

Baklada Yüksek Sıcaklık Stresinde Sukroz Metabolizmasında Meydana Gelen
Değişimlerin İncelenmesi

Pınar Özsoy

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Haziran 2022

Investigation of Changes in Sucrose Metabolism in Broad Bean During High
Temperature Stress

Pınar Özsoy

MASTER OF SCIENCE THESIS

Department of Agricultural Biotechnology

Haziran 2022

Baklada Yüksek Sıcaklık Stresinde Sukroz Metabolizmasında Meydana Gelen
Değişimlerin İncelenmesi

Pınar Özsoy

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Yönetmeliği Uyarınca
Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı
Bitkisel Biyoteknoloji Bilim Dalında
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Prof. Dr. Ece Turhan

Haziran 2022

ETİK BEYAN

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Prof. Dr. Ece TURHAN danışmanlığında hazırlamış olduğum “Baklada Yüksek Sıcaklık Stresinde Sukroz Metabolizmasında Meydana Gelen Değişimlerin İncelenmesi” başlıklı YÜKSEK LİSANS tezimin özgün bir çalışma olduğunu; tez çalışmamın tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; tezimde verdiğim bilgileri, verileri akademik ve bilimsel etik ilke ve kurallara uygun olarak elde ettiğimi; tez çalışmamda yararlandığım eserlerin tümüne atıf yaptığımı ve kaynak gösterdiğimi ve bilgi, belge ve sonuçları bilimsel etik ilke ve kurallara göre sunduğumu beyan ederim.13/06/2022

Pınar Özsoy

ÖZET

‘Sakız’ bakla çeşidinde yüksek sıcaklığa tolerans mekanizmalarının araştırıldığı bu tez çalışmasında kademeli olarak artan sıcaklık derecesinin ‘Sakız’ bakla çeşidinin fizyolojik özelliklerinde ve sukroz metabolizmasında meydana getirdiği değişimler incelenmiştir. Uygulama için bakla tohumları torf:perlit (1:1) karışımı içeren viyollere ekilmiştir. Fideler 5-6 yapraklı döneme gelinceye kadar serada 15/25°C (gece/gündüz) ve yaklaşık %60 nemde 3 hafta boyunca yetiştirilmiştir. Daha sonra yüksek sıcaklık uygulamaları için bitkiler iklimlendirme kabinine alınmıştır. Sıcaklık 25°C’den başlayarak 30°C, 35°C, 40°C, 45°C’ye kadar yükseltilmiştir. Bitkiler her sıcaklık derecesinde 24 saat tutulmuştur. Her bir sıcaklık kademesinde alınan yaprak örneklerinde yaprak oransal su kapsamı (YOSK), turgor kaybı (TK), hücre membran zararlanma oranı ölçümleri yapılmıştır. Ayrıca sukroz metabolizması enzimlerindeki (asit invertaz, alkalın invertaz sukroz sentaz) değişimler spektrofotometrik yöntemle, çözünebilir şeker miktarları HPLC yöntemiyle belirlenmiştir.

Yüksek sıcaklık uygulamaları sonucunda hücre membran zararlanma oranının sıcaklık artışına paralel olarak arttığı tespit edilmiştir ve elde edilen sonuçlara göre ‘Sakız’ bakla çeşidinin sıcaklık tolerans derecesi 41,36°C olarak belirlenmiştir. YOSK’un azaldığı, TK’nın ise arttığı belirlenmiştir. Şeker analizleri sonucuna göre sukroz miktarının sıcaklık artışına paralel olarak arttığı, glukoz miktarının kontrol grubunda en yüksek seviyede iken düşüş gösterip 40°C’den itibaren tekrar yükseldiği, fruktoz ve maltoz miktarının ise 45°C’de ani bir artışla en yüksek seviyeye ulaştığı, saptanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre şeker birikiminin yüksek sıcaklık stresi toleransı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Enzim aktivite analizleri sonucuna göre sukroz sentaz, alkalın invertaz ve asit invertaz aktivitelerinin 40°C’de maksimum seviyede olduğu tespit edilmiştir. 40°C’de sukrozun hidrolizinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Enzim, karbonhidrat, sıcaklık stresi, *Vicia faba*

SUMMARY

In this study which is investigated the tolerance mechanisms against to high temperature on broad bean cultivar 'Sakız', the effects of the gradually increased temperature degrees caused the alterations on the physiological features and sucrose metabolism of broad bean cultivar 'Sakız' were examined. For application, broad bean seeds were sown in viols filled with apeat:perlite (1:1) mixture. These edlings were grown in green house at 15/25°C (night/day) temperature and a humidity of around %60 along three weeks until they had 5-6 leaves. Then, the plants were transferred to climate chamber for high temperature applications. The starting from 25°C temperature was increased gradually as 30°C, 35°C, 40°C and 45°C. The plants were kept for each temperature degree for 24 hours. Leaf relative water content (LRWC), loss of turgidity (LT) and cell membrane damage rate were measured in the leaf samples collected from the plants in each temperature step. Also, the alterations on enzymes of sucrose methabolism (Acid invertase, alkaline invertase, sucrose synthase,) determined with the spectrophotometric method and the quantity of soluable sugar determined with HPLC method.

At the end of high temperature applications, the increasing of cell membrane damage rate was detected as paralel with temperature increase and according to the results the temperature tolerance degree of broad bean cultivar 'Sakız' was determined as 41,36°C. It was also determined that LRWC decreased and LT increased. According to the results of the sugar analyses, the increasing of sucrose content was detected as paralel with temperature increase, glucose content was on the highest rate at control temperature then it decreased with increased temperature till 40°C, it showed increased rate with higer temperature above 40°C; fructose and maltose contents reached to maximum level with an instant at 45°C. According to the results, it's considered as sugar accumulation is related with high temperature stres tolerance. According to the results of enzyme activity analyses, the activities of sucrose synthase, alkaline invertase and acid invertase was determined on maximum level at 40°C. It is detected as the hydratation of sucrose was higher at 40°C.

KeyWords: Enzyme, carbohydrate, heat stress, *Vicia faba*

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	vi
SUMMARY	vii
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI	5
3. MATERYAL VE YÖNTEM	16
3.1 Materyal	16
3.2 Yöntem.....	16
3.2.1 Denemenin kuruluşu	16
3.2.2 Yüksek sıcaklık uygulamaları	16
3.2.3 İncelenen parametreler	18
<u>3.2.3.1 İyon sızıntısı oranı</u>	18
<u>3.2.3.2 Yaprak oransal su kapsamı (YOSK) ve turgor kaybı (TK)</u>	19
<u>3.2.3.3 Çözünebilir şeker miktarlarının belirlenmesi</u>	19
<u>3.2.3.4 Enzim aktivite analizleri</u>	20
3.3 İstatiksel Analizler	21
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	22
4.1 İyon Sızıntısı Oranı ve Yüksek Sıcaklığa Tolerans (LT ₅₀).....	22
4.2 Yaprak Oransal Su Kapsamı (YOSK) ve Turgor Kaybı (TK).....	24
4.3 Çözünebilir Şekerler	26
4.4 Enzim Aktiviteleri.....	30

İÇİNDEKİLER (devamı)**Sayfa**

5. SONUÇ VE ÖNERİLER	34
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	36
EK AÇIKLAMALAR	45



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.1. 'Sakız' bakla çeşidine ait fidelerin bitkilerinin yüksek sıcaklık uygulamaları sonrası görünümü. a) Kontrol b) 30°C c) 35°C d) 40°C e) 45°C	17
4.1. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak 'Sakız' bakla çeşidinde iyon sızıntısı oranının değişimi	23
4.2. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak 'Sakız' bakla çeşidine ait yüksek sıcaklık tolerans değeri	24
4.3. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak 'Sakız' bakla çeşidinde yaprak oransal su kapsamındaki (YOSK) değişim	25
4.4. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak 'Sakız' bakla çeşidinin yaprak dokularında turgor kaybındaki (TK) değişim	25
4.5. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak 'Sakız' bakla çeşidinin yaprak dokularında sukroz miktarındaki değişimi	28
4.6. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak 'Sakız' bakla çeşidinin yaprak dokularında glukoz miktarındaki değişim	29
4.7. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak 'Sakız' bakla çeşidinin yaprak dokularında fruktoz miktarındaki değişim	29
4.8. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak 'Sakız' bakla çeşidinin yaprak dokularında maltoz miktarındaki değişim	30
4.9. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak 'Sakız' bakla çeşidinin yaprak dokularında SuSy aktivitesindeki değişim	31
4.10. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak 'Sakız' bakla çeşidinin yaprak dokularında asit INV aktivitesindeki değişim	32
4.11. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak 'Sakız' bakla çeşidinin yaprak dokularında alkalın INV aktivitesindeki değişim	32

ÇİZELGELER DİZİNİ

Cizelge

Sayfa

4.1. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak ‘Sakız’ bakla çeşidinde iyon sızıntısı oranının değişimi	23
4.2. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak ‘Sakız’ bakla çeşidinin yaprak dokularında yaprak oransal su kapsamı (YOSK) ve turgor kaybı (TK) değerlerinde değişim	26
4.3. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak ‘Sakız’ bakla çeşidinin yaprak dokularında sukroz, glukoz, fruktoz, maltoz miktarlarındaki değişim	28
4.4. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak ‘Sakız’ bakla çeşidinin yaprak dokularında SuSy, asit INV, alkalın INV aktivitelerindeki değişim.....	31

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simge</u>	<u>Acıklama</u>
°C	Santigrat derece
%	Yüzde
µL	Mikrolitre
mL	Mililitre
mg	Miligram
mM	Milimolar
nm	Nanometre
<u>Kısaltmalar</u>	<u>Acıklama</u>
Asit INV	Asit invertaz
Alkalın INV	Alkalın invertaz
APX	Askorbat peroksidaz
BSA	Bovine Serum Albümin
CAT	Katalaz
DIECA	Dietilditiokarbamik asit
DTT	1,4-dithiothreitol
GPOX	Guaiakolperoksidaz
HXK	Heksokinaz
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
HEPES	N-(2-Hydroxyethyl)piperazine-N'-(2-ethanesulfonic acid)
INV	İnvertaz
K ⁺	Potasyum
K ₂ HPO ₄	Dipotasyum fosfat
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NaEDTA	Disodyumetilendiaminasetik asit
¹ O ₂	Singlet oksijen
O ₂ ⁻	Süperoksit
OH ⁻	Hidroksil
PMSF	Fenilmetilsülfonilflorid
POX	Peroksidaz

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devamı)

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
RFO	Rafinoz ailesi oligosakkaritleri
ROS	Reaktif oksijen türleri
SH	Standart Hata
SOD	Superoksitdismutaz
SPP	Sukroz fosfat fosfataz
SPS	Sukroz fosfat sentaz
SS	Standart Sapma
SuSy	Sukroz sentaz
TK	Turgor Kaybı
UDP	Üridin difosfat
YOSK	Yaprak oransal su kapsamı

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Canlılar doğaları gereği dış çevre ile sürekli ilişki halindedirler. İçinde buldukları çevrede uygunsuz koşullar oluşması durumunda adaptasyon eksikliğine bağlı olarak stres koşullarına maruz kalırlar (Büyük vd., 2012). Stres, yaşamın optimal koşullarından önemli bir sapma olarak kabul edilir. Stres organizmanın tüm işlevsel seviyelerinde değişiklik ve tepkilere yol açar (Larcher, 2003). Bitkilerde büyümeyi ve gelişmeyi olumsuz şekilde etkilerken üründe nitelik ve niceliğin yitmesine, bitkinin ve bitki organlarının yaşamını yitirmesine neden olabilmektedir (Kacar vd., 2013). Stres, bitki üretimini ve dolayısıyla dünya gıda üretimini azaltır (Shabala, 2017).

Günümüzde küresel ısınma, düzensiz yağışlar, ekilebilir toprakların ve su kaynaklarının tükenmesi gibi sert iklim değişiklikleri sebebiyle bitkiler çok çeşitli iklim kaynaklı biyotik ve abiyotik streslerle karşılaşır (Ahmad vd., 2019). Bitkilerin çevre tarafından maruz kaldığı abiyotik stres fiziksel veya kimyasal olabilirken, mantar, bakteri, çeşitli patojenlerin etkileri vb. biyotik streslere dahildir (Gull vd., 2019). Sıcak, soğuk, kuraklık, tuzluluk ve besin stresi gibi abiyotik stres faktörlerinin dünya tarımı üzerinde büyük bir etkisi vardır ve bu streslerin çoğunun yüksek bitkiler için ortalama verimi %50'den fazla düşürdüğü öne sürülmüştür (Atkinson ve Urwin, 2012). Bitkilerin sesil doğası, farklı çevresel zorluklara dayanmak için karmaşık koruma mekanizmalarının gelişmesiyle sonuçlanmıştır (Sewelam vd., 2016). Strese karşı hayatta kalmaya olanak sağlayan mekanizmalar direnç mekanizmaları olarak adlandırılır ve bir organizmanın stresi tolere etmesine veya önlemesine izin verebilir. Tolerans durumunda bitkiler hafif stres altında yüksek metabolik aktiviteyi sürdüren mekanizmalara ve şiddetli stres altında aktiviteyi azaltan mekanizmalara sahiptir. Aksine, kaçınma mekanizmaları, aşırı strese maruz kalındığında uykuda olma durumuna neden olan metabolik aktivitedeki azalmayı içerir (Gaspar vd., 2002).

Küresel ısınma nedeniyle sıcaklığın sürekli artması ürün verimi için ciddi bir tehdit haline gelmiştir (Mathur vd., 2014). Dünya çapında iklim değişikliği ile ilgili mevcut hipotez, çoğu tarım arazisinin artan çevresel dalgalanmalarla karşı karşıya kalacağı yönündedir. Çok yüksek sıcaklıklar da dahil olmak üzere iklimsel aşırılıkların, bitki

büyümesi ve gelişimi üzerinde genel bir olumsuz etkiye sahip olduğu ve küresel olarak ürün verimliliğinde ve kalitesinde yıkıcı bir kayba yol açacağı tahmin edilmektedir (Xalxo vd., 2020).

Sıcaklık; bitki büyümesi, gelişmesi, üremesi ve veriminde anahtar rol oynar (Siddiqui vd., 2015). Bitkilerin büyüme ve gelişme hızı, sıcaklığa bağlıdır ve her tür için minimum, maksimum ve optimum ile temsil edilen belirli bir sıcaklık aralığı vardır (Hatfield ve Prueger, 2015). Optimum sıcaklığın üzerindeki sıcaklıklar, hücrel homeostazı bozan, büyüme ve gelişmede yavaşlamaya ve hatta aşırı koşullarda ölüme yol açan sıcaklık stresi olarak adlandırılır (Mathur, 2014). Bitkiler, yüksek sıcaklık altında metabolik süreçlerin kararlı hal dengesini sürdürmek veya hayatta kalmak için, transkriptomlarını, proteomlarını, metabolomlarını ve lipidomlarını yeniden programlayarak belirli transkriptlerin, proteinlerin, metabolitlerin ve lipidlerin bileşimlerini ayarlarlar (Siddiqui vd., 2015). Bitkiler sürekli olarak sıcaklık değişimlerine ve diğer abiyotik faktörlere maruz kalırlar. Sıcaklık stresi, bitki üretkenliğini çeşitli şekillerde sınırlayan başlıca abiyotik streslerden biridir (Mathur vd., 2014). Bu sınırlamaların üstesinden gelmek ve gelişen dünya nüfusu karşısında üretim verimliliğini artırmak için, stres koşullarına toleranslı ürünler geliştirilmesi gerektiği bildirilmiştir (Cushman ve Bohnert, 2000).

Bakla, dünya çapında en önemli baklagil bitkilerinden birisidir (Karkanis vd., 2018). Küresel olarak, Çin, İtalya, İspanya, Birleşik Krallık, Mısır, Etiyopya, Fas, Rusya, Meksika ve Brezilya bakla yetiştiriciliği yapılan başlıca ülkelerdir (Lavania vd., 2015). Bakla, Türkiye’de önemli bakliyalardan biridir (Baloch vd., 2014). Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) 2020 yılı verilerine göre Türkiye’de, 3488 hektar alanda 9135 ton bakla üretimi yapılmaktadır (FAO, 2022). Diğer taraftan dünyada bakla ekimi yapılan alan, 1965 yılında 5 milyon hektar iken; istikrarsız verimler, biyotik ve abiyotik stresler nedeniyle 2007 yılında bu büyüklüğün yarısının da altına düşmüştür. Bakla ekiminin daha geniş tarım alanlarına yayılması ile ekonomik kazanımların görünür olacağı bildirilmiştir (Lavania vd., 2015).

Bakla esas olarak insan yiyeceği ve hayvan yemi olarak yetiştirilir (Jensen vd., 2010). İnsan beslenmesinde önemli bir yeri olan bakla içerdiği bitkisel proteinin zenginliği nedeniyle taze bakla, taze iç bakla, taze bakla konservesi ve kuru bakla gibi değişik şekillerde tüketilmektedir (Alan ve Geren, 2006). Bakla, azot bağlayan bakterilerle simbiyotik ilişkiler oluşturduğu için, ürün rotasyon programlarında toprak verimliliğini düzenlemede muazzam bir değere sahiptir. Sonraki ürünler için azot faydası genellikle yüksektir ve birkaç çalışma, bakladan sonra yetiştirilen ürünlerin verimini en üst düzeye çıkarmak için gereken azotlu gübre miktarında önemli tasarruflar olduğunu göstermiştir (Jensen vd., 2010). Baklanın fosil enerji tüketimini azaltma kapasitesi konusunda da bitki yetiştirme sistemlerinin sürdürülebilirliğine katkıda bulunduğu bildirilmiştir (Fouad vd., 2013).

Bakla uzun gün bitkisidir ve en iyi şekilde gelişmesi için serin bir mevsim gerekir. Ürün, ılıman ve subtropikal bölgelerde her yıl kış mevsiminde yetiştirilir. Üretim için optimum sıcaklıklar 18-27°C arasındadır (Jensen vd., 2010). Bakla; protein, nişasta, mineraller, vitaminler ve antioksidan bileşiklerin önemli bir besin kaynağıdır (Baloch vd., 2014). Ana enerji bileşenleri ve dolayısıyla olgun bakla tohumunun değeri, çoğunlukla nişasta (%40) ve protein (%30) içeriğine dayanır. Bu proteinlerin çoğu globulinler, albüminler, glutelinler ve prolaminlerdir (Fouad vd., 2013). Bununla birlikte, düşük moleküler ağırlıklı karbohidratlar (glukoz, fruktoz, sukroz) ve rafinoz ailesi oligosakaritleri (rafinoz, stakiyoz, verbaskoz) de tohum kalitesine katkıda bulunur (Landry vd., 2016). Kimyasal bileşimin, çeşitliliğin yanı sıra çevre ve yönetim koşullarından da son derece etkilendiği bildirilmiştir (Karkanis vd., 2018).

