

T.C.

EGE ÜNİVERSİTESİ

Fen Bilimleri Enstitüsü

**TUZ STRESİNİN FARKLI GELİŞİM
DÖNEMLERİNDEKİ BUĞDAY BİTKİLERİNİN
AMİNO ASİT PROFİLİ ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN
BELİRLENMESİ**

Hazal ŞAHİN

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Melike BOR

Biyoloji Anabilim Dalı

Genel Biyoloji Yüksek Lisans Programı

İZMİR

2019

Hazal ŞAHİN tarafından yüksek lisans tezi olarak sunulan “**Tuz Stresinin Farklı Gelişim Dönemlerindeki Buğday Bitkilerinin Amino Asit Profili Üzerindeki Etkilerinin Belirlenmesi**” başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 01.03.2019 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/~~oyçokluğu~~ ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

Jüri Başkanı

: Prof.Dr. Melike BOR

Raportör Üye

: Prof. Dr. İsmail TÜRKAN

Üye

: Prof. Dr. H. Çağlar KARAKAYA

İmza







EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Tuz Stresinin Farklı Gelişim Dönemlerindeki Buğday Bitkilerinin Amino Asit Profili Üzerindeki Etkilerinin Belirlenmesi” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

01 / 03 / 2019



İmzası

Adı-Soyadı

Hazal ŞAHİN

ÖZET**TUZ STRESİNİN FARKLI GELİŞİM DÖNEMLERİNDEKİ
BUĞDAY BİTKİLERİNİN AMİNO ASİT PROFİLİ ÜZERİNDE Kİ
ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

ŞAHİN, Hazal

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Ana Bilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Melike BOR

1 Mart 2019, sayfa 59

Bitkiler yaşamları boyunca çok çeşitli biyotik ve abiyotik streslere maruz kalmaktadırlar. Stres koşullarında bitki metabolizmasında meydana gelen değişimler bitkilerdeki savunma mekanizmalarının tanımlanması için önemlidir. Bitki metabolizmasının önemli bileşenlerinden olan amino asitler hem proteinlerin yapı taşı olarak görev yaparlar hem de büyüme, gelişme ve savunma süreçlerinde çeşitli görevler üstlenirler. Genel olarak, belirli amino asitlerin miktarında gözlenen değişimler bitkilerin stresten etkilenme düzeyini veya tolerans seviyesini anlayabilmemiz açısından belirleyici olabilirler.

Araştırma projemizde farklı gelişim dönemlerindeki buğday bitkilerinde tuz stresi koşullarında amino asit profillerinde meydana gelen değişimleri stres yanıtları ve tolerans açısından incelemeyi hedefledik. Tarla koşullarında yetiştirilen buğday bitkilerine 100 ve 200 mM tuz stresi uygulandı. Erken fide döneminden başak olgunlaşması dönemine kadar örnekleme yapıldı. Kontrol ve stres gruplarından alınan örneklerde karşılaştırmalı olarak yaprak , kök yaş ve kuru ağırlıkları, başak verimi, klorofil floresansı, amino asit ve protein miktarlarındaki değişimler incelendi. Kontrol grupları ile karşılaştırıldığında büyüme, gelişme ve verimle ilgili parametrelerin tuz stresi uygulanan gruplarda özellikle erken fide döneminde olumsuz etkilendiğini görüldü. Yaprak ve başak serbest amino asit havuzunda kontrol ve tuz grupları arasında belirgin bir fark görülmedi.

Anahtar Sözcükler: Buğday, tuz stresi, amino asit.

ABSTRACT**THE EFFECT ON THE AMINO ACID PROFILE OF SALT STRESS IN
WHEAT PLANTS WITH DIFFERENT DEVELOPMENTAL STAGES**

ŞAHİN, Hazal

MSc in Biology

Supervisor: Prof. Dr. Melike BOR

1 March 2019, pages 59

Plants encounter different type of biotic and abiotic stresses during their life time. Alterations in plant metabolism during stress exposure is important for us to understand defense mechanisms. Amino acids are among the important components of plant metabolism not only by being building blocks of proteins but also for contributing to several processes in growth and development. Generally, differences in amino acid content during stress periods provide us clues for the degree of stress effects and tolerance levels of plants.

In this research, we aimed to study the discrepancy in the amino acid profiles of wheat plants subjected to salt stress by means of stress responses and tolerance. Wheat plants were grown at field conditions and treated with 100 and 200 mM NaCl for salt stress. Samples were taken from early seedling to spike maturation period. The discrepancies between control and salt treated groups were analyzed by comparing shoot and root fresh and dry weights, spike productivity, photosynthetic efficiency, amino acid and protein contents. The major impact of salinity was seen at early seedling stage and the amino acid profiles were similar in all groups.

Keywords: Wheat, salt stress, amino acid.

ÖNSÖZ

Buğday dünyada yaygın olarak büyüyen bir tahıl bitkisidir. Şiddetli tuz stresinin buğday üzerindeki etkileri kalitesiz ve düşük dane verimi şeklinde görülmüştür. Amino asit içeriği ve kompozisyonu buğday ürünlerinin besin değerini önemli derecede etkiler

Bu tez çalışmasında, buğday bitkisinde farklı gelişim dönemlerinde uygulanan tuz stresinin bitkinin fizyolojik gelişimi, protein miktarı ve amino asit profilleri üzerindeki değişiklikleri belirlenmek amaçlanmıştır.

Çalışma konusunun belirlenmesinde, araştırılmasında ve çalışmanın hazırlanma sürecinde, bilgilerini, tecrübelerini ve destekleğini esirgemeyerek çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Melike BOR'a teşekkürü bir borç bilirim.

İZMİR

01/03/2019

Adı-Soyadı

Hazal ŞAHİN

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	ix
ÖNSÖZ.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xv
1. GİRİŞ	1
1.1 Tuz stresi ve amino asit arasında ki ilişki	2
1.2 Buğday	11
1.2.1 Buğdayın yetiştirme koşulları ve toprak istekleri	14
1.2.2 Dünya ve Türkiye'de buğday üretim ve tüketimi.....	14
2. GEREÇ VE YÖNTEM	16
2.1 Bitki materyali ve yetiştirilmesi	16
2.2 Tuz stresi uygulaması.....	17
2.3 Büyüme parametrelerinin ölçümü.....	18
2.4 Klorofil floresans ölçümü.....	19
2.5 Bağlı su miktarı (RWC)	20
2.6 Total protein miktarının belirlenmesi.....	20
2.7 Başak verim parametreleri	21
2.8 Amino asit analizi.....	22
3. BULGULAR	25
3.1 Kök yaş ve kuru ağırlıkları.....	25
3.2 Gövde yaş ve kuru ağırlıkları	27
3.3 Başak yaş ve kuru ağırlıkları.....	29
3.4 Fotosentetik verim.....	31
3.5 Bağlı su içeriği (RWC).....	32
3.6 Total protein miktarının belirlenmesi.....	33

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
3.7 Başak verim parametreleri.....	35
3.8 Yaprak ve başak örneklerinin amino asit profillerinin belirlenmesi	36
4. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	43
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	49
TEŞEKKÜR	57
ÖZGEÇMİŞ.....	59

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. Abiyotik stres faktörlerine karşı bitki cevaplarının genel dinamikleri.....	2
1.2. Bitkilerin tuz streslerine karşı verdikleri büyüme cevapları.....	3
1.3. Amino asitler ve yapıları	6
1.4. <i>Triglochin maritima</i> L. (Juncaginaceae)'da farklı tuz stresinde prolin aminoasit havuzundaki birikimi	8
1.5. Bitki hücre gelişimi sırasında amino asit, protein biyosentezi ve bozunma diferansiyel döngüsü	10
1.6. <i>Arabidopsis thaliana</i> 'da protein-bağlı ve serbest amino asitler. Serbest amino asitlerin konsantrasyonları	11
2.1. İki seri halinde yürütülen çalışma da Deneme 1 ve Deneme 2 için kurulan deneme deseni. <i>Triticum aestivum</i> Pamukova kültür çeşidi tarla koşullarında tesadüf bloklarına bölünmüş parsel deseninde yetiştirildi.....	16
2.2. Tarla koşullarında 14. Günde <i>Triticum aestivum</i> L.....	17
2.3. 7. günde <i>Triticum aestivum</i> L bitkisine tuz stresi uygulaması.....	18
2.4. 21. günde <i>Triticum aestivum</i> L.....	19
2.5. 35. günde kontrol ,100 mM NaCl ve 200 mM NaCl uygulanan bitkilerde klorofil floransı ölçümleri.....	20
2.6. 56. günde <i>Triticum aestivum</i> L.....	22
3.1. <i>Triticum aestivum</i> L. bitkisinde tuz stresi koşullarında 7., 14., 21., 28., 35., 42., 49. ve 52. günlerde kontrol, 100 mM ve 200 mM NaCl gruplarında kök yaş ağırlık (g) değerlerinde ki değişimler.....	26

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.2. <i>Triticum aestivum</i> L. bitkisinde tuz stresi koşullarında 7., 14., 21., 28., 35., 42., 49. ve 52. günlerde kontrol, 100 mM ve 200 mM NaCl gruplarında kök kuru ağırlık (g) değerlerinde ki değişimler..	27
3.3. <i>Triticum aestivum</i> L. bitkisinde tuz stresi koşullarında 7., 14., 21., 28., 35., 42., 49. ve 52. günlerde kontrol, 100 mM ve 200 mM NaCl gruplarında gövde yaş ağırlık (g) değerlerinde ki değişimler.....	28
3.4. <i>Triticum aestivum</i> L. bitkisinde tuz stresi koşullarında 7., 14., 21., 28., 35., 42., 49. ve 52. günlerde kontrol, 100 mM ve 200 mM NaCl gruplarında gövde kuru ağırlık (g) değerlerinde ki değişimler.....	29
3.5. <i>Triticum aestivum</i> L. bitkisinde tuz stresi koşullarında 21., 28., 35. ve 42. günlerde kontrol 100 mM ve 200 mM NaCl gruplarında başak yaş ağırlık (g) değerlerinde ki değişimler.	30
3.6. <i>Triticum aestivum</i> L. bitkisinde tuz stresi koşullarında 21., 28., 35. ve 42. günlerde kontrol 100 mM ve 200 mM NaCl uygulanan gruplarda başak kuru ağırlık (g) değerlerinde ki değişimler.	31
3.7. <i>Triticum aestivum</i> L. bitkisinde tuz stresi koşullarında 21., 28., 35. ve 42. günlerde kontrol 100 mM ve 200 mM NaCl uygulanan gruplarda fotosentetik verim (Fv/Fm) değerlerindeki değişimlerin belirlenmesi..	32
3.8. <i>Triticum aestivum</i> L. bitkisinde tuz stresi koşullarında 0., 7., 14., 21., 28. ve 35. günlerde kontrol 100 mM ve 200 mM NaCl uygulanan gruplarda bağıl su içeriği değerlerindeki değişimlerin belirlenmesi..	33
3.9. <i>Triticum aestivum</i> L. bitkisinde tuz stresi koşullarında 0., 7., 14., 21., 28., 35., ve 42. günlerde kontrol 100 mM ve 200 mM NaCl uygulanan gruplarda yaprakda protein içeriğinin belirlenmesi..	34

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.10. <i>Triticum aestivum</i> L. bitkisinde tuz stresi koşullarında 0., 7., 14., 21., 28., 35., ve 42. günlerde kontrol 100 mM ve 200 mM NaCl uygulanan gruplarda başakda protein içeriğinin belirlenmesi.....	34
3.11. Fenilalanin amino asitinin MS-spektrumu	36
3.12. Lizin amino asitinin MS-spektrumu.	36
3.13. Tirozin amino asitinin MS-spektrumu.....	36
3.14. Glutamin amino asitinin MS-spektrumu.	37
3.15. Arginin amino asitinin MS-spektrumu.....	37
3.16. Treonin-lösin amino asitinin MS-spektrumu.....	37
3.17. İzolösin-lösin amino asitinin MS-spektrumu.	38
3.18. Glutamat amino asitinin MS-spektrumu	38

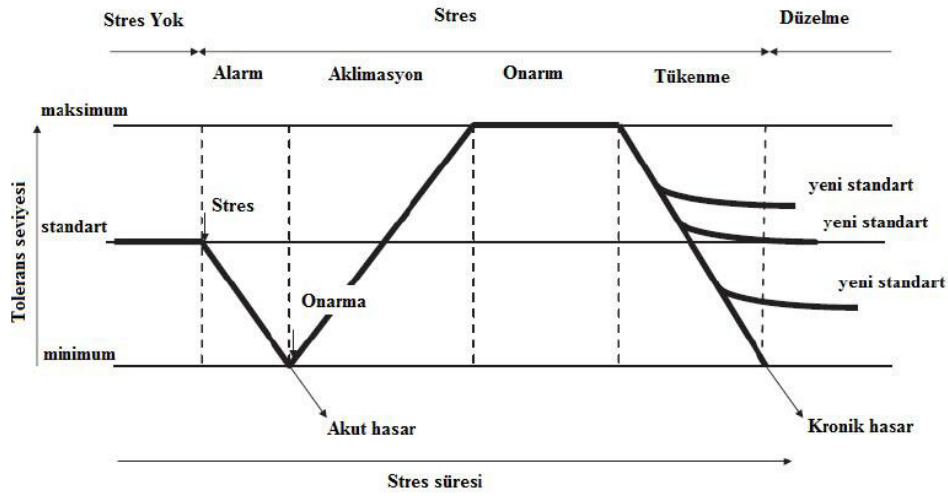
ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
1.1 2012 yılına ait verilerele tahılların dünyada ekim alanı, üretim ve verim değerleri	14
1.2 Son 10 yıl da dünyada buğdayın ekim alanı, üretim ve verim değerleri	15
3.1 <i>Triticum aestivum</i> L bitkisinde tuz stresi koşullarında 70. günlerde başakta bulunan dane sayısı , 1000 dane ağırlığı (g) ve başak uzunluğu (cm) verileri	35
3.2 Kontrol ve tuz stresi uygulanan gruptan alınan yaprak örneklerinde kalitatif olarak belirlenen amino asitler	40
3.3 Kontrol ve tuz stresi uygulanan gruptan alınan başak örneklerinde kalitatif olarak belirlenen amino asitler.....	42

1. GİRİŞ

Bitkiler sesil doğaları gereği yaşam döngüleri boyunca büyüme ve gelişmelerini olumsuz yönde etkileyecek birçok stres faktörü ile karşılaşılır. Çevre şartlarının bir bitkinin normal büyüme ve gelişmesini olumsuz yönde etkileyecek kadar değişmesi halinde bitkide oluşturduğu etkiye stres denir , bir başka deyişle stres bitkiler üzerinde negatif etkileri olan dış faktörler olarak tanımlanır. Tarımsal üretimi olumsuz etkileyen başta abiyotik stres faktörleri olmak üzere çevresel stresler ve bitkiler tarafından bu streslere verilen yanıtlar bilim insanlarının üzerinde durduğu konulardır (Cavanagh et al., 2008; Munns and Tester, 2008; Chinnusamy and Zhu, 2009; Mittlerand Blumwald, 2010). Abiyotik stres su kıtlığı, kuraklık, tuzluluk, yüksek ve düşük sıcaklık, yüksek ışık şiddeti, ultraviyole, oksijen kıtlığı ve ağır metal kirliliği gibi karmaşık çevresel etmenlerin neden olduğu bir stres çeşididir (Hirayama and Shinoza, 2010).

Abiyotik stres, dünya çapında bitkisel verim kaybının birincil nedeni olup, en fazla ürün elde edilen kültür bitkilerindeki ortalama ürün verimini % 50'den fazla azaltmaktadır (Ghassemi et al. 1995; Wang et al 2004). Dünyada 800 milyon hektardan fazla alan tuzluluk sorunundan etkilenmekte ve bu miktar dünyada ki kara parçalarının yaklaşık % 7'sini teşkil etmektedir (Munns and Tester, 2008). Türkiye de ise 1.5 milyar hektarlık alan tuzluluktan etkilenmektedir. Bu durumda tuzluluğun giderek yaygınlaşan ciddi bir stres faktörü olduğu karşımıza çıkmaktadır. Tarımsal üretim alanlarında tuzluluk, toprakların verimliliğini olumsuz yönde etkileyen, ürün verimini sınırlandıran en önemli sorunlardan birisidir. Toprak tuzluluğu genellikle yağış miktarı az, yüksek sıcaklık derecelerine sahip olan kurak ve yarı kurak bölgelerde ortaya çıkmaktadır. Yanlış sulama teknikleri veya sulama suyunda bulunan fazla miktardaki eriyebilir tuz içeriği tuzlanmanın diğer etkilerindedir. (Epstein et al. 1980). Sulama ile birlikte , toprağın alt katmanlarında bulunan tuz, evaporasyon sırasında kapillarite ile yukarı taşınmakta ve bitkinin kök bölgesi seviyesinde birikmektedir. 2007 yılında Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) raporuna göre dünyada ki karasal alanların %3.5 i herhangi bir çevresel faktörden etkilenmemektedir (Boyer, J. S. 1982, Van Velthuisen, H. 2007) . Stres etmeninin vereceği zarar bitkinin türüne ve adaptasyonuna ve toleransına bağlıdır (Rao et all., 2006).



Şekil 1.1 Abiyotik stres faktörlerine karşı bitki cevaplarının genel dinamikleri (Kosová vd., 2011).

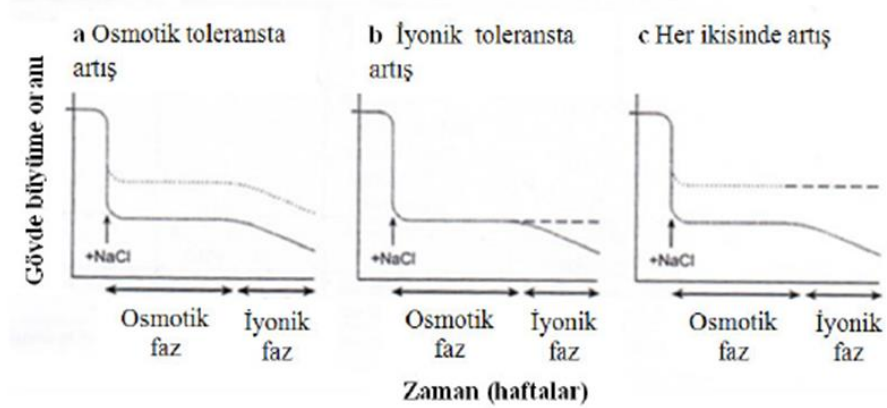
1.1 Tuz stresi ile amino asit metabolizmasının ilişkisi

Yapılan çalışmalar sonucunda tuzluluğun bitki gelişimi ve ürün verimi üzerinde önemli abiyotik stres faktörü olduğu ve toprak tuzluluğunun her geçen yıl daha da arttığı belirlenmiştir. Toprak tuzluluğu, çoğunlukla yağış miktarı az, yüksek sıcaklık derecelerine sahip, kurak ve yarı kurak bölgelerde ortaya çıkmakta ve bitki verim, kalitesini olumsuz yönde etkilemektedir (Munns and Tester, 2008)

Tuz stresinin bitkilerde görülen genel etkileri, çimlenme de azalma ve gecikme, büyüme hızındaki düşüş, yaprak sayısındaki ve alanındaki azalma, bitki boyunun kısalması ve tomurcuk sayısının azalması şeklinde ortaya çıkmaktadır. Sonuç olarak bitkinin vejetatif ve generatif verimini ve kalitesini negatif yönde etkilemektedir (Gupta and Srivastava 1989; Pessaraki et al., 1991; Van Hoorn, 1991; Munns and Tester, 2008).

Bitkilerde tuz stresinin etkileri başlıca iki şekilde ortaya çıkar (Şekil 1.2) İlk etkisi erken dönem de ortaya çıkan ozmotik etkidir. Ozmotik etki kök çevresinde düşük su potansiyeli meydana getirerek bitkide kuraklık etkisi oluşturur. İkinci etki ise özellikle Na^+ ve Cl^- gibi iyonların toksik etkisidir ve bu etki bitkinin ilerleyen gelişim evrelerinde meydana gelerek bitkide besin alımında ve iletilmesinde azalma ya bağlı olarak besin dengesizliğine neden olur (Marschner, 1995; Munns and Tester, 2008). Yüksek tuz konsantrasyonlarında tüm bitki türleri belirgin olarak büyüme de gerileme göstermesine karşın,

büyüme ve üretkenlik açısından türler ve çeşitler arasında belirgin farklılıklar bulunmaktadır (Munns 2002; Munns and Tester, 2008).



Şekil 1.2 Bitkilerin tuz stresi karşısında verdikleri büyüme cevapları (Munns and Tester, 2008).

Tuz stresinin tarımsal verimin %50 sinde verim kaybına neden olduğu tahmin edilmektedir (Kreps et al. 2002) Tarla koşullarında tuzluluk seviyesi bitki büyüme periyodu boyunca sulama periyotlarında ve kuraklık dönemlerinde toprak profilleinde değişiklik göstermektedir. Topraklar genel olarak ekim zamanları en az seviyede tuzluluk gösterir. Bunun nedeni ekimden önceki yağışlar ve sulamalar toprağın üst tabakasında bulunan tuzların aşağıya doğru yıkanmasına neden olur. Büyümenin devam ettiği ileriki aşamalarda sulama suyunun içerdiği tuzlar ve gerek taban suyunda veya alt profillerde bulunan tuzların kök bölgesine taşınmasıyla tuzluluk artar ve tane dolun aşamasında en yüksek seviyeye ulaşır (Munns and James, 2003).

Artan tuz konsantrasyonlarının bitkilerde çimlenmeyi geciktirdiğini fakat aspir, sorgum, ayçiçeği ve buğday gibi tuza toleranslı bitkilerde 10. günden sonra yüksek çimlenme yüzdesi elde edilmiştir (Shannon, 1984; Van Hoorn, 1991). Bitkilerin çimlenme ve ilk gelişim dönemlerinde tuza, diğer gelişim dönemlerine göre daha hassas olduğu (Shannon, 1984; Van Hoorn, 1991) tarafından bildirilmiştir. Buğdayda artan tuz konsantrasyonu ile birlikte bitki kuru ağırlığının azaldığı ve köklerin toprak üstü organlara oranla olumsuz olarak daha fazla etkilendiği bilinmektedir (Gupta and Srivastava 1989; Pessaraki et al., 1991). Yapılan bilimsel çalışmalar buğday veriminin topraktaki tuz konsantrasyonu 100 mM'ı geçtiğinde önemli ölçüde azaldığını göstermektedir (Munns et al., 2006). Tuz toleransı bir bitki de fizyolojik gelişme dönemlerine göre değişiklik

gösterebilmektedir. Genelde tahıllar, vejetatif dönemde ve erken generatif dönemde tuza karşı daha hassas (Shannon 1984; Mass and Grieve, 1994) generatif ve tane dolum zamanında ise daha dayanıklıdır (Shannon 1985; Mass and Grieve 1990).

Çöl, step ve diğer bölgelerdeki yaygın stres faktörlerinden birisi de yine fizyolojik kuraklığa neden olarak büyümeyi önemli ölçüde sınırlayan, topraktaki yüksek tuz konsantrasyonudur. Bunun nedeni bitki tuzlu topraklarda, negatif ozmotik potansiyel sebebi ile su elde etmenin zorluğunun yanı sıra yüksek konsantrasyonda ki sodyum, karbonat ve klorid iyonları ile temas ederek iki önemli stres etkisinde kalır. Düşük Na + konsantrasyonuna sahip buğday genotiplerinin yüksek Na + konsantrasyonlu genotiplerden daha fazla kuru madde ürettiği bulunmuştur (Munns et al., 2006). Tuz stresi buğday da yaprak sayısı , kök büyüme oranı ,kök-sürgün oranı ve toplam kuru madde verimi gibi fizyolojik yönler üzerine engelleyici etkiye sahiptir (Pessarakli and Huber, 1991; El-Hendawy et al., 2005).

İklim değişikliği ve tarımsal uygulamalar, tahmini olarak 45 milyon hektarlık sulanan araziye etkileyerek artan toprak tuzluluğuna katkıda bulunmuştur (Rengasamy, 2010). Ana kayaların ayrışması okyanuslar ve iklimsel etmenler primer tuzluluğun oluşma nedenleridir (Munns and Tester, 2008) . Tuz stresi, suda çözünür tuzlardan kaynaklanan katyonların (Na +, K +, Mg²⁺, Ca²⁺) ve anyonların (Cl⁻, SO₄²⁻, HCO₃⁻) birikmesini etkileyerek ürün verimliliğini sınırlar. Bu tuzlar, mineral erozyonu , mineralli su veya okyanus suyu gibi faktörlere bağlı olarak birikmektedir (Todorova et al., 2013). Endişe verici şekilde artan dünya nüfusu ile tarımsal üretim aynı hızda seyretmemektedir (Parihar et al., 2015). Toplam gıda üretiminin 2050 yılında (faostat.fao.org) 9.5 milyar insanı beslemesi için% 60 -% 110 artırılması gerektiği tahmin edilmektedir. Biyotik ve abiyotik faktörler, artan popülasyonun gıda taleplerini karşılamak için tarımsal gelişmenin en önemli kısıtlayıcılarıdır (Tilman et al., 2011). Tuzlanma suda çözülebilir iyonların toprak profilinin üst kısmında tarımsal üretimi, çevre sağlığını, ekonomik refahı etkileyecek bir seviyeye gelmesidir. Toprak tuzlanması esas olarak denize yakın yoğun yağış alan ve kaya aşınması bulunan bölgelerde görülür.

Tuzluluk su ozmotik potansiyelini azaltır ve iyon dengesizliğine neden olur. Bunun yanında ürün verimini ve kalitesini düşürür, büyümeyi engelleyerek bitkiye fizyolojik açıdan zarar verir (Hauser and Horie, 2010; Katerji et al., 2005)Topraktaki yüksek seviyedeki tuz konsantrasyonları, hücre içi ortamda hem hiperyonik hem de hiperosmotik strese neden olur. Tuz stresinin başlangıç aşamaları sırasında bitkide gerçekleşen turgor kaybı ve stoma kapanmasını takiben büyüme inhibisyonu, azaltılmış polen canlılığı, fotosentetik enzim aktivitesinin inhibisyonu, sukroz birikimi ve inaktivasyon gibi fizyolojik tepkiler izler (Munns and Tester, 2008; Chaves et al., 2009; Biswal et al., 2011; Silva et al., 2011; Mittal ve ark., 2012; Shu et al., 2012; Jajoo, 2013). Uzun süreli tuz stresi, Na⁺ 'nın yüksek birikimi sonucu enzim aktivitesinin baskılanmasına, artmış H₂O₂ ve lipid peroksidasyonuna neden olarak yaprak yaşlanmasına neden olur (Sairam et al., 2002; Chinnusamy and Zhu, 2003; Allu et al., 2014).

Yaşadıkları ortamda bitkiler yer değiştiremedikleri için doğada biyotik (bakteriyel, viral, fungal veya otçul atakları) veya abiyotik (kuraklık, tuzluluk, soğuk, ısı ve ağır metaller vb.) olabilecek çevresel stres faktörlerinin olumsuz etkilerine karşı sürekli savaşırlar. Bitkiler aynı anda veya her seferinde bu stres faktörlerine maruz kalabilir ve hücrel ve organizma disfonksiyonu ve instabilite ile karşı karşıya kalabilirler.

Amino acid	3-letter code	1-letter code	MW (Da)	Structure
Alanine	Ala	A	89.1	CH ₃ -CH(NH ₂)-COOH
Arginine	Arg	R	174.2	HN=C(NH ₂)-NH-(CH ₂) ₃ -CH(NH ₂)-COOH
Asparagine	Asn	N	132.1	H ₂ N-CO-CH ₂ -CH(NH ₂)-COOH
Aspartic Acid	Asp	D	133.1	HOOC-CH ₂ -CH(NH ₂)-COOH
Cysteine	Cys	C	121.2	HS-CH ₂ -CH(NH ₂)-COOH
Glutamic Acid	Glu	E	147.1	HOOC-(CH ₂) ₂ -CH(NH ₂)-COOH
Glutamine	Gln	Q	146.1	H ₂ N-CO-(CH ₂) ₂ -CH(NH ₂)-COOH
Glycine	Gly	G	75.1	NH ₂ -CH ₂ -COOH
Histidine	His	H	155.2	NH-CH=N-CH=C-CH ₂ -CH(NH ₂)-COOH _____
Isoleucine	Ile	I	131.2	CH ₃ -CH ₂ -CH(CH ₃)-CH(NH ₂)-COOH
Leucine	Leu	L	131.2	(CH ₃) ₂ -CH-CH ₂ -CH(NH ₂)-COOH
Lysine	Lys	K	146.2	H ₂ N-(CH ₂) ₄ -CH(NH ₂)-COOH
Methionine	Met	M	149.2	CH ₃ -S-(CH ₂) ₂ -CH(NH ₂)-COOH
Phenylalanine	Phe	F	165.2	Ph-CH ₂ -CH(NH ₂)-COOH
Proline	Pro	P	115.1	NH-(CH ₂) ₃ -CH-COOH _____
Serine	Ser	S	105.1	HO-CH ₂ -CH(NH ₂)-COOH
Threonine	Thr	T	119.1	CH ₃ -CH(OH)-CH(NH ₂)-COOH
Tryptophan	Trp	W	204.2	Ph-NH-CH=C-CH ₂ -CH(NH ₂)-COOH _____
Tyrosine	Tyr	Y	181.2	HO-p-Ph-CH ₂ -CH(NH ₂)-COOH
Valine	Val	V	117.1	(CH ₃) ₂ -CH-CH(NH ₂)-COOH

Şekil 1. 3 Amino asitler ve yapıları (Lenhinger ‘Principles of biochemistry ‘ 2017)

http://www.geneinfinity.org/sp/sp_aaprops.html

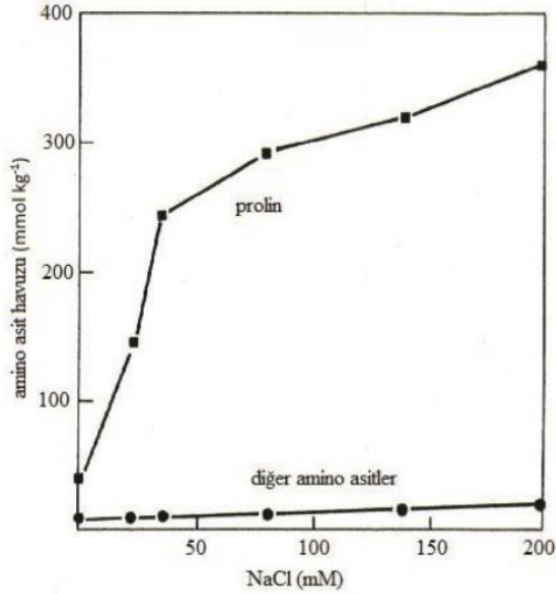
Amino asitler proteinlerin yapı taşlarıdır. Amino asitler bitkilerde çok çeşitli ve önemli rollere sahiptir. Enzimler ve proteinler için yapı taşları olarak, bitki metabolizması ve yapısı için önemli bileşenleri sağlarlar. Dahası, nükleotidler, klorofil, hormonlar ve ikincil metabolitler dahil olmak üzere bitki gelişimi için kritik olan çok çeşitli bileşiklerin sentezi için öncü veya nitrojen [N] vericiler olarak görev yaparlar. Bitkiler amino asitleri doğrudan topraktan alabilir veya inorganik N' yi (yani nitrat ve amonyum) amino asitlere asimile edebilir. Amino asitler protein biyosentezi sırasında kullanımlarının yanı sıra, diğer biyosentez yolları için yapı taşlarını da temsil ederler ve bitki stres yanıtında olduğu kadar sinyalleşme süreçlerinde de önemli rol oynarlar. 20 protein amino asidinin bir çoğu köklerin veya yaprakların plastidlerinde üretilir, fakat aynı zamanda sitosol,

mitokondri ve peroksizomlar dahil olmak üzere diğer hücresel bölmelerde sentezlenirler. Sentezin ardından, amino asitler hemen metabolizma için kullanılır geçici olarak saklanır (örn., Vaküol) veya floem içinde nakledilen vejetatif veya reproduktif dokulara nakledilir. Amino asitler proteinlerin bileşenleri, anabolizma için öncüler ve bazı durumlarda memeli ve bitkilerde sinyal veren moleküller olarak işlev görürler (Häusler, Ludewig ve Krueger 2014).

Genel olarak, 20 amino asitlik havuz büyüklüğü, bitki hücresinin gelişimsel ve fizyolojik durumuna bağlı olarak kuvvetli bir şekilde farklılaşır ve dinamik olarak değişir. Amino asitlerin katabolizması, havuz boyutlarını ayarlamak için merkezi bir öneme sahiptir, ancak şimdiye kadar çok daha az dikkat çekmiştir. Amino asitlerin degradasyonu, aynı zamanda, bazı fizyolojik koşullar altında, bitki hücrelerinin enerji durumuna önemli ölçüde katkıda bulunabilir, örn. karbon açlığı.

Bitki hücreleri, bir bitki yapısının çoğunu oluşturan yüksek miktarda karbonhidrat (selüloz ve diğerleri) nedeniyle, hayvan hücrelerine kıyasla düşük protein seviyeleri içerir. Bununla birlikte, bitki hücrelerinin temel yapı taşı olmaları nedeniyle proteinlerin ve amino asitlerin önemi gözardı edilemez. Amino asitler, hücrede biyokimyasal reaksiyonların çoğunda rol alırlar, ayrıca bitki büyümesi, gelişimi, hücre içi birçok fizyolojik süreçler, pH kontrolü, metabolik enerji üretimi, redoks gücü, biyotik ve abiyotik strese karşı direnç sağlarlar. (Moe, 2013; Watanabe et al., 2013; Zeier, 2013; Fagard et al., 2014; Galili et al., 2014; Häusler et al., 2014; Pratelli and Pilot, 2014). Arabidopsis'in abiyotik strese metabolik tepkisi üzerine yapılan bir meta-çalışmada, lizin ve treonin amino asitlerinin miktarlarının arttığı ortaya konulmuştur. (Obata and Fernie, 2012). Ayrıca, hemen hemen tüm serbest amino asit havuzları, yaprak yaşlanması sırasında büyük ölçüde artar (Watanabe et al., 2013).

Ayrıca yapılan bir çok çalışmada stres altında serbest amino asitlerin miktarının arttığı görülmüştür. Örneğin Prolin amino asitinin stres sırasında çeşitli bitkilerde artıp uyumlu bir ozmoliti temsil ettiği düşünülmektedir (Verbruggen ve Hermans, 2008; Szabados ve Savoure, 2010; Jacoby et al., 2011).



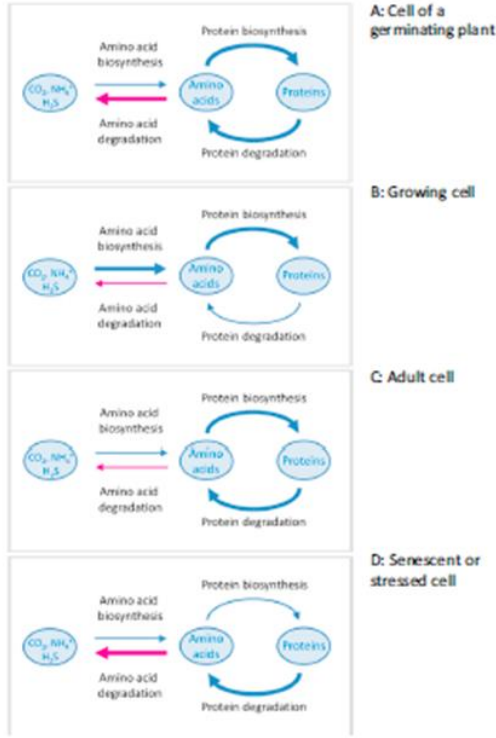
Şekil 1.4 *Triglochin maritima* L. (Juncaginaceae)'da farklı tuz stresinde prolin aminoasitinin havuzundaki birikimi (Stewart ve Lee, 1974).

Prolin ile ilgili yapılan ilk çalışmalar çavdar bitkisinde olmuştur (Kemble, et al 1954). Yapılan bir çok çalışmada çevresel stres koşulunda prolin miktarının arttığı gösterilmiştir. Prolin birikimi kuraklık (Choudhary, N.L. et al. 2005), yüksek tuzluluk (Yoshiba, et al., 1995), yüksek ışık ve UV ışınımı (Saradhi, P.P. 1995), ağır metal (Schat, H. et al., 1997) ve oksidatif stres (Yang, S.L. et al., 2009) gibi biyotik streslere yanıt oluşturur. Prolinin amino asidinin hücredeki temel görevi, lipit oksidasyonunu engelleyerek membran sistemlerini ve oluşturdukları bileşikler aracılığıyla da protein yapılarını korumaktır. Fakat son gerçekleştirilen çalışmalar, prolinin aynı zamanda sinyal iletiminde de görevli olabileceğini ve mitokondri fonksiyonlarının düzenlenmesi, hücre bölünmesi veya ölümü ve hatta gen anlatım seviyelerinin düzenlenmesinde de rol oynayan önemli bir serbest amino asit olabileceğini ortaya koymaktadır (Anjum ve ark., 2011; Liang ve ark., 2013; Kishor ve Sreenibasulu, 2014).

Bitki metabolizmasının çeşitli yönleri ile ilgili son çalışmalara ve amino asit katabolizmasının sadece normal yaşlanma sırasında değil, aynı zamanda kara bitkilerinde stres toleransında da nasıl önemli olabileceğine özellikle vurgu yapılmaktadır (Hildebrandt et al., 2015). Amino asitler, sentez ve katabolizma dengesini geliştirerek, bitkilerin uzun süreli stres koşullarında hayatta kalmasına

ve ayrıca ekin bitkilerinin özellikle esansiyel amino asitlerle biyolojik olarak bozulmasına olanak tanır (Hildebrandt et al., 2015) .

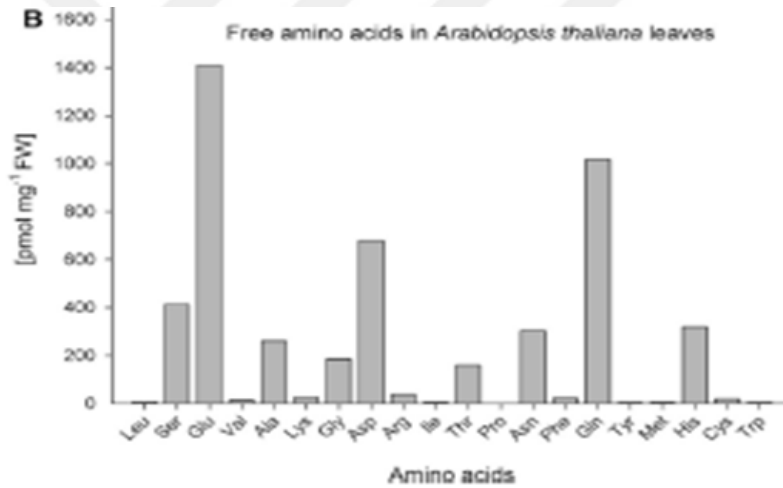
Bir bitkinin yaşam döngüsü boyunca katabolik yollardan geçen amino asit akışının büyük ölçüde değişmesi beklenebilir. Başlangıçta ışık yokluğunda ki çimlenme sırasında tohum depolama proteinleri, büyüyen bitki tarafından gerekli olan proteinlerin biyosentezi için amino asitleri sağlamak üzere bozulur. Ayrıca genç fidelerin enerji talebi, fotosentez aparatı tamamen işlevsel olana kadar amino asit oksidasyonu, yağ asitleri ve nişasta gibi diğer depolama bileşiklerinin degradasyonu ile giderilir (Galili et al., 2014). Fotosentetik olarak aktif hücrelerin büyümesinde, amino asit biyosentezi, substratlar sağlamak üzere düzenlenmiştir. Bununla birlikte amino asitlerin protein bileşikleri rollerine ek olarak sıkı kontrol edilen kararlı durum seviyeleri başka fonksiyonlarda sahip olduklarını düşündürmektedir (Hildebrandt et al., 2015). Bazı amino asitlerin (örneğin, serin, prolin ve lösin) sinyalleşme molekülleri olarak görev yaptıkları bazılarının ise fitohormonları ve diğer sekonder metabolitlerin sentezi için önemli oldukları bulunmuştur (Hannah et al., 2010; Szabados and Savoure, 2010; Timm et al., 2012; Ha' usler et al., 2014; Ros et al., 2014). Bunlara ek olarak sistein amino asiti çok reaktiftir ve belli bir seviyenin üzerine gelmesi toksit etki yaratır. Yaşlanma sırasında, besin maddeleri, kaynak yapraklarından tohum gelişmesi için dokulara yeniden tahsis edilir ve bu nedenle protein ve amino asit degradasyonu özellikle yüksektir (Watanabe et al., 2013). Benzer şekilde, bitkilerde amino asitlerin kıtlığına neden olan koşullarda proteinler, proteozom aracılı bozunma ve otofaji gibi katabolik programlarını harekete geçirip amino asit rezervuarlarını oluştururlar (Araujo et al., 2010). Amino asitler daha sonra geri dönüştürülür ve besin sınırlaması altında gerekli olan spesifik proteinlerin sentezi için temin edilir. Amino asit içeriğinin düzenlenmesi bitki gelişmesinde ve savunmada bunun yanında taşımada, karbon, azot dengesinde kritik öneme sahiptir (Zeier, 2013; Pratelli and Pilot, 2014).



Şekil 1.5 Bitki hücre gelişimi sırasında amino asit, protein biyosentezi ve parçalanma döngüsü (Hildebrandt et al., 2015) Büyüyen ve farklılaşan hücrelerde, amino asit ve protein biyosentezi özellikle yüksektir. Buna karşılık, protein biyosentezi için amino asitler, yetişkin hücrelerde, en azından stres yokluğunda protein degradasyonu ile büyük ölçüde sağlanabilir. Yaşlanma sırasında protein yıkımı ve amino asit degradasyonu özellikle yüksektir.

Amino asitlerin havuz büyüklükleri bitkiler için kritik öneme sahiptir. Serbest amino asitlerin havuz büyüklükleri sadece amino asit biyosentezi ve degradasyonu oranına değil aynı zamanda proteinlerin biyosentezine ve parçalanmasına da bağlıdır. Ortalama bir amino asit için 100 Da'lık bir moleküler kütle göz önüne alındığında, bu, 10 nmol / mg taze ağırlık aralığında protein-bağlı amino asitlerin havuz boyutlarına karşılık gelir. Aslında, 20 amino asitin havuz büyüklüğü sadece 10 faktörden daha az farklılık gösterir. Arabidopsis thaliana'nın teorik proteomunda lösin, en bol amino asidi (% 9.2), triptofan ise en az miktardadır. Serbest amino asitlerin havuz boyutları çok daha küçük ve çok çeşitli Arabidopsis yapraklarının genişlemesinde, serbest amino asit konsantrasyonları <5 pmol / mg taze ağırlık (triptofan, tirozin ve izolösin) ve >1000 pmol / mg taze ağırlık (glutamat) arasında değişmektedir (Watanabe et al., 2013). Bu büyük farklılıklar bireysel amino asitlerin çeşitli fonksiyonel rollerini yansıtır. Yapraklarda glutamat, glutamin, aspartat ve asparajin, nitrojen asimilasyonunun başlıca ürünleridir ve bu nedenle havuzlar özellikle ışıkta

büyüktür (Lam et al., 1995; Coruzzi, 2003). Ayrıca, birçok amino asit, nükleotitler, fitohormonlar veya ikincil metabolitler gibi diğer azotlu bileşiklerin biyosentezine yönelik öncülleri temsil eder ve tüm amino asitlerin havuzları stres sırasında çok fazla uyarılır (Hildebrandt, Tatjana M., et al., 2015). Prolinin çeşitli bitkilerde stres yanıtı sırasında önemli ölçüde arttığını ve uyumlu bir osmoliti temsil ettiği kabul edilmektedir (Verbruggen and Hermans, 2008; Szabados ve Savoure, 2010; Jacoby., et al., 2011). Ayrıca, çeşitli stres sırasında dallı zincirli amino asitler de çok fazla uyarılır (Zhao., et al., 1998; Joshi., et al., 2010). Arabidopsis'in abiyotik streslere metabolik tepkisi üzerine yapılan bir meta-çalışma, lizin ve treoninin birçok stres durumunda çok fazla indüklendiğini ortaya koymuştur (Obata and Fernie, 2012).



Şekil 1.6 *Arabidopsis thaliana*'da protein-bağlı ve serbest amino asitler. Serbest amino asitlerin konsantrasyonları (Watanabe et al., 2013).

1.2 Buğday

Hızla artan dünya nüfusunun besin ihtiyaçlarını karşılamak için heryıl daha fazla gıda üretimine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu beslenme problemlerinin çözümünde sınırlı olan tarım alanları korunmalı ve birim alandaki ürün miktarını arttırmak büyük önem taşımaktadır. Dünya tarım üretiminde ve insan beslenmesinde buğday ilk sıralalarda yer almaktadır (*Triticum aestivum* L.). 2050 yılına kadar dünya nüfusunun 2012 yılına oranla yaklaşık %28'lik bir artış gösterip 9.7 milyara ulaşacağı tahmin edilmektedir (Anonymous, 2013). Buna ek

olarak; Dünya Gıda ve Tarım Örgütü'ne göre; günümüzde dünya nüfusunun yaklaşık %12'si (842 milyon insan) açlıkla mücadele etmektedir (FAO, 2013). Buğday yeryüzünde en fazla ekimi ve üretimi yapılan tahıl bitkisidir. İlk buğdayın kökeni bereketli hilal denilen topraklarda (İnan, Türkiye, Irak, Lübnan, İsrail, Filistin'i kapsayan bölge) bitkilerin doğal melezlenmesi sonucu 12 bin yıl önce çıkmıştır. Buğday ortaya çıkışından sonra yıllar boyunca fenotipik ve genotipik birçok değişikliğe uğramıştır. , Siyez (Esmer) buğday ile yabancı buğdayın (*Aegilops* sp.) melezlenmesi sonucunda ise ekmeklik buğdayın (*Triticum aestivum*) oluşumuna öncelik ettiği düşünülmektedir. Eski uygarlıklarda daha önceleri arpanın buğdaya göre daha popüler olmasına rağmen buğdayın kabuğundan daha kolay ayrılması ve ekmek yapımı için daha elverişli olmasından dolayı önemi giderek artmıştır (Sheaffer and Moncada, 2012). Dünyada bulunan 14 buğday türünden sadece 3 tane türün ekonomik özelliği vardır. Bunlar ; 42 kromozumlu *Triticum compactum* (Topbaş) 42 Kromozumlu *Triticum aestivum* (Ekmeklik), 28 kromozumlu *Triticum durum* (Makarnalık)'dur.

Buğdayın en yaygın tüketim şekilleri un, ekmek, makarna, irmik, bisküvi, bulgur ve eriştedir olmakla birlikte bu ürünlerin dışında nişasta, tatlılar ve geleneksel ürünler şeklinde de tüketilmektedir. Buğday insan beslenmesinin yanı sıra özellikle büyük baş hayvancılıkta da önemlidir.

Dünyada en fazla Buğday ekimi yapan ülkeler Hindistan, Çin ve Rusya' dır. Türkiye bu sıralamada 9. sırada yer almaktadır. 2011 ve 2012 yılları içerisinde FAO verilerine göre Türkiye buğday üretiminin %3 lük bir kısmını oluşturmaktadır. Buğdayın gen kaynağı olan ülkemiz bu yüzdellikten daha fazla pay alması için birim alanda daha fazla kaliteli ürün alması gerekmektedir. Buğday, dünya nüfusunun yaklaşık %35 inin ve 50 ülkenin temel besin kaynağıdır. Dünyada yıllık olarak yaklaşık 600 milyon ton üretimi yapılan bir tahıl ürünüdür. Bu nedenle kültür bitkileri içerisinde ekim ve üretim bakımından ülkemizde de ilk sırada yer alır. Tahıl ürünleri içerisinde yer alan buğday, geniş adaptasyon kabiliyetinin yanında uygun besleme değeri ile taşınması depolama ile birlikte işlenmesindeki kolaylık ve ekmeğin ham maddesi olması nedeni ile diğer tahıllara göre birçok üstünlüğü vardır.

***Triticum aestivum*:** Bu türe ait buğday unlarının ekmeklik olarak diğer türlerden daha uygundur. Tane sertliği ve protein miktarı tür içinde geniş bir şekilde değişir.

İklim ve toprak şartları bu buğdayların kalitesi üzerine önemli etkiler yapmaktadır. Yazlık veya kışlık olarak ekilir, taneler kırmızı veya beyazdır.

Triticum durum: Bu buğday türü genel olarak yazlık ekilir, kışlık ekilişleri yalnız Akdeniz ülkeleri ve Türkiye’de görülmektedir. Dünya ülkelerinde belirli yerlerde yetişir. Kırmızı taneli çeşitleri ülkemizde Güneydoğu Anadolu bölgesinde yetiştirilmekte ve bulgur yapımında kullanılmaktadır. Ayrıca makarna yapımında da bu tür kullanılmaktadır.

Triticum compactum: Ülkemizde orta anadolu ve geçit bölgelerinde ekilmektedir. Kuraklığa çok dayanıklıdır. Taneleri beyaz , yapısı yumuşak ve protein miktarı düşüktür. Genellikle bisküvi yapımında kullanılır ve öz kalitesi düşüktür.



Buğday grubu olarak adlandırılan *Triticum* L. Poaceae familyasının da bulunmaktadır.

Denemede kullanılan buğday alt türü;

PAMUKOVA 97

Kuruluş: Sakarya Tarımsal Araştırma Enstitüsü

Bitki Boyu: 95-105

Protein oranı (%) : 12-17

BTA (g): 30-40

Hektolitre ağırlığı (kg): 72-84

Tane verimi (kg/da): 450-900

1.2.1 Buğdayın yetiştirme koşulları ve toprak istekleri

Buğday büyüme periodunun başlarında düşük sıcaklık ve bol nemli hava seven bir bitkidir. Çimlenme dönemindeki ortalama sıcaklık 5-10 °C arasında nem ise %60 dolaylarındadır. Buğday gelişiminin ikinci evresi olan sapa kalkmada sıcaklık isteği 10-15°C, nispi nem isteği ise %65 dolaylarındadır. Buğday çoğu torakta yetişmesine karşın genellikle en yüksek verim killi, tınlı-killi ve humusça zengin topraklarda alınmaktadır.

1.2.2 Dünyada ve Türkiye' de buğday üretim ve tüketimi

Dünya Nüfusunun beslenmesinde ilk sıralarda yer alan buğday 2012 yılı verilerine göre yaklaşık 216 milyon hektar ile tahıllar içerisinde en fazla ekim alanına sahip olmuştur (Çizelge 1.1). Üretim bakımından 674 milyon ton ile mısır ve çeltikten sonra 3. sırada yer almıştır. Son on yılda buğdayın ekim alanında ve veriminde azalma görülmüştür (Çizelge 1.2) .

Çizelge 1.1 2012 yılına ait verilerle tahılların dünyada ekim alanı, üretim ve verim değerleri (FAO,2012).

Tahıl Cinsi	Ekim Alanı (1000 ha)	Üretim (1000 ton)	Verim (kg/da)
Buğday	216.638	674.884	311
Arpa	49.310	132.350	268
Çavdar	5.557	14.544	261
Yulaf	9.627	20.974	217
Tritikale	3.702	13.701	370
Mısır	176.991	875.098	494
Çeltik	163.463	718.345	439
Darılar	31.230	25.597	81

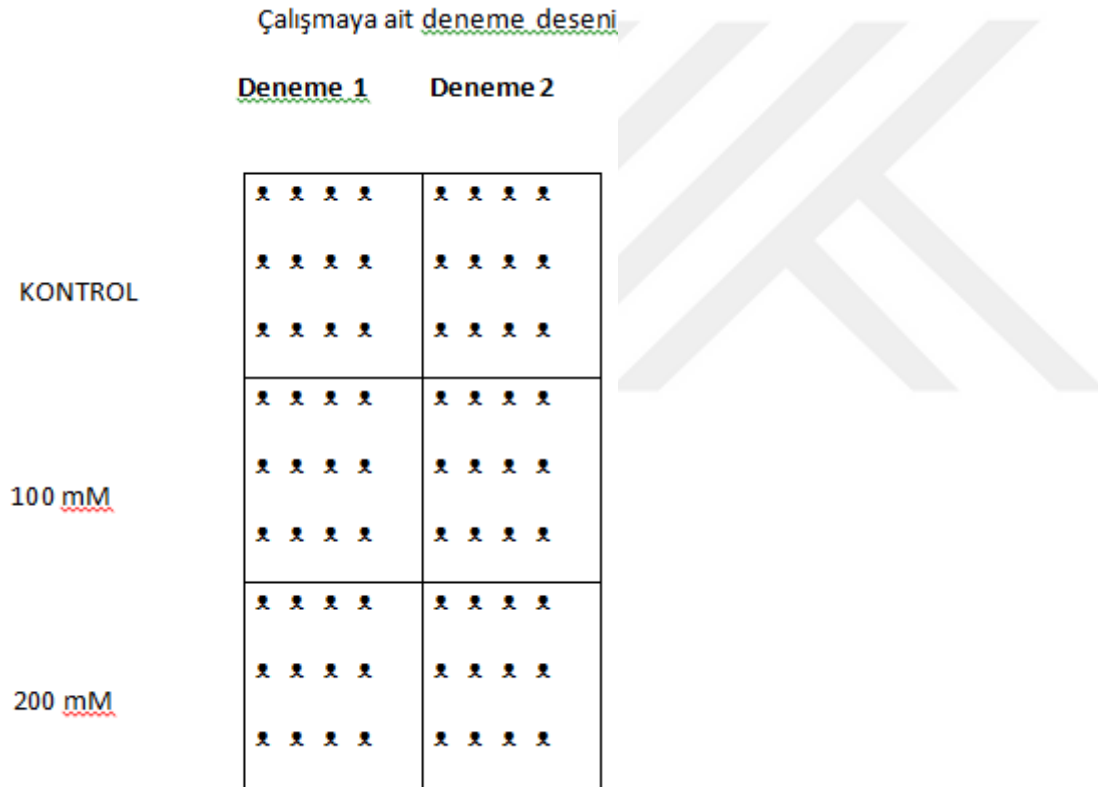
Çizelge 1.2 Son 10 yıl da dünyada buğdayın ekim alanı, üretim ve verim değerleri (FAO, 2012).

Yıllar	Ekim Alanı (1000 ha)	Üretim (1000 ton)	Verim (kg/da)
2003	207.699	560.129	269
2004	216.569	632.144	291
2005	219.573	626.739	285
2006	211.199	602.338	285
2007	216.712	612.852	282
2008	222.282	683.014	307
2009	224.412	686.836	306
2010	217.057	651.906	300
2011	220.895	701.395	317
2012	216.638	674.884	311
Ortalama	217.303	643.223	295

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1 Bitki materyali ve yetiştirilmesi

Çalışma materyali olarak ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L) Pamukova -97 çeşidi kullanıldı. Tohumlar Sakarya Mısır Araştırma Enstitüsünden temin edildi. Tarla koşullarında bir hafta ara ile iki ayrı deneme grubu oluşturuldu. 5 metre boyunda açılan çizilere buğday tohumları 20kg/da dozunda Pamukova-97 buğday çeşidi dikilmiştir. Dikimden sonra 10kg/da N dozunda amonyum nitrat 9 kg/da P dozunda triple süperfosfat gübrelemesi yapıldı.



Şekil 2.1 İki seri halinde yürütülen çalışma da Deneme 1 ve Deneme 2 için kurulan deneme deseni . *Triticum aestivum* Pamukova kültür çeşidi tarla koşullarında tesadüf bloklarına bölünmüş parsel deseninde yetiştirildi.



Şekil 2.2 Tarla koşullarında 14. Günde *Triticum aestivum L*

2.2 Tuz stresinin uygulanması

Tohumlar çimlendikten 14 hafta sonra tuz stresi uygulamasına başlandı. Bitkiler parselde üç eşit gruba ayrıldıktan sonra 0, 100, 200 Mm NaCl içeren çözelti ile haftada bir sulandı. Bitkiler kontrol, 100Mm ve 200Mm olacak şekilde 3 gruba ayrıldı. Stres uygulamasından 24 saat sonra kontrol ve stres gruplarından bayrak yaprak, kök ve gövde örnekleri alındı. Bayrak yaprak örnekleme 0., 7., 14., 21., 28., 35. ve 42. günlerde; Başak örnekleme 35., 42., 49., 56., 63. ve 70. günlerde yapıldı. Kök örnekleri 0., 7., 14., 21., 28., 35., 42., 49. ve 56. günlerde yapıldı. Yaprak, kök ve gövde örnekleri hasat edilip sıvı azotta dondurulduktan sonra -80 de saklandı. Deneme farklı zamanlarda iki farklı tarlada birbirinden bağımsız 2 seri şeklinde yapıldı.



Şekil 2.3 7. günde *Triticum aestivum* L bitkisine tuz stresi uygulaması

2.3 Büyüme parametrelerinin ölçülmesi

Büyüme Parametrelerine yönelik analizler için örnekleme kontrol, 100 Mm ve 200 Mm NaCl uygulanan gruplarda 0., 7., 14., 21., 28., 35., 42., 49., 56., 63. Ve 70. günlerde yapıldı. Örnekleme günlerinde her iki deneme serisinde de kontrol, 100 ve 200Mm NaCl uygulanan gruplardan rastgele seçilen 5 er bitki örneği alındı. Bitkilerin kök, gövde ve 21. günden itibaren başak yaş ağırlıkları ölçüldü. Daha sonra örnekler 70 °C'de 72 saat kurutulduktan sonra kuru ağırlıkları tartıldı.



Şekil 2.4 21. günde *Triticum aestivum* L

2.4 Klorofil floresans ölçümü

Klorofil floresans ölçümleri, tuz stresi uygulamasının 0., 7., 14, 21., 28., 35. ve 42. günlerinde yapıldı. Ölçümler her iki deneme serisinin rast gele seçilen 5 bitkinin bayrak yapraklarından yapıldı. Klorofil floresans ölçümü yapılırken 1 cm² 'lik alan yaprak klipsi kullanılarak 20 dk süre ile karanlıkta bekletildi. 20 dakika sonunda Plant efficiency analyser (Hansatech) cihazı ile yaprakların bazal klorofil floresansı (F₀), maksimum flüoresans uyarılması (F_m),değişken flüoresans (F_v) ve F_v/F_m oranları belirlendi.



Şekil 2.5 35. günde kontrol, 100 mM NaCl ve 200 mM NaCl uygulanan bitkilerde klorofil floransı ölçümleri.

2.5 Bağlı su miktarı

Yapraklarda ki bağlı su miktarının hesaplanması için stres uygulamasının 0., 7., 14., 21., 28., 35. ve 42. günlerinde iki deneme serisinin kontrol, 100 ve 200 mM gruplarından 5'er bitkinin bayrak yaprakları alınarak önce yaş ağırlıkları (YA) tartıldı. Daha sonra turgorlu ağırlıklarının belirlenmesi için yapraklar 5 saatde iyonize suda bekletildi. 5 saat sonunda yaprakların yüzleri kurularak turgorlu ağırlıkları tartıldı (TA). Son olarak yapraklar 70 °C lik etüvde 72 saat boyunca kurutularak kuru ağırlıkları (KA) belirlendi. Kayıt altına alınan ağırlık değerleri kullanılarak örneklerin RWC değeri aşağıdaki formül ile hesaplandı (Smart ve Bingham, 1974).

$$\%RWC = [(YA-KA)/(TA-KA)] * 100$$

2.6 Total protein miktarının belirlenmesi

Yaprak ve başak örneklerindeki total protein miktarını belirlemek için Bradford (1976) yöntemi kullanıldı. Yaprak ve başak örnekleri önce sıvı azot ile

toz haline gelinceye kadar ezildi. Daha sonra üzerine 3mL 1mM EDTA VE %2 (w/v) polivinilpolipirrolidon (PVPP) içeren sodyum fosfat tamponu (pH 7.8) tamponu eklenip homojenizasyonu yapıldı. Homojenatlar ependorfa aktarıldıktan sonra +4 °C de 14.000 rpm 'de 30 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrası temiz tüplere alınan süpernatantlar total protein miktarının belirlenmesinde kullanıldı. Örneklerden 50 µl alınarak üzerine 950 µl Bradford çözeltisi eklendi. Karışım vortekslenip 30dk oda sıcaklığında bekletildi ve 595 nm de absorbans değeri okutuldu. Aynı işlemler bovine serum albümin (BSA) ile hazırlanan protein standartlarında da uygulandı. Örneklerin içinde ki protein miktarı standart protein değeri ile grafik oluşturularak hesaplandı. Absorbans ölçümleri Shimadzu UV-1600 (Shimadzu, Japan) spektrofotometre cihazı ile ölçüldü.

2.7 Başak verimi parametreleri

Başak uzunluğu ölçümü için rastgele örneklenen kontrol, 100 ve 200 mM NaCl uygulanan gruplardan 70. günde alınan başak örneklerinde başak dikey uzunluğu dikkate alınarak, başak eksenin tabanından başlayıp kılçıklar hariç tutularak başak uç terminal bölgesine kadar olan mesafenin ölçüldü. Başak başına düşen dane sayısı; başak başına düşen verimli ve verimsiz dane sayısı toplamı ile hesaplanmıştır. Kontrol, 100 mM ve 200 mM gruplarından 70. günde rastgele alınan başak örneklerinden verimli ve verimsiz daneler sayılarak hesaplama yapıldı. Bin dane ağırlığı ölçümü için kontrol, 100 mM ve 200 mM gruplarından ayrı ayrı 250 tohum tartılarak elde edilen değere 4 ile çarpıldı.



Şekil 2.6 56. günde *Triticum aestivum* L

2.8 Amino asit analizi

Amino asit analizi için yaprak ve başak örnekleri (100 mg) sıvı azotta masere edildi, üzerine 1 mL 0.05 M HCl-etanol (1:1, v/v) ekstraksiyon çözeltisi eklenerek homojenize edildi. Karışım ependorf tüplerine aktarılarak 12000 rpm de 15dk +4Cde santrifüj yapıldı. Santrifüj sonrası süpernatantlar alınarak -80⁰C de depolandı.

Kromatografik ayırım; ikili pompa, gaz giderici, otomatik örnek dağıtıcı ile donatılmış bir HPLC Agilent 1260 Infinity serisi (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Poroshell 120 EC-C18 (3.0X50 mm, parçacık boyutu 2.7 µm) (Agilent) kolonu bileşikleri ayırmak için tercih edilmiştir. Mobil fazlar tabloda verilen basamaklara dayanan gradient yıkama (elution) kullanılarak, su ve % 0.1 formik asit karışımı mobil faz A ve asetonytril mobil faz B olarak kullanılmıştır. Kolon 30 °C 'de tutulmuş, enjekte edilen örnek hacmi 2 µL ve kullanılan akış oranı 0.5 mL / dak olarak belirlenmiştir.

Süre (dakika)	Mobil faz
0	% 5 B
5	% 62 B
10	% 68 B
19	% 80 B
34	% 95 B
37	% 5 B
5	Şartlanma döngüsü

MS analizi, kurutucu gaz akışı 14.0 L / dakika; nebilözör gaz basıncı 35 psi; kurutucu gaz sıcaklığı 290 °C; sheath gaz sıcaklığı 400 °C; sheath gaz akışı 12 L/dak azotta pozitif iyonlarda çalışan Agilent Dual Jet Stream elektrosprey iyonizasyon (Dual AJS ESI) arayüzü ile donatılmış bir Agilent 6550 iFunnel yüksek çözünürlüklü Doğru Kütle QTOF-MS kullanılarak yürütülmüştür. Kütle spektrumları, 50-1700 m/z 'lik bir kütle aralığında negatif iyonizasyon modunda kaydedilmiştir.

Entegrasyon ve veri detaylandırma “MassHunter Workstation” yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Agilent METLIN Metabolomiks veritabanı, kütüphane ve tam kütle kişisel bileşik veri tabanı ve kütüphanesi (METLIN_AM_PCDL) analitleri tanımlamada kullanılmıştır.

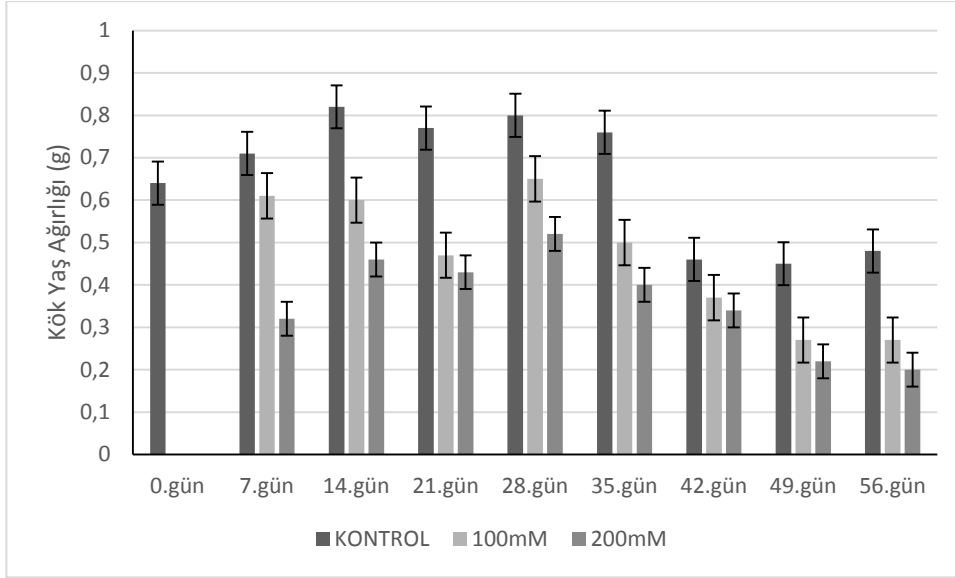
ESI-MS Değişkenleri	
Kurutucu gaz akışı	14.0 L / dakika
Kurutucu gaz sıcaklığı	35 psi
Nebilözör gaz basıncı	290 °C
Sheath gaz sıcaklığı	400 °C
Sheath gaz akışı	12 L/dak

3. BULGULAR

Araştırma projesi kapsamında *Triticum aestivum* bitkisine 100 mM ve 200 mM NaCl ile tuz stresi uygulandı. Stres uygulaması öncesinde ve stres uygulamasının 0., 7., 14., 21., 28., 35., 42., 49., 56., 63. ve 70. günlerinde kontrol ve NaCl uygulanan gruplardan kök (0.-70. günler), bayrak yaprak (0.-42. günler) ve başaklanma başladığı zaman (35.-70. günler) başak örnekleri alındı. Büyüme ve gelişme ile ilgili analizler (yaş ve kuru ağırlık ölçümleri) gövde ve kök örneklerinde yapıldı. Bayrak yaprak örneklerinde bağıl su içeriği, fotosentetik verim, protein ve aminoasit miktarının belirlenmesi ile ilgili analizler yapıldı. Elde edilen tüm sonuçlar (şekil 3.1-3.18 ve çizelgeler 3.1-3.3) kontrol ve tuz stresi uygulanan gruplarda karşılaştırmalı olarak incelendi.

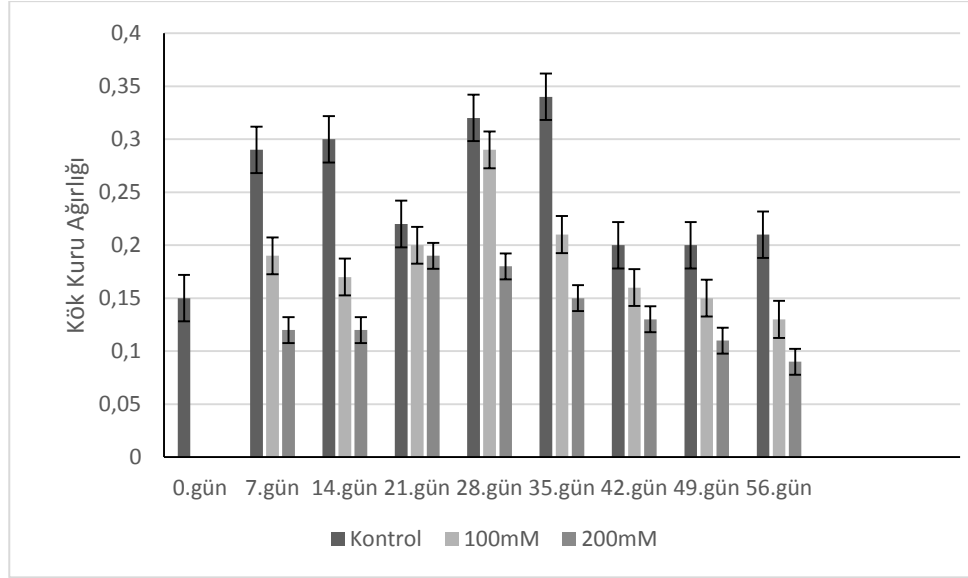
3.1 Kök yaş ve kuru ağırlıkları

Kontrol, 100 mM ve 200 mM NaCl uygulanan gruplarda kök yaş ve kuru ağırlıkları tartılarak kaydedildi (şekil 3.1-3.2). Kontrol ve uygulama gruplarının kök yaş ağırlıkları karşılaştırıldığında tuz stresi koşullarında en düşük değerler 200 mM NaCl uygulanan grupta gözlemlendi. Kök yaş ağırlıkları 7. günde kontrol grupları ile karşılaştırıldığında 100 mM NaCl uygulanan grupta %14; 200 mM NaCl uygulanan grupta ise %39'luk bir azalış gösterdi. 14. günde 100 mM NaCl uygulanan grupta %26 oranında ağırlığında azalma, 200 mM NaCl uyguladığımız gruplarda %44 azalma görüldü. 21. Günde 100 mM NaCl uygulanan grupta %39 oranında ağırlığında azalma, 200 mM NaCl uyguladığımız gruplarda %44 oranında azalma görüldü. 28. günde 100 mM'lık grupta %19 luk bir azalış görülürken, 200 mM uygulanan grupta %34 lük bir azalma görüldü. 35. güne gelindiğinde ise 100 mM grubunda %34 'lük bir azalma görülürken, 200 mM'lık grupta %46 lük bir azalma kaydedildi. 42. günde ise 100 mM'lık grupta %20 lik bir azalma görülürken 200 mM 'lık grupta %26' lük bir azalma saptandı. Kök yaş ağırlıkları 49. günde 100 mM NaCl uygulanan grupta %40'lik; 200 mM'lık grupta %51 seviyelerinde düşüş gösterirken, 56. günde kontrol gruplarına göre 100 mM grubunda %44' lük; 200 mM NaCl stresi uygulanan gruplarda ise %58'lik bir azalma gözlemlendi.



Şekil 3.1 *Triticum aestivum* L. bitkisinde tuz stresi koşullarında 7., 14., 21., 28., 35., 42., 49. ve 56. Günlerde Kontrol, 100 mM ve 200 mM NaCl gruplarında kök yaş ağırlık (g) değerlerinde ki değişimler.

Tuz stresi uygulaması sonrasında bitkilerin kök kuru ağırlıklarında da belirgin bir azalma saptandı. Tuz stresi uygulamasının 7. Gününde kök kuru ağırlıklarındaki değişim incelendiğinde 100mM NaCl uygulanan grupta %10'luk; 200 mM NaCl uygulanan grupta ise %17'lik bir azalma görüldü. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 14. günde 100 mM grubunda %13'lük; 200 mM grubunda %18'lik; 21. günde ise 100 mM grubunda %9'lik; 200 mM da ise %14'lük bir azalış gözlemlendi. 28. günde 100 mM da %9'lük bir azalış gözlenirken 200 mM da %34'lük bir azalış kaydedildi. Kök kuru ağırlıkları 35. günde 100 mM ve 200 mM NaCl uygulanan gruplarda sırasıyla %38 ve %55 düzeylerinde azaldı. 42. ve 49. gün kök kuru ağırlık değerleri 100 mM da %20 ve %25 oranlarında azalırken, 200 mM da %35 ve %45 düzeyinde azaldı. 56. gündeki kök kuru ağırlık değişimi incelendiğinde kontrol gruplarına oranla 100 mM NaCl uygulanan grupta %38'lik; 200 mM NaCl uygulanan grupta ise %57'lik bir azalma kaydedildi (Şekil 3.2).

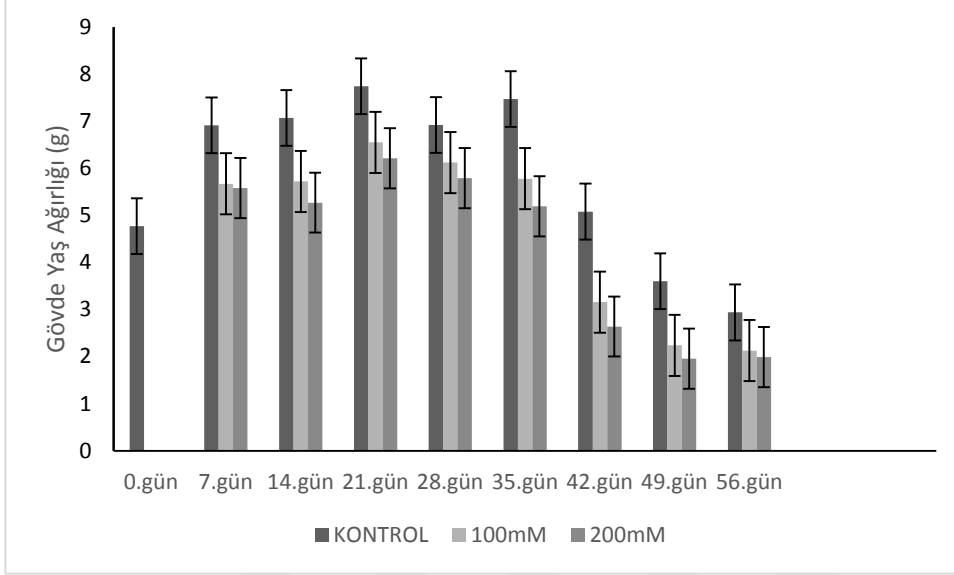


Şekil 3.2 *Triticum aestivum* L. bitkisinde tuz stresi koşullarında 7., 14., 21., 28., 35., 42., 49. ve 56. Günlerde Kontrol, 100 mM ve 200 mM NaCl gruplarında kök kuru ağırlık (g) değerlerinde ki değişimler.

3.2 Gövde yaş ve kuru ağırlıkları

Triticum aestivum bitkisinde tuz stresi uygulamalarına bağlı olarak gövde yaş ve kuru ağırlıklarında gözlenen değişimler Şekil 3.3 ve 3.4 de verilmiştir. Tuz stresi uygulamasının 7. Günündeki veriler kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 100 mM grupta %17; 200 mM grubunda ise %19 düzeyinde azalma kaydedildi. 14. Günde tuz stresi uygulanan gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 100 mM NaCl stresi uygulanan grupta %19 'luk bir azalış gözlemlenirken 200 mM tuz stresi uygulanan gruplarda %25'lik bir azalış gözlemlendi. 21. Günde ise kontrol grubu ile stres gruplarını karşılaştırdığımızda 100 mM tuz stresi uygulanan gruplarda %15 oranında bir azalma 200 mM NaCl uygulanan gruplarda %20 oranında bir azalma gözlemlendi. Uygulamanın 28. gününde 100 mM grubunda %11'lik bir azalma 200 mM grubunda ise %16'lık bir azalma görüldü. uygulamasının 35. günde 100 mM NaCl stresi uygulanan grup kontrol grubuna oranla % 22 ağırlığında gerileme 200 Mm grubunda ise %30 oranında azalış gözlemledik. 42. gün örneklerimizi kontrol grubu ile karşılaştırdığımızda 100 mM NaCl stresi uygulanan gruplarda %38 oranında bir azalma 200 mM NaCl içeren gruplarda %48 oranında azalma gözlemlendi. 49. Günde 200 mM grubunda %32 oranında azalma 200 mM NaCl uygulanan grupta ise %45 oranında bir azalma görüldü. Son günümüz olan 56. Güne baktığımızda kontrol grubu ile

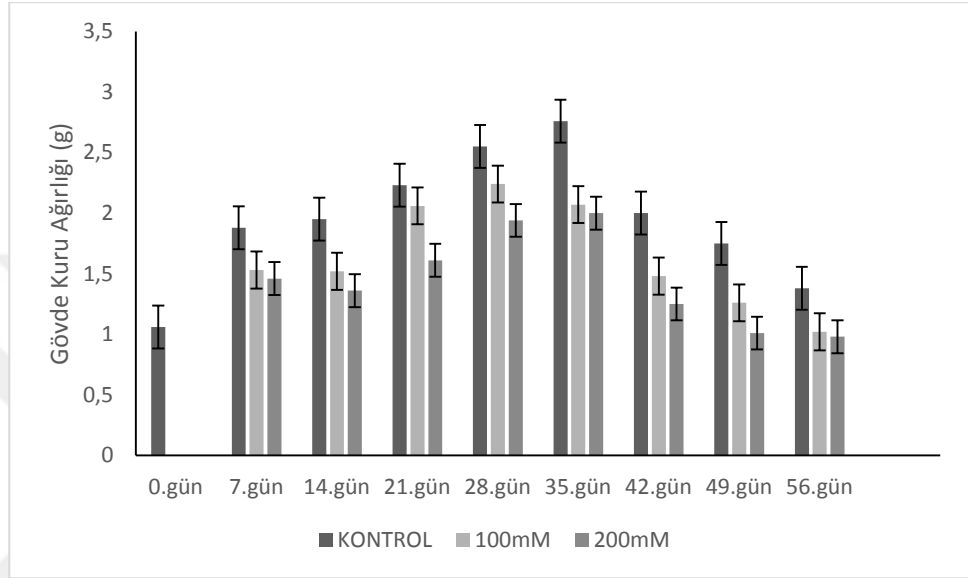
karşılaştırdığımız stres grubundan 100 mM NaCl uygulanan grupta %28 oranında azalma 100 mM NaCl uygulanan grupta ise %32 oranında bir azalma görüldü. (Şekil 3.3).



Şekil 3.3 *Triticum aestivum* L bitkisinde tuz stresi koşullarında 7., 14., 21., 28., 35., 42., 49. ve 56. Günlerde Kontrol, 100 mM ve 200 mM NaCl gruplarında gövde yaş ağırlık (g) değerlerinde ki değişimler.

Triticum aestivum bitkisinde tuz stresi uygulaması sonrasında gövde kuru ağırlıklarında meydana gelen değişimler şekil 3.4'te verilmiştir. Gövde yaş ağırlığında olduğu gibi gövde kuru ağırlığındaki değişimde uygulanan tuz konsantrasyonuna ve uygulama süresine bağlı olarak değişiklik gösterdi. Örneğin 7. Günde stres grupları kontrol grupları ile karşılaştırıldığında da, 100 mM NaCl uygulanan grupta %19'lik; 200 mM NaCl uygulanan grupta ise %22'lik bir artış görüldü. 14. Gün gövde kuru ağırlığına bakıldığında 100 mM NaCl stresi uygulanan grupta %22, 200 mM NaCl uyguladığımız gruplarda %30 oranında bir azalma görüldü. 21. Günde ise kontrol grubu ile stres gruplarını karşılaştırdığımızda 100 mM tuz stresi uygulanan gruplarda %8 oranında bir azalma 200 mM NaCl uygulanan gruplarda %28 oranında bir azalma gözlemlendi. Uygulamanın 28. gününde 100 mM grubunda %12'lik bir azalma 200 mM grubunda ise %24'lük bir azalma görüldü. Uygulamasının 35. günde 100 mM NaCl stresi uygulanan grup kontrol grubuna oranla %25 ağırlığında gerileme 200 mM grubunda ise %28 oranında azalış gözlemledik. 42. gün örneklerimizi kontrol grubu ile karşılaştırdığımızda 100 mM NaCl stresi

uygulanan gruplarda %26 oranında bir azalma 200 mM NaCl içeren gruplarda %38 oranında azalma gözlemlendi. 49. Günde 200 mM grubunda %28 oranında azalma 200 mM NaCl uygulanan grupta ise %42 oranında bir azalma görüldü. Gövde kuru ağırlık değişimi 56. günde incelendiğinde 100 mM NaCl uygulanan gruplarda %26 200 mM NaCl uygulanan gruplarda ise %29 oranında azalma gözlemlendi. (Şekil 3.4).

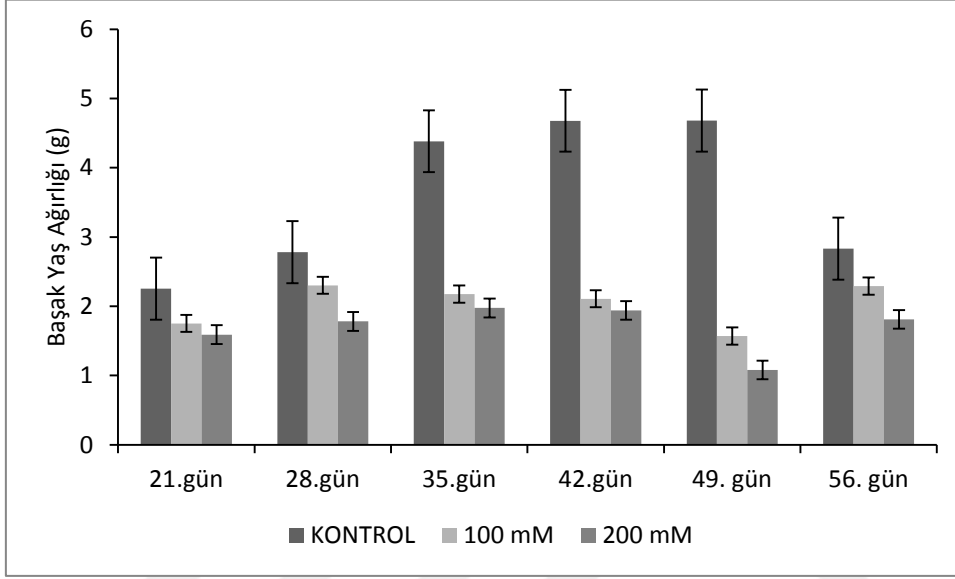


Şekil 3.4 *Triticum aestivum* L bitkisinde tuz stresi koşullarında 7., 14., 21., 28., 35., 42., 49. ve 56. Günlerde Kontrol, 100 mM ve 200 mM NaCl gruplarında gövde kuru ağırlık (g) değerlerinde ki değişimler.

3.3 Başak yaş ve kuru ağırlıkları

Kontrol, 100 mM ve 200 mM NaCl uygulanan gruplardan alınan başak örneklerinin yaş ve kuru ağırlıkları tartılarak kaydedildi (şekil 3.5 ve 3.6). Başak oluşumunun başlangıcı olan 21. günden itibaren 100 mM ