerinde stres uygulamasının ilk 6 gününde NAC geni ifade düzeyinde kademeli bir artışa sebep olmuştur (Şekil 4.21). Saray çeşidine ait fideler 4 °C'ye maruz kaldıklarında, bu çeşidin köklerinde NAC geni ifade düzeyi 6. günde çarpıcı bir şekilde indüklenmiş ve daha sonra 10. güne kadar yavaş yavaş azalmıştır (Şekil 4.21). Saray ayçiçeği çeşidinin köklerinde en yüksek NAC geni ifade düzeyi 6. günde kaydedilmiştir. Kontrol ile kıyaslandığında, 6. günde soğuk

stresi altında yetiştirilen Saray ayçiçeği fidelerinin köklerinde meydana gelen artış % 88 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.70). Tek yönlü varyans analizi (One Way ANOVA Dunnet test, Post Hoc testi) ile zamana karşı gen ifade seviyesinde meydana gelen değişikliklerin anlamlılık dereceleri karşılaştırılmış (Çizelge 4.73), kontrole göre $p < 0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.71). NAC geni ifade düzeyi ile MDA düzeyleri birlikte değerlendirildiğinde genel olarak uyumlu olduğu görülmüştür. MDA hücreler ve hücre içi membranlar ile ROT'lar arasındaki etkileşimden sonuçlanan lipid peroksidasyonunun son ürünü olup çevresel stresin neden olduğu oksidatif lipid hasarında yaygın olarak kullanılan bir belirteçtir. (Uzun vd. 2010). Fang vd. (2015), strese duyarlı bir NAC transkripsiyon faktörü olan SNAC3'ün pirinçte ROT'ların modülasyonu yoluyla ısı ve kuraklık toleransı sağladığını bildirmişlerdir.

Saray ayçiçeği çeşidinin yapraklarında stres uygulamasının 2. gününde alınan NAC geni ifade düzeyinin % 36 oranında kontrol seviyesinin altında olduğu görülmektedir (Şekil 4.21) 4. gün alınan örneklerde NAC geni ifade düzeyinin kontrole göre 3 kat artış gösterdiği, muhtemelen artan MDA düzeyiyle ilişkili olarak ROT'ların NAC genlerinin ifade edilmesini uyardığı düşünülmektedir. 6. gün NAC geni ifade düzeyi kontrol seviyesine yakın bir düşüş gösterdikten sonra 8. ve 10. günlerde kademeli olarak artmış ve 10. gününde kontrole kıyasla 8 katlık bir artış ile tepe değerine ulaşmıştır. Soğuk stresi uygulanan Saray ayçiçeği çeşidinin yapraklarından alınan örneklerin zamana karşı farklılaşan gen ifade seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığı One Way ANOVA (Dunnet) metodu kullanılarak tespit edilmiştir. ANOVA tablosunun Sig. (Anlamlılık) sütunundaki değer $p < 0.05$ olduğu görülmektedir (Çizelge 4.72). Meydana gelen değişimler kontrole ve diğer zamanlarda alınan örneklerle göre $p < 0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Çizelge 4.74).

Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin köklerinde NAC geni ifade düzeyleri incelendiğinde 2. günden itibaren 8. güne kadar kademeli bir artıştan sonra 10. günde ani bir düşüş görülmektedir (Şekil 4.22). Ancak 2., 4. ve 10. günlerde gen ifade düzeyi kontrol düzeyinin altındadır. Tek yönlü varyans analizi (One Way ANOVA Dunnet test, Post Hoc testi) ile zamana karşı NAC geni ifade seviyesinde meydana gelen değişikliklerin

anlamlılık dereceleri karşılaştırılmış (Çizelge 4.77), kontrole göre $p < 0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Çizelge 4.75). Bitkilerde ROT'un aşırı birikmesinin hücre oksidatif hasarlarına ve hücresel işlevi yok etmesine neden olduğu daha önce yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. Bu yüzden bitkiler ROT'ların aşırı üretimi durumunda bunları uzaklaştırarak ROT'larını düşük seviyelerde tutma eğilimindedirler (Miller vd. 2010, Suzuki vd. 2012). Düşük konsantrasyonlarda, ROT'lar sinyal molekülleri olarak hareket ederken bu moleküller aşırı üretildiğinde toksik etkilere neden olmaktadır (Mir vd. 2015). Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin köklerinde NAC geni ifade düzeyini gösteren grafik MDA miktarında zamana bağlı olarak meydana gelen değişimler ile birlikte değerlendirildiğinde genel olarak paralellik göstermektedir. Bu durum NAC geninin soğuk stresine karşı toleransta rol oynadığını düşündürmektedir.

Soğuk stresi Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında stres uygulanan tüm günlerde NAC geni ifade düzeyinde artışa neden olmuştur (Şekil 4.22). Stres uygulanan zaman periyodunda NAC geni ifade düzeyinde iniş ve çıkışlar görülse de her zaman kontrol düzeyinin üzerinde bir profil sergilemiştir. Tek yönlü varyans analizi (One Way ANOVA Dunnet test, Post Hoc testi) ile zamana karşı gen ifade seviyesinde meydana gelen değişikliklerin anlamlılık dereceleri karşılaştırılmıştır (Çizelge 4.76). Kontrole göre 2. gün dışındaki diğer günlerde meydana gelen artış $p < 0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Çizelge 4.78). NAC geni ifade düzeyini gösteren grafik MDA miktarında zamana bağlı olarak meydana gelen değişimler ile birlikte değerlendirildiğinde MDA miktarında 2. günde keskin bir artış görülürken 10. Güne kadar MDA düzeyinde farklı seviyelerde azalmalar olduğu belirlenmiştir. NAC geninde ise 10. güne kadar nispeten kademeli bir artış olduğu görülmüştür. Oksidatif stres üzerine yapılan kapsamlı bir çalışma, bitkilerin olumsuz çevresel koşullara maruz kalmasının, bitki hücrelerinde süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), H_2O_2 ve hidroksil radikali ($HO^{\cdot}$) gibi ROT'ların aşırı üretimine neden olduğunu göstermiştir (Wise ve Naylor, 1987). Oksidatif stres meydana geldiğinde ROT'ların ortadan uzaklaştırılması için bütün organizmalar antioksidan savunma mekanizmaları aracılığıyla homeostazisi korumaya çalışmaktadırlar. Bitkilerde çeşitli dokularda H_2O_2 ve $O_2^{\cdot-}$ düzeyinde meydana gelen değişiklikler transkripsiyon faktörleri, yapısal proteinler ve savunma

enzimlerine ait genlerin kodlanmasını indüklemekte veya inhibe etmektedir (Scandalios 2002). Bu durum soğuk stresi uygulanan Tarsan 1018 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında zamana bağlı olarak MDA miktarında meydana gelen artış ile NAC geni ifadesinin baskılanmış olabileceğini düşündürmektedir.

Soğuk stresi Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerinde stres uygulamasının ilk 6 gününde NAC geni ifade düzeyinde kademeli bir artışa sebep olmuştur (Şekil 4.23). Tr-3080 çeşidine ait fideler 4 °C'ye maruz kaldıklarında, bu çeşidin köklerinde NAC geni ifadesi 6. günde çarpıcı bir şekilde artıp en yüksek değere ulaştıktan sonra 10. güne kadar yavaş yavaş azalmıştır (Şekil 4.23). Kontrol ile kıyaslandığında, 6. günde soğuk stresi altında yetiştirilen Saray ayçiçeği fidelerinin köklerinde meydana gelen artış % 82 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.70). Tek yönlü varyans analizi (One Way ANOVA Dunnet test, Post Hoc testi) ile zamana karşı gen ifadesi seviyesinde meydana gelen değişikliklerin anlamlılık dereceleri karşılaştırıldığında (Çizelge 4.81), kontrole göre 10. gün dışındaki diğer günlerde meydana gelen değişimlerin $p < 0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.79). Tr3080 çeşidinin köklerinde soğuk stresi ile birlikte meydana gelen MDA değişimleri incelendiğinde aynı çeşidin köklerindeki NAC geni ifade düzeyini gösteren grafik ile karşılaştırıldığında genel olarak paralellik görülmemiştir (Şekil 4.6 ve Şekil 4.23). Günümüze kadar yapılmış olan çalışmalar sayesinde sinyalleme ağlarının doğrusal olmadığı daha ziyade, farklı yollar arasında etkileşim halinde olan karmaşık ve dinamik bir ağın parçası olduğu giderek daha açık hale gelmektedir (Knight ve Knight 2001). Buna göre, tek bir sinyal algılayıcı molekül yerine, belirli stres koşullarını algılayan ve tüm alt sinyalleri kontrol eden birçok sinyal algılayıcı molekül vardır. Her bir sinyal algılayıcı molekül, stres koşulunun bir yönü tarafından aktive edilen sinyal yolunun bir kolunu kontrol eder. Örneğin, sıcaklık stresinin zarların fiziksel durumunu (akışkanlığı) değiştirdiği iyi bilinmektedir. Ancak bu durumun stres altında meydana gelen olaylara yol açan tek koşul olmadığı, bazı hücre içi proteinlerin konformasyon ya da aktivitesindeki değişikliklerin de soğuk stresine sinyal oluşturmada rol oynayabileceği düşünülmektedir (Murata ve Los 1997, Königshofer vd. 2008, Sewelam vd. 2016). Bu durum göz önüne alındığında Tr-3080 köklerinde total protein düzeyinde meydana gelen değişiklikler incelendiğinde NAC gen ifade profili ile uyumlu olduğu görülmektedir (Şekil 4.9 ve

Şekil 4.23).

Aynı çeşidin yapraklarında ise NAC gen ifadesi sadece 8. günde kontrol düzeyinin üzerine çıkabilmiş, diğer stres uygulanan günlerde kontrol seviyesinin altında kalmıştır. Soğuk stresi uygulanmış Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin yapraklarında zamana karşı gen ifadesi seviyesinde meydana gelen değişikliklerin anlamlılık dereceleri karşılaştırıldığında (Çizelge 4.82), kontrole göre 6. gün dışındaki diğer günlerde meydana gelen değişimlerin $p < 0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir (Çizelge 4.80). NAC gen ifadesi verileri MDA sonuçları ile birlikte değerlendirildiğinde, gen ifadesi profilinin MDA düzeyleri ile tam zıt bir profil çizdiği görülmüştür (Şekil 4.6 ve Şekil 4.23). MDA sonuçlarına göre stres uygulanan günlerde MDA düzeyi yalnızca 8. günde kontrol seviyesinin altına inerken diğer günlerde kontrol seviyesinin üzerinde bir profil çizmiştir. ROT'ların üretimi, farklı streslere karşı en yaygın bitki tepkilerinden biridir (Sewelam vd. 2016). Bu durumda MDA düzeyinin artmasına paralel olarak hücrede ROT miktarının artması ve bu moleküllerinde NAC geni ifade düzeyini arttırması beklenirken, tam tersi bir profil çizilmiş olması şaşırtıcıdır. Ancak stres koşulları altında hücrede ROT miktarında meydana gelen değişimin stresin meydana gelmesiyle ilgili tek koşul olmadığı, bazı hücre içi proteinlerin konformasyon ya da aktivitesindeki değişikliklerin de soğuk stresine sinyal oluşturmada rol oynayabileceği düşünülmektedir (Murata ve Los 1997, Königshofer vd. 2008, Sewelam vd. 2016). Bu bilgiler doğrultusunda total protein düzeyinde meydana gelen değişimler de değerlendirildiğinde, soğuk stresi uygulamasının ilk 6 gününde NAC geni ifade düzeyinde meydana gelen değişim ile bir paralelik gösterdiği ancak sonraki günler ile uyumlu olmadığı görülmektedir (Şekil 4.9 ve Şekil 4.23). Bu durum soğuk stresinin potansiyel tepki mekanizmasının *Helianthus annuus*'da oldukça karmaşık olduğunu ve NAC geninin aktivasyonunda ya da baskılanmasında farklı mekanizmaların rol oynadığını düşündürmektedir.

Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin kök ve yapraklarında NAC gen ifade seviyeleri soğuk stresi koşullarında birbirine zıt şekilde tepki vermiştir. Köklerde çoğunlukla kontrole göre NAC gen ifade seviyesinde artış gözlemlenirken, yapraklarda çoğunlukla gen ifadesinin kontrol seviyesinin altına indiği gözlenmiştir (Şekil 4.23). Bununla birlikte, Saray ve

Tr-3080 ayçiçeği çeşitlerinin köklerinde soğuk stresine karşı NAC geni ifade profilleri benzerlik göstermektedir (Şekil 4.24).

Üç çeşit arasında, en yüksek NAC geni ifade düzeyi Saray çeşidinin köklerinden altıncı gün alınan örneklerde ölçülmüştür, kontrol ile karşılaştırıldığında yaklaşık 9 kat artış gözlenmiştir (Şekil 4.24). Soğuk stresi uygulamasının farklı zamanlarında alınan örneklerin kök ve yaprak dokularından elde edilen gen ifade profilleri incelendiğinde NAC geninin ifade düzeylerinin en düşük ve en yüksek olduğu kat değişiklikleri ≥ 0.01 ve ≤ 8.76 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.70). Elde edilen sonuçlar, üç ayçiçeği çeşidine soğuk stresi uygulandığında NAC gen ifade düzeylerinin bazı zaman periyodlarında kontrole göre azaldığını, ancak çoğunlukla kontrol seviyesinin üzerinde olduğunu göstermektedir (Şekil 4.24-4.25). Gen ifade düzeylerinde meydana gelen değişiklikler $p < 0.05$ seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Çizelge 4.71-4.72, 4.75-4.76, 4.79-4.80).

Literatürde yer alan çalışmalardan elde edilen veriler, çeşitli bitki NAC transkripsiyon faktörlerinin gen ifade profillerinin dokuya spesifik olduğu yönündedir (Lin vd. 2007, Meng vd. 2007). Dokuya spesifik olarak eksprese edilen transkripsiyon faktörlerinin bitki büyümesinde ve gelişiminde kritik rol oynadığı kanıtlanmıştır (Mitsuda vd. 2007, Yoo vd. 2007). Bu tez çalışmasında kullanılan ayçiçeği çeşitlerinin hem kök hem de yaprak dokularında NAC geni ifade edilmiş olup, gen ifade düzeyleri çeşitler arasında farklılık göstermiştir. Shah vd. (2013)'nin yaptıkları çalışmada NAC genlerinin (GhNACs) soğuk stresi altında farklı ifade profilleri gösterdiği bildirilmiş olup, elde ettikleri veriler sonuçlarımızla paralellik göstermektedir.

Pirinçte OsNAC19 (Lin vd. 2007) ve soya fasulyesinde GmNAC1 (Tran vd. 2009) genlerinin farklı dokulardaki spesifik gen ifadelerinin incelendiği çalışmalarda, çalışmamızda kullanılan Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin kök ve yapraklarında görülen gen ifade profiline benzer sonuçlar elde edilmiştir. Aynı çalışmalarda NAC geninin ağırlıklı olarak köklerde ifade edildiğini, yapraklarda ise nispeten daha düşük seviyelerde olduğunu bildirmişlerdir (Lin vd. 2007, Tran vd. 2009). Bu tez çalışmasından elde

edilen veriler değerlendirildiğinde, NAC geninin soğuk ile indüklendiği ve soğuk stresine yanıtta rol alabileceği düşünülmektedir.

5.6 Soğuk Stresine Maruz Bırakılan Ayçiçeği Çesitlerinin Kök ve Yapraklarında NF-YB Geni mRNA Düzeylerinde Meydana Gelen Değişim

Soğuk stresi altında yetiştirilen Saray ayçiçeği fidelerinin köklerinde normalize NF-YB gen ifade seviyesi ortalamasının en yüksek olduğu değer 2. güne aittir (9,173054) (Çizelge 4.89). Normalize gen ifade düzeyi verileri değerlendirilirken ortalamanın 1'in altında olması gen ifade düzeyinin kontrole göre azaldığını, 1'in üzerinde olması ise gen ifadesinin kontrole göre arttığını belirtmektedir. Kontrol ile kıyaslandığında, 2. günde soğuk stresi altında yetiştirilen Saray ayçiçeği fidelerinin köklerinde meydana gelen artış % 89 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.89). 4. ve 6. günlerde gen ifade düzeyi 2. güne kıyasla azalırken, kontrol seviyesinin üzerinde bir profil çizmiştir. 8. ve 10. günlerde ise NF-YB gen ifade düzeyleri 6. güne kıyasla daha da azalarak (sırasıyla % 88 ve % 84 oranında düşüş) kontrol seviyesinin altına inmiştir. Örneklem alım zamanına karşı gen ifade düzeyinde meydana gelen değişikliklerin anlamlılık dereceleri, tek yönlü varyans analizi (One Way ANOVA Dunnet test, Post Hoc testi) ile karşılaştırılmış, Çizelge 4.90'da görüleceği gibi kontrole göre $p < 0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür. Bitkilerde çevresel stresin neden olduğu oksidatif lipid hasarında bir belirteç olarak kullanılan MDA'nın stres uygulanan zamanlarda meydana gelen değişim profili incelendiğinde, genel olarak stres uygulanan zamanlarda MDA düzeyinde artış olduğu açıkça görülmektedir (Şekil 4.4). Soğuk stresi uygulanmış Saray ayçiçeği çeşidinin köklerinde NF-YB gen ifade düzeylerine ait sonuçlar MDA sonuçları ile birlikte değerlendirildiğinde, gen ifadesi profilinin MDA düzeyleri ile genel olarak zıt bir profil çizdiği görülmektedir (Şekil 4.4 ve Şekil 4.26). Bitkilerin çeşitli dokularında meydana gelen ROT'ların düzeyinde meydana gelen değişiklikler transkripsiyon faktörleri, yapısal proteinler ve savunma enzimlerine ait genlerin kodlanmasını indüklemekte veya inhibe ettiği bilinmektedir (Scandalios 2002). Bu durum göz önüne alındığında stres uygulanan günlerde MDA artışının Saray ayçiçeği çeşidinin köklerinde NF-YB gen ifadesini inhibe edici etki göstermiş olabileceği düşünülmektedir (Şekil 4.5 ve 4.12).

Zamana bağılı soğuk stresi uygulanan Saray ayçiçeği fidelerinin yapraklarındaki NF-YB gen ifade düzeyinin tüm günlerde kontrol düzeyinin üzerinde olduğu, bununla birlikte birbirlerine kıyasla değişkenlik gösterdikleri belirlenmiştir (Şekil 4.26). NF-YB gen ifade seviyelerinde belirlenen bu değişimlerin istatistiksel olarak $p<0.05$ düzeyinde anlamlı olduğu görülmektedir (Çizelge 4.90-4.91). Örneklem alımının 2. gününde NF-YB gen ifade düzeyi 5 katlık bir artış göstermiş olup 4. ve 6. günlerde kademeli olarak azalmıştır. 8. ve 10. günlerde ise tekrar artış göstererek 10. günde 7 kattan fazla bir artış ile en yüksek değere ulaşmıştır. NF-YB geni ifade düzeyine ait sonuçlar MDA ve total protein düzeyleri ile birlikte değerlendirildiğinde ise genel olarak paralellik göstermediği görülmektedir (Şekil 4.5, Şekil 4.7 ve Şekil 4.26).

Tarsan 1018 çeşidinin köklerinde stres uygulamasının 2. ve 4. günlerinde NF-YB gen ifade seviyeleri kontrol seviyesinin altına inmiştir (kontrole göre sırasıyla % 22 ve % 12) (Çizelge 4.89). 6. günde NF-YB gen ifade seviyesinin stres uygulanan tüm zamanlardaki maksimum değere ulaştığı görülmektedir (3,811648). Bu seviyenin kontrol örneklerinin yaklaşık 4 katı olması dikkat çekicidir. Meydana gelen bu artış istatistiksel olarak da anlamlıdır ($p<0.05$) (Çizelge 4.94). 8. ve 10. gün alınan örneklerde ise gen ifade seviyesinin tekrar düştüğü ve kontrol seviyesinin altına indiği görülmektedir (Şekil 4.27).

Tarsan 1018 çeşidinin yapraklarında zamana bağılı NF-YB gen ifade seviyeleri değişkenlik gösterse de, çoğunlukla NF-YB gen ifade düzeyleri kontrol düzeyinin altında kalmıştır (Şekil 4.27). Tek yönlü korelasyon analizi (One way ANOVA Dunnett testi, Post Hoc testi) ile zamana karşı ifade seviyesindeki değişimin anlamlılık dereceleri araştırılmış, bu azalmaların hem kontrol uygulamasına hem de diğer saatlere göre istatistiksel olarak $p<0.05$ düzeyinde anlamlı olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.95, 4.97). Stres uygulamasının ilk 6 gününde NF-YB gen ifade seviyesinin düştüğü görülmektedir (Şekil 4.27). Stresin 8. gününde ise normalize gen ifade seviyesi maksimum değerine ulaşmıştır (9,800771). Soğuk stresi uygulamasının 10. güne gelindiğinde 8. güne göre NF-YB gen ifade seviyesinin yaklaşık % 43 oranında azaldığı görülmektedir (Çizelge 4.89). Stres oluşumunun belirlenmesinde bitkide meydana gelen tahribatın göstergelerinden biri olan MDA (Mittler 2003) ile NF-YB gen ifade

düzeylerine ait sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde, gen ifadesi profilinin MDA düzeyleri ile genel olarak zıt bir profil çizdiği görülmektedir (Şekil 4.5 ve Şekil 4.27). Yapılan çalışmalarda MDA'nın stres altında meydana gelen olaylara yol açan tek koşul olmadığı, bazı hücre içi proteinlerin konformasyon ya da aktivitesindeki değişikliklerin de soğuk stresine sinyal oluşturmada rol oynayabileceği bildirilmiştir (Murata ve Los 1997, Königshofer vd. 2008, Sewelam vd. 2016). Bu bilgi doğrultusunda total protein düzeyi sonuçları değerlendirildiğinde NF-YB gen ifade düzeyinde meydana gelen değişimler ile genel olarak uyumlu olmadığı görülmektedir (Şekil 4.8 ve Şekil 4.27). Bu durum soğuk stresinin potansiyel tepki mekanizmasının *Helianthus annuus*'da oldukça karmaşık olduğunu ve NF-YB geninin aktivasyonunda ya da baskılanmasında farklı mekanizmaların da rol oynamış olabileceğini düşündürmektedir.

Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerinde soğuk stresi uygulamasının 2. ve 4. günlerinde NF-YB geninin ifadesinde kontrole göre sırasıyla % 90 ve % 89 oranında azalma görülmüştür (Çizelge 4.89). Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerinde meydana gelen bu azalmaların hem kontrol grubuna hem de diğer saatlere göre istatistiksel olarak $p < 0.05$ düzeyinde anlamlı olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.98 ve Çizelge 4.100). 6. güne gelindiğinde ise köklerde 4. güne kıyasla yaklaşık 8 katlık bir artış meydana gelirken NF-YB gen ifade düzeyi hala kontrolün altında kalmıştır (Şekil 4.28). Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin köklerinden stres uygulamasının 6. gününde alınan örneklerde gen ifade düzeyinde meydana gelen değişim istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Çizelge 4.100). 8. gün alınan örneklerde NF-YB gen ifade düzeyi stres uygulanan tüm zaman dilimleri içindeki en yüksek gen ifade düzeyine sahip olup, kontrole kıyasla 1.3 katlık bir artış göstermiştir. 10.gün alınan örneklerde NF-YB gen ifade düzeyi keskin bir azalma göstererek, soğuk stresi uygulamasının 2. ve 4. günlerinde alınan örneklerin gen ifade düzeyine yakın bir profil çizmiştir. 10. günde meydana gelen düşüş kontrole ve 8. güne kıyasla istatistiksel olarak $p < 0.05$ seviyesinde anlamlıdır (Çizelge 4.100).

Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin yapraklarından 2. gün alınan örneklerin NF-YB gen ifade seviyesinde kontrole göre % 24 oranında azalma meydana geldiği görülmektedir (Çizelge 4.89). Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin yapraklarından 2. gün alınan örneklerin zamana karşı ifade seviyesindeki değişimin anlamlılık düzeyleri araştırılmış, bu

azalmaların hem kontrol uygulamasına hem de diğer saatlere göre istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 4.101). 4. ve 6. günlerde gen ifade seviyelerinin kontrole göre kademeli bir artış gösterdiği belirlenmiştir. 4. günde kontrole göre 4 kat artış gözlenirken 6. günde kontrole kıyasla neredeyse 12 kat artış kaydedilmiştir. Meydana gelen bu artışların kontrole ve birbirlerine göre istatistiksel olarak $p < 0.05$ seviyesinde anlamlı olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.101). Stres uygulamasının 8. ve 10. günlerinde NF-YB gen ifade seviyesinde azalma görülürken, 10. günde gözlenen azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Çizelge 4.101).

İncelenen üç çeşit ayçiçeğinin yapraklarında NF-YB gen ifade seviyesinde genel olarak bir artış görülürken, köklerde genel olarak bir düşüş belirlenmiştir (Şekil 4.29-4.30). Soğuk stresi uygulamasının farklı zamanlarında alınan örneklerin kök ve yaprak dokularından elde edilen gen ifade profilleri incelendiğinde NF-YB geninin ifade düzeylerinin en düşük ve en yüksek olduğu kat değişiklikleri ≥ 0.04 ve ≤ 11.86 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.89).

Bitki NF-Y transkripsiyon faktörleri ailelerinin üyeleri farklı organlara veya dokulara özgü ifade profilleri göstermektedir (Stephenson vd. 2007, Siefers vd. 2009, Quach vd. 2015, Rípodas vd. 2015). Çalışmada kullanılan 3 ayçiçeği çeşidinde de, hem soğuk stresine maruz bırakılmayan kontrol gruplarında hem de soğuk stresine maruz bırakılan kök ve yaprak dokularında NF-YB geni ifade bulmuştur. Bu durum hem kök hem de yaprak dokularında yapısal olarak NF-YB geninin ifade edildiğini göstermektedir.

Peng vd. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada kağıt dutu (*Broussonetia papyrifera*) 24 saat soğuk stresine maruz bırakılmıştır. Stresin uygulandığı farklı zaman periyotlarında NF-YB gen ifade düzeyi değişkenlik göstermiş olup, 24. saatten sonra NF-YB geninin ifadesi tespit edilememiştir. Çalışmamızdan elde edilen sonuçlara göre, strese maruz bırakılan günlerde Saray, Tarsan 1018 ve Tr-3080 ayçiçeği çeşitlerinin kök ve yaprak dokularında NF-YB gen ifade düzeyi değişkenlik göstermiştir. Çalışmada kullanılan ayçiçeği çeşitlerinin soğuk stresine verdiği değişik cevapların genotipik bir varyasyonun sonucu olduğu düşünülmektedir.

5.7 Soğuk Stresine Maruz Bırakılan Ayçiçeği Çesitlerinin Kök ve Yapraklarında WRKY Geni mRNA Düzeylerinde Meydana Gelen Değişim

Soğuk stresi altında yetiştirilen Saray çeşidi ayçiçeği fidelerinin köklerinde, zamana bağlı WRKY gen ifade seviyesi kontrol ile karşılaştırıldığında, 2. gün kontrole yakın bir gen ifade düzeyi gözlenmiştir. Bu aşamanın bitkinin stres ile karşılaştığı süreç olduğunu düşünmekteyiz. Stres uygulanan diğer günlerde kontrol düzeyinin üzerinde bir artış olduğu, 10. günde 12 katlık bir artış göstererek tepe noktasına ulaştığı belirlenmiştir (Şekil 4.31). İstatistiksel olarak incelendiğinde 2. günden itibaren meydana gelen bu artışların $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı olduğu görülmektedir (Çizelge 4.109). Saray çeşidinin yapraklarına ait WRKY gen ifade düzeyine ait veriler MDA düzeyine ait sonuçlar ile birlikte değerlendirildiğinde, soğuk stresinin uygulandığı 10. gün dışında genel olarak MDA düzeyinde meydana gelen değişim ile uyumlu olduğu görülmektedir (Şekil 4.4 ve Şekil 4.31). Aynı çeşidin yapraklarında ise 8. ve 10. günlerde gen ifade düzeyinde kontrole kıyasla sırasıyla 2 ve 1,78 kat artış görülürken, diğer günlerde kontrole göre azalma olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.108). Saray çeşidinin yapraklarına ait WRKY gen ifade düzeyine ait veriler MDA düzeyine ait sonuçlar ile birlikte değerlendirildiğinde, soğuk stresinin uygulandığı ilk 6 günde MDA düzeyinin artmış olmasına rağmen gen ifade düzeyinin kontrol seviyesinin altında kalması WRKY geninin farklı dokularda aktivasyonunda ya da baskılanmasında farklı mekanizmaların rol oynadığını düşündürmüştür.

Soğuk stresi altında yetiştirilen Tarsan 1018 ayçiçeği örneklerinin köklerinde normalize WRKY gen ifade seviyesi ortalaması 2., 4., 6., 8. ve 10. günlerde sırasıyla 0,923662, 1,063344, 1,135731, 3,197397, 0,599856'dır (Çizelge 4.108). Şekil 4.32 incelendiğinde stresin uygulandığı ilk 6 gün gen ifade düzeyinin kontrol seviyesine yakın bir profil çizdiği görülmektedir. Stresin uygulandığı ilk 6 gün boyunca köklerde meydana gelen bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$). 8. gün köklerde kontrole kıyasla 3 kattan fazla bir artış meydana gelmiş olup istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,05$). 10. gün ise köklerde hızlı bir düşüş meydana gelmiştir. NF-YB geni ifade düzeyine ait sonuçlar MDA sonuçları ile birlikte değerlendirildiğinde genel olarak uyumlu olduğu görülmektedir (Şekil 4.5 ve Şekil 4.32). Aynı çeşidin

yapraklarında ise normalize WRKY gen ifade seviyesi ortalaması soğuk stresi uygulanan günler için sırasıyla 0,063292, 0,006221, 0,011887, 0,126024 ve 0,347872'dir (Çizelge 4.108). Bu veriler göz önüne alındığında stres uygulanan tüm günlerde WRKY gen ifade düzeyinin kontrol seviyesinin altında bir profil sergilediği görülmektedir (Şekil 4.32). Meydana gelen bu düşüşler istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Tarsan 1018 çeşidinin yapraklarına ait MDA ve total protein miktarı sonuçları birlikte değerlendirildiğinde gen ifade düzeyi sonuçları ile aralarında bir uyum olmadığı görülmektedir (Şekil 4.5, 4.8 ve 4.32). Bu durum bize WRKY geninin farklı dokularda aktivasyonunda ya da baskılanmasında farklı mekanizmaların rol oynadığını düşündürmektedir.

Tr-3080 ayçiçeği fidelerinin köklerinde, WRKY gen ifade seviyesi 2. gün kontrole kıyasla yaklaşık 12 katlık keskin bir artış göstermiştir. Aynı güne ait MDA sonuçları incelendiğinde sonuçlar paralellik göstermektedir (Şekil 4.6 ve Şekil 4.33). Bu durum değerlendirildiğinde, soğuk stresi ile ilişkili olduğu düşünülen WRKY geninin ifadesinin ROT'lar aracılığıyla kuvvetli bir şekilde indüklenmiş olabileceği söylenebilir. 4. gün ise 2. güne göre WRKY gen ifade düzeyi biraz azalmıştır. 6. gün ise en fazla düşüşü göstererek kontrol seviyesinin altına inmiştir. Aynı güne ait MDA düzeyinin yüksek olmasına rağmen gen ifade düzeyinin bu kadar azalması şaşırtıcıdır. 8. gün ise kontrole kıyasla 13 katlık bir artış göstererek en yüksek seviyesine ulaşmıştır. 10. gün ise WRKY gen ifade düzeyinde tekrar azalma meydana gelmiştir. Soğuk stresi sırasında meydana gelen bu artış ve azalmalar soğuk stresi yanıt yolağında başka birçok düzenleme yolunun aktive olduğunu düşündürmektedir.

Tr-3080 ayçiçeği çeşidinin yapraklarından 2. gün alınan örneklerde WRKY gen ifade düzeyinde kontrole kıyasla % 43 oranında azalma meydana gelmiştir. 4. güne gelindiğinde kuvvetli bir şekilde indüklenerek yaklaşık 12 katlık bir artış ile tepe noktasına ulaşmıştır. 6. ve 8. günlerde WRKY gen ifade düzeyinde düşüş meydana gelmiş olup, 8. gün en fazla düşüşü göstererek gen ifade düzeyi kontrol seviyesinin altına inmiştir. MDA sonuçları ile birlikte değerlendirildiğinde sonuçlar paralellik göstermektedir. 10. gün gen ifade düzeyi 8. güne göre biraz artmış olsa da kontrol seviyesinin altında bir profil çizmiştir (Şekil 4.33). Soğuk stresi uygulamasının tüm

zamanlarında meydana gelen değişimler $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlıdır (Çizelge 4.120).

Literatürde yapılan bazı çalışmalarda, çeşitli bitki WRKY transkripsiyon faktörlerinin gen ifade profillerinin dokuya spesifik olduğu saptanmıştır (Xu vd. 2013, Wei vd. 2016, Wu vd. 2017). Bu tez çalışmasında kullanılan üç ayçiçeği çeşidinin kök ve yaprak dokularında WRKY gen ifadesi tespit edilmiş olup, farklı dokularda WRKY genlerinin ifadesinin değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 4.34-4.35). Soğuk stresi uygulamasının farklı zamanlarında alınan örneklerin kök ve yaprak dokularından elde edilen gen ifade profilleri incelendiğinde WRKY geninin ifade düzeylerinin en düşük ve en yüksek olduğu kat değişiklikleri ≥ 0.006 ve ≤ 13.44 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.108). Stres uygulama zamanlarına ait verilerin tümü birlikte değerlendirildiğinde, WRKY gen ifadesi seviyesinin üç ayçiçeği çeşidinin yaprak dokularında genellikle azalmış olduğu görülmektedir (Şekil 4.35).

Chen vd. (2015)'nin yaptıkları çalışmada soğuk stresinin domateste 10 WRKY genini kuvvetli bir şekilde indüklediği ve bu genlerin soğuga bağlı sinyal yollarında yer alan WRKY'lerin gelecekteki fonksiyonel analizi için aday genleri temsil ettikleri bildirilmiştir. Yu vd. (2013)'nin yaptıkları çalışmada ise CaWRKY1A geninin soğuk stresle güçlü bir şekilde indüklendiği ve CaWRKY1A'nın bitkilere soğuk stres toleransı kazandırmada önemli biyolojik rol oynadığı ileri sürülmüştür. Bu tez çalışmasında kullanılan ayçiçeği çeşitlerinde soğuga maruz kaldıktan sonra kök ve yaprak dokularında transkript profilleri bakımından farklılıklar tespit edilmiş olup, WRKY geninin yapraklara kıyasla kökte daha yüksek oranda eksprese edildiği belirlenmiştir (Şekil 4.34-4.35).

6. SONUÇ

Gerçekleştirilen bu tez çalışmasında; soğuk stresi altında geliştirilen 3 çeşit ayçiçeği (*Helianthus annuus*) bitkisinde bZIP, MYB, NAC, NF-YB ve WRKY tipi transkripsiyon faktörlerine ait genlerin mRNA ifade seviyeleri araştırmalarımız ve bilğimiz dahilinde ilk kez çalışılmıştır. Ayrıca, soğuk stresinin bitkilerin biyokimyasal ve moleküler özellikleri üzerindeki etkileri, stres altında büyüyen bitki dokularındaki total çözünür protein ve lipid peroksidasyonu düzeyinde meydana gelen değişimler ölçülerek değerlendirilmiştir.

Günümüze dek gerçekleştirilmiş olan çalışmalarda toleranslı genotiplerde duyarlı olanlardan daha az H₂O₂ ve MDA birikimi olduğu ve oksidatif stres etkilerine daha az maruz kaldıkları bildirilmiştir (Bailly vd. 1996, Queiroz vd. 1998, Sofo vd. 2004). Bu çalışmalarda, MDA miktarının genotiplerin strese karşı olan toleranslarının değerlendirilmesinde kullanılabildiği görülmektedir (Yaşar 2003, Terzi vd. 2010). Membran yapısının kararlılığının belirlenmesinde önemli bir parametre olan MDA düzeyinden elde edilen veriler değerlendirildiğinde, üç ayçiçeği çeşidinde de stres uygulama süresi boyunca MDA düzeyinde artma ve azalmalar görülsede çoğunlukla kontrole göre artış gözlenmiş olup, Tr-3080'deki membran hasarının, soğuk stresi altındaki diğer ayçiçeği çeşitlerinden daha ciddi düzeyde olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle çalışmada kullanılan ayçiçeği çeşitleri arasında Tr-3080 çeşidi soğuk stresine karşı daha hassas bir çeşit olarak belirlenirken, Tarsan 1018 çeşidinin strese karşı daha dirençli olduğu belirlenmiştir.

Literatürde yapılan bazı çalışmalar, çeşitli bitki transkripsiyon faktör ailelerine ait genlerin ifade profillerinin dokuya spesifik olduğunu bildirmişlerdir (Lin vd. 2007, Meng vd. 2007, Xu vd. 2014, Wei vd. 2016, Wu vd. 2017). Çalışmada kullanılan 3 ayçiçeği çeşidinde de, hem soğuk stresine maruz bırakılmayan kontrol gruplarında hem de soğuk stresine maruz bırakılan kök ve yaprak dokularında bZIP, MYB, NAC, NF-YB ve WRKY ifadesi tespit edilmiştir. Çalışmadan elde edilen veriler değerlendirildiğinde, kök ve yaprak dokularında yapısal olarak bu genlerin aktif olduğu ve ifade edildiği gösterilmiştir.

Son yıllarda yapılan araştırmalar, bazı stres ile ilişkili genlerin özellikle çeşitli transkripsiyon faktör ailelerine ait genlerin bitki stres toleransında önemli rol oynadığını göstermektedir. (Ahuja vd. 2010, Hirayama ve Shinozaki 2010). Çalışmadan elde edilen tüm Real-Time PCR verileri birlikte değeriendirildiğinde soğuk stresi ile ilişkili olduğu düşünölen bZIP, MYB, NAC ve WRKY genlerinin ifade düzeylerinin Saray, Tarsan 1018 ve Tr-3080 çeşitlerinde çoğunlukla kontrol seviyesinin üzerinde olduğu belirlenmiştir. NF-YB gen ifade düzeyinin ise hem kök hem de yapraklarda bazı zaman periyodlarında kontrol seviyesinin üzerine çıktığı, ancak çoğunlukla kontrol seviyesinin altında kaldığı tespit edilmiştir. Gerçekleştirilen tez çalışmasından elde edilen bulgular göz önüne alındığında bZIP, MYB, NAC, NF-YB ve WRKY genlerinin soğuk ile indüklendiğini ve soğuk stresine yanıtta rol alabileceği öngörülmektedir. Ayrıca bu çalışmadan elde edilen verilerin soğuk stresine dayanıklı ayçiçeği çeşitlerinin elde edilmesine yönelik ileride yapılabilecek çalışmalara da katkı sağlayacağı düşünölmektedir.

KAYNAKLAR

- Abid, G., Muhovski, Y., Mingeot, D., Saidi, M., Aouida, M., Aroua, I., Hamdi, M., Barhoumi, F., Rezgui, S. and Jebara, M. 2017. Identification and characterization of two faba bean (*Vicia faba* L.) WRKY transcription factors and their expression analysis during salt and drought stress. *The Journal of Agricultural Science*, 155(5); 791-803.
- Abdrakhamanova, A., Wang, Q.Y., Khokhlova, L. and Nick, P. 2003. Is microtubule disassembly a trigger for cold acclimation?. *Plant and Cell Physiology*, 44(7); 676-686.
- Adiredjo, A.L., Navaud, O., Muños, S., Langlade, N.B., Lamaze, T. and Grieu, P. 2014. Genetic control of water use efficiency and leaf carbon isotope discrimination in sunflower (*Helianthus annuus* L.) subjected to two drought scenarios. *Plos One*, 9(7); e101218.
- Aida, M., Ishida, T., Fukaki, H., Fujisawa, H. and Tasaka, M. 1997. Genes involved in organ separation in *Arabidopsis*: an analysis of the cup-shaped cotyledon mutant. *The Plant Cell*, 9(6); 841-857.
- Alahdadi I., Oraki H. and Khajani F.P. 2011. Effect of water stress on yield and yield components of sunflower hybrids. *African Journal of Biotechnology*, 10(34); 6504-6509.
- Alexandrova, K.S. and Conger, B.V. 2002. Isolation of two somatic embryogenesis-related genes from orchardgrass (*Dactylis glomerata*). *Plant Science*, 162(2); 301-307.
- Allinne, C., Maury, P., Sarrafi, A. and Grieu, P. 2009. Genetic control of physiological traits associated to low temperature growth in sunflower under early sowing conditions. *Plant Science*, 177(4); 349-359.
- Ambawat, S., Sharma, P., Yadav, N.R. and Yadav, R.C. 2013. MYB transcription factor genes as regulators for plant responses: an overview. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 19(3); 307-321.
- Anonim. 2004. Web Sitesi: agr.ege.edu.tr/files/depo/ciftci_brosur/AycicegiTarimi.doc, Erişim Tarihi: 12.10.2017.
- Anonim. 2014a. Web Sitesi: <http://arastirma.tarim.gov.tr/ttae/Sayfalar/Detay.aspx?SayfaId=54>, Erişim Tarihi: 12.10.2017.
- Anonim. 2014b. Web Sitesi: <https://arastirma.tarim.gov.tr/ttae/Link/1/Cesitlerimiz>, Erişim Tarihi: 12.10.2017.
- Anonim. 2015. WebSitesi: <http://koop.gtb.gov.tr/data/53319ccf487c8eb1e43d7298/201>

4%20Ay%C3%A7i%C3%A7e%C4%9Fi%20Raporu.pdf, Erişim Tarihi: 12.10.2017.

Anonim. 2017. Web Sitesi: <http://www.tarsusticaretborsasi.com/DOSYALAR/pdf/2017%20SOYAAAYCICEK.pdf>, Erişim Tarihi: 12.10.2017.

Anonim. 2017. Web Sitesi: <http://www.tuik.gov.tr/Start.do>, Erişim Tarihi: 12.10.2017.

Anonim. 2017. Web Sitesi: [https://arastirma.tarim.gov.tr/tepge/Belgeler/TARIM%20C3%9CR%C3%9CNLER%C4%B0%20P%C4%B0YASA%20RAPORLARI%20KLAS%C3%96R%C3%9C/Ay%C3%A7i%C3%A7e%C4%9Fi%20Tar%C4%B1m%20C3%9Cr%C3%BCnleri%20Piyasalar%C4%B1ndaki%20Geli%C5%9Fmeler%20\(1\).pdf](https://arastirma.tarim.gov.tr/tepge/Belgeler/TARIM%20C3%9CR%C3%9CNLER%C4%B0%20P%C4%B0YASA%20RAPORLARI%20KLAS%C3%96R%C3%9C/Ay%C3%A7i%C3%A7e%C4%9Fi%20Tar%C4%B1m%20C3%9Cr%C3%BCnleri%20Piyasalar%C4%B1ndaki%20Geli%C5%9Fmeler%20(1).pdf), Erişim Tarihi: 12.10.2017.

Antikainen, M., Griffith, M., Zhang, J. and Hon, W.C., Yang, D.S., Pihakaski-Maunsbach, K. 1996. Immunolocalization of antifreeze proteins in winter rye leaves, crowns, and roots by tissue printing. *Plant Physiology*, 110(3); 845-857.

Arıoğlu, H. 1999. Yağ bitkileri yetiştirme ve ıslahı, Ç. Ü. Ziraat Fakóltesi Yayınları, Adana, No: 2045; 37-43.

Atici, Ö., Demir, Y. ve Kocaçalışkan, İ. 2003. Effects of low temperature on winter wheat and cabbage leaves. *Biologia Plantarum*, 46(4); 603-606.

Azyimi, S., Sofalian, O., Jahanbakhsh, G. and Khomari, S. 2012. Effect of chilling stress on soluble protein, sugar and proline accumulation in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) genotypes. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 4; 825-830.

Bailly, C., Benamar, A., Corbineau, F. and Come, D. 1996. Changes in malondialdehyde content and in superoxide dismutase, catalase and glutathione reductase activities in sunflower seeds as related to deterioration during accelerated aging. *Physiologia Plantarum*, 97(1); 104-110.

Baud, L. and Ardaillou, R. 1986. Reactive oxygen species: production and role in the kidney. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 251(5); F765-F776.

Beck, E.H., Heim, R. and Hansen, J. 2004. Plant resistance to cold stress: mechanisms and environmental signals triggering frost hardening and dehardening. *Journal of Biosciences*, 29(4); 449-459.

Bohnert, H.J., Ayoubi, P., Borchert, C., Bressan, R.A., Burnap, R.L., Cushman, J.C., Cushman, M.A., Deyholos, M., Fischer, R., Galbraith, D.W., Hasegawa, P.M., Jenks, M., Kawasaki, S., Koiwa, H., Kore-eda, S., Lee, B.H., Michalowski, C.B., Misawa, E., Nomura, M., Ozturk, N., Postier, B., Prade, R., Song, C.P., Tanaka, Y., Wang H. and Zhu. J.K. 2001. A genomics approach towards salt stress tolerance. *Plant Physiology and Biochemistry*, 39(3); 295-311.

- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2); 248-254.
- Breeze, E., Harrison, E., McHattie, S., Hughes, L., Hickman, R., Hill, C., Kiddle S, Kim Y.S., Penfold, C.A., Jenkins, D., Zhang, C., Morris, K., Jenner, C., Jackson, S., Thomas, B., Tabrett, A., Legaie, R., Moore, J.D., Wild, D.L., Ott, S., Rand, D., Beynon, J., Denby, K., Mead, A., Buchanan-Wollaston, V. 2011. High-resolution temporal profiling of transcripts during *Arabidopsis* leaf senescence reveals a distinct chronology of processes and regulation. *The Plant Cell*, 23(3); 873-894.
- Caldana, C., Degenkolbe, T., Cuadros Inostroza, A., Klie, S., Sulpice, R., Leisse, A. and Hannah, M.A. 2011. High density kinetic analysis of the metabolomic and transcriptomic response of *Arabidopsis* to eight environmental conditions. *The Plant Journal*, 67(5); 869-884.
- Calderón, P. And Pontis, H.G. 1985. Increase of sucrose synthase activity in wheat plants after a chilling shock. *Plant Science*, 42(3); 173-176.
- Callahan, A., Scorza, R., Morgens, P., Mante, S., Cordts, J. and Cohen R. 1991. Breeding for cold hardiness: searching for genes to improve fruit quality in coldhardy peach germplasm. *HortScience* 26; 522-526.
- Chen, L., Yang, Y., Liu, C., Zheng, Y., Xu, M., Wu, N., Sheng, J. and Shen, L. 2015. Characterization of WRKY transcription factors in *Solanum lycopersicum* reveals collinearity and their expression patterns under cold treatment. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 464(3); 962-968.
- Chen, W., Provart, N.J., Glazebrook, J., Katagiri, F., Chang, H.S., Eulgem, T., Mauch F, Luan, S., Zou, G., Whitham, S.A., Budworth, P.R., Tao, Y., Xie, Z., Chen, X., Lam, S., Kreps, J.A., Harper, J.F., Si-Ammour, A., Mauch-Mani, B., Heinlein, M., Kobayashi, K., Hohn, T., Dangl, J.L., Wang, X. and Zhu, T. 2002. Expression profile matrix of *Arabidopsis* transcription factor genes suggests their putative functions in response to environmental stresses. *The Plant Cell*, 14(3); 559-574.
- Chen, T.H. and Murata, N. 2008. Glycinebetaine: an effective protectant against abiotic stress in plants. *Trends in Plant Science*, 13(9); 499-505.
- Chinnusamy, V., Zhu, J. and Zhu, J.K. 2006. Gene regulation during cold acclimation in plants. *Physiologia Plantarum*, 126(1); 52-61.
- Chinnusamy, V., Zhu, J. and Zhu, J.K. 2007. Cold stress regulation of gene expression in plants. *Trends in Plant Science*, 12(10); 444-451.

- Chomczynski, P. and Mackey, K. 1995. Short technical reports. Modification of the trizol reagent procedure for isolation of RNA from polysaccharide-and proteoglycan-rich sources. *Biotechniques*, 19(6); 942-945.
- Ciolkowski, I., Wanke, D., Birkenbihl, R.P. and Somssich, I.E. 2008. Studies on DNA-binding selectivity of WRKY transcription factors lend structural clues into WRKY-domain function. *Plant Molecular Biology*, 68(1-2); 81-92.
- Cloutier, Y. 1984. Changes of protein patterns in winter rye following cold acclimation and desiccation stress. *Canadian Journal of Botany*, 62(2); 366-371.
- Dai, X., Xu, Y., Ma, Q., Xu, W., Wang, T., Xue, Y. and Chong, K. 2007. Overexpression of an R1R2R3 MYB gene, OsMYB3R-2, increases tolerance to freezing, drought, and salt stress in transgenic *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 143(4); 1739-1751.
- Dellagi, A., Heilbronn, J., Avrova, A.O., Montesano, M., Palva, E.T., Stewart, H.E., Toth, I.K., Cooke, D.E., Lyon, G.D. and Birch, P.R. 2000. A potato gene encoding a WRKY-like transcription factor is induced in interactions with *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* and *Phytophthora infestans* and is coregulated with class I endochitinase expression. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 13(10); 1092-1101.
- Deslandes, L., Olivier, J., Theulières, F., Hirsch, J., Feng, D.X., Bittner-Eddy, P., Beynon, J. and Marco, Y. 2002. Resistance to *Ralstonia solanacearum* in *Arabidopsis thaliana* is conferred by the recessive RRS1-R gene, a member of a novel family of resistance genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(4); 2404-2409.
- Dong, J., Chen, C. and Chen, Z. 2003. Expression profiles of the *Arabidopsis* WRKY gene superfamily during plant defense response. *Plant Molecular Biology*, 51(1); 21-37.
- Du, C., Zhao, P., Zhang, H., Li, N., Zheng, L. and Wang, Y. 2017. The *Reaumuria trigyna* transcription factor RtWRKY1 confers tolerance to salt stress in transgenic *Arabidopsis*. *Journal of Plant Physiology*, 215; 48-58.
- Du, H., Zhang, L., Liu, L., Tang, X.F., Yang, W.J., Wu, Y.M., Huang, Y.B. and Tang, Y.X. 2009. Biochemical and molecular characterization of plant MYB transcription factor family. *Biochemistry (Moscow)*, 74(1); 1-11.
- Dubos, C., Stracke, R., Grotewold, E., Weisshaar, B., Martin, C. and Lepiniec, L. 2010. MYB transcription factors in *Arabidopsis*. *Trends in Plant Science*, 15(10); 573-581.
- Dunnet, C.W. 1955. A multiple comparison procedure for comparing several treatments with a control. *Journal of the American Statistical Association*, 50; 1096-1121.

- Duval, M., Hsieh, T.F., Kim, S.Y. and Thomas, T.L. 2002. Molecular characterization of AtNAM: a member of the Arabidopsis NAC domain superfamily. *Plant Molecular Biology*, 50(2); 237-248.
- Eulgem, T., Rushton, P.J., Robatzek, S. and Somssich, I.E. 2000. The WRKY superfamily of plant transcription factors. *Trends in Plant Science*, 5(5); 199-206.
- Eulgem, T. and Somssich, I.E. 2007. Networks of WRKY transcription factors in defense signaling. *Current Opinion in Plant Biology*, 10(4); 366-371.
- Fang, Y., Liao, K., Du, H., Xu, Y., Song, H., Li, X. and Xiong, L. 2015. A stress-responsive NAC transcription factor SNAC3 confers heat and drought tolerance through modulation of reactive oxygen species in rice. *Journal of Experimental Botany*, 66(21); 6803-6817.
- Fernández-Luqueño, F., López-Valdez, F., Miranda-Arámbula, M., Rosas-Morales, M., Pariona, N. and Espinoza-Zapata, R. 2014. An introduction to the sunflower crop. Nova Science Publishers, Inc.
- Fong, J.H., Keating, A.E. and Singh, M. 2004. Predicting specificity in bZIP coiled-coil protein interactions. *Genome Biology*, 5(2); R11.
- Fowler, S. and Thomashow, M.F. 2002. *Arabidopsis* transcriptome profiling indicates that multiple regulatory pathways are activated during cold acclimation in addition to the CBF cold response pathway. *The Plant Cell*, 14(8); 1675-1690.
- Foyer, C.H. and Noctor, G. 2005. Redox homeostasis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses. *The Plant Cell*, 17(7); 1866-1875.
- Fujita, Y. and Fujita, M., Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K. 2009. Transcription factors involved in the crosstalk between abiotic and biotic stress-signaling networks. *Signal crosstalk in plant stress responses*. Wiley-Blackwell, 43-58.
- Gill, S.S. and Tuteja, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(12); 909-930.
- Gill, S.S., Khan, N.A., Anjum, N.A. and Tuteja, N. 2011. Amelioration of cadmium stress in crop plants by nutrients management: morphological, physiological and biochemical aspects. *Plant Stress*, 5(1); 1-23.
- Grant, E.H., Fujino, T., Beers, E.P. and Brunner, A.M. 2010. Characterization of NAC domain transcription factors implicated in control of vascular cell differentiation in *Arabidopsis* and *Populus*. *Planta*, 232(2); 337-352.

- Gül, V., Öztürk, E. ve Polat, T. 2016. Günümüz Türkiye’inde Bitkisel Yağ Açığını Kapatmada Ayçiçeğinin Önemi. *Alinteri Ziraat Bilimler Dergisi*, 30(1); 70-76.
- Guy, C.L. and Carter, J.V. 1984. Characterization of partially purified glutathione reductase from cold-hardened and nonhardened spinach leaf tissue. *Cryobiology*, 21(4); 454-464.
- Guy, C.L. 1990. Cold acclimation and freezing stress tolerance: role of protein metabolism. *Annual Review of Plant Biology*, 41(1); 187-223
- Gürkan, H., Bulut, H., Eskioğlu, O. ve Çalık, Y. 2017. İklim modelleri ile ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) verimi projeksiyonları. IV. Türkiye İklim Değişikliği Kongresi, TIKDEK’2017.
- Halliwell, B. and Chirico, S. 1993. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 57(5); 715S-724S.
- Halliwell, B. 2006. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiology*, 141(2); 312-322.
- Hansen, J., Turk, R., Vogg, G., Heim, R. and Beck, E. 1997. Conifer carbohydrate physiology: updating classical views. *Trees: contributions to modern tree physiology*. Leiden, Backhuys, p: 97–108.
- Hare, P.D., Cress, W.A. and Van Staden, J. 1998. Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant, cell and environment*, 21(6); 535-553.
- Heiser, C.B. 1976. Sunflowers: *Helianthus* (Compositae-Heliantheae). In *Evolution of Crop Plants*; Simmonds N.W., eds; Longman Green: London, 1976; 36-38.
- Hewezi, T., Léger, M., El Kayal, W. and Gentzbittel, L. 2006. Transcriptional profiling of sunflower plants growing under low temperatures reveals an extensive down-regulation of gene expression associated with chilling sensitivity. *Journal of Experimental Botany*, 57(12); 3109-3122.
- Hichri, I., Muhovski, Y., Žižková, E., Dobrev, P.I., Gharbi, E., Franco-Zorrilla, J.M., Lopez-Vidriero, I., Solano, R., Clippe, A., Errachid, A., Motyka, V. and Lutts, S. 2017. The *Solanum lycopersicum* WRKY3 Transcription Factor SlWRKY3 Is Involved in Salt Stress Tolerance in Tomato. *Frontiers in Plant Science*, 8; 1343.
- Higashi, K., Ishiga, Y., Inagaki, Y., Toyoda, K., Shiraishi, T. and Ichinose, Y. 2008. Modulation of defense signal transduction by flagellin-induced WRKY41 transcription factor in *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Genetics and Genomics*, 279(3); 303-312.
- Hinderhofer, K. and Zentgraf, U. 2001. Identification of a transcription factor specifically expressed at the onset of leaf senescence. *Planta*, 213(3); 469-473.

- Hoagland, D.R. and Arnon, D.I. 1938. The Water Culture Method for Growing Plants Without Soil. Circular California Agricultural Experiment Station, 347-461.
- Hodges, D.M., DeLong, J.M., Forney, C.F. and Prange, R.K. 1999. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta*, 207(4); 604-611.
- Hodgson, R.A. and Raison, J.K. 1991. Lipid peroxidation and superoxide dismutase activity in relation to photoinhibition induced by chilling in moderate light. *Planta*, 185(2); 215-219.
- Hopkins, W.G. 1999. Introduction to plant physiology (No. Ed. 2). John Wiley and Sons. New York, pp. 451–475.
- Hou, Y., Guo, Z., Yi, Y., Li, H., Li, H., Chen, L., Ma, H., Zhang, L., Lin, J.W. and Zhong, M. 2010. Effects of cold acclimation and exogenous pytohormone abscisic acid treatment on physiological indicators of winterness wheat. *Journal of Plant Sciences*, 5(2); 125-136.
- Houmanat, K., Fechtali, M.E., Mazouz, H. and Nabloussi, A. 2016. Evaluation and selection of promising sunflower germplasm under early winter planting conditions. *African Journal of Agricultural Research*, 11(45); 4610-4618.
- Hu, W., Yang, H., Yan, Y., Wei, Y., Tie, W., Ding, Z., Zuo, J., Peng, M. and Li, K. 2016. Genome-wide characterization and analysis of bZIP transcription factor gene family related to abiotic stress in cassava. *Scientific Reports*, 6; 22783.
- Huang, G.T., Ma, S.L., Bai, L.P., Zhang, L., Ma, H., Jia, P. and Guo, Z.F. 2012. Signal transduction during cold, salt, and drought stresses in plants. *Molecular Biology Reports*, 39(2); 969-987.
- Huang, X.S., Wang, W., Zhang, Q. and Liu, J.H. 2013. A basic helix-loop-helix transcription factor, PtrbHLH, of *Poncirus trifoliata* confers cold tolerance and modulates peroxidase-mediated scavenging of hydrogen peroxide. *Plant physiology*, 162(2); 1178-1194.
- Hughes, M.A. and Dunn, M.A. 1996. The molecular biology of plant acclimation to low temperature. *Journal of Experimental Botany*, 47(3); 291-305.
- Hurst, H.C. 1994. Transcription factors. 1: bZIP proteins. *Protein Profile*, 1(2); 123-168.
- Hussain, S.S., Kayani, M.A. and Amjad, M. 2011. Transcription factors as tools to engineer enhanced drought stress tolerance in plants. *Biotechnology Progress*, 27(2); 297-306.

- Hussain, S., Ahmad, M., Ahmad, S., Iqbal, J., Subhani, M.N., Nadeem, S.M., Atta S. and Ibrahim, M. 2013. Improvement of Drought Tolerance in Sunflower (*Helianthus annuus* L.) By Foliar Application of Absciscic Acid and Potassium Chloride. *Pakistan Journal of Nutrition*, 12(4); 345-352.
- Hwang, I., Jung, H.J., Park, J.I., Yang, T.J. and Nou, I.S. 2014. Transcriptome analysis of newly classified bZIP transcription factors of *Brassica rapa* in cold stress response. *Genomics*, 104(3); 194-202.
- Inaba, M., Suzuki, I., Szalontai, B., Kanesaki, Y., Los, D.A., Hayashi, H. and Murata, N. 2003. Gene-engineered rigidification of membrane lipids enhances the cold inducibility of gene expression in *Synechocystis*. *Journal of Biological Chemistry*, 278(14); 12191-12198.
- Ishiguro, S. and Nakamura, K. 1994. Characterization of a cDNA encoding a novel DNA-binding protein, SPF1, that recognizes SP8 sequences in the 5' upstream regions of genes coding for sporamin and β -amylase from sweet potato. *Molecular and General Genetics MGG*, 244(6); 563-571.
- Jakoby, M., Weisshaar, B., Dröge-Laser, W., Vicente-Carbajosa, J., Tiedemann, J., Kroj, T. and Parcy, F. 2002. bZIP transcription factors in *Arabidopsis*. *Trends in Plant Science*, 7(3); 106-111.
- Jaglo, K.R., Kleff, S., Amundsen, K.L., Zhang, X., Haake, V., Zhang, J.Z. and Thomashow, M.F. 2001. Components of the *Arabidopsis* C-repeat/dehydration-responsive element binding factor cold-response pathway are conserved in *Brassica napus* and other plant species. *Plant Physiology*, 127(3); 910-917.
- Jithesh, M.N., Prashanth, S.R., Sivaprakash, K.R. and Parida, A.K. 2006. Antioxidative response mechanisms in halophytes: their role in stress defence. *Journal of Genetics*, 85(3); 237.
- John, R., Anjum, N.A., Sopory, S.K., Akram, N.A. and Ashraf, M. 2016. Some key physiological and molecular processes of cold acclimation. *Biologia Plantarum*, 60(4); 603-618.
- Janmohammadi, M., Zolla, L. and Rinalducci, S. 2015. Low temperature tolerance in plants: Changes at the protein level. *Phytochemistry*, 117; 76-89.
- Jiang, C., Gu, X. and Peterson, T. 2004. Identification of conserved gene structures and carboxy-terminal motifs in the Myb gene family of *Arabidopsis* and *Oryza sativa* L. ssp. indica. *Genome Biology*, 5(7); R46.
- Jin, C., Li, K. Q., Xu, X.Y., Zhang, H.P., Chen, H.X., Chen, Y.H., Hao, J., Wang, Y., Huang, X.S. and Zhang, S.L. 2017. A novel NAC transcription factor, PbeNAC1, of *Pyrus betulifolia* confers cold and drought tolerance via interacting with PbeDREBs and activating the expression of stress-responsive genes. *Frontiers in Plant Science*, 8; 1049.

- Jin, J.P., Zhang, H., Kong, L., Gao, G. and Luo, J.C. 2014. PlantTFDB 3.0: a portal for the functional and evolutionary study of plant transcription factors. *Nucleic Acids Research*, 42(D1); D1182-D1187.
- Jin, J.P., He, K., Tang, X., Li, Z., Lv, L., Zhao, Y., Luo, J.C. and Gao, G. 2015. An *Arabidopsis* transcriptional regulatory map reveals distinct functional and evolutionary features of novel transcription factors. *Molecular Biology and Evolution*, 32(7);1767-1773.
- Jin, J.P., Tian, F., Yang, D.C., Meng, Y.Q., Kong, L., Luo, J.C. and Gao, G. 2017. PlantTFDB 4.0: toward a central hub for transcription factors and regulatory interactions in plants. *Nucleic Acids Research*, 45(D1); D1040-D1045.
- Johnson, C.S., Kolevski, B. and Smyth, D.R. 2002. Transparent testa glabra2, a trichome and seed coat development gene of *Arabidopsis*, encodes a WRKY transcription factor. *The Plant Cell*, 14(6); 1359-1375.
- Jubany-Marí, T., Munné-Bosch, S., López-Carbonell, M. and Alegre, L. 2009. Hydrogen peroxide is involved in the acclimation of the Mediterranean shrub, *Cistus albidus* L., to summer drought. *Journal of Experimental Botany*, 60(1); 107-120.
- Kalendar, R., Khassenov, B., Ramankulov, Y., Samuilova, O. and Ivanov, K.I. 2017. FastPCR: An in silico tool for fast primer and probe design and advanced sequence analysis. *Genomics*, 109(3); 312-319.
- Kaplan, F., Kopka, J., Haskell, D.W., Zhao, W., Schiller, K.C., Gatzke, N. and Guy, C.L. 2004. Exploring the temperature-stress metabolome of *Arabidopsis*. *Plant physiology*, 136(4); 4159-4168.
- Kavar, T., Maras, M., Kidrič, M., Šuštar-Vozlič, J. and Meglič, V. 2007. Identification of genes involved in the response of leaves of *Phaseolus vulgaris* to drought stress. *Molecular Breeding*, 21(2); 159-172.
- Khoshgoftarmanesh, A.H., Khodarahmi, S. and Haghighi, M. 2014. Effect of silicon nutrition on lipid peroxidation and antioxidant response of cucumber plants exposed to salinity stress. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 60(5); 639-653.
- Killi, D., Bussotti, F., Raschi, A. and Haworth, M. 2017. Adaptation to high temperature mitigates the impact of water deficit during combined heat and drought stress in C3 sunflower and C4 maize varieties with contrasting drought tolerance. *Physiologia Plantarum*, 159(2); 130-147.
- Kim, S.G., Kim, S.Y. and Park, C.M. 2007. A membrane-associated NAC transcription factor regulates salt-responsive flowering via Flowering Locus T in *Arabidopsis*. *Planta*, 226(3); 647-654.

- Kim, Y.S., Kim, S.G., Park, J.E., Park, H.Y., Lim, M.H., Chua, N.H. and Park, C.M. 2006. A membrane-bound NAC transcription factor regulates cell division in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 18(11); 3132-3144.
- Knight, H. and Knight, M.R. 2001. Abiotic stress signalling pathways: specificity and cross-talk. *Trends in Plant Science*, 6(6); 262-267.
- Ko, J.H., Yang, S.H., Park, A.H., Lerouxel, O. and Han, K.H. 2007. ANAC012, a member of the plant-specific NAC transcription factor family, negatively regulates xylary fiber development in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*, 50(6); 1035-1048.
- Koc, I., Vatansever, R., Ozyigit, I.I. and Filiz, E. 2015. Identification of differentially expressed genes in chilling-induced potato (*Solanum tuberosum* L.); a data analysis study. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 177(4); 792-811.
- Kong, X., Pan, J., Zhang, M., Xing, X.I.N., Zhou, Y.A.N., Liu, Y. and Li, D. 2011. ZmMKK4, a novel group C mitogen-activated protein kinase kinase in maize (*Zea mays*), confers salt and cold tolerance in transgenic *Arabidopsis*. *Plant, Cell and Environment*, 34(8); 1291-1303.
- Königshofer, H., Tromballa, H.W. and Löppert, H.G. 2008. Early events in signalling high temperature stress in tobacco BY2 cells involve alterations in membrane fluidity and enhanced hydrogen peroxide production. *Plant, Cell and Environment*, 31(12); 1771-1780.
- Kreps, J.A., Wu, Y., Chang, H.S., Zhu, T., Wang, X. and Harper, J.F. 2002. Transcriptome changes for *Arabidopsis* in response to salt, osmotic, and cold stress. *Plant Physiology*, 130(4); 2129-2141.
- Kudla, J., Batistič, O. and Hashimoto, K. 2010. Calcium signals: the lead currency of plant information processing. *The Plant Cell*, 22(3); 541-563.
- Kumar, S., Stecher, G. and Tamura, K. 2016. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular biology and evolution*, 33(7); 1870-1874.
- Landschulz, W.H., Johnson, P.F., McKnight, S.L. 1988. The leucine zipper: a hypothetical structure common to a new class of DNA binding proteins. *Science*, 240(4860); 1759-1765.
- Lee, J.H., Johnson, J.V. and Talcott, S.T. 2005. Identification of ellagic acid conjugates and other polyphenolics in muscadine grapes by HPLC-ESI-MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(15); 6003-6010.
- Levitt, J. 1980. Responses of plants to environmental stress. 2nd edition, Volume I. Chilling, freezing, and high temperature stresses. Academic Press, New York.

- Li, P.H. 1985. Potato cold hardiness and freezing stress. In: Key JL, Kosuge T (eds) Cellular and Molecular Biology of Plant Stress. Paperpresented at the UCLA Symposium on Molecular and Cellular Biology, New York, 201-216.
- Li, T., Sun, J., Bi, Y. and Peng, Z. 2016. Overexpression of an MYB-related gene FvMYB1 from *Fraxinus velutina* increases tolerance to salt stress in transgenic tobacco. *Journal of Plant Growth Regulation*, 35(3); 632-645.
- Li, Y., Chen, Q., Nan, H., Li, X., Lu, S., Zhao, X., Liu, B., Guo, C., Kong, F. and Cao, D. 2017. Overexpression of GmFDL19 enhances tolerance to drought and salt stresses in soybean. *Plos One*, 12(6); e0179554.
- Lin, R., Zhao, W., Meng, X., Wang, M. and Peng, Y. 2007. Rice gene OsNAC19 encodes a novel NAC-domain transcription factor and responds to infection by *Magnaporthe grisea*. *Plant Science*, 172(1); 120-130.
- Liu, J. and Zhu, J.K. 1997. Proline accumulation and salt-stress-induced gene expression in a salt-hypersensitive mutant of *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 114(2); 591-596.
- Liu, X. and Chu, Z. 2015. Genome-wide evolutionary characterization and analysis of bZIP transcription factors and their expression profiles in response to multiple abiotic stresses in *Brachypodium distachyon*. *BMC Genomics*, 16(1); 227.
- Liu, W., Yu, K., He, T., Li, F., Zhang, D. and Liu, J. 2013. The low temperature induced physiological responses of *Avena nuda* L., a cold-tolerant plant species. *The Scientific World Journal*, 2013.
- Livak, K.J. and Schmittgen, T.D. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. *Methods*, 25(4); 402-408.
- Luo, Y., Tang, H. and Zhang, Y. 2011. Production of reactive oxygen species and antioxidant metabolism about strawberry leaves to low temperatures. *Journal of Agricultural Science*, 3(2); 89.
- Lynch, D.V. 1990. Chilling injury in plants: the relevance of membrane lipids. *Environmental Injury to Plants*, Academic Press, New York, 17-34.
- Meng, Q., Zhang, C., Gai, J. and Yu, D. 2007. Molecular cloning, sequence characterization and tissue-specific expression of six NAC-like genes in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). *Journal of Plant Physiology*, 164(8); 1002-1012.
- Miller, G., Suzuki, N., Ciftci-Yilmaz, S. and Mittler, R. 2010. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. *Plant Cell Environment*. 33; 453–467.

- Ming, L. and Wang, G. 2002. Effect of Drought Stress on Activities of Cell Defense Enzymes and Lipid Peroxidation in *Glycyrrhiza uralensis* Seedlings. *Acta Ecologica Sinica*, 22; 503-507.
- Mir, B.A., Mir, S.A., Khazir, J., Tonfack, L.B., Cowan, D.A., Vyas, D. and Koul, S. 2015. Cold stress affects antioxidative response and accumulation of medicinally important withanolides in *Withania somnifera* (L.) Dunal. *Industrial Crops and Products*, 74; 1008-1016.
- Mitsuda, N., Iwase, A., Yamamoto, H., Yoshida, M., Seki, M., Shinozaki, K. and Ohme-Takagi, M. 2007. NAC transcription factors, NST1 and NST3, are key regulators of the formation of secondary walls in woody tissues of *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 19(1); 270-280.
- Miura, K. and Furumoto, T. 2013. Cold signaling and cold response in plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(3); 5312-5337.
- Mohapatra, S.S., Poole, R.J. and Dhindsa, R.S. 1987. Cold acclimation, freezing resistance and protein synthesis in alfalfa (*Medicago sativa* L. cv. Saranac). *Journal of Experimental Botany*, 38(10); 1697-1703.
- Morsy, M.R., Almutairi, A.M., Gibbons, J., Yun, S.J. and Benildo, G. 2005. The OsLti6 genes encoding low-molecular-weight membrane proteins are differentially expressed in rice cultivars with contrasting sensitivity to low temperature. *Gene*, 344; 171-180.
- Moschen, S., Luoni, S.B., Paniego, N.B., Hopp, H.E., Dosio, G.A., Fernandez, P. and Heinz, R.A. 2014. Identification of candidate genes associated with leaf senescence in cultivated sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Plos One*, 9(8); e104379.
- Murata, N. and Los, D.A. 1997. Membrane fluidity and temperature perception. *Plant Physiology*, 115(3); 875.
- Nanjo, T., Kobayashi, M., Yoshiba, Y., Kakubari, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K. and Shinozaki, K. 1999. Antisense suppression of proline degradation improves tolerance to freezing and salinity in *Arabidopsis thaliana*. *Febs Letters*, 461(3); 205-210.
- Nath, K.A. and Norby, S.M. 2000. Reactive oxygen species and acute renal failure. *The American Journal of Medicine*, 109(8); 665-678.
- Olsen, A.N., Ernst, H.A., Leggio, L.L. and Skriver, K. 2005. NAC transcription factors: structurally distinct, functionally diverse. *Trends in Plant Science*, 10(2); 1360–1385.
- Ooka, H., Satoh, K., Doi, K., Nagata, T., Otomo, Y., Murakami, K., Matsubara, K., Osato, N., Kawai, J., Carninci, P., Hayashizaki, Y., Suzuki, K., Kojima, K.,

- Takahara, Y., Yamamoto, K. and Kikuchi, S. 2003. Comprehensive analysis of NAC family genes in *Oryza sativa* and *Arabidopsis thaliana*. DNA Research, 10(6); 239-247.
- Orvar, B.L., Sangwan, V., Omann, F. and Dhindsa, R.S. 2000. Early steps in cold sensing by plant cells: the role of actin cytoskeleton and membrane fluidity. The Plant Journal, 23(6); 785-794.
- Paller, M.S., Hoidal, J.R. and Ferris, T.F. 1984. Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat. Journal of Clinical Investigation, 74(4); 1156.
- Pandey, S.P., Roccaro, M., Schön, M., Logemann, E. and Somssich, I.E. 2010. Transcriptional reprogramming regulated by WRKY18 and WRKY40 facilitates powdery mildew infection of *Arabidopsis*. The Plant Journal, 64(6); 912-923.
- Pasquali, G., Biricolti, S., Locatelli, F., Baldoni, E. and Mattana, M. 2008. Osmyb4 expression improves adaptive responses to drought and cold stress in transgenic apples. Plant Cell Reports, 27(10); 1677-1686.
- Paz-Ares, J., Ghosal, D., Wienand, U., Peterson, P. A. and Saedler, H. 1987. The regulatory c1 locus of *Zea mays* encodes a protein with homology to myb proto-oncogene products and with structural similarities to transcriptional activators. The EMBO Journal, 6(12); 3553-3558.
- Peng, X., Wu, Q., Teng, L., Tang, F., Pi, Z. and Shen, S. 2015. Transcriptional regulation of the paper mulberry under cold stress as revealed by a comprehensive analysis of transcription factors. BMC Plant Biology, 15(1); 108.
- Potschin, M., Schlienger, S., Bieker, S. and Zentgraf, U. 2014. Senescence networking: WRKY18 is an upstream regulator, a downstream target gene, and a protein interaction partner of WRKY53. Journal of Plant Growth Regulation, 33(1); 106-118.
- Quach, T.N., Nguyen, H.T., Valliyodan, B., Joshi, T., Xu, D. and Nguyen, H.T. 2015. Genome-wide expression analysis of soybean NF-Y genes reveals potential function in development and drought response. Molecular Genetics and Genomics, 290(3); 1095-1115.
- Qin, F., Shinozaki, K. and Yamaguchi-Shinozaki, K. 2011. Achievements and challenges in understanding plant abiotic stress responses and tolerance. Plant and Cell Physiology, 52(9); 1569-1582.
- Queiroz, C.G.S., Alonso, A., Mares-Guia, M. and Magalhaes, A.C. 1998. Chilling-induced changes in membrane fluidity and antioxidant enzyme activities in *Coffea arabica* L. roots. Biologia Plantarum, 41(3); 403-413.
- Rao, K.M., Raghavendra, A.S. and Reddy, K.J. (Eds.). 2006. Physiology and molecular biology of stress tolerance in plants. Springer Science & Business Media.

- Reddy, A.R., Chaitanya, K.V. and Vivekanandan, M. 2004. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of plant physiology*, 161(11); 1189-1202.
- Redondo-Gómez, S. 2013. Abiotic and biotic stress tolerance in plants. In *Molecular Stress Physiology of Plants* (pp. 1-20). Springer India.
- Rípodas, C., Castaingts, M., Clúa, J., Blanco, F. and Zanetti, M.E. 2015. Annotation, phylogeny and expression analysis of the nuclear factor Y gene families in common bean (*Phaseolus vulgaris*). *Frontiers in Plant Science*, 5; 761.
- Roberts, D.W.A. 1982. Changes in the forms of invertase during the development of wheat leaves growing under cold-hardening and non-hardening conditions. *Canadian Journal of Botany*, 60(1); 1-6.
- Roscoe, J.T. 1975. *Fundamental research statistics for the behavioral sciences*. New York: Holt, Rinehart and Winston, Inc. 63.
- Roychoudhury, A. and Basu, S. 2012. Ascorbate-glutathione and plant tolerance to various abiotic stresses. *Oxidative stress in plants causes, consequences and tolerance*. IK International Publishing House Pvt. Ltd., New Delhi, 177-258.
- Rushton, P. J., Macdonald, H., Huttly, A.K., Lazarus, C.M. and Hooley, R. 1995. Members of a new family of DNA-binding proteins bind to a conserved cis-element in the promoters of α -Amy2 genes. *Plant Molecular Biology*, 29(4); 691-702.
- Rushton, P.J., Torres, J.T., Parniske, M., Wernert, P., Hahlbrock, K. and Somssich, I.E. 1996. Interaction of elicitor-induced DNA-binding proteins with elicitor response elements in the promoters of parsley PR1 genes. *The EMBO Journal*, 15(20); 5690.
- Sangwan, V., Örvar, B.L. and Dhindsa, R.S. 2002. Early events during low temperature signaling. In *Plant Cold Hardiness* (pp. 43-53). Springer, Boston, MA.
- Sathiyaraj, G., Lee, O.R., Parvin, S., Khorolragchaa, A., Kim, Y.J. and Yang, D.C. 2011. Transcript profiling of antioxidant genes during biotic and abiotic stresses in *Panax ginseng* CA Meyer. *Molecular Biology Reports*, 38(4); 2761-2769.
- Scandalios, J.G. 2002. The rise of ROS. *Trends in Biochemical Sciences*, 27(9); 483-486.
- Seki, M., Narusaka, M., Ishida, J., Nanjo, T., Fujita, M., Oono, Y., Kamiya, A., Nakajima, M., Enju, A., Sakurai, T., Satou, M., Akiyama, K., Taji, T., Yamaguchi-Shinozaki, K., Carninci, P., Kawai, J., Hayashizaki, Y. and Shinozaki, K. 2002. Monitoring the expression profiles of 7000 *Arabidopsis* genes under drought, cold, and high-salinity stresses using a full-length cDNA microarray. *The Plant Journal*, 31(3); 279-292.

- Seki, M., Kamei, A., Yamaguchi-Shinozaki, K. and Shinozaki, K. 2003. Molecular responses to drought, salinity and frost: common and different paths for plant protection. *Current Opinion in Biotechnology*, 14(2); 194-199.
- Sewelam, N., Kazan, K. and Schenk, P.M. 2016. Global plant stress signaling: reactive oxygen species at the cross-road. *Frontiers in Plant Science*, 7; 187.
- Sergio, L., De Paola, A., Cantore, V., Pieralice, M., Cascarano, N.A., Bianco, V.V. and Di Venere, D. 2012. Effect of salt stress on growth parameters, enzymatic antioxidant system, and lipid peroxidation in wild chicory (*Cichorium intybus* L.). *Acta Physiologiae Plantarum*, 34(6); 2349-2358.
- Seo, P.J., Park, M.J. and Park, C.M. 2013. Alternative splicing of transcription factors in plant responses to low temperature stress: mechanisms and functions. *Planta*, 237(6); 1415-1424.
- Shah, S.T., Pang, C., Fan, S., Song, M., Arain, S. and Yu, S. 2013. Isolation and expression profiling of GhNAC transcription factor genes in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) during leaf senescence and in response to stresses. *Gene*, 531(2); 220-234.
- Shao, H., Wang, H. and Tang, X. 2015. NAC transcription factors in plant multiple abiotic stress responses: progress and prospects. *Frontiers in Plant Science*, 6; 902.
- Sharma, P., Jha, A.B., Dubey, R.S. and Pessarakli, M. 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany*, 2012.
- Shin, B., Choi, G., Yi, H., Yang, S., Cho, I., Kim, J., Lee, S., Paek, N.C., Kim, J.H., Song, P.S. and Choi, G. 2002. AtMYB21, a gene encoding a flower-specific transcription factor, is regulated by COP1. *The Plant Journal*, 30(1); 23-32.
- Shingote, P.R., Kavar, P.G., Pagariya, M.C., Rathod, P.R. and Kharte, S.B. 2017. Ectopic Expression of SsMYB18, a Novel MYB Transcription Factor from *Saccharum spontaneum* Augments Salt and Cold Tolerance in Tobacco. *Sugar Tech*, 19(3); 270-282.
- Shinozaki, K. and Yamaguchi-Shinozaki, K. 2007. Gene networks involved in drought stress response and tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 58(2); 221-227.
- Siefers, N., Dang, K.K., Kumimoto, R.W., Bynum, W.E., Tayrose, G. and Holt, B.F. 2009. Tissue-specific expression patterns of *Arabidopsis* NF-Y transcription factors suggest potential for extensive combinatorial complexity. *Plant Physiology*, 149(2); 625-641.

- Škorić, D. 2009. Sunflower breeding for resistance to abiotic stresses/mejoramiento de girasol por resistencia a estreses abióticos/sélection du tournesol pour la résistance aux stress abiotiques. *Helia*, 32(50); 1-16.
- Sodergren, E. 2000. Lipid peroxidation in vivo. Evaluation and application of methods for measurement. Uppsala: Acta Universitatis Upsaliensis. Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Medicine, 949.
- Sofo, A., Dichio, B., Xiloyannis, C. and Masia, A. 2004. Lipoxygenase activity and proline accumulation in leaves and roots of olive trees in response to drought stress. *Physiologia Plantarum*, 121(1); 58-65.
- Solanke, A.U. and Sharma, A.K. 2008. Signal transduction during cold stress in plants. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 14(1-2); 69-79.
- Solano, R., Nieto, C., Avila, J., Canas, L., Diaz, I. and Paz-Ares, J. 1995. Dual DNA binding specificity of a petal epidermis-specific MYB transcription factor (MYB. Ph3) from *Petunia hybrida*. *The EMBO Journal*, 14(8); 1773-1784.
- Sperotto, R.A., Ricachenevsky, F.K., Duarte, G.L., Boff, T., Lopes, K.L., Sperb, E.R., Grusak M.A. and Fett, J.P. 2009. Identification of up-regulated genes in flag leaves during rice grain filling and characterization of OsNAC5, a new ABA-dependent transcription factor. *Planta*, 230(5); 985-1002.
- Stephenson, T.J., McIntyre, C.L., Collet, C. and Xue, G.P. 2007. Genome-wide identification and expression analysis of the NF-Y family of transcription factors in *Triticum aestivum*. *Plant Molecular Biology*, 65(1-2); 77-92.
- Steponkus, P.L. 1984. Role of the plasma membrane in freezing injury and cold acclimation. *Annual Review of Plant Physiology*, 35(1); 543-584.
- Steponkus, P.L., Uemura, M. and Webb, M.S. 1993. A contrast of the cryostability of the plasma membrane of winter rye and spring oat—two species that widely differ in their freezing tolerance and plasma membrane lipid composition. In : *Advances in Low-Temperature Biology*, Vol. 2, Steponkus, P. L. (ed.). JAI Press, London. 2; 211-312.
- Steponkus, P.L., Uemura, M., Joseph, R.A., Gilmour, S.J. and Thomashow, M.F. 1998. Mode of action of the COR15a gene on the freezing tolerance of *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(24); 14570-14575.
- Su, C. F., Wang, Y. C., Hsieh, T. H., Lu, C. A., Tseng, T. H. and Yu, S. M. 2010. A novel MYBS3-dependent pathway confers cold tolerance in rice. *Plant Physiology*, 153(1); 145-158.
- Su, H., Zhang, S., Yuan, X., Chen, C., Wang, X.F. and Hao, Y.J. 2013. Genome-wide analysis and identification of stress-responsive genes of the NAM–ATAF1, 2–

- CUC2 transcription factor family in apple. *Plant physiology and biochemistry*, 71; 11-21.
- Suzuki, N., Koussevitzky, S., Mittler, R. and Miller, G. 2012. ROS and redox signalling in the response of plants to abiotic stress. *Plant, Cell and Environment*, 35(2); 259-270.
- Sun, C., Palmqvist, S., Olsson, H., Borén, M., Ahlandsberg, S. and Jansson, C. 2003. A novel WRKY transcription factor, SUSIBA2, participates in sugar signaling in barley by binding to the sugar-responsive elements of the iso1 promoter. *The Plant Cell*, 15(9); 2076-2092.
- Süzer, S. 2014. Ekolojik Ayçiçeği Tarımı. Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Web sayfası: <http://arastirma.tarim.gov.tr/ttae/Sayfalar/Detay.aspx?SayfaId=56>. Son erişim tarihi:11.09.2017.
- Tak, H., Negi, S. and Ganapathi, T.R. 2017. Banana NAC transcription factor MusaNAC042 is positively associated with drought and salinity tolerance. *Protoplasma*, 254(2); 803-816.
- Terzi, R., Saglam, A., Kutlu, N., Nar, H. and Kadioglu, A. 2010. Impact of soil drought stress on photochemical efficiency of photo system II and antioxidant enzyme activities of *Phaseolus vulgaris* cultivars. *Turkish Journal of Botany*, 34; 1-10.
- Tester M. and Bacic A. 2005. Abiotic Stress Tolerance in Grasses. From Model Plants to Crop Plants. *Plant Physiology*, 137(3); 791-793.
- Thomashow, M.F. 1998. Role of cold-responsive genes in plant freezing tolerance. *Plant Physiology*, 118(1); 1-8.
- Thompson, J.D., Gibson, T. and Higgins, D.G. 2002. Multiple sequence alignment using ClustalW and ClustalX. *Current Protocols in Bioinformatics*, 2-3.
- Tran, L.S.P., Quach, T.N., Guttikonda, S.K., Aldrich, D.L., Kumar, R., Neelakandan, A., Valliyodan, B. and Nguyen, H.T. 2009. Molecular characterization of stress-inducible GmNAC genes in soybean. *Molecular Genetics and Genomics*, 281(6); 647-664.
- Ulker, B. and Somssich, I.E. 2004. WRKY transcription factors: from DNA binding towards biological function. *Current Opinion in Plant Biology*, 7(5); 491-498.
- Uzun, F.G., Demir, F., Kalender, S., Baş, H. and Kalender, Y. 2010. Protective effect of catechin and quercetin on chlorpyrifos-induced lung toxicity in male rats. *Food and Chemical Toxicology*, 48; 1714-1720.
- Urao, T., Yamaguchi-Shinozaki, K., Urao, S. and Shinozaki, K. 1993. An *Arabidopsis* myb homolog is induced by dehydration stress and its gene product binds to the conserved MYB recognition sequence. *The Plant Cell*, 5(11); 1529-1539.

- Vannini, C., Locatelli, F., Bracale, M., Magnani, E., Marsoni, M., Osnato, M. and Coraggio, I. 2004. Overexpression of the rice Osmyb4 gene increases chilling and freezing tolerance of *Arabidopsis thaliana* plants. *The Plant Journal*, 37(1); 115-127.
- Voronin, P.Y., Rakhmankulova, Z.F., Maevskaya, S.N., Nikolaeva, M.K., Shuiskaya and E. V. 2014. Changes in photosynthesis caused by adaptation of maize seedlings to short-term drought. *Russian Journal of Plant Physiology*, 61(1); 131-135.
- Wang, C., Deng, P., Chen, L., Wang, X., Ma, H., Hu, W., Yao, N., Feng, Y., Chai, R., Yang, G. and He, G.. 2013. A wheat WRKY transcription factor TaWRKY10 confers tolerance to multiple abiotic stresses in transgenic tobacco. *Plos One*, 8(6); e65120.
- Wang, C., Lu, G., Hao, Y., Guo, H., Guo, Y., Zhao, J. and Cheng, H. 2017. ABP9, a maize bZIP transcription factor, enhances tolerance to salt and drought in transgenic cotton. *Planta*, 1-17.
- Wang, K., Wu, Y.H., Tian, X.Q., Bai, Z.Y., Liang, Q.Y., Liu, Q.L., Pan, Y.Z., Zhang, L. and Jiang, B.B. 2017. Overexpression of DgWRKY4 Enhances Salt Tolerance in *Chrysanthemum* Seedlings. *Frontiers in Plant Science*, 8; 1592.
- Wang, L., Cao, H., Qian, W., Yao, L., Hao, X., Li, N., Yang, Y. and Wang, X. 2017. Identification of a novel bZIP transcription factor in *Camellia sinensis* as a negative regulator of freezing tolerance in transgenic arabidopsis. *Annals of Botany*, 119(7); 1195-1209.
- Wang, L., Li, Z., Lu, M. and Wang, Y. 2017. ThNAC13, a NAC transcription factor from *Tamarix hispida*, confers salt and osmotic stress tolerance to transgenic Tamarix and Arabidopsis. *Frontiers in Plant Science*, 8.
- Wang, W., Vinocur, B. and Altman, A. 2003. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta*, 218(1); 1-14.
- Wang, W., Yuan, Y., Yang, C., Geng, S., Sun, Q., Long, L., Cai, C., Chu, Z., Liu, X., Wang, G., Du, X., Miao, C., Zhang, X. and Cai, Y. 2016. Characterization, Expression, and Functional Analysis of a Novel NAC Gene Associated with Resistance to Verticillium Wilt and Abiotic Stress in Cotton. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 6(12); 3951-3961.
- Wang, X., Li, W., Li, M. vWelti, R. 2006. Profiling lipid changes in plant response to low temperatures. *Physiologia Plantarum*, 126(1); 90-96.
- Wei, K., Chen, J., Wang, Y., Chen, Y., Chen, S., Lin, Y., Pan, S., Zhong, X. and Xie, D. 2012. Genome-wide analysis of bZIP-encoding genes in maize. *DNA Research*, 19(6); 463-476.

- Wei, Y., Shi, H., Xia, Z., Tie, W., Ding, Z., Yan, Y., Wang, W., Hu, W. and Li, K. 2016. Genome-wide identification and expression analysis of the WRKY gene family in cassava. *Frontiers in Plant Science*, 7.
- Wise, R.R. and Naylor, A.W. 1987. Chilling-enhanced photooxidation: evidence for the role of singlet oxygen and endogenous antioxidants. *Plant Physiology*, 83; 278–282.
- Wu, J., Chen, J., Wang, L. and Wang, S. 2017. Genome-Wide Investigation of WRKY Transcription Factors Involved in Terminal Drought Stress Response in Common Bean. *Frontiers in Plant Science*, 8.
- Wu, L., Zhang, Z., Zhang, H., Wang, X.C. and Huang, R. 2008. Transcriptional modulation of ethylene response factor protein JERF3 in the oxidative stress response enhances tolerance of tobacco seedlings to salt, drought, and freezing. *Plant Physiology*, 148(4); 1953-1963.
- Xie, Q., Frugis, G., Colgan, D. and Chua, N.H. 2000. Arabidopsis NAC1 transduces auxin signal downstream of TIR1 to promote lateral root development. *Genes & Development*, 14(23); 3024-3036.
- Xiong, L., Schumaker, K.S. and Zhu, J.K. 2002. Cell signaling during cold, drought, and salt stress. *The Plant Cell*, 14(1); S165-S183.
- Xu, Q., Feng, W.J., Peng, H.R., Ni, Z.F. and Sun, Q.X. 2013. TaWRKY71, a WRKY transcription factor from wheat, enhances tolerance to abiotic stress in transgenic *Arabidopsis thaliana*. *Cereal Research Communications*, 42(1); 47-57.
- Yadav, S.K. 2010. Cold stress tolerance mechanisms in plants. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 30(3); 515-527.
- Yamaguchi, M., Goué, N., Igarashi, H., Ohtani, M., Nakano, Y., Mortimer, J.C., Nishikubo, N., Kubo, M., Katayama, Y., Kakegawa, K., Dupree, P. and Demura, T. 2010. Vascular-related NAC-Domain6 and vascular-related NAC-Domain7 effectively induce transdifferentiation into xylem vessel elements under control of an induction system. *Plant Physiology*, 153(3); 906-914.
- Yan, W., Bai, L., Zhang, L., Chen, G., Fan, J., Gu, X., Cui, W.S. and Guo, Z. 2010. Comparative study for cold acclimation physiological indicators of *Forsythia mandshurica* Uyeki and *Forsythia viridissima* Indl. *Middle East Journal of Scientific Research*, 6(6); 556-562.
- Yang, M., Zhao, Y., Shi, S., Du, X., Gu, J. and Xiao, K. 2017. Wheat nuclear factor Y (NF-Y) B subfamily gene TaNF-YB3; 1 confers critical drought tolerance through modulation of the ABA-associated signaling pathway. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 128(1); 97-111.

- Yaşar, F. 2003. Tuz Stresi Altındaki Patlıcan Genotiplerinde Bazı Antioksidant Enzim Aktivitelerinin in vitro ve in vivo Olarak İncelenmesi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri, Doktora Tezi, 139, Van.
- Yin, X., Cui, Y., Wang, M. and Xia, X. 2017. Overexpression of a novel MYB-related transcription factor, OsMYBR1, confers improved drought tolerance and decreased ABA sensitivity in rice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 490(4); 1355-1361.
- Yoo, S.Y., Kim, Y., Kim, S.Y., Lee, J.S. and Ahn, J.H. 2007. Control of flowering time and cold response by a NAC-domain protein in *Arabidopsis*. *Plos One*, 2(7); e642.
- Yu, B.K., Lee, J.H., Shin, S.J., Hwang, E.W. and Kwon, H.B. 2013. Molecular characterization of cold stress-related transcription factors, CaEREBP-C1,-C2,-C3, and CaWRKY1A from *Capsicum annuum* L. *Journal of Plant Biology*, 56(2); 106-114.
- Zhang, L., Zhao, G., Jia, J., Liu, X. and Kong, X. 2011. Molecular characterization of 60 isolated wheat MYB genes and analysis of their expression during abiotic stress. *Journal of Experimental Botany*, 63(1); 203-214.
- Zhang, T., Zhao, X., Wang, W., Pan, Y., Huang, L., Liu, X. and Fu, B. 2012. Comparative transcriptome profiling of chilling stress responsiveness in two contrasting rice genotypes. *Plos One*, 7(8); e43274.
- Zhang, T., Zhang, D., Liu, Y., Luo, C., Zhou, Y. and Zhang, L. 2015. Overexpression of a NF-YB3 transcription factor from *Picea wilsonii* confers tolerance to salinity and drought stress in transformed *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 94; 153-164.
- Zhang, X., Da Silva, J.A. T., Niu, M., Li, M., He, C., Zhao, J. and Ma, G. 2017. Physiological and transcriptomic analyses reveal a response mechanism to cold stress in *Santalum album* L. leaves. *Scientific Reports*, 7; 42165.
- Zhao, H., Wu, D., Kong, F., Lin, K., Zhang, H. and Li, G. 2016. The *Arabidopsis thaliana* nuclear factor Y transcription factors. *Frontiers in Plant Science*, 7; 2045.
- Zhou, M.L., Ma, J.T., Pang, J.F., Zhang, Z.L., Tang, Y.X. and Wu, Y.M. 2010. Regulation of plant stress response by dehydration responsive element binding (DREB) transcription factors. *African Journal of Biotechnology*, 9(54); 9255-9269.
- Zhu, J., Dong, C.H. and Zhu, J.K. 2007. Interplay between cold-responsive gene regulation, metabolism and RNA processing during plant cold acclimation. *Current Opinion in Plant Biology*, 10(3); 290-295.

Zhu, J. K. 2002. Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 53(1); 247-273

Zushi, K. and Matsuzoe, N. 2009. Seasonal and cultivar differences in salt-induced changes in antioxidant system in tomato. *Scientia Horticulturae*, 120(2); 181-187.



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyad : Çiğdem DÖNMEZ

Doğum Yeri : KIRIKKALE

Doğum Tarihi : 12.06.1985

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Başkent Lisesi (Yabancı Dil Ağırlıklı) (2003)

Lisans : Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü (2009)

Yüksek Lisans : Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik
Anabilim Dalı (Eylül 2013 - Şubat 2016)

Doktora : Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik
Anabilim Dalı (2016 – Devam ediyor)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

Gazi Üniversitesi, Araştırma Görevlisi (ÖYP), Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik
Anabilim Dalı (35. Madde ile Görevlendirme), 2014 – Devam.

Bülent Ecevit Üniversitesi, Araştırma Görevlisi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim
Dalı, 2013-2014

SCI Yayınlar

Kiliccioglu, İ., Konac, E., Albayrak, G., **Donmez, C.**, Y. Bilen, C. 2015. Combination of Metformin and Dichloroacetate Inhibits Proliferation and Induce Intrinsic Pathway of Apoptosis in PC-3 Human Prostate Cancer Cells. **Gazi Medical Journal**, 26(4A).

Donmez, C., Konac, E., Aydogan, B. T., Bilen, C. Y. 2016. Might E-cadherin promoter polymorphisms of rs16260 and rs5030625 associate with the risk of nephrolithiasis?. **SpringerPlus**, 5(1), 1673.

Hakemli Dergiler

Aydın, S. S., Kılıç, Z., **Donmez, C.**, Altunkaynak, E., Aras, S. 2015. Assesment of genotoxicity induced by lead pollution in tomato (*Lycopersicum esculentum*) by molecular and population markers. Biological Diversity and Conservation, 8(1), 83-89.

Ulusal Kongreler

Safi Öz Z., Başaran A., **Donmez C.**, Köktürk F. 2015. Romatoid artritli hastaların yanak (bukkal) epiteli hücre profili. 25. Ulusal Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Kongresi, 22 - 26 Nisan 2015, Antalya.

Kılıçcıoğlu, I., Konaç, E., Albayrak, G., **Donmez C.**, Y. Bilen C. 2015. Metformin ve dikloroasetat kombinasyonu ile PC-3 insan prostat kanseri hücrelerinin proliferasyonunun inhibisyonu ve içsel apoptotik yolağın uyarımı. XIV. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi, 27-30 Ekim 2015, Ölüdeniz /Fethiye.

Donmez C., Konaç E., Aydoğan T. B., Y. Bilen C. 2016. E-kaderin promotör polimorfizmleri rs16260 ve rs5030625 ile nefrolitiazis riski arasında ilişki olabilir mi? 3. Ulusal Ürolojik Cerrahi Kongresi, 02-06 Kasım 2016, Antalya.

Kitaplar

Aras, S., Aydın, S. S., Aksoy K. D., Donmez, C. 2011. Comparative Genotoxicity Analysis of Heavy Metal Contamination in Higher Plants in Ecotoxicology. InTech-Open Access Publisher, Croatia, p.107-124.

Görev Aldığı Projeler

Dünya *Nigella* L. (*Ranunculaceae*) Türleri Üzerinde Moleküler Biyolojik Araştırmalar. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi, 2014, Proje No: 11B4240004 Yardımcı Araştırmacı, Tamamlandı.

Türkiye'de yayılış gösteren Usnea cinsinin revizyonu. Tübitak (1001), 2014, Tübitak Proje No: 210T022, Bursiyer Öğrenci, Tamamlandı.

E-Kaderin Geni (CDH1) -160C>A (rs16260) Polimorfizminin Böbrek Taşı Oluşumundaki Rolü. Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi, 2015, Araştırmacı, Tamamlandı.

Ödüller

Donmez C., Konaç E., Aydoğan T. B., Y. Bilen C. E-kaderin promotör polimorfizmleri rs16260 ve rs5030625 ile nefrolitiazis riski arasında ilişki olabilir mi? 3. Ulusal Ürolojik Cerrahi Kongresi, 02-06 Kasım 2016, Antalya. **En iyi sözlü bildiri ikincilik ödülü**