Bitkiler aleminde en çok bulunan organik bileşik gruplarından biri, monosakkaritler, disakkaritler, yüksek oligosakkaritler, polisakkaritler ve bunların türevleri olarak bulunan karbohidratlardır. Birikmiş karbohidrat rezervleri, bitkinin büyümesi ve gelişmesi sırasında metabolik olarak kullanılan monosakkaritlerin sağlayıcıları olarak işlev görür. Disakkarit olan sukroz, reaksiyon sırasında karbon fiksasyonunun ana ürünüdür (Dey ve Harborne, 1997). Sukroz, doğal tatları geliştirdiği ve diğer tat verici bileşenlerin özelliklerini geliştirdiği için birçok gıdanın kritik bir bileşeni olarak kabul edilen karbohidrattır (Landry vd., 2016). Birçok çevresel stres karbohidrat metabolizmasında önemli değişimlere yol açar ve şeker sinyal yolları, metabolizmayı modüle etmek için

stres yollarıyla etkileşime girer. Dolaylı olarak şekerler, karbonhidrat metabolizmasını düzenleyerek abiyotik stres altında bitki büyümesi ve gelişimi sırasında önemli bir rol oynar (Gupta ve Kaur, 2005). Son dönemde, koruyuculardan birkaçının osmoregülatörler, fitohormonlar, sinyal molekülleri, eser elementler ve besinler şeklinde dışsal uygulanmalarının bitkilerde sıcaklık stresinin neden olduğu oksidatif hasarları azaltmada etkili olduğu bulunmuştur (Xolxo vd., 2020).

Yüksek atmosferik sıcaklıklar veya ileri düzeyde kuraklık koşulları bakla bitkilerinde, büyüme ve verimle ilgili süreçler üzerinde zararlı etkilere yol açan sıcaklık stresine neden olur (Kumar vd., 2016). Bakla optimum üstü sıcaklıklara veya kuraklık stresine maruz kaldığında, özellikle büyüme zamanlarının sonlarına doğru sıcaklık stresi yaşarlar (Lavania vd., 2015). Çiçeklenme öncesi taneli baklagiller üzerindeki sıcaklık stresinin etkileri; çimlenme yüzdesinde azalma ve anormal fidelerin oluşumunda artış, erken çiçeklenme, azot fiksasyon verimini etkileyen nodüllerin dejenerasyonu, membran stabilitesinde fotosentetik / mitokondriyal aktivitede ve bitki biyokütlesinde azalmayı içermektedir (Gaur vd., 2015). Başarılı bir üreme için polenin yaşayabilirliğinin kritik olduğu çiçeklenme döneminde yüksek sıcaklık stresinin baklaya özellikle zarar verdiği bildirilmiştir (Lavania vd., 2015). Üreme evresindeki sıcaklık stresi polen canlılığını, döllemeyi, bakla oluşumunu ve tohum gelişimini etkiler, çiçeklerin ve baklaların dökülmesine ve tane veriminde önemli kayıplara yol açar (Gaur vd., 2015).

İklim değişikliğine bağlı olarak küresel sıcaklıklardaki kademeli artış sıcak ve kuru iklim koşullarının bakla yetiştiriciliği üzerindeki zararlı etkilerini şiddetlendirmesi muhtemeldir (Lavania vd., 2015). Yüksek sıcaklığa toleranslı ürünlerin yetiştirilebilmesi için öncelikle bitkide stres sırasında meydana gelen değişimlerin ve savunma mekanizmalarının aydınlatılması gerekmektedir. Bu çalışmada fide döneminde kademeli olarak artan yüksek sıcaklığa maruz bırakılan 'Sakız' bakla çeşidinin yaprak dokularında meydana gelen fizyolojik ve biyokimyasal değişimlerin incelenmesi, sukroz metabolizmasında meydana gelen değişimlerin belirlenmesi ile yüksek sıcaklık tolerans mekanizmalarının aydınlatılmasına katkı sağlaması amaçlanmıştır.

2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

Küresel gıda güvenliği, nüfustaki hızlı artış ve iklimdeki şiddetli değişiklikler nedeniyle olumsuz etkilenmektedir. Değişen iklimin ardından, kuraklık ve sıcaklık stresi, mahsul üretkenliği ve sonuç olarak gıda güvenliği için en önemli sınırlayıcı faktörler haline gelmiştir (Fahad vd., 2017). Yüksek sıcaklık stresi, dünya çapında bitki büyümesini, metabolizmasını ve verimliliği sınırlayan önemli bir çevresel streştir (Hasanuzzaman vd., 2013). Bakla da dâhil olmak üzere baklagil yetiştiriciliğinin ana odak noktası verimdir. Bununla birlikte, birçok bölgede, bakla bitkileri, farklı biyotik ve abiyotik stres koşullarına maruz kalır ve sonuç olarak verim çeşitli stres koşullarına karşı çeşitlerin dayanıklılığına bağlıdır (Karkanis, 2008). Sıcaklık stresi genellikle, bitkilerin büyüme ve gelişme süreçlerinde geri dönüşü olmayan hasara neden olan, belirli bir süre boyunca sıcaklıkta bir eşik seviyesinden daha fazla yükselme olarak açıklanır (Xalxo vd., 2020). Eşik sıcaklık, büyümede tespit edilebilir bir azalmanın başladığı günlük ortalama sıcaklık değerini ifade eder (Wahid vd., 2007). Temel eşik sıcaklıkları bitki türüne göre değişiklik gösterir (Hamantaranjan vd., 2014). Baklagillerde tohum verimini ve kalitesini etkileyen en önemli faktör sıcaklıktır. Sıcaklık stresinin etkisi; yoğunluğuna, maruz kalma süresine ve sıcaklığın derecesine bağlıdır (Sita vd., 2017). Geçici veya sürekli yüksek sıcaklıklar bitkilerde bir dizi morfo-anatomik, fizyolojik ve biyokimyasal değişikliğe neden olur, bu da bitki büyümesini ve gelişimini etkileyerek ekonomik verimde büyük bir azalmaya yol açabilir (Wahid vd., 2007). Ayrıca, karbon ve azot asimilasyonu, solunum ve terleme gibi temel süreçlerin bozulması, genel metabolik etkinliği azaltabilir ve vejetatif gelişimsel kusurlara neden olabilir (Yuan vd., 2017). Bitkiler, sıcaklık stresi dâhil çeşitli çevresel stres koşulları altında sürekli olarak hayatta kalmak için mücadele eder. Bir bitki, bitki gövdesindeki fiziksel değişikliklerle ve sıklıkla metabolizmayı değiştirmek için sinyaller oluşturarak sıcaklık stresini bir dereceye kadar tolere edebilir. Bitkiler, sıcaklık stresine yanıt olarak, özellikle proteinleri ve hücresel yapıları düzenleyebilen, ozmotik ayarlama ile hücre turgorunu koruyabilen ve antioksidan sistemi modifiye ederek, hücresel redoks dengesini ve homeostazı yeniden düzenleyebilen uyumlu çözümler üreterek, metabolizmalarını çeşitli şekillerde değiştirirler (Hasanuzzaman vd., 2013).

Sıcaklık stresinin olumsuz etkileri, çeşitli genetik yaklaşımlar kullanılarak sıcaklığa toleranslı bitkiler geliştirerek hafifletilebilir. Bu nedenle, bitkilerin yüksek sıcaklığa fizyolojik tepkilerinin, sıcaklık tolerans mekanizmalarının ve ürünün sıcaklık toleransını iyileştirmek için olası stratejilerin tam olarak anlaşılması çok önemlidir (Hamantaranjan vd., 2014).

Bitkiler sıklıkla protein stabilitesini, kloroplast ve mitokondride enzimatik aktiviteyi, prolin translokasyonunu, karbonhidrat metabolizmasını ve hormonal dengeyi bozarak bitki büyüme metabolizmasını değiştiren yüksek sıcaklık stresi yaşarlar. Fotosentez süreci sıcaklığa fazlasıyla duyarlıdır ve sıcaklık eşik seviyelerinin üzerine çıkarsa tamamen durabilir (Siddiqui vd., 2018). Bitki büyümesi çok sayıda fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler süreç tarafından kontrol edilmesine rağmen, fotosentez ürün verimine önemli ölçüde katkıda bulunan kilit bir olaydır. Fotosentetik pigmentler, iki fotosistem, elektron taşıma sistemi ve karbondioksit (CO₂) azaltma yolları, fotosentezin birkaç önemli bileşenidir ve bunlardan herhangi birine verilen zarar, bir bitkinin genel fotosentetik mekanizmasını engellemek için yeterlidir (Mathur vd., 2014). Yüksek sıcaklıkların fotosentetik membranlar üzerindeki spesifik bir etkisi de, grana yığınlarının şişmesini ve anormal bir istiflemeyi içerir. Bu tür yapısal değişikliklere, sıcaklığa maruz kalan yaprak hücrelerinden iyon sızıntısı ve fotosistemlere enerji dağılımındaki değişiklikler eşlik eder (Bita ve Gerats, 2013).

Zarlar, bitkilerin metabolik faaliyetlerine doğrudan veya dolaylı olarak katıldıkları için bitki hücre yapısında ve metabolizmasında merkezi bir rol oynarlar (Hamada, 2001). İyon sızıntısı, sağlam bitki hücrelerinde stres tepkisinin ayırt edici özelliğidir. İyon sızıntısı farklı türler, dokular ve hücre türleri arasında her yerde bulunur ve patojen saldırısı, tuzluluk, ağır metaller, oksidatif stres, yüksek toprak asitliği (pH <4), yaralanma, su basması, kuraklık, sıcaklık gibi tüm temel stres faktörleri tarafından tetiklenebilir (Demidchilk vd., 2014). İyon sızıntısı, hücre zarı termostabilitesini ölçmenin etkili bir yoludur ve çeşitli bitkilerde doğrudan sıcaklık zararının bir göstergesi olarak kullanılmıştır (Arora vd., 1998). Potasyum (K⁺) iyonunun ozmotik ayarlamada önemli bir rol oynadığının bilindiği ve sızıntısının genellikle membranların stabilitesi ve bütünlüğü için bir kriter olarak kullanıldığı bildirilmiştir. Hamada (2001) yaptığı çalışmada bakla bitkilerinin yaprak dokularında K⁺ akışının, şiddetli sıcaklık artışına tepki olarak arttığını

tespit etmiştir. Bakla bitkisinde 48 saat süre ile 38°C yüksek sıcaklık uygulamasının iyon sızıntısını arttırdığı gözlenmiştir (Siddiquie vd., 2018). Benzer şekilde *Agrostis palustris* Huds. bitkisinde yüksek sıcaklığın iyon sızıntısını arttırdığı belirlenmiştir (Liu ve Huang, 2000a). Yaprak dokularındaki bağıl su içeriği ölçümleri, genellikle bitkilerin su durumunu değerlendirmek için kullanılır. Yaprak suyunun durumu; yaprak turgoru, büyüme, stomatal iletkenlik, terleme, fotosentez ve solunum gibi çeşitli yaprak fizyolojik değişkenleriyle yakından ilişkilidir (Yamasaki ve Dillenburg, 1999). ‘Camarosa’ çilek çeşidinde yapılan çalışmada kademeli sıcaklık stresi (GHS) nin ve şok sıcaklık stresi (SHS) nin yapraklarda iyon sızıntısı yüzdesini sıcaklık arttıkça arttırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca 45°C de SHS’ye maruz kalan bitkilerin iyon sızıntısının (%86,7) GHS’ye maruz kalan bitkilerin iyon sızıntısına (%64,3) oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Gulen ve Eris, 2004). Sıcaklık stresi altındaki iki serin mevsim çim türünde yapılan çalışmada sıcaklık stresi seviyelerindeki artışla birlikte YOSK’un azaldığı gözlenmiştir. (Xu vd., 2006). Yüksek sıcaklık stresine maruz kalan ‘Gemlik’ zeytin çeşidinde YOSK nın önemli ölçüde azaldığı gözlenmiştir (Cansev, 2012). Sıcaklığa duyarlı ve tolerant nohut genotipleri ile yapılan çalışmada sıcaklık stresi nedeniyle iyon sızıntısının sıcaklığa duyarlı genotiplerin yapraklarında sıcaklığa tolerant genotiplere göre daha fazla arttığı ve YOSK’un sıcaklığa duyarlı genotiplerde daha fazla azaldığı tespit edilmiştir (Kaushal vd., 2013). Bazı çilek çeşitlerinde yapılan çalışmada tüm çeşitlerde, YOSK’un kademeli artan sıcaklık uygulamasıyla kontrolden (30°C) en yüksek sıcaklığa (50°C) kadar düştüğü gözlenmiştir (Kesici vd., 2013). Sıcaklık stresi ve zar fonksiyonları arasındaki ilişkinin, bitki genotipleri arasındaki sıcaklık toleransındaki farklılıkların değerlendirilmesinde kullanıldığı belirtilmiştir (İbrahim, 2011). Turhan vd. (2014) ‘Çaltı’, ‘Pembe’ ve ‘Yaren’ domates çeşitlerinde ilk çiçeklenme ve verim dönemlerinde kademeli olarak artan yüksek sıcaklık uygulamasında iyon sızıntısı ve turgor kaybı değerlerinin sıcaklıklara paralel olarak arttığını tespit etmişlerdir. Araştırmacılar sıcaklık artışıyla beraber iyon sızıntısı ve turgor kaybının verim döneminde, ilk çiçeklenme dönemine göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Yüksek sıcaklığa toleranslı ve duyarlı genotipleri belirlemek amacıyla 10 farklı bakla genotipi ile yapılan çalışmada tüm genotiplerde iyon sızıntısının artan sıcaklık seviyeleri ile arttığı, YOSK’un ise azaldığı tespit edilmiştir (Siddiquie vd., 2015).

Yeryüzündeki yaşam, esas olarak karbon ve ışık enerjisinin fotosentez yoluyla bağlanmasına ve sonucunda oksijen üretimi ile birlikte enerji açısından zengin şeker

moleküllerinin oluşmasına bağlıdır (Sami vd., 2016). Fotosentez sırasında üretilen şekerler, karbon ve enerji metabolizmasının substratlarıdır ve bitkilerde nişasta ve selüloz gibi polisakkaritlerin biyosentezinde kullanılır (Gupta ve Kaur, 2005). Son yıllarda, şekerlerin ve karbonhidratların, abiyotik strese karşı bitki toleransı geliştirmek için potansiyel faktörler olarak ortaya çıktığı bildirilmiştir. Şekerler kimyasal olarak aktif biyomoleküllerdir ve fotosentez, solunum, tohum çimlenmesi, çiçeklenme, yaşlanma vb. gibi önemli fizyokimyasal mekanizmalarda rol oynarlar. Bu nedenle, bitkilerdeki şeker bileşiminin veya konsantrasyonunun modüle edilmesi, bitkilerin abiyotik strese karşı tepkilerini veya adaptasyonunu geliştirebilir. Şekerler, bitkilerde abiyotik stres toleransı sırasında depolama, taşıma, yapısal ve enerji molekülleri olmalarının yanı sıra sinyal mekanizmaları olarak da görev yaparlar. Bitkilerdeki şeker sinyalizasyonu şeker algılama, sinyal iletimi ve hedef genlerin ifadesini içerir (Gangola ve Ramadoss, 2018). Sinyal molekülleri olarak şekerler, tohum çimlenmesinden tohum gelişimine kadar büyümenin tüm aşamalarında bitkileri etkiler (Gupta ve Kaur, 2005). Sukroz ve glukoz, bitkilerde ayrı ayrı oksin sentezi veya sinyal iletimi için önemlidir. Şekerler, abiyotik stres toleransı sırasında reaktif oksijen türlerini (ROS) temizleyici, ozmoprotektan ve sinyal molekülü rolleriyle kategorize edilmiştir (Gangola ve Ramadoss, 2018). Sıcaklık ve kuraklık altında, şeker yetersizliğinin, meyve ve tohum kaybına yol açtığı bilinen bir faktördür (Liu, 2015). Şeker metabolizmasının iyileştirilmesi, bitkilerde üreme ile ilgili gelişim döneminde sukroz eksikliğini azaltmaya yardımcı olabilir ve böylece tohum / meyve tutumunu geliştirir (Liu vd., 2019).

Yüksek sıcaklık altındaki bir zararlanma mekanizması; süperoksit radikali (O_2^-), hidroksil radikali (OH \cdot), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve singlet oksijen (1O_2) gibi ROS'ların fazla üretimini kapsar (Yin vd., 2008). Reaktif oksijen türlerinin hızlı oluşumu farklı biyotik ve abiyotik streslere karşı genel bitki tepkisini ifade eder (Sewelam vd., 2016). Bitkinin abiyotik strese maruz kalması, hücrede ROS üretimini artırarak hücrel redoks homeostazının bozulmasına ve lipidler, proteinler ve nükleik asitler gibi önemli biyomoleküllerin bozulmasına neden olur. Bitki hücrelerindeki bu durum oksidatif stres olarak adlandırılır (Gangola ve Ramadoss, 2018). Yıllar içinde, bitkide hem zarar veren hem de sinyal veren bileşikler olarak ROS' un ikili bir rolü olmuştur (Keunen vd., 2013). Oksidatif stresle baş edebilmek için bitkiler genellikle enzimatik veya enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemine güvenirlir (Fahad vd., 2017).

Ön sıcaklık uygulaması yapılarak sıcaklığa alıştıırılan ve ön işlem yapılmadan direk sıcaklığa maruz bırakılan bahçe çimi çeşidinin yapraklarında önemli ölçüde H_2O_2 ve O_2^- birikimi gözlenmiştir. Bu birikimin sıcaklığa alışmış olan yapraklarda sıcaklığa alışmamış yapraklara göre daha düşük olduğu belirlenmiştir (Xu vd., 2006). Bitkilerdeki antioksidan sistem, geleneksel olarak C ve E vitaminlerini, çeşitli fitokimyasal sınıfları (flavonoidler, terpenoidler, karotenoidler vb.) ve katalaz (CAT), süperoksit dismütaz (SOD) ve peroksidaz (POX) gibi enzim bazlı sistemleri içerir. Süperoksit dismütaz, POX ve CAT gibi enzimler ya doğrudan ROS'u temizler ya da enzimatik olmayan savunmayı yöneterek bitkileri dolaylı olarak korur (Fahad vd., 2017). Antioksidanlar, üç farklı mekanizmayı izleyerek ROS'u temizler. Bunlar; elektron transferi, hidrojen atom transferi ve radikal ekleme reaksiyonudur (Gangola ve Ramadoss, 2018). Çilek bitkisinde yapılan çalışmada yüksek sıcaklık koşullarında toleranslı çeşidin CAT, askorbat peroksidaz (APX) ve POX gibi enzim aktivitelerini arttırarak antioksidatif savunma sistemini harekete geçirdiği saptanmıştır (Ergin, 2012). Siddiqui vd. (2015) baklada yüksek sıcaklık stresi koşullarında antioksidan enzimlerin (POX, CAT ve SOD) aktivitelerinin, tüm genotiplerde artan sıcaklıkla önemli ölçüde arttığını tespit etmişlerdir. Araştırmacılar antioksidan enzim aktivitelerinin artmasıyla prolin içeriğinin birikimini arttırarak sıcaklığa tolerant genotiplerin daha iyi ozmotik uyum ve serbest radikallerden korunmaya sahip olabileceğine dikkat çekmişlerdir. Benzer şekilde altın kavakta $45^{\circ}C$ 'de yapılan çalışmada yüksek sıcaklık stresinin H_2O_2 'nin hücrel konsantrasyonunu ve antioksidan enzimlerin aktivitelerini arttırdığı tespit edilmiştir (Ren vd., 2019). Bununla birlikte, son yıllarda bitkilerdeki şekerler yeni bir antioksidan molekül sınıfı olarak ortaya çıkmıştır. Yaygın disakkaritler sukroz, trehaloz, maltoz ve laktoz, *in vitro* olarak önemli bir serbest radikal sönmleme etkisi gösterirler (Gangola ve Ramadoss, 2018). Luo vd. (2008) buğdayda yüksek sıcaklık stresi altındaki trehalozun konsantrasyona bağlı olarak H_2O_2 ve O_2^- i büyük ölçüde uzaklaştırdığını tespit etmişlerdir. Glukoz ile ön işlemden geçirildikten sonra yüksek sıcaklık uygulanan hıyarda glukoz ile ön işlemin O_2^- ve H_2O_2 içeriğini açıkça azalttığı gözlenmiştir. Ayrıca sıcaklık stresinin bazı antioksidan enzimlerin aktivitelerini, prolin ve çözünebilir şekerlerin içeriğini arttırdığı tespit edilmiştir. Araştırmacılar glukoz ile ön işlemin, artan antioksidan aktivitesi, prolin ve çözünebilir şeker içeriği ile fidelerin sıcaklık toleransını arttırdığı ve ROS'ların birikimini önlediği sonucuna ulaşmışlardır (Huang vd., 2015). Çözünebilir şekerlerin oksidatif stres ile ilgili farklı biyotik ve abiyotik stres koşulları sırasında biriktiği ve ayrıca bitkilerde şekerler ile stres kaynaklı

ROS birikimi arasındaki bir ilişkiye işaret ettiği bildirilmiştir (Keunen vd., 2013). Güve fasulyesinde kısa süreli sıcaklık stresinin, osmoprotektan ve antioksidanlar üzerindeki etkisini bulmak amacıyla yapılan çalışmada sıcaklık stresi altında genotiplerin çoğunda artan CAT, guaiakol peroksidaz (GPOX) ve SOD aktivitesi ile birlikte toplam şeker ve prolinin aşırı biriktiği tespit edilmiştir (Harsh vd., 2016). Çözünebilir şekerlerin ROS'lara göre ikili bir rolü vardır. Ya metabolik yollar üreten ROS'lara dahil olabilirler, ya da aynı zamanda oksidatif pentosefosfat (OPP) yolağı gibi nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) üreten metabolizmayı da yönlendirebilirler ve böylelikle ROS'ların temizlenmesine katkıda bulunabilirler. Bununla birlikte, ortaya çıkan "antioksidan olarak şeker" kavramında, şekerlerin, özellikle de zarla etkileşime girenlerin, bitkide gerçek ROS temizleyicileri olarak da görev yapabileceğinin giderek daha açık hale geldiği bildirilmiştir (Keunen vd., 2013).

Abiyotik stresler, özellikle kuraklık, sıcaklık ve tuzluluk, bitki hücrelerinin dehidrasyonuna neden olarak, art arda bozulmuş hidrofilik etkileşime, biyomolekül yapısının bozulmasına (özellikle protein denatürasyonu), organellerin çökmesine ve hücre zarlarının dengesinin bozulmasına yol açabilen ozmotik strese neden olur (Gangola ve Ramadoss, 2018). Ozmotik stresin metabolik sonuçlarından biri, yüksek düzeyde çözünebilir olan ve yüksek hücrel konsantrasyonlarda bile toksik olmadıkları için normal metabolik reaksiyonlara müdahale etmeyen, uyumlu çözücüler olarak da bilinen düşük moleküler ağırlıklı organik bileşikler olan ozmolitlerin birikmesidir. Ozmolitlerin etki şeklini belirleyen birikim süreçleri, biyosentetik ve katabolik yolların koordineli düzenlenmesinin sonucudur. Ozmolitlerin hücrel seviyeleri büyüme dönemine, gelişme aşamasına, bitki kısmına ve çevresel parametrelere göre değişebilir (Slama vd., 2015). Çözünebilir karbonhidratlar ozmotik strese yanıt olarak sentezlenir, hücrel zarları stabilize eden ve turgoru koruyan osmoprotektanlar olarak görev yapar. Çözünebilir şekerler, fotosentez, mitokondriyal solunum ve yağ asidi β -oksidasyonu ile yakın ilişkileri sayesinde hücrel redoks dengesinde merkezi bir konuma sahiptir (Keunen vd., 2013). Bitkilerde sukroz, trehaloz, RFO ve fruktanlar da dâhil olmak üzere şekerlerin önemli bir grubu oluşturduğu pek çok osmoprotektan tanımlanmıştır. Şekerlerin hidroksil grupları, bitki hücrelerindeki hidrofilik etkileşimleri sürdürmek için su moleküllerinin yerini alabilir; bu, dehidrasyon sırasında doğal makromolekülleri ve zar yapısını stabilize etmek için çok önemlidir (Gangola ve Ramadoss, 2018). Arabidopsiste kuraklık ve sıcaklık stresi

kombinasyonuna maruz kalan bitkilerde sukroz, maltoz ve glukoz gibi şekerlerin biriktiği tespit edilmiştir. Ayrıca prolin ve glisin betain gibi bileşiklerin birikiminin orta düzeyde su stresine eşlik ettiği, buna karşın sukroz gibi şekerlerin birikiminin şiddetli bir su stresine eşlik ettiği, sukrozun temel ozmoprotektan olarak görev yaptığı tespit edilmiştir (Rizhsky vd., 2004). Osmoprotektan şekerlerin birikimi, bitki hücresindeki iyon bölünmesini ve homeostazı sürdürmesine bağlanmıştır, bu nedenle uygun hücre fonksiyonlarının sürdürülmesine ve abiyotik stres toleransının artırılmasına yardımcı olur (Gangola ve Ramadoss, 2018). Yüksek sıcaklığa (35/25°C) maruz bırakılan iki *Agrostis palustris* Huds. çeşidinin (L-93 ve Pencross) sürgünlerindeki (yapraklar ve gövdeler) ve köklerindeki toplam yapısal olmayan karbonhidrat, fruktan, nişasta, glukoz ve sukroz konsantrasyonlarının azaldığını belirlemişlerdir. Sürgünlerin karbonhidrat konsantrasyonlarındaki azalmanın, köklerinkinden daha belirgin olduğu gözlenmiştir. L-93 çeşidinin Pencross çeşidinde göre önemli ölçüde daha yüksek glukoz ve sukroz muhafaza ettiği ve bu sebeple sıcaklık stresi sırasında yüksek karbonhidrat mevcudiyetinin, (özellikle glukoz ve sukroz), sıcaklık-stres toleransı ile ilişkili önemli bir fizyolojik özellik olduğunu tespit etmişlerdir (Liu ve Huang, 2000b). Domateste sıcaklığa duyarlı ve tolerant çeşitlerde yapılan çalışmada yüksek sıcaklık koşullarının sıcaklığa duyarlı çeşitlerde anthesisden 3 gün önce gelişen polen tanelerinde nişasta konsantrasyonunda belirgin bir azalmaya ve olgun polen tanelerinde toplam çözünebilir şeker konsantrasyonunda paralel bir azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. Ancak sıcaklığa tolerant çeşitlerde anthesisden 3 gün önce nişasta birikimi ve anthesisde çözünebilir şeker konsantrasyonunun sıcaklık stresinden etkilenmediği gözlenmiştir. Araştırmacılar gelişmekte olan ve olgun domates polen tanelerinin karbonhidrat içeriğinin polen kalitesinin belirlenmesinde önemli bir faktör olabileceği ve sıcaklığa toleranslı çeşitlerin, sıcaklık stresi altında uygun karbonhidrat içeriğini korumak için bir mekanizmaya sahip olduğunu bildirmişlerdir (Firon vd., 2006). Han vd. (2013) yüksek sıcaklık stresi koşullarında marul fidesi çeşitlerinde yaptıkları çalışmada yüksek sıcaklıkta çözünebilir şeker içeriğinin arttığını tespit etmişlerdir. On beş farklı yonca çeşidinde yapılan çalışmada 7 gün 38/35°C gündüz/gece yüksek sıcaklık uygulamasında tüm çeşitlerde çözünebilir şeker içeriğinin arttığı tespit edilmiştir. Ancak sıcaklığa toleranslı çeşitlerde daha fazla artış tespit edilmiştir. Araştırmacılar daha fazla artış gözlenen çeşitlerin ozmotik potansiyellerini korumak için daha yüksek çözünebilir şeker ürettikleri ve bu şekilde sıcaklık stresi altında proteinleri ve hücresel yapıları organize ederek sıcaklık toleransını artırdıklarına dikkat çekmişlerdir (Wassie vd., 2019).

Sukroz metabolizması sadece bitki gelişimi için değil, aynı zamanda abiyotik stres tepkileri için de merkezidir. Temel mekanizmaları anlamak, kuraklık, sıcak ve soğuk gibi streslere karşı toleransı iyileştirmek için çok önemlidir (Ruan, 2014). Kimyasal aktivitesi kısıtlı, indirgenmeyen bir şeker olan sukroz, bitkilerin çoğunda ana taşıma ve depolama molekülüdür (Gangola ve Ramadoss, 2018). Sukrozun tipik bir ozmoprotektan olarak işlev gördüğü, hücrel zarları stabilize ettiği ve turgoru koruduğu düşünülmektedir. Kolayca metabolize edilebilen bir şeker olan sukroz, rehidrasyon üzerine anında enerji kaynağı görevi görebilir (Peshev ve Van den Ende, 2013). Fotosentetik olmayan dokularda, taşınan sukroz, amino asitler, nükleotidler ve yapısal karbonhidratlar gibi organik maddelerin üretimi için enerji ve karbon iskeletlerinin yanı sıra birçok metabolik yolun hammaddesidir (Seghal vd., 2017). Bir sukroz molekülü, α (1→2) glikosidik bağ ile birleştirilmiş bir glukoz ve bir fruktoz molekülünden oluşur (Gangola ve Ramadoss, 2018). Sukroz, sitozolde iki enzim tarafından sentezlenir: Sukroz fosfat sentaz (SPS) ve sukroz fosfat fosfataz (SPP) (Ruan, 2014). Sukroz fosfat sentaz, hücre zarı bütünlüğünü ve stres altında hücrel işlevi korumada ozmoprotektan olarak rol oynayabilen sukroz üretme işlevi görür (Ruan vd., 2010). Su stresi ve sıcaklık gibi çevresel faktörler SPS aktivitesini etkiler (Lafta ve Lorenzan, 1995). Yüksek sıcaklık stresi ayrıca SPS, ADP-glukoz pirofosforilaz ve invertaz (INV) aktivitelerini azaltarak nişasta ve sukroz sentezlerini olumsuz etkiler (Xolxo vd., 2020). Sukroz parçalanması ise sukroz sentaz (SuSy) veya INV ile katalize edilir (Ross vd., 1996). Sukroz sentaz, şeker metabolizmasında, özellikle de depo dokularında anahtar rol oynayan bir glikozil transferaz enzimidir. Sukroz sentaz, sukrozun fruktoz ve üridin difosfat glukoz (UDP-G) veya adenzin difosfat glukoz (ADP-G) olarak tersinir bölünmesini katalize eder. Sukroz sentazın sukroz parçalanmasının ürünleri, enerji üretimi, birincil metabolit üretimi ve kompleks karbonhidratların sentezi gibi birçok metabolik yolak için kullanışlıdır (Stein ve Granot, 2019). Sukroz sentaz, birçok dokudaki sukroz bölünmesi için ana katalitik enzim olarak kabul edilir ve aktivitesi, bitkilerde depo dayanıklılığı için biyokimyasal bir işaret olarak kullanılabilir (Lafta ve Lorenzan, 1995). Sukroz sentazın aktivitesi sıcaklığa duyarlı genotiplerde azaltılabilir ve ayrıca sıcaklık stresi yaşandığında karbonhidratın köklerden sürgünlere bölünmesini değiştirerek genel verimi etkiler. Yüksek sıcaklık stresi, endospermdeki nişastanın önemli bir bileşeni olan amilopektin sentezi için gerekli olan SuSy aktivitesini azaltır. Endosperm gelişimi sırasında yüksek sıcaklık, asimilasyon hızı, translokasyon ve tane doldurma süresi ortam sıcaklığındaki değişikliklerden doğrudan etkilendiği için, önemli bir verim sınırlayıcı

faktördür. Yüksek sıcaklık altında değişen SuSy aktivitesinin de nişasta granül sentezini parçalayıp bozduğu bildirilmiştir (Xolxo vd., 2020). İvertazlar, optimum pH larına göre asidik veya nötr / alkali olarak kategorize edilebilir. Asit INV'lerin genellikle vakuol ve / veya hücre duvarı içinde lokalize olduğu düşünülmektedir (Ross ve Davies, 1992). Alkalın INV'lerin ise sitozolik bir enzim olduğu düşünülmektedir (Ross vd., 1996). Alkali / nötr INV'ler bitkilerde abiyotik stres toleransı ile ilişkilendirilmiştir. İvertazlar, sukrozu glukoz ve fruktoz birimlerine katabolize eder (Valluru ve Van den Ende, 2011). Mitokondri veya sitozoldeki INV'ler ile katalize edilen reaksiyonlar sırasında sentezlenen glukoz, ROS'ların homeostazını destekleyen heksokinaz (HXK) aktivitesini korur (Gangola ve Ramadoss, 2018). İvertaz sadece bitkilere karbon besinleri sağlamada merkezi değil, aynı zamanda şeker sinyalleme ve gelişiminde de önemli roller oynar. İvertaz ve SuSy'nin karbon metabolizmasındaki merkezi rolü ve karbonhidratların bitkilerdeki biyokütle veriminin yaklaşık %90'ını oluşturduğu gerçeği göz önüne alındığında, sukroz metabolizmasının sinyal verme rolünün altında yatan mekanizmaların aydınlatılması, yalnızca temel biyolojiyi ilerletmekle kalmaz, ürün verimini artırmak için yenilikçi çözümler vaat eder (Ruan, 2012).

Önemli bir baklagil olan baklanın özellikle kurak ve yarı kurak bölgelerde yetiştirilmesi uygun değildir. Çünkü bakla, neme ve yüksek sıcaklığa çok duyarlı olduğu için kuraklığa ve sıcaklığa yeterince dayanıklı değildir (Siddiqui vd., 2015). Hamada (2001) baklada yüksek sıcaklık (42°C) şoku koşullarında sürgünlerinin çözünebilir şeker içeriğinin azaldığını, köklerin ise çözünebilir şeker içeriğinin arttığını tespit etmiştir. Yapraktaki sukroz konsantrasyonunun belirli bir eşik seviyesinin üzerinde artması, nişasta birikimini artırabileceğinden ve dolayısıyla fotosentez oranında bir düşüşe ve bu organa daha yüksek bir taşınma oranına ulaşarak depo bölgesinde sukroz konsantrasyonunun azalmasına yol açabilir. Bu azalmanın, daha yüksek sukroz seviyeleri ve daha düşük nişasta oranları ile ilişkili olduğu bu nedenle nişasta sentezi oranında sıcaklıkla ilişkili bir düşüş olduğu belirlenmiştir. Das vd. (2017), soya fasulyesinde 43/35°C yüksek sıcaklık koşullarında yaptıkları çalışmada yapraklarda maltoz ve sukroz konsantrasyonlarının iki kattan fazla azaldığını tespit etmişlerdir. Düşük şeker konsantrasyonu nedeniyle, şekerlerin üreme hücrelerine taşınmasının büyük ölçüde etkilenebileceği ve bu sebeple gametofitin zayıf gelişmesine neden olabileceğini bildirmişlerdir. Pamuk bitkisinde 40°C sıcaklıktaki sukroz metabolizmasında meydana gelen değişimler incelenmiş ve yüksek sıcaklığın

karbonhidrat konsantrasyonu ve sukroz indirgeyici enzimlerin aktivitelerinde artışa sebep olduğu gözlenmiştir. Enzim aktivitelerindeki artış stres koşulları altında artan enerji ihtiyacı ile ilişkilendirilmiştir (Loka vd., 2020). Sukroz birikimi, bitkilerde hormonlar ve sirkadiyen saatler tarafından düzenlenen sukroz sentezleyen ve parçalayan enzimler arasındaki denge ile belirlenir (Valluru ve Van den Ende, 2011). Patateste yapılan çalışmada sıcaklık stresinin yaprak sukroz birikimini arttırdığı ve olgun yapraklarda nişasta birikimini azalttığı, ancak glukozu etkilemediği belirlenmiştir. Yüksek sıcaklığa maruz kalan bitkilerin olgun yapraklarında ise SPS aktivitesinin önemli ölçüde arttığı gözlenmiştir (Lafta ve Lorenzan, 1995). *Brassica campestris* L. genotiplerinde (WS-1 ve WS-6) yüksek sıcaklık koşulları altında yapılan çalışmada sıcaklığa tolerant olan WS-1 çeşidinin toplam çözünebilir şeker içeriğinin sukroz, fruktoz ve nişasta içerikleri de dâhil olmak üzere en yüksek seviyeye ulaştığı tespit edilmiştir. Araştırmacılar enzimlerde gözlenen değişimler (yüksek Asit INV, düşük SuSy aktivitesi) sonucunda sukrozun yapraklarda sentezine kıyasla daha hızlı kullanıldığına dikkat çekmişlerdir (Yuan vd., 2017). Tohum doldurma sırasında sukroz metabolizmasının, tohum gelişiminin temel yönlerini düzenleyen heksoz-sukroz dengesinde önemli bir rol oynadığı için yapraklarda ve tohumlarda çok önemli olduğu bildirilmiştir (Seghal vd., 2017). Yapraklarda ve tohumlarda sentezlenen sukroz, tohum doldurma için kullanılır. Mercimek genotiplerinde sıcaklık ve kuraklık streslerinin ayrı ayrı ve birlikte uygulandığı çalışmada tek başına veya kombine işlem olarak uygulanan sıcaklık ve kuraklık stresinin bir sonucu olarak fotosentezdeki bozulmaların, yapraklarda ve tohumlarda sukroz ve nişasta üretimini azalttığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda, yapraklarda ve tohumlarda nişasta hidrolizinin arttığı ve bu sebeple indirgen şekerlerin birikmesine neden olduğu belirlenmiştir. İnvertaz etkisinin bir sonucu olarak üretilen indirgeyici şekerlerin, osmoregülasyonda hareket ettiği bildirilmiştir (Seghal vd., 2017). Sukroz, depo dokularına ulaştıktan sonra birkaç farklı yolla depo hücrelerine girebilir (Stein ve Granot, 2019). Sukroz, floem hücrelerine ve depo dokularında simplastik veya apoplastik olarak yer değiştirebilir; burada, tonoplastta taşıyıcılar tarafından vakuolde depolanabilir veya INV ile glukoz ve fruktoz halinde hidrolize edilebilir (Gangola ve Ramadoss, 2018). Diğer yandan, sıcaklık stresi sukrozun yer değiştirmesine engel olabilir ve nişasta rezervlerini tüketen INV aktivitesini azaltabilir ve üreme organlarında heksozlarda belirgin bir azalmaya neden olarak kayba neden olabilir (Xolxo vd., 2020). İki farklı çeltik genotipinde yapılan çalışmada bitkiler farklı sıcaklık rejimlerine maruz bırakılmak için iki farklı tarihte ekilmiştir. Yüksek sıcaklık koşullarında

erken ekilen bitkilerde sukroz içeriğinde önemli artış, SuSy enzim aktivitesinde azalma ve asit INV aktivitesinde artış gözlenmiştir. Erken ekilen bitkilerde SuSy aktivitesindeki azalma sonucunda sukrozun bölünmesine olanak sağlamadığı için SuSy aktivitesinin azalmasının nişasta sentezini kısıtladığı tespit edilmiştir. Erken ekim bitkilerinde daha yüksek sukroz birikimi, dane doldurma sırasında depo organları için sukroz varlığının sınırlı olmadığı sonucuna ulaşılmıştır (Sharma ve Sharma, N., 2018).

Sıcaklık stresine duyarlı ve toleranslı olan iki patetes çeşidinin sürgünlerinde SuSy ve INV'lerin enzim aktivesi, 21/19°C'ye adapte edilmiş ve bir kısmı da 3 gün boyunca 29/27°C' ye maruz bırakılmış ve sonra olgun yapraklar, genç yapraklar ve bitkilerin gövdeleri için belirlenmiştir. Büyüyen genç yapraklarda yüksek sıcaklıkta SuSy aktivitesinde %49 artış olduğu gövdede ve olgun yapraklarda nispeten küçük değişiklikler olduğu belirlenmiştir. Büyüyen genç yapraklarda, yüksek sıcaklıkta asit ve nötr INV aktivitesinde sırasıyla %40 ve %71 oranında büyük bir artış olduğu gözlenmiştir. Üç gün yüksek sıcaklığa maruz kalan olgun yapraklarda SPS aktivitesinin arttığı belirlenmiştir. İnvertaz aktivitelerindeki artışın, patatesin genç depo yapraklarında sukroz katabolizmasının baskın olduğunu gösterdiği bildirilmiştir (Lorenzan ve Lafta, 1996). Sıcaklığa tolerant ve duyarlı nohut genotiplerinde yapılan çalışmada Rubisco'nun, SPS ve SuSy ile birlikte, sıcaklık stresi nedeniyle yapraklarda önemli ölçüde azaldığı ve bunun da sukroz içeriğinin azalmasına yol açtığı tespit edilmiştir. Sukroz parçalayan bir enzim olan INV'nin de SPS ve SuSy ile birlikte inhibe edildiği gözlenmiştir. Bu enzimlerin inhibisyonunun, sıcaklığa duyarlı genotiplerde önemli ölçüde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda, bu genotiplerin anterlerinin, önemli ölçüde daha az SPS ve SuSy aktivitesine ve dolayısıyla sukroz içeriğine sahip olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar, polenin önemli ölçüde daha düşük sukroz seviyelerine sahip olduğu, bu yüzden polen fonksiyonunun azalmasına, döllenenin bozulmasına ve sıcaklığa duyarlı genotiplerde zayıf tohum zarfı oluşumuna neden olduğuna dikkat çekmişlerdir (Kaushal vd., 2013).

3. MATERYEL VE YÖNTEM

Bakla bitkisinde yüksek sıcaklık stresi koşullarında sukroz metabolizmasındaki değişimlerin incelendiği bu çalışma; 2019-2021 yıllarında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü sera ve laboratuvarlarında yürütülmüştür.

3.1. Materyal

Denemede 'Sakız bakla' çeşidi kullanılmıştır.

Sakız Bakla: Tanesi yassı, krem renkli ve siyah hilumludur. Ortalama verimi 200-400 kg/da arasında değişmektedir. Bitki tipi dik, bitki boyu 59 cm ve ilk bakla yüksekliği 21 cm'dir. Çiçeklenme gün sayısı ise 84-99 gün arasında değişmektedir (Koç, 2016).

3.2. Yöntem

3.2.1. Denemenin kuruluşu

Denemede yetiştirme ortamı olarak; torf ve perlit (1:1) karışımı kullanılmıştır. Hazırlanan karışım viyollere doldurulduktan sonra tohum ekimi yapılmıştır. Fideler 5-6 yapraklı döneme gelinceye kadar günlük sulama yapılmıştır ve ortalama 3 hafta boyunca ~%60 oransal nemde, 15/25°C (gece/gün) sıcaklıkta kontrollü serada yetiştirilmiştir (Siddiqui vd., 2015).

3.2.2. Yüksek sıcaklık uygulamaları

Kontrollü koşullarda yüksek sıcaklık uygulamaları için serada yetiştirilen bakla bitkileri laboratuvardaki iklimlendirme kabine (DAIHAN WGC-1000, South Korea) yerleştirilmiştir. Kabinde %65 nem ve 450 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ışık şiddeti (16 saat) uygulanarak kabinin sıcaklığı 25°C' den başlayarak 30, 35, 40, 45°C'ye kadar yükseltilmiş ve bitkiler her bir sıcaklık derecesinde 24 saat tutulmuştur. Sıcaklık uygulamaları sonucunda

bitkilerin görünümü Şekil 3.1’de verilmiştir. Deneme 3 tekerrürlü olarak ve her tekerrürde 3 bitki olacak şekilde kurulmuştur. Her sıcaklık kademesinde bitkilerden alınan yaprak örneklerinin bir kısmı hücre membran zararlanma oranı, yaprak oransal su kapsamı (YOSK), turgor kaybı (TK), ölçümlerinde ve çözünebilir şeker miktarlarının belirlenmesinde kullanılırken diğer kısmı ise sukroz metabolizmasında yer alan enzimlerin analizleri için -80°C 'de derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.1. ‘Sakız’ bakla çeşidine ait fidelerin yüksek sıcaklık uygulamaları sonrası görünümü. a)Kontrol b)30°C c)35°C d) 40°C e)45°C

3.2.3. İncelenen parametreler

3.2.3.1. İyon sızıntısı oranı

İyon sızıntısı oranı ve yüksek sıcaklık toleransı, Arora vd. (1998)'nin yöntemine göre belirlenmiştir. Yüksek sıcaklık toleransının belirlenmesi amacı ile yapılan uygulamada, her sıcaklık kademesi için 5'er tekerrür olmak üzere bakla bitkilerinden 1,5 cm'lik yaprak diski alınmıştır ve diskler önce saf suda yıkayıp ardından havlu peçete ile kurularak her tüpe 1 yaprak diski olacak şekilde deney tüplerine aktarılmıştır. Yaprak disklerinin üzerine 10 mL saf su eklenmiştir. Örnekler gece boyunca orbital çalkalayıcıda (Thermo SCIENTIFIC,4334,USA) inkübasyona bırakılmıştır. Meydana gelen iyon sızıntısının belirlenmesi amacıyla örneklerin elektriksel iletkenliği EC metre (Mettler-Toledo, SevenCompact Conductivity S230, Switzerland) ile ölçülerek ilk okuma değerleri kaydedilmiştir. Daha sonra örnekler otoklavda (ALP, CLG-32L, Japan) 121°C'de 15 dakika tutularak dokuların öldürülmesi sağlanmıştır. Otoklavdan çıkarıldıktan sonra örnekler 4 saat süre ile orbital çalkalayıcıda inkübasyona bırakılmış ve ardından oda sıcaklığında EC metre ile ikinci okuma yapılarak kaydedilmiştir. İyon sızıntısı 3.1 ve 3.2'deki formüllere göre hesaplanmıştır.

$$3.1: \% \text{ İyon sızıntısı} = (O.D_1/O.D_2) \times 100$$

O.D₁ = 1. Okuma Değeri,

O.D₂ = 2. Okuma Değeri

$$3.2: \% \text{ Zararlanma} = [(\text{İyon sız. (U.)} - \% \text{ İyon sız. (K} / 100 - \% \text{ İyon sız. (K.)}] \times 100$$

U= Uygulama

K= Kontrol

Bu yöntemle bakla bitkilerinin hücre membran zararlanma oranları yüzde (%) olarak hesaplanmıştır. Ayrıca LT₅₀ (Lethal temperature: bir popülasyondaki bireylerin % 50'sinin yüksek zarara maruz kaldığı veya öldüğü sıcaklık derecesi) değeri belirlenmiştir.

3.2.3.2. Yaprak oransal su kapsamı (YOSK) ve turgor kaybı (TK)

Yaprak oransal su kapsamı (YOSK) ve turgor kaybı (TK) analizleri yüksek sıcaklık stresine maruz bırakılan bakla bitkilerinde Barr ve Weatherley (1962)'e göre yapılmıştır. Alınan yaprak örneklerinden 1,5 cm çaplı 3'er disk çıkartılmıştır ve disklerin öncelikle taze ağırlıkları, 4 saat saf suda bekletildikten sonra turgor ağırlıkları ve 70°C' deki etüvde 24 saat tutulduktan sonra kuru ağırlıkları kaydedilmiştir. Elde edilen verilere göre YOSK ve TK hesaplanarak değerler % olarak ifade edilmiştir. Yaprak oransal su kapsamı ve TK değerleri 3.3 ve 3.4'deki formüle göre hesaplanmıştır.

$$3.3: YOSK = (Y. A. - K. A.) / (T. A. - K. A.)$$

$$3.4: TK = (T.A. - Y.A.) / T.A. \times 100$$

YOSK= Yaprak oransal su kapsamı

Y. A.= Yaş Ağırlık

K. A.= Kuru Ağırlık

TK= Turgor kaybı

T. A. = Turgor Ağırlığı

3.2.3.3. Çözünabilir şeker miktarlarının belirlenmesi

Çözünabilir şeker miktarlarının belirlenmesi için ekstraksiyon Turhan vd., (2006)'nin kullandığı yönteme göre yapılmıştır. Her bir sıcaklık kademesinden 5'er tekerrür olmak üzere alınan yaklaşık 100 mg yaprak örneği üzerine 5 mL etil alkol (%80'lik) ilave edildikten sonra 85°C sıcaklıktaki su banyosunda (WNB 14, Memmert, Almanya) 1 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra dokulardan ayrılan süspansiyon çıkarılmıştır. Bu işlem, 1 saat, 30 dk, 15 dk ve 15 dk olmak üzere 4 kez tekrarlanmıştır. Etil alkol solüsyonu, cam deney tüplerinde toplandıktan sonra, devamlı ventilasyon sağlanmak koşuluyla, 55°C'de su banyosunda uçurulmuştur. Deney tüplerinde kalan çökelti 1 mL saf suda çözdürüldükten sonra elde edilen örnekler okumalar yapılmaya kadar -20°C' de muhafaza edilmiştir.

Sukroz, glukoz, fruktoz ve maltoz miktarlarını belirlemek amacıyla şeker örnekleri öncelikle 4°C ve 10 000 g'de 5 dakika santrifüj yapılmıştır. Daha sonra süpernatant alınarak şeker analizlerinde kullanılmak üzere 0.45 µm çaplı filtrelerden geçirilmiştir.

Şeker miktarlarının belirlenmesinde 0-3000 mg/L arasında değişen standart solüsyonlar hazırlanmıştır. Çözünebilir şeker miktarları InterSustain NH₂ kolonu kullanılarak yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) (Shimadzu, Prominence LC-20A, Japonya) cihazı yardımıyla belirlenmiştir.

3.2.3.4. Enzim aktivite analizleri

Asit INV aktivitesi Aloni vd. (1991)'nin yöntemine göre belirlenmiştir. Yaklaşık 300-400 mg yaprak örneği; 25 mM N-(2-Hydroxyethyl)piperazine-N'-(2-ethanesulfonic acid) (HEPES) p.H 7,2, 5 mM magnezyum klorür (MgCl₂), 0,5 mM disodyumetilendiaminasetik asit (NaEDTA), 2 mM 1,4-dithiothreitol (DDT) ve antioksidan olarak 3 mM dietilditiokarbamik asit (DIECA) içeren 2 mL ekstraksiyon tamponu içerisinde buz üzerinde öğütülerek homojenize edilmiştir. Karışım plastik tüplere aktarılarak 4°C 10,000 rpm'de 20 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Süpernatant buz üzerinde tüplere aktarılmıştır. Daha sonra enzim içeren ve enzim içermeyen (şahit) 2 set tüp hazırlanmıştır. Dipotasyum fosfat (K₂HPO₄) çözeltisi (200 mL) üzerine pH 5 oluncaya kadar yaklaşık 100 mL sitrik asit ilave edilerek hazırlanan reaksiyon tampon çözeltisinden her tüpe 600 µL, 100 mM sukroz çözeltisinden 200 µL ve 200 µL enzim (şahit olarak hazırlanan tüpler hariç) ilave edilmiştir. Tüpler 37°C'de 1 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası enzim içeren tüplere 1 mL samner reaktifi (dinitrosalisilik asit) ilave edildi. Enzim içermeyen tüplere ise 200 µL enzim ve hemen ardından 1 mL samner reaktifi ilave edildi. %0.04 glukoz standart çözeltileri (0, 0,5 ve 1 mL glukoz saf su ile 1 mL'ye tamamlanmıştır) hazırlanmıştır ve standart çözeltiler üzerine 1 mL samner reaktifi ilave edilmiştir. Tüm tüpler 5 dakika boyunca kaynatıldıktan sonra spektrofotometrede 550 nm dalga boyunda ölçüm yapılmıştır.

Sukroz sentaz ve alkalın INV aktiviteleri Aloni (1996)'nin yöntemine göre belirlenmiştir. Yaklaşık 300-400 mg yaprak örneği üzerine 2 mL ekstraksiyon çözeltisi ve 2µL fenilmetilsülfonil florür (PMSF) ilave edilerek buz üzerinde öğütülerek homojenize edilmiştir. Ekstraksiyon çözeltisi (12,5 mM HEPES p.H 7,5, 2,5 mM MgCl₂, 0,25 mM NaEDTA, 2 mM DDT ve antioksidan olarak 3mM DIECA) 2'ye bölünüp yarısına 5 mg/L Bovine serum albumin (BSA) ilave edilerek hazırlanmıştır. Karışım plastik tüplerde 4°C 10,000 rpm'de yarım saat santrifüj edilmiştir. Süpernatant tüplere aktarılmıştır. Reaksiyon

tampon çözeltisi 200 mL K_2HPO_4 çözeltisi üzerine pH 7 oluncaya kadar yaklaşık 50 mL sitrik asit ilave edilerek hazırlanmıştır. Üç set tüp hazırlanmıştır. Birinci set tüplere; 600 μ L reaksiyon tampon çözeltisi, 200 μ L 1M sukroz çözeltisi, 200 μ L enzim ve 50 μ L 100 mM üridin difosfat (UDP) çözeltisi ilave edilmiştir. İkinci set tüplere; 300 μ L reaksiyon tampon çözeltisi, 100 μ L sukroz çözeltisi, 100 μ L enzim ve 25 μ L saf su ilave edilmiştir. Üçüncü set tüplere; 300 μ L reaksiyon tampon çözeltisi, 100 μ L enzim ve 125 μ L saf su ilave edilmiştir. Şahit tüplere ise enzim yerine saf su ilave edilmiştir. Örnekler 37°C'de yarım saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası her tüpe 0,5 mL samner reaktifi ilave edilmiştir. Glukoz standart çözeltileri (0, 0,5 ve 1 mL glukoz saf su ile 1 mL'ye tamamlanmıştır) hazırlanmıştır ve standart çözeltiler üzerine 1 mL samner reaktifi ilave edilmiştir. Tüm tüpler 5 dakika boyunca kaynatıldıktan sonra spektrofotometrede 550 nm dalga boyunda ölçüm yapılmıştır.

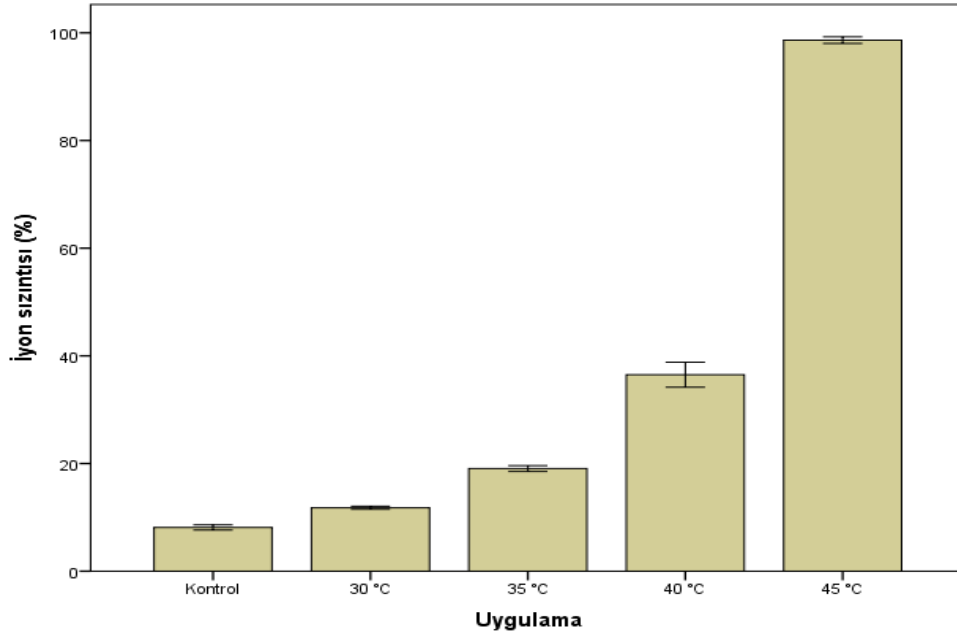
3.3. İstatiksel Analizler

Elde edilen sonuçlar “SPSS Statistics for Windows 28.0.1.1 versiyon nolu” istatistik programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Uygulamalar arasındaki farklılık “Duncan” testi ile 0,05 önem seviyesinde ortaya konulmuştur.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. İyon Sızıntısı Oranı ve Yüksek Sıcaklığa Tolerans (LT₅₀)

Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak ‘Sakız’ bakla çeşidinin yaprak dokularına ait iyon sızıntısı değerleri Şekil 4.1. ve Çizelge 4.1’de gösterilmiştir. Kademeli olarak artan yüksek sıcaklık uygulamalarına göre iyon sızıntısı oranları değerlendirildiğinde; sıcaklık artışına paralel olarak iyon sızıntısının arttığı belirlenmiştir. Kontrol uygulamasında iyon sızıntısı oranı %8,1 iken bu değer 30°C’de %11,8, 35°C’de %19,1, 40°C’de %36,5, 45°C’de ise %98,6 değerine yükseldiği görülmüştür. Uygulamalar istatistiki olarak önemli bulunmuştur (Ek Açıklama-A). Bakla bitkisinde 35°C’den yüksek sıcaklıkların membran stabilitesinde azalmaya yol açtığı bildirilmiştir (Alharbi ve Adhikari, 2020). Benzer sonuçlar yüksek sıcaklık stresi koşullarında bazı kabakgil türlerinde (Ergin vd., 2021) ve buğdayda (Mohi-Ud-Din vd., 2021) yapılan çalışmalarda da elde edilmiştir. Elektrolit sızıntısı, bitki hücrelerinde stres tepkisinin bir özelliğidir (Demidchilk vd., 2014). Aşırı sıcaklık stresi altında, artan kinetik enerji ve biyomoleküllerin zarlar boyunca hareketi kimyasal bağları gevşeterek zar lipidlerinin parçalanmasına ve zar akışkanlığının artmasına neden olur. Sıcaklık stresi, hücrel membran geçirgenliğini ve hücrel elektrolit kaybını artırır, sonuç olarak hücrel fonksiyonu inhibe eder ve termotoleransı azaltır (Zhao vd., 2021). Daha yüksek elektrolit sızıntı yüzdesinin bir sonucu olarak azalan membran bütünlüğü, bitkilerin sıcaklık stresi koşullarında çözünen maddeleri ve suyu tutma kabiliyetini düşürür (Ullah vd., 2021). Birçok çalışma, stres hasarının başlangıç bölgesi olarak hücre zarına işaret eder, bitki hücre zarlarının işlevi ve yapısı, çevresel stres tarafından büyük ölçüde zarar görür. Bu nedenle, çevresel stres toleransının bir ölçüsü olarak hücrel membran bütünlüğünün değerlendirilmesi ilgili kriter olarak görünmektedir (Agarie 1995).



Şekil 4.1. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak 'Sakız' bakla çeşidinde iyon sızıntısı oranının değişimi. Dikey barlar tekerrürlerin \pm SS'lerini göstermektedir.

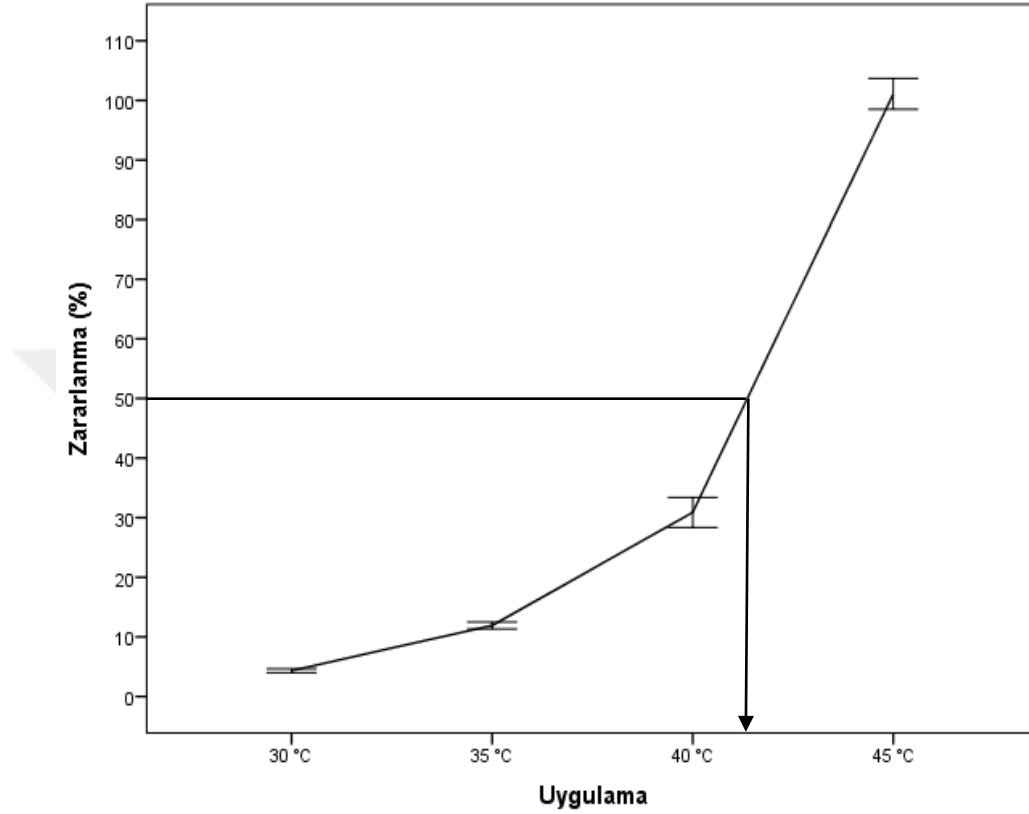
Çizelge 4.1. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak 'Sakız' bakla çeşidinde iyon sızıntısı oranının değişimi. \pm SH'ları göstermektedir.

Uygulama	İyon Sızıntısı(%)*
Kontrol	8,1±1,165
30°C	11,8±1,165
35°C	19,1±1,165
40°C	36,5±1,165
45°C	98,6±1,426

*0,05 seviyesinde önemli

'Sakız' bakla çeşidinde yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak hesaplanan LT_{50} değeri Şekil 4.2'de gösterilmiştir. Yüksek sıcaklığa tolerans değeri hücre membran zararlanma değerleri kullanılarak 41,36°C olarak tespit edilmiştir. Sıcaklık stresi bitkileri olumsuz yönde etkileyebilen, çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal süreçlerin bozulmasına yol açan başlıca çevresel faktörlerden biridir (Mohi-Ud-Din vd., 2021). Bitkilerin sıcaklık toleransı, bir genotipin uygunluğuna katkıda bulunan temel bitki işlevlerinin korunması olarak tanımlanabilir ve genellikle hücre ölümüne neden olan bir sıcaklık olarak ölçülür (Perez ve Feeley, 2020). Cansev (2012), yüksek sıcaklık stresi uygulanan 'Gemlik' zeytin

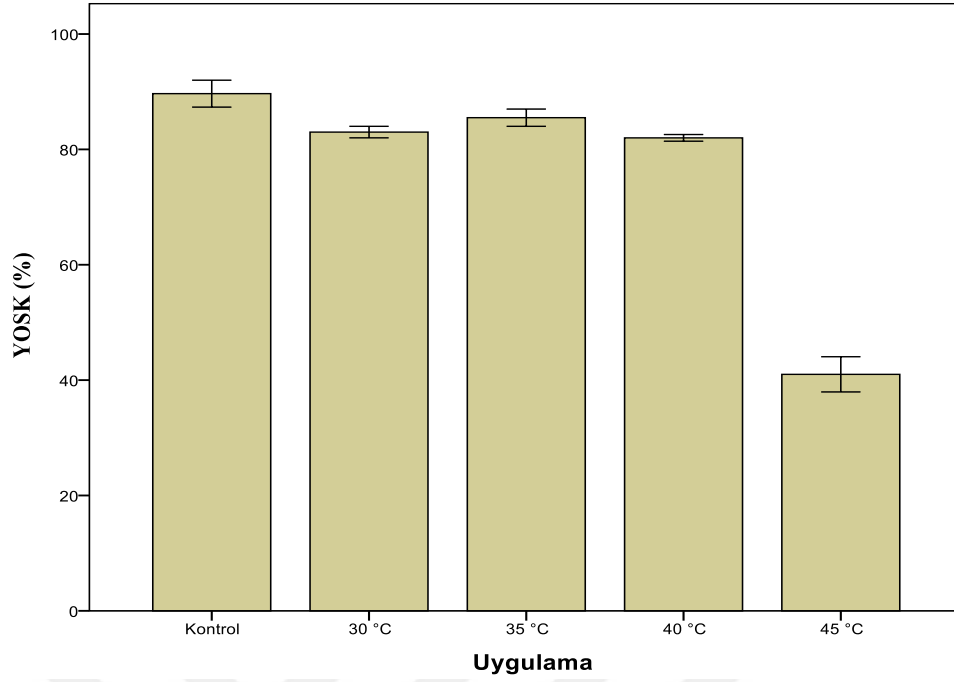
çeşidinin yaprak dokularında LT_{50} değerinin $49,5^{\circ}C$ olduğunu belirlemiştir. Kademeli yüksek sıcaklık uygulanan 15 farklı çilek çeşidinde yapılan çalışmada LT_{50} değerinin $51,8^{\circ}C$ ile $52,9^{\circ}C$ arasında değiştiği tespit edilmiştir (Kesici vd., 2013).



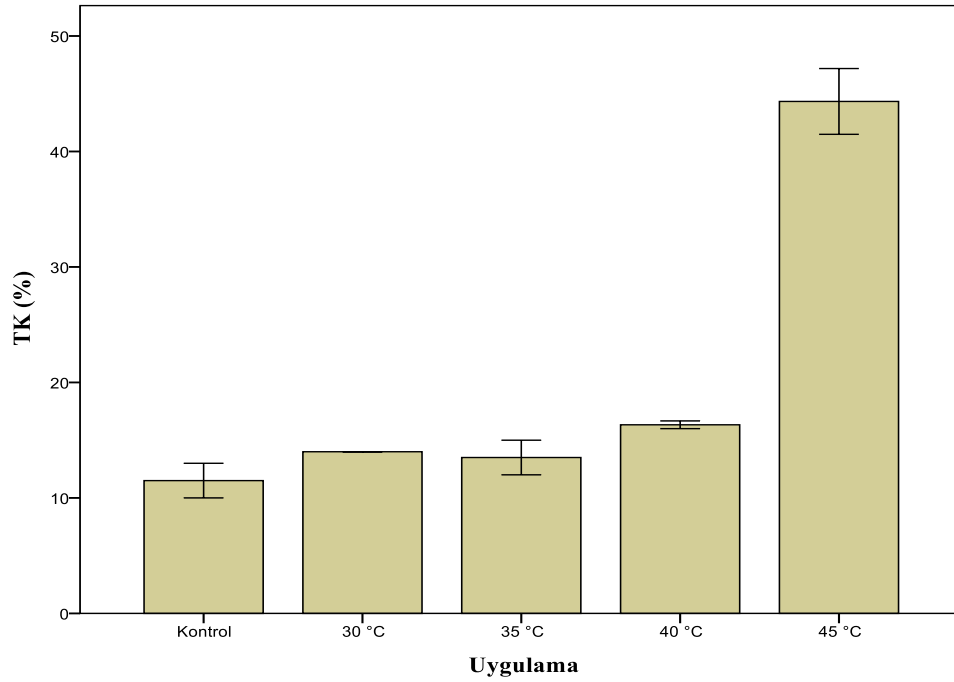
Şekil 4.2. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak 'Sakız' bakla çeşidine ait yüksek sıcaklık tolerans değeri. Dikey barlar tekerrürlerin \pm SS'lerini göstermektedir.

4.2. Yaprak Oransal Su Kapsamı (YOSK) ve Turgor Kaybı (TK)

Kademeli yüksek sıcaklık uygulamasında YOSK değerinde $40^{\circ}C$ 'ye kadar önemli bir değişim gözlenmemekle birlikte $45^{\circ}C$ 'de YOSK değerinin dikkat çekici bir şekilde azaldığı gözlenmiştir (Şekil 4.3 ve Çizelge 4.2). Kontrol grubunda YOSK değeri ortalama % 89,7 iken $45^{\circ}C$ 'ye gelindiğinde bu değer % 41'e düştüğü belirlenmiştir. Uygulamalar istatistikî olarak önemli bulunmuştur (Ek Açıklama-B). Yüksek sıcaklık uygulamalarında TK değerinde $40^{\circ}C$ 'ye kadar önemli bir değişim gözlenmemekle birlikte $45^{\circ}C$ 'de TK değerinin dikkat çekici bir şekilde arttığı tespit edilmiştir. Uygulamalar kıyaslandığında kontrol grubunda TK değeri ortalama %11,5 iken $30^{\circ}C$ 'de %14, $35^{\circ}C$ 'de %13,5, $40^{\circ}C$ 'de %16,3, $45^{\circ}C$ 'de %44,3 olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.4 ve Çizelge 4.2). Uygulamalar istatistikî olarak önemli bulunmuştur (Ek Açıklama-C).



Şekil 4.3. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak 'Sakız' bakla çeşidinde yaprak oransal su kapsamındaki (YOSK) değişim. Dikey barlar tekerrürlerin \pm SS'larını göstermektedir.



Şekil 4.4. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak 'Sakız' bakla çeşidinin yaprak dokularında turgor kaybındaki (TK) değişim. Dikey barlar tekerrürlerin \pm SS'larını göstermektedir.

Çizelge 4.2. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak ‘Sakız’ bakla çeşidinin yaprak dokularında yaprak oransal su kapsamı (YOSK) ve turgor kaybı (TK) değerlerinde değişim. \pm SH’ları göstermektedir.

Uygulama	YOSK(%)*	TK(%)*
Kontrol	89,7 \pm 1,936	11,5 \pm 2,041
30°C	83,0 \pm 1,936	14,0 \pm 2,041
35°C	85,5 \pm 2,371	13,5 \pm 2,041
40°C	82,0 \pm 1,936	16,3 \pm 1,667
45°C	41,0 \pm 1,936	44,3 \pm 1,667

*0,05 seviyesinde önemli

Yaprak oransal su kapsamı esas olarak hücrel su eksikliğinin fizyolojik sonuçları açısından bitkilerin su dengesi durumunun bir göstergesidir. (Siddiqui vd., 2015). Yaprak oransal su kapsamı yaprağın su eksikliğinin ölçümünü sağlar, kuraklık ve sıcaklık stresi altında ifade edilen stresin derecesini gösterir (Mullan ve Pietragalla, 2012). Elde edilen sonuçlara benzer şekilde ıspanak bitkisinde yapılan bir çalışmada sıcaklık uygulamalarından sonra YOSK’un azaldığı tespit edilmiştir (Zhao vd., 2018). Yine yüksek sıcaklık stresinin, maş fasulyesi fidelerinin YOSK’u önemli ölçüde azalttığı saptanmıştır (Nahar vd., 2015). Bazı kabakgillerde yapılan çalışmada sıcaklık artışına paralel olarak YOSK’un azaldığı TK’nın ise arttığı bildirilmiştir (Ergin vd., 2021).

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre kademeli yüksek sıcaklık uygulamalarında ‘Sakız’ bakla çeşidinin yaprak dokularında YOSK azalmış TK ise artmıştır.

4.3. Çözünabilir Şekerler

Yüksek sıcaklık uygulamalarında ‘Sakız’ bakla çeşidinin yaprak dokularında çözünabilir şeker içeriğindeki değişim Çizelge 4.3’de gösterilmiştir. Sukroz içeriğinin Şekil 4.5’de görüldüğü gibi sıcaklık artışına paralel olarak arttığı belirlenmiştir. Kontrol grubunda ortalama sukroz içeriği 53,3 mg/L iken 30°C’de 72,3 mg/L, 35°C’de 116,6 mg/L, 40°C’de 238,4 mg/L, 45°C’de ise 318,8 mg/L olarak saptanmıştır. Uygulamalar istatistiki olarak önemli bulunmuştur (Ek Açıklama-D). Sukroz, yüksek bitkilerde taşıma şekeri, besin maddesi ve potansiyel sinyal molekülü olarak merkezi bir rol oynar.

Fotosentezin temel son ürünlerinden biri olarak yapraklarda sentezlenir (Winter vd., 2000). Ayrıca sukroz, çeşitli abiyotik streslere verilen tepkilerde rol oynar (Du vd., 2020). Kademeli yüksek sıcaklık uygulaması sonrasında glukoz miktarının kontrol grubunda en yüksek seviyede olduğu (59,2 mg/L) ve sıcaklık artışıyla beraber azalmaya başladığı ancak 40°C'den itibaren tekrar yükselerek 45°C'de 52,3 mg/L olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.6). Uygulamalar istatistiki olarak %5 seviyesinde önemli bulunmuştur (Ek Açıklama-E). Fruktoz miktarı kontrol grubunda minimum seviyede 9,8 mg/L iken ani ve önemli bir artışla 45°C'de 504,7 mg/L'ye ulaşmıştır (Şekil 4.7). Uygulamalar istatistiki olarak %5 seviyesinde önemli bulunmuştur (Ek Açıklama-F). Maltoz miktarının ise kontrol grubunda 55,9 mg/L iken 45°C'de ani bir artışla 432,9 mg/L'ye ulaştığı saptanmıştır (Şekil 4.8). Uygulamalar istatistiki olarak %5 seviyesinde önemli bulunmuştur (Ek Açıklama-G). Maltoz, ozmotik düzenlenme sırasında hücre zarları üzerindeki savunma etkisini artırmaya ve hücre fonksiyonunu normal şekilde sürdürmeye yardımcı olur (Khan vd., 2020).

Baklanın, fasulye, bezelye ve nohut gibi diğer baklagillere kıyasla sıcaklığa ve su eksikliğine daha duyarlı olduğu iyi bilinmektedir (Ghouili vd., 2021). Çözünebilir şekerler (sukroz, glukoz ve fruktoz), bitkilerin genel yapısını ve büyümesini sürdürmede önemli bir rol oynar. Çeşitli uyumlu organik çözünenlerin aşırı üretimi, bitkilerin çevresel streslere karşı en yaygın stres tepkilerinden biridir (Dien vd., 2019). Mevcut araştırmalar, çözünebilir şekerlerin ve diğer ozmolitlerin birikiminin, bitkinin zorlu dış koşullara toleransını önemli ölçüde geliştirdiğini göstermiştir. Sıcaklığa tolerant ve hassas iki biber çeşidinde yapılan çalışmada yüksek sıcaklık uygulamasından sonra toplam çözünebilir şeker içeriğinin her iki çeşitte de arttığı tespit edilmiştir (Wang vd., 2019). Yine iki buğday çeşidinde yapılan çalışmada 3 gün boyunca yüksek sıcaklık (40°C) uygulamasından sonra yapraklarda sukroz, glukoz, fruktoz birikiminin arttığı tespit edilmiştir (Shanmugam vd., 2013). Sıcaklık stresine tolerans, genellikle kaynak yapraklardaki şeker içeriğinin korunması ile ilişkilidir (Julius vd., 2017).

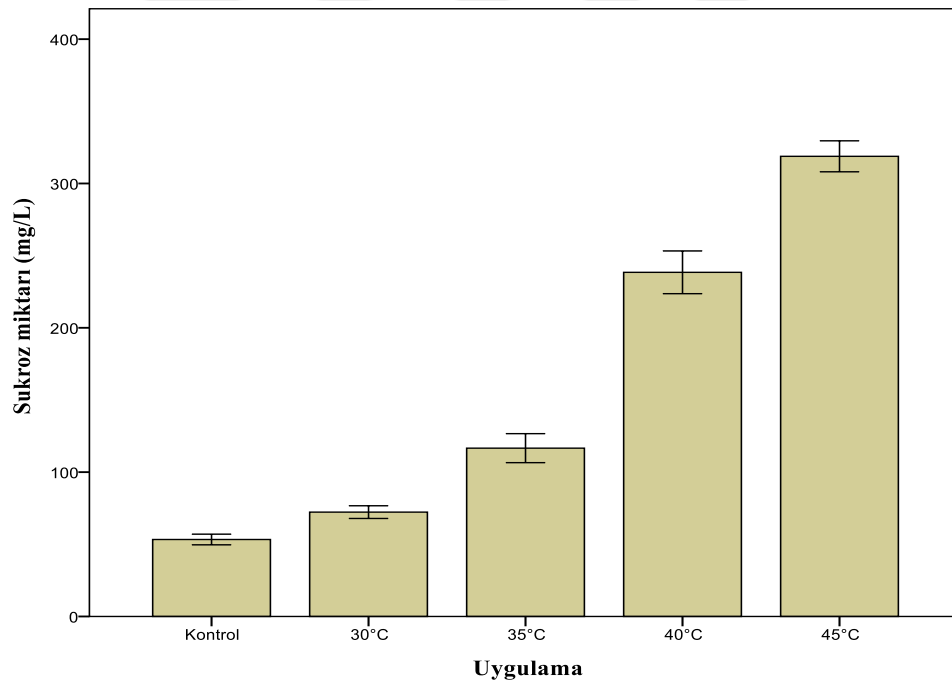
Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre; yüksek sıcaklık stresine bağlı olarak 'Sakız' bakla çeşidinin yaprak dokularında şeker içeriğinin artmasının 41,36°C (yüksek sıcaklık tolerans değeri)'ye kadar sıcaklık stresi toleransına katkı sağladığı düşünülmektedir.

Çözünabilir şekerlerden fruktoz ve maltoz içeriklerinin kontrol grubuna göre 45°C'deki ani artışlarının sebebinin ise yüksek sıcaklık stresi tepkisinin sonucu olduğu düşünülmektedir.

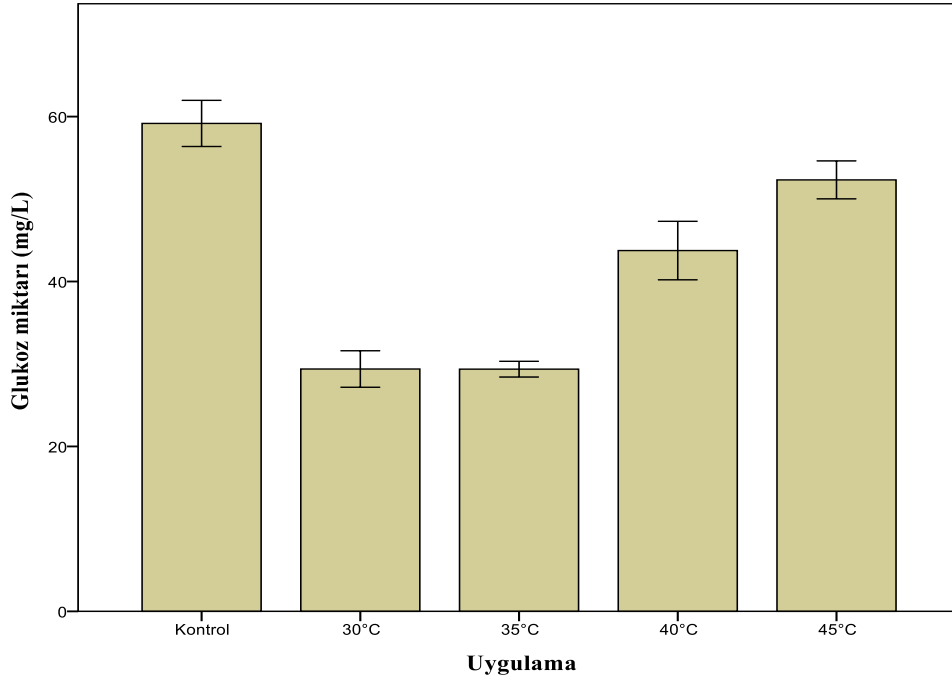
Çizelge 4.3. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak 'Sakız' bakla çeşidinin yaprak dokularında sukroz, glukoz, fruktoz, maltoz miktarlarındaki değişim. \pm SH'ları göstermektedir.

Uygulama	Sukroz(mg/L)*	Glukoz(mg/L)*	Fruktoz(mg/L)*	Maltoz(mg/L)*
Kontrol	53,3 \pm 7,65	59,2 \pm 2,62	9,8 \pm 11,49	55,9 \pm 8,61
30°C	72,3 \pm 7,65	29,4 \pm 2,34	6,9 \pm 10,28	56,9 \pm 8,61
35°C	116,6 \pm 7,65	29,4 \pm 3,02	35,6 \pm 10,28	94,5 \pm 11,12
40°C	238,4 \pm 9,88	43,7 \pm 2,62	50,7 \pm 10,28	96,5 \pm 9,63
45°C	318,8 \pm 9,88	52,3 \pm 2,62	504,7 \pm 11,49	432,9 \pm 11,12

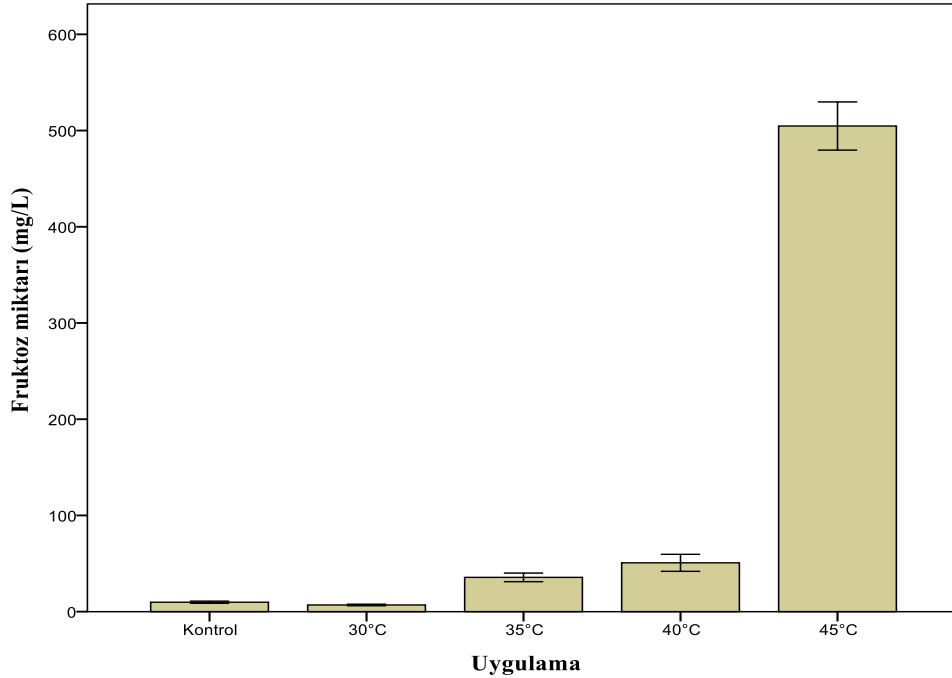
*0,05 seviyesinde önemli



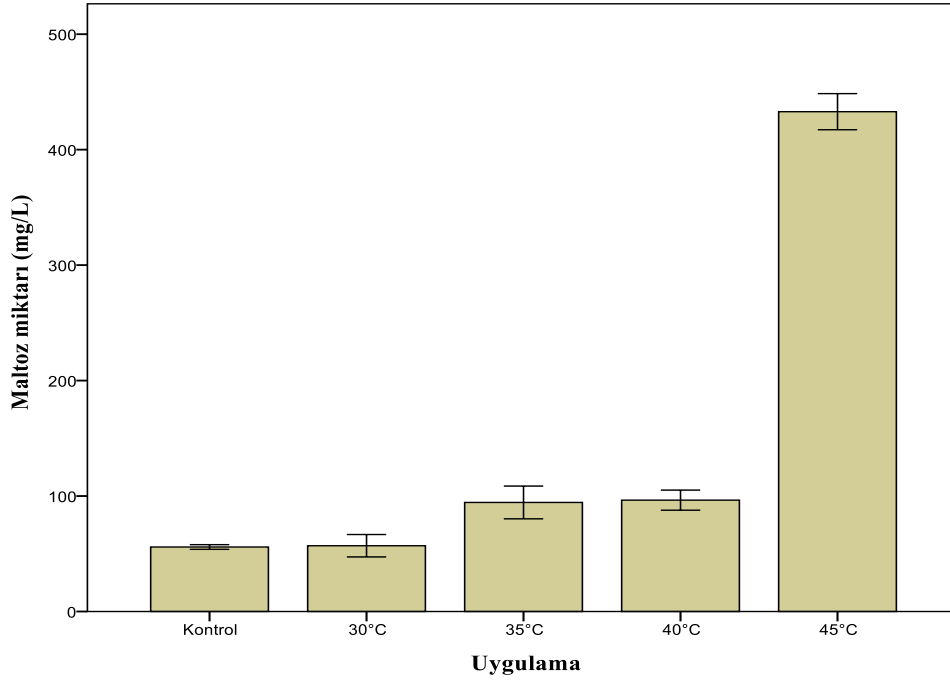
Şekil 4.5. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak 'Sakız' bakla çeşidinin yaprak dokularında sukroz miktarındaki değişimi. Dikey barlar tekerrürlerin \pm SS'larını göstermektedir.



Şekil 4.6. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak 'Sakız' bakla çeşidinin yaprak dokularında glukoz miktarındaki değişim. Dikey barlar tekerrürlerin \pm SS'larını göstermektedir.



Şekil 4.7. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak 'Sakız' bakla çeşidinin yaprak dokularında fruktoz miktarındaki değişim. Dikey barlar tekerrürlerin \pm SS'larını göstermektedir.



Şekil 4.8. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak ‘Sakız’ bakla çeşidinin yaprak dokularında maltoz miktarındaki değişim. Dikey barlar tekerrürlerin \pm SS’larını göstermektedir.

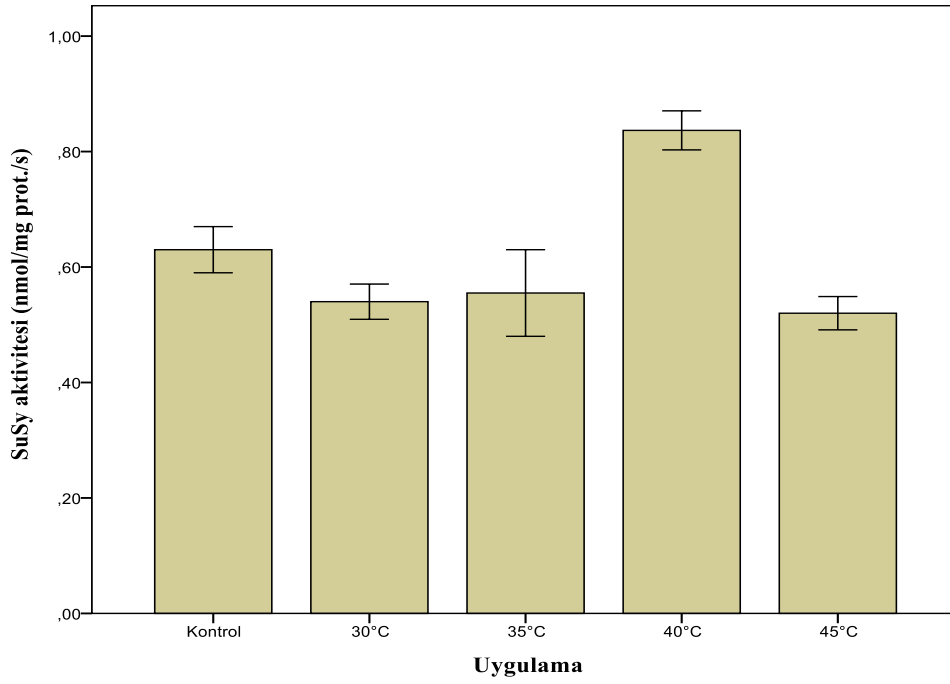
4.4 Enzim Aktiviteleri

Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak ‘Sakız’ bakla çeşidinin yaprak dokularında genel enzim aktivitelerindeki değişim Çizelge 4.4’de gösterilmiştir. Kademeli yüksek sıcaklık uygulamalarında SuSy miktarının kontrole kıyasla 40°C’de en yüksek seviyeye (0,84 nmol/mg prot./s) ulaştığı ve 45°C’de azaldığı gözlenmiştir (Şekil 4.9). Uygulamalar istatistiki olarak önemli bulunmuştur (Ek Açıklama-H). Asit INV aktivitesinin ise 40°C’de 1,36 nmol/mg prot./s değeri ile maksimum aktivite gösterdiği ve 45°C’de ani ve önemli bir şekilde 0,10 nmol/mg prot./s’e düştüğü gözlenmiştir (Şekil 4.10). Uygulamalar istatistiki olarak önemli bulunmuştur (Ek Açıklama-I). Alkalın INV’ın 40°C’de 1,50 nmol/mg prot./s değeriyle en yüksek aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.11). Uygulamalar istatistiki olarak önemli bulunmuştur (Ek Açıklama-İ).

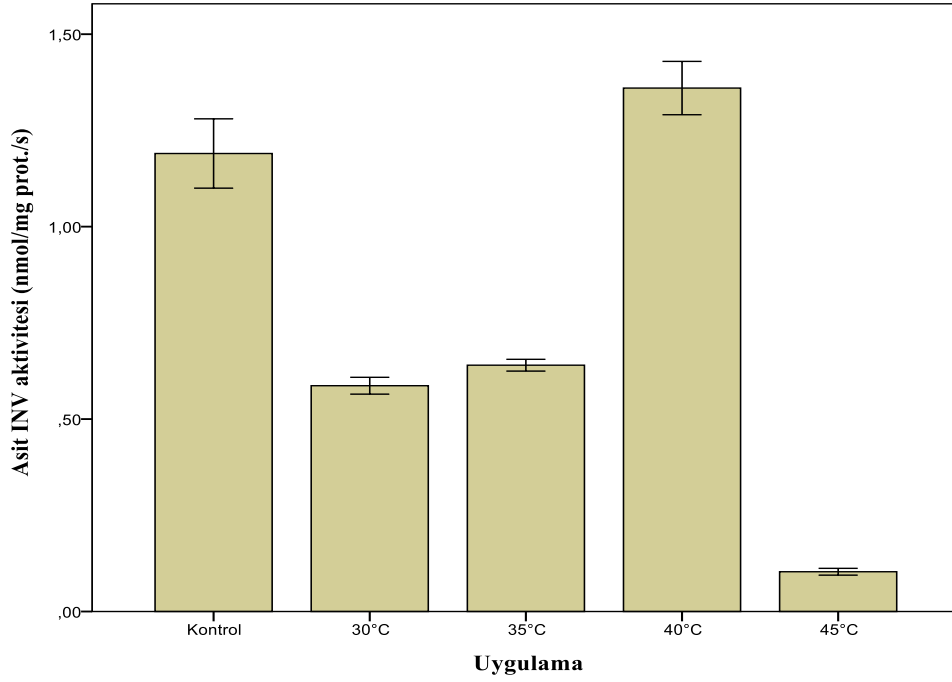
Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre; 40°C’de asit INV ve alkalın INV aktivitelerinin maksimum düzeyde olması yüksek sıcaklık stresine bağlı olarak bakla yapraklarında sukrozun hidrolizinin yüksek olduğunu düşündürmektedir.

Çizelge 4.4. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak 'Sakız' bakla çeşidinin yaprak dokularında SuSy, asit INV, alkalın INV aktivitelerindeki değişim. \pm SH'ları göstermektedir.

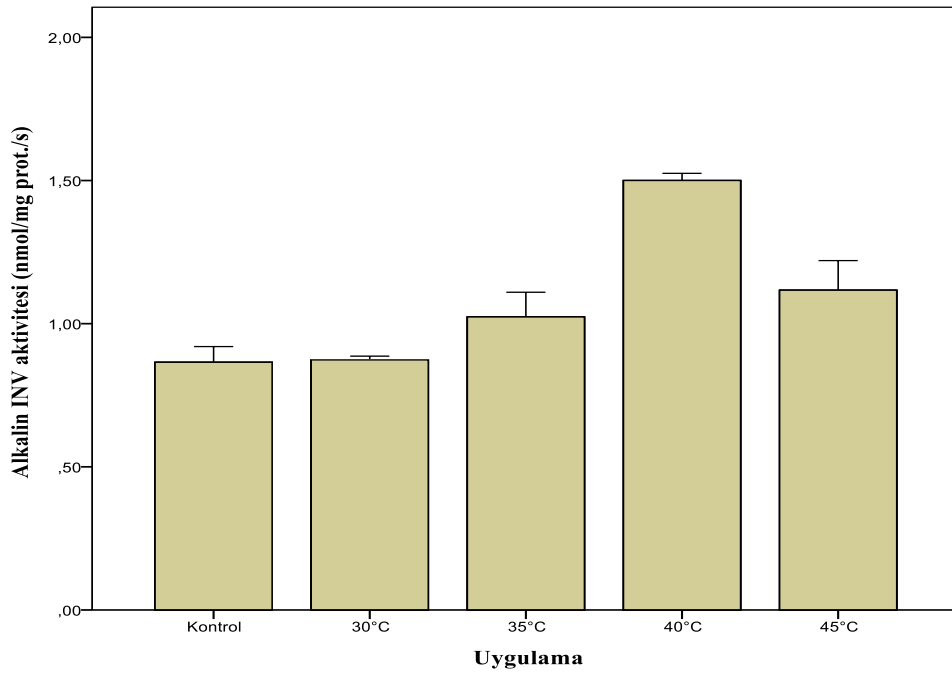
Uygulama	SuSy (nmol/mg prot./s)	Asit INV (nmol/mg prot./s)	Alkalın INV (nmol/mg prot./s)
Kontrol	0,63 \pm 0,045	1,19 \pm 0,053	0,86 \pm 0,082
30°C	0,54 \pm 0,036	0,59 \pm 0,043	0,87 \pm 0,067
35°C	0,55 \pm 0,045	0,64 \pm 0,043	1,02 \pm 0,067
40°C	0,84 \pm 0,036	1,36 \pm 0,043	1,50 \pm 0,067
45°C	0,52 \pm 0,036	0,10 \pm 0,043	1,12 \pm 0,067



Şekil 4.9. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak 'Sakız' bakla çeşidinin yaprak dokularında SuSy aktivitesindeki değişim. Dikey barlar tekerrürlerin \pm SS'larını göstermektedir.



Şekil 4.10. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak ‘Sakız’ bakla çeşidinin yaprak dokularında asit INV aktivitesindeki değişim. Dikey barlar tekerrürlerin \pm SS’larını göstermektedir.



Şekil 4.11. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak ‘Sakız’ bakla çeşidinin yaprak dokularında alkalın INV aktivitesindeki değişim. Dikey barlar tekerrürlerin \pm SS’larını göstermektedir.

Bitkilerde sukroz metabolizması, SPS, SuSy ve INV tarafından doğrudan kontrol edilir. Sukroz sentaz, UDP varlığında sukrozu geri dönüşümlü olarak UDP-glukoz ve fruktoza dönüştürür. İnvvertaz, sukrozu glukoz ve fruktoza geri dönüşümsüz olarak hidrolize eder ve farklı hücresel bölmelerde (hücre duvarı, sitoplazma ve vakuol) lokalize farklı izoformları vardır. Sukroz metabolik enzimleri bitkinin sıcaklık stresine verdiği tepkiyle ilişkilendirmiştir (Julius vd., 2017). Sukroz fosfat sentaz, SuSy ve INV gibi enzimler, enerji üretimi veya nişasta gibi makro moleküllerin sentezi gibi çeşitli yapısal ve fonksiyonel gereksinimler için heksozlar sağlamak üzere sentezlemek ve hidrolize etmek için kombinasyon halinde çalışırlar (Kaur vd., 2015). Tane doldurma sırasında sıcaklık stresi uygulanan tatlı mısırdaki SuSy aktivitesinin azaldığı tespit edilmiştir (Yang vd., 2018). Yonis vd. (2012)'nin yaptığı çalışmada bakla bitkileri 10 gün boyunca gün aşırı 2 saat süresince 40°C yüksek sıcaklığa maruz bırakılmıştır ve sonuç olarak INV aktivitesinin azaldığı tespit edilmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yüksek sıcaklık bitki metabolizmasında fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler değişimlere sebep olan bir stres faktörüdür. Bitkilerin sıcaklık stresine verdikleri yanıt sıcaklığın süresi ve şiddeti ile ilişkilidir. Bitkiler çeşitli mekanizmalar geliştirerek yüksek sıcaklığa uyum sağlarlar. Bakla bitkisi toprak verimliliğine sağladığı katkı ve zengin protein içeriğiyle önemli bir bitkidir. Bu çalışmada ‘Sakız’ bakla çeşidinde fide döneminde yüksek sıcaklık stresinin sebep olduğu zararlanma; hücre membran zararlanma oranı, YOSK ve TK parametreleri kullanılarak saptanmıştır. Ayrıca yüksek sıcaklık stresinde sukroz metabolizmasında meydana gelen değişimleri belirlemek için; sukroz, glukoz, fruktoz, maltoz miktarlarındaki ve SuSy, asit INV, alkalın INV aktivitelerindeki değişim tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar özetlendiğinde;

- İyon sızıntısı oranı sıcaklık artışına paralel olarak artmış ve 45°C’de en yüksek düzeye ulaşmıştır. Hücre membran zararlanma verilerine dayanarak hesaplanan ‘Sakız’ bakla çeşidinin yüksek sıcaklığa tolerans değeri (LT₅₀) 41,36°C olarak tespit edilmiştir.
- Yaprak oransal su kapsamı değerinin artan sıcaklığa bağlı olarak azaldığı ve 45°C’de belirgin şekilde düştüğü saptanmıştır. Turgor kaybı değerinin ise artan sıcaklığa bağlı olarak 45°C’de en yüksek seviyede olduğu belirlenmiştir.
- ‘Sakız’ bakla çeşidinde fide döneminde kademeli artan yüksek sıcaklığa bağlı olarak sukroz miktarının sıcaklık artışına paralel olarak arttığı ve bu artışın LT₅₀ değerine kadar yüksek sıcaklık stresine toleransına katkı sağladığı düşünülmüştür. Glukoz miktarının sıcaklık artışıyla birlikte önce azaldığı daha sonra 40°C’den itibaren tekrar artış göstermeye başladığı saptanmıştır. Bu durumun 40°C’de sukrozun hidrolizinin yüksek olması ile ilişkili olduğu düşünülmüştür. Fruktoz ve maltoz miktarlarının ise ani bir artışla 45°C’de en yüksek seviyeye ulaşması yüksek sıcaklık stresi tepkisi ile ilişkilendirilmiştir.

- Sukroz metabolizma enzimleri olan SuSy, asit INV ve alkalın INV aktivitelerindeki değişime bakıldığında ise 40°C’de en yüksek seviyede oldukları tespit edilmiştir. Bu durumun yüksek sıcaklık stresi koşullarında artan enerji ihtiyacı sonucunda sukrozun hidrolizi ile gerekli olan monosakkaritlerin sağlanarak ‘Sakız’ bakla çeşidinin yüksek sıcaklık stresi toleransına katkı sağladığı düşünülmüştür.

Bu çalışma ile elde edilen sonuçlara göre ‘Sakız’ bakla çeşidinin yüksek sıcaklık stresinde sukroz metabolizmasında meydana gelen değişimlerin anlaşılmasına katkı sağlanmıştır. İleride yüksek sıcaklık stresine tolerant bakla çeşitlerinin geliştirilmesi ve yüksek sıcaklık stresinde sukroz metabolizmasından sorumlu gen bölgelerinin belirlenmesi gibi çalışmalara ışık tutacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Agarie, S., Hanaoka, N., Kubota, F., Agata W., Kaufman, P.B., 1995, Measurement of cell membrane stability evaluated by electrolyte leakage as a drought and heat tolerance test in rice(*Oryza sativa* L.), Journal of the Faculty Agricultere, Kyushu Univ., 40 (1-2): 233-240.
- Ahmad, B., Raina, A., Khan, S., 2019, Impact of biotic and abiotic stresses on plants, and their responses, Disease Resistance in Crop Plants, p.1.
- Alan, Ö., Geren, H., 2006, Ödemiş-İzmir koşullarında yetiştirilen bazı bakla (*Vicia faba* var. major) çeşitlerinin tohum verimi ve diğer bazı özellikleri üzerinde bir araştırma, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 43(1): 13.
- Aloni, B., Pashkar, T., and Karni, L., 1991, Partitioning of [14C] sucrose and acid invertase activity in reproductive organs of pepper plants in relation to their abscission under heat stress, Annals of Botany, 67(5), 371–377
- Aloni, B., 1996, Changes of carbohydrates in pepper (*Capsicum annum* L.) flowers in relation to their abscission under different shading regimes, Annals of Botany, 78(2), 163–168.
- Altuntas, E., Yıldız, M., 2007, Effect of moisture content on some physical and mechanical properties of faba bean (*Vicia faba* L.) grains, Journal of Food Engineering, 78: 174–175.
- Arora, R., Pitchay, D. S., Bearce, B. C., 1998, Water-stress-induced heat tolerance in geranium leaf tissues: A possible linkage through stress proteins?, Physiologia Plantarum, 103: 24-33.
- Atkinson, N. J., Urwin, P. E., 2012, The interaction of plant biotic and abiotic stresses:from genes to the field, Journal of Experimental Botany, 63(10): 3524.
- Baloch, F. S., Karaköy, T., Demirbaş, A., Toklu, F., Özkan, H., Hatipoğlu, R., 2014, Variation of some seed mineral contents in open pollinated faba bean (*Vicia faba* L.) landraces from Turkey, Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 38: 591-592.
- Barr, H. D., Weatherley, P.E., 1962, A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves, Australian Journal of Biological Sciences, 15: 413-428.
- Bishop, J., Potts, S.G., Jones, H.E., 2016, Susceptibility of faba bean (*Vicia faba* L.) to heat stress during floral development and anthesis, Journal of Agronomy and Crop Science, 508-517.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Bitá, C., E., Gerats, T., 2013, Plant tolerance to high temperature in a changing environment: scientific Fundamentals and production of heat stress-tolerant crops, *Frontier in plant Science*, 1-3.
- Bohnert, H. J., Sheveleva, E., 1998, Plant stress adaptations-making metabolism move, *Current Opinion in Plant Biology*, 1: 267.
- Büyük, İ., Soydam-Aydın S., Aras, S., 2012, Bitkilerin stres koşullarına verdiği moleküler cevaplar, *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 69(2): 98.
- Cansev, A., 2012, Physiological effects of high temperature treatments on leaves of Olive cv. Gemlik, *Plant Archives*, 12(1): 521-524.
- Cushman, J. C., Bohnert, H. J., 2000, Genomic approaches to plant stress tolerance, *Current Opinion in Plant Biology*, 3(2): 117.
- Das, A., Rushton, P. J., Rohila, J. S., 2017, Metabolomic profiling of soybeans (*Glycine max* L.) reveals the importance of sugar and nitrogen metabolism under drought and heat stress, *Plants*, 6(21): 1-15.
- Dat, J., S. Vandenabeele, S., Vranova, E., Montagu, M. V., Inze, D., Breusegem, F. V., 2000, Dual action of the active oxygen species during plant stress responses, *Cellular and Molecular Life Science*, 57: 779–786.
- Dey, P. M., Harborne, J. B., 1997, Carbohydrate metabolism; storage carbohydrates, *Plant Biochemistry*, 4, p.143.
- Demidchik, V., Straltsova, D., Medvedev, S. S., Pozhvanov, G. A., Sokolik, A., Yurin, V., 2014, Stress-induced electrolyte leakage: the role of K⁺-permeable channels and involvement in programmed cell death and metabolic adjustment, *Journal of Experimental Botany*, 65(5): 1259–1270.
- Dien, D.C., Mochizuki, T., Yamakawa, T., 2019, Effect of various drought stresses and subsequent recovery on proline, total soluble sugar and starch metabolisms in Rice (*Oryza sativa* L.) varieties, *Plant Production Science*, 22(4): 530-545.
- Du, Y., Zhao, Q., Chena, L., Yao, X., Zhang, W., 2020, Effect of drought stress on sugar metabolism in leaves and roots of soybean seedlings, *Plant Physiology and Biochemistry*, 146: 1–12.
- Ergin, S., Aydogan Ç., Turhan, E., 2021, Physiological effects of high temperature stress in some cucurbit plants, *Current Trends in Natural Sciences*, 10(9): 235-245.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Ergin, S., 2012, Yüksek sıcaklık stresinin çilek bitkisinde enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar ile protein metabolizmasına etkileri, Doktora Tezi, Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa, s.66-72.
- Fahad, S., Bajwa, A. A., Nazir, U., Anjum, S. A., Farooq, A., vd., 2017, Crop production under drought and heat stress: Plant responses and management options, *Frontiers in Plant Science*, 8(1147): 1-10.
- FAO, 2022, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Statistics division, <http://www.fao.org/faostat/en/>, erişim tarihi: 05.05.2022.
- Firon, N., Shaked, R., Peet, M. M., Pharr, D.M., Zamski, E., Rosenfeld, K., Althan, L., Pressman, E., 2006, Pollen grains of heat tolerant tomato cultivars retain higher carbohydrate concentration under heat stress conditions, *Scientia Horticulturae*, 109: 212–217.
- Fouad, M., Mohammed, N., Aladdin, H., Ahmed, A., Xuxiao, Z., Shiyong, B., Tao, Y., 2013, Genetic and genomic resources of grain legume improvement, p.113-125.
- Gangola M. P., Ramadoss B. R., 2018, Sugars play a critical role in abiotic stress tolerance in plants, *Biochemical, Physiological and Molecular Avenues for Combating Abiotic Stress in Plants*, Chapter 2, p.17-33.
- Gaspar, T., Franck, T., Bisbis, B., Kevers, C., Jouve, L., vd., 2002, Concepts in plant stress physiology. Application to plant tissue cultures, *Plant Growth Regulation*, 37: 263–285.
- Gaur, P. M., Samineni, S., Krishnamurthy, L., Kumar, S., Ghanem, M.E., vd., 2015, High temperature tolerance in grain legumes, *Legume Perspectives*, (7): 23-24.
- Ghouili. E., Sassi, K., Jebara, M., Hidri, Y., Nefissi Ouertani, R., vd., 2021, Physiological responses and expression of sugar associated genes in faba bean (*Vicia faba* L.) exposed to osmotic stress, *Physiology and Molecular Biology Plants*, 27(1), 135-150.
- Gull, A., Lone, A. A., Wani, N. I., 2019, Biotic and abiotic stresses in plants, e-kitap, 1-5. <https://www.intechopen.com/books/abiotic-and-biotic-stress-in-plants/biotic-and-abiotic-stresses-in-plants>, erişim tarihi: 10.11.2020
- Gulen, H., Eris, A., 2004, Effect of heat stress on peroxidase activity and total protein content in strawberry plants, *Plant Science*, 166: 739–743.
- Gupta, A. K., Kaur, N., 2005, Sugar signalling and gene expression in relation to carbohydrate metabolism under abiotic stresses in plants, *Journal of Bioscience*, 30(5): 761–763.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Hamada, A. M., 2001, Alteration in growth and some relevant metabolic processes of broad bean plants during extreme temperatures exposure, *Acta Physiologiae Plantarum*, 23(2), 193-200.
- Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Alam, M. M., Roychowdhury, R., Fujita, M., 2013, Physiological, biochemical, and molecular mechanisms of heat stress tolerance in plants, *International Journal of Molecular Sciences*, 14: 9643- 9645.
- Harsh, A., Sharma, Y. K., Joshi, U., Rampuria, S., Singh, G., Kumar, S., Sharma, R., 2016, Effect of short-term heat stress on total sugars, proline and some antioxidant enzymes in moth bean (*Vigna aconitifolia*), *Annals of Agricultural Science*, 61(1): 57-64.
- Hatfield, L. J., Prueger, J. H., 2015, Temperature extremes: Effect on plant growth and development, *Weather and Climate Extremes*, 10: 4-10.
- Hemantaranjan, A., Bhanu, A. N., Singh, M. N., Yadav, D. K., Patel, P. K., Singh, R., Katiyar, D., 2015, Heat stress responses and thermotolerance, *Advances in Plants and Agriculture Research*, 1(3): 00012, 1-3.
- Huang, Y. W., Zhou, Z. Q., Yang, H. X., Wei, C. X., Wan, Y. Y., Wang, X. J., Bai, J. G., 2015, Glucose application protects chloroplast ultrastructure in heat-stressed cucumber leaves through modifying antioxidant enzyme activity, *Biologia Plantarum*, 59 (1): 131.
- Ibrahim, H. M., 2011, Heat stress in food legumes: evaluation of membrane thermostability methodology and use of infra-red thermometry, *Euphytica*, 180:99-105.
- Jensen, E. S., Peoples, M. B., Hauggaard-Nielsen, H., 2010, Faba bean in cropping systems, *Field Crops Research*, 115: 208.
- Julius, B. T., Leach, K. A., Tran, T. M., Mertz, R. A., Braun, D. M., 2017, Sugar transporters in plants: New insights and discoveries, *Plant&Cell Physiology*, 58(9), 1442-1460.
- Kacar, B., Katkat, V., Öztürk, Ş., 2013, *Bitki Fizyolojisi*, s.485-486.
- Karkanis, A., Ntatsi, G., Lapse, L., Fernández, J. A., Vågen, I. M., vd., 2018, Faba bean cultivation – revealing novel managing practices for more sustainable and competitive european cropping systems, *Frontiers in Plant Science*, 9(1115): 1-9.
- Kaur, R., Bains, T.S., Bindumadhava, H., Nayyar, H., 2015, Responses of mungbean (*Vigna radiata* L.) genotypes to heat stress: Effects on reproductive biology, leaf function and yield traits, *Scientia Horticulturae*, 197: 527-541.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Kaushal, N., Awasthi, R., Gupta, K., Gaur, P., Siddique, K. H. M., Nayyar, H., 2013, Heat-stress-induced reproductive failures in chickpea (*Cicer arietinum*) are associated with impaired sucrose metabolism in leaves and anthers, *Functional Plant Biology*, A-N.
- Kesici, M., Gulen, H., Ergin, S., Turhan, E., İpek, A., Köksal, N., 2013, Heat-stress Tolerance of Some Strawberry (*Fragaria × ananassa*) Cultivars, *Not Bot Horti Agrobo*, 41(1): 244.
- Keunen, E., Peshev, D., Vangronsveld, J., Van den Ende, W., Cuypers, A., 2013, Plant sugars are crucial players in the oxidative challenge during abiotic stress: extending the traditional concept, *Plant, Cell and Environment*, 36: 1242–1248.
- Koç, S., 2016, Tekirdağ koşullarında yetiştirilen bakla (*Vicia faba* L.) genotiplerinin verim ve verim unsurlarının belirlenmesi üzerine bir araştırma, Yüksek lisans tezi, TC. Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 56 s.
- Kumar, R., Singh, A. K., Manzer, D. L., Siddiqui, H., Al-Whaibi, M. H., Grove, A., 2016, Expression analysis of ClpB/Hsp100 gene in faba bean (*Vicia faba* L.) plants in response to heat stress, *Saudi Journal of Biological Sciences*, 23: 243.
- Lafta, A. M., Lorenzen, J. H., 1995, Effect of high temperature on plant growth and carbohydrate metabolism in potato, *Plant Physiology*, 109: 637-643.
- Landry, E. J., Fuchs, S. J., Hu, J., 2016, Carbohydrate composition of mature and immature faba bean seeds, *Journal of Food Composition and Analysis*, 50: 55.
- Larcher, W., 2003, *Physiological plant ecology: Ecophysiology and stress physiology of functional groups*, 4th Edition, p.345.
- Lavana, D., Siddiqui, M. H., Al-Whaibi, M. H., Singh, A. K., Kumar, R., Grover, A., 2015, Genetic approaches for breeding heat stress tolerance in faba bean (*Vicia faba* L.), *Acta Physiol Plant*, 37: 1737.
- Liu, Y., Li, J., Zhu, Y., Jones, A., Rose, R. J., Song, Y., 2019, Heat stress in legume seed setting: Effects, causes, and future prospects, *Frontiers in Plant Science*, 10(938): 1-8.
- Liu, X., Huang, B., 2000a, Heat stress injury in relation to membrane lipid peroxidation in creeping bentgrass, *Crop Science*, 40: 503.
- Liu, X., Huang, B., 2000b, Carbohydrate accumulation in relation to heat stress tolerance in two creeping bentgrass cultivars, *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 125(4): 442.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Lorenzen, J. H., Lafta, A. M., 1996, Effect of heat stress on enzymes that affect sucrose levels in potato shoots, *Journal of the American Society for Horticultural Science.*, 121(6): 1152–1156.
- Loka, D. A., Oosterhuis, D. M., Baxevanos, D., Noulas, C., Hu. W., 2020, Single and combined effects of heat and water stress and recovery on cotton (*Gossypium hirsutum* L.) leaf physiology and sucrose metabolism, *Plant Physiology and Biochemistry*, 148:166-167.
- Luo, Y., Li, W. M., Wang, W., 2008, Trehalose: Protector of antioxidant enzymes or reactive oxygen species scavenger under heat stress?, *Environmental and Experimental Botany*, 63: 378.
- Mathur, S., Agrawal, D., Jajoo, A., 2014, Photosynthesis: Response to high temperature stress, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 137: 116–117.
- Mittler, R., 2006, Abiotic stress the field environment and stress combination, *Trends in Plant Science*, 11(1): 15-16.
- Mullan, D., Pietragalla, J., 2012, *Physiological Breeding II: A field guide to wheat phenotyping*, Chapter 5. Leaf relative water content, 25-27.
- Mohi-Ud-Din, M., Siddiqui, N., Rohman, M., Krishna Jagadish, S.V., Uddin Ahmed, J., vd., 2021, Physiological and biochemical dissection reveals a trade-off between antioxidant capacity and heat tolerance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.), <https://www.mdpi.com/journal/antioxidants>, 10, 351, 1-24, erişim tarihi:20.4.2022
- Nahar, K., Hasanuzzaman, M., Mahabub Alam, Md., Fujita, M., 2015, Exogenous glutathione confers high temperature stress tolerance in mung bean (*Vigna radiata* L.) by modulating antioxidant defense and methylglyoxal detoxification system, *Environmental and Experimental Botany*, 112: 44–54.
- Perez, T.M., Feeley, K.J., 2020, Photosynthetic heat tolerances and extreme leaf temperatures, *Functional Ecology*, 34:2236–2245.
- Peshev, D., Van den Ende, W., 2013, Sugars as antioxidants in plants, *Crop improvement under adverse conditions*, N. Tuteja, S.S. Gill (Eds.), Springer, p. 285-301.
- Ren, S., Ma, K., Lu, Z., Chen, G., Cui, J., Tong, P., Wang, L., Teng, N., Jin, B., 2019, Transcriptomic and metabolomic analysis of the heat-stress response of *Populus tomentosa* Carr., *Forests*, 10: 1-2.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Rizhsky, L., Liang, H., Shuman, J., Shulaev, V., Davletova, S., Mittler, R., 2004, When defense pathways collide. The response of Arabidopsis to a combination of drought and heat Stress, *Plant Physiology*, 134: 1683–1696.
- Ruan, Y. L., Jin, Y., Yang, Y. J., Lid, G. J., Boyere, J. S., 2010, Sugar input, metabolism, and signaling mediated by invertase: Roles in development, yield potential, and response to drought and heat, *Molecular Plant*, 3(6): 942-955.
- Ruan, Y. L., 2012, Signaling role of sucrose metabolism in development, *Molecular Plant*, 5(4): 763-765.
- Ruan, Y. L., 2014, Sucrose metabolism: Gateway to diverse carbon use and sugar signaling, *Annual Review of Plant Biology*, 65: 33-46.
- Ross, H. A., Davies, H. V., 1992, Purification and characterization of sucrose synthase from the cotyledons of *Vicia faba* L., *Plant Physiology*, 100, 1008-1009.
- Ross, H. A., McRae, D., Davies, H. V., 1996, Sucrolytic enzyme activities in cotyledons of the faba bean, *Plant Physiology*, 11(1): 329.
- Sami, F., Yusuf, M., Faizan, M., Faraz, A., Hayat, S., 2016, Role of sugars under abiotic stress, *Plant Physiology and Biochemistry* 109: 54-55.
- Sehgal, A., Sita, K., Kumar, J., Kumar, S., Singh, S., Siddique, K. H. M., Nayyar, H., 2017, Effects of drought, heat and their interaction on the growth, yield and photosynthetic function of lentil (*Lens culinaris Medikus*) genotypes varying in heat and drought sensitivity, *Frontiers in Plant Science*, 8(1176): 1-19.
- Sewelam, N., Kazan, K., Schenk, P. M., 2016, Global plant stress signaling: Reactive oxygen species at the cross-road, *Frontiers in Plant Science*, 7(187): 1-2.
- Shabala, S., 2017, *Plant Stress Physiology*, 2nd Edition, p.9-10.
- Shanmugam, S., Kjaer, K. H., Ottosen, C. O., Rosenqvist, E., Kumari Sharma, D., 2013, The alleviating effect of elevated CO₂ on heat stress susceptibility of two wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars, *Journal of Agronomy and Crop Science*, 340-350.
- Shulaeva, V., Cortesa, D., Miller, G., Mittler, R., 2008, Metabolomics for plant stress response, *Physiologia Plantarum*, 132: 199–200.
- Sharma, K. P., Sharma, N., 2018, Influence of high temperature on sucrose metabolism in Chalky and Translucent rice genotypes, *Section B: Biological Sciences*, 88(3): 1275–1284.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Siddiqui, M. H., Al-Khaishany, M. Y., Al-Qutami, M. A., Al-Wahaibi, M. H., Grover, A., Ali, H. M., Al-Wahaibi, M. S., 2015, Morphological and physiological characterization of different genotypes of faba bean under heat stress, *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22: 656–663.
- Siddiqui M. H., Alamri, S. A., Al-Khaishany, M. Y. Y., Al-Qutami, M. A., Ali, H. M., Al-Wahaibi, M. H., Al-Wahaibi, M. S., Alharby, H. F., 2018, Mitigation of adverse effects of heat stress on *Vicia faba* by exogenous application of magnesium, *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25: 1393–1394.
- Sita, K., Sehgal, A., HanumanthoRao, B., Nair, R. M., Vara Prasad, P. V., vd., 2017, Food legumes and rising temperatures: Effects, adaptive functional mechanisms specific to reproductive growth stage and strategies to improve heat tolerance, *Frontiers in Plant Science*, 8: 1-30.
- Slama, I., Abdelly, C., Bouchereau, A., Flowers, T., Savoure, A., 2015, Diversity, distribution and roles of osmoprotective compounds accumulated in halophytes under abiotic stress, *Annals of Botany*, 115: 433–440.
- Stein O., Granot, D., 2019, An overview of sucrose synthases in plants, *Frontiers in Plant Science*, 10(95): 1-4.
- Turhan, E., Aydoğan, Ç., Ergin, S., Öztürk, N., 2014, Variation in heat stress-induced some physiological changes and peroxidase activities among three tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Cultivars, *Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences*, 2: 1492-1496.
- Ullah, G., Ayub, G., 2021, Dissecting the heat stress responses and effects on morphology of tomato varieties employing pre-transplant high temperature conditioning, *Sarhad Journal of Agriculture*, 37(4): 1384-1402.
- Vallurua, R., Van den Ende, W., 2011, Myo-inositol and beyond – Emerging networks under stress, *Plant Science*, 181: 387– 395.
- Yamasaki, S., Dillenburg, L. R., 1999, Measurements of leaf relative water content in *Araucaria Angustifolia*, *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 11(2): 69-70.
- Yang, H., Gu, X., Ding, M., Lu, W., Lu, D., 2018, Heat stress during grain filling affects activities of enzymes involved in grain protein and starch synthesis in waxy maize, *Scientific Reports*, 8(15665): 1-9.
- Yin, H., Qiuming Chen, Q., Yi, M., 2008, Effects of short-term heat stress on oxidative damage and responses of antioxidant system in *Lilium longiflorum*, *Plant Growth Regul*, 54: 45–46.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devamı)

- Yong-Hua Liu, Y. H., 2015, Regulation of tomato fruit set under heat stress by CWIN-mediated sucrose metabolism and signaling, Doctoral thesis, Zhejiang University, China, p.187.
- Younis, M. E., Hasaneen, M. N. A., Kazamel, A. M., 2012, Comparative effects of stressful factors on growth and carbohydrate metabolism of broad bean plants Journal of Plant Production, Mansoura Univ., 3(2), 299 – 310.
- Yuan, L., Tang, L., Zhu, S., Hou, J., Chen, G., Liu, F., Liu S., Wang, C., 2017, Influence of heat stress on leaf morphology and nitrogen-carbohydrate metabolisms in two wucai (*Brassica campestris* L.) genotypes, Acta Societatis Botanicorum Poloniae, 86(2):3554, 1-16.
- Zhao, Q., Chen, W., Bian, J., Xie, H., Li, Y., vd., 2018, Proteomics and phosphoproteomics of heat stress-responsive mechanisms in spinach, Frontiers in Plant Science, 9(800): 1-18,
- Zhao, J., Lu, Z., Wang, L., Jin, B., 2021, Plant responses to heat stress: Physiology, transcription, noncoding RNAs, and epigenetics, International Journal of Molecular Sciences, 22(117): 1-14.
- Xalxo, R., Yadu, B., Chandra, J., Chandrakar, V., Keshavkant, S., 2020, Alteration in carbohydrate metabolism modulates thermotolerance of plant under heat stress, First Edition, p.77-103.
- Xu, S., Li, J., Zhang, X., Wei, H., Cui, L., 2006, Effects of heat acclimation pretreatment on changes of membrane lipid peroxidation, antioxidant metabolites, and ultrastructure of chloroplasts in two cool-season turfgrass species under heat stress, Environmental and Experimental Botany, 56: 274.
- Wahid, A., Gelani, S., Ashraf, M., Foolad, M. R., 2007, Heat tolerance in plants: An overview, Environmental and Experimental Botany 61: 199–202.
- Wang, J., Lv, J., Liu, Z., Liu, Y., Song, J., vd., 2019, Integration of transcriptomics and metabolomics for pepper (*Capsicum annuum* L.) in response to heat stress, International Journal of Molecular Sciences, 20(5042): 1-18.
- Wassie, M., Zhang, W., Zhang, Q., Ji, K., Chen, L., 2019, Effect of heat stress on growth and physiological traits of Alfalfa (*Medicago sativa* L.) and a comprehensive evaluation for heat tolerance, Agronomy, 9(597): 1-17.
- Winter, H., Huber, S.C., 2000, Regulation of sucrose metabolism in higher plants: localization and regulation of activity of key enzymes, Critical Reviews in Plant Sciences, 19(1): 31–67.

EK AÇIKLAMALAR

Ek Açıklama-A: İyon Sızıntısı İstatistiksel Tablosu

Bağımlı Değişken: İyon sızıntısı (%)

Kaynak	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Kareler Toplamı	F	Ö.D.
Düzeltilmiş Model	12336,122 ^a	4	3084,031	758,016	,000
Kesişme	16541,400	1	16541,40 0	4065,669	,000
Uygulama	12336,122	4	3084,031	758,016	,000
Hata	36,617	9	4,069		
Toplam	25201,165	14			
Düzeltilmiş Toplam	12372,739	13			

Ö.D: Önem Derecesi (%5)

Ek Açıklama-B: Yaprak Oransal Su Kapsamı İstatistiksel Tablosu

Bağımlı Değişken: %YOSK

Kaynak	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Kareler Toplamı	F	Ö.D.
Düzeltilmiş Model	4668,262 ^a	4	1167,065	103,825	,000
Kesişme	79248,015	1	79248,015	7050,071	,000
Uygulama	4668,262	4	1167,065	103,825	,000
Hata	101,167	9	11,241		
Toplam	84724,000	14			
Düzeltilmiş Toplam	4769,429	13			

Ö.D: Önem derecesi (%5)



Ek Açıklama-C: Turgor Kaybı İstatistiksel Tablosu

Bağımlı Değişken: %TK

Kaynak	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Kareler Toplamı	F	Ö.D.
Düzeltilmiş Model	2084,333 ^a	4	521,083	62,530	,000
Kesişme	4584,667	1	4584,667	550,160	,000
Uygulama	2084,333	4	521,083	62,530	,000
Hata	58,333	7	8,333		
Toplam	7776,000	12			
Düzeltilmiş Toplam	2142,667	11			

Ö.D: Önem derecesi (%5)



Ek Açıklama D: Sukroz Miktarı İstatistiksel Tablosu

Bağımlı Değişken: mg/L

Kaynak	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Kareler Toplamı	F	Ö.D.
Düzeltilmiş Model	188048,129 ^a	4	47012,032	160,507	,000
Kesişme	504622,771	1	504622,771	1722,869	,000
Uygulama	188048,129	4	47012,032	160,507	,000
Hata	4686,348	16	292,897		
Toplam	588519,032	21			
Düzeltilmiş Toplam	192734,477	20			

Ö.D: Önem Derecesi (%5)



Ek Açıklama-E: Glukoz Miktarı İstatistiksel Tablosu

Bağımlı Değişken: mg/L

Kaynak	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Kareler Toplamı	F	Ö.D.
Düzeltilmiş Model	2878,626 ^a	4	719,657	26,212	,000
Kesişme	35687,42	1	35687,424	1299,844	,000
Uygulama	2878,626	4	719,657	26,212	,000
Hata	411,827	15	27,455		
Toplam	39930,93	20			
Düzeltilmiş Toplam	3290,454	19			

Ö.D: Önem Derecesi (%5)



Ek Açıklama-F: Fruktoz Miktarı İstatistiksel Tablosu

Bağımlı Değişken: mg/L

Kaynak	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Kareler Toplamı	F	Ö.D.
Düzeltilmiş Model	761624,300 ^a	4	190406,075	360,338	,000
Kesişme	335854,975	1	335854,975	635,596	,000
Uygulama	761624,300	4	190406,075	360,338	,000
Hata	9511,375	18	528,410		
Toplam	1048243,675	23			
Düzeltilmiş Toplam	771135,675	22			

Ö.D: Önem Derecesi (%5)



Ek Açıklama-G: Maltoz miktarı İstatistiksel Tablosu

Bağımlı Değişken: mg/L

Kaynak	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Kareler Toplamı	F	Ö.D.
Düzeltilmiş Model	337417,561 ^a	4	84354,390	227,435	,000
Kesişme	412100,418	1	412100,418	1111,098	,000
Uygulama	337417,561	4	84354,390	227,435	,000
Hata	5563,423	15	370,895		
Toplam	663517,752	20			
Düzeltilmiş Toplam	342980,985	19			

Ö.D: Önem Derecesi (%5)



Ek Açıklama-H: Sukroz Sentaz Aktivitesi İstatistiksel Tablosu

Bağımlı Değişken: nmol/mg prot./s

Kaynak	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Kareler Toplamı	F	Ö.D.
Düzeltilmiş Model	,199 ^a	4	,050	12,450	,002
Kesişme	4,748	1	4,748	1190,183	,000
Uygulama	,199	4	,050	12,450	,002
Hata	,032	8	,004		
Toplam	5,228	13			
Düzeltilmiş Toplam	,231	12			

Ö.D: Önem Derecesi (%5)



Ek Açıklama-I: Asit İnvertz Aktıvetesinin İstatistiksel Tablosu

Bağımlı Değişken: nmol/mg prot./s

Kaynak	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Kareler Toplamı	F	Ö.D.
Düzeltilmiş Model	2,874 ^a	4	,719	130,032	,000
Kesişme	8,211	1	8,211	1485,994	,000
Uygulama	2,874	4	,719	130,032	,000
Hata	,050	9	,006		
Toplam	10,724	14			
Düzeltilmiş Toplam	2,924	13			

Ö.D: Önem Derecesi



Ek Açıklama-İ: Alkalın İnvertz Aktivitesinin İstatistiksel Tablosu

Bağımlı Değişken: nmol/mg prot./s

Kaynak	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Kareler Toplamı	F	Ö.D..
Düzeltilmiş Model	,762 ^a	4	,190	14,255	,001
Kesişme	15,778	1	15,778	1180,895	,000
Uygulama	,762	4	,190	14,255	,001
Hata	,120	9	,013		
Toplam	17,537	14			
Düzeltilmiş Toplam	,882	13			

Ö.D: Önem Derecesi (%5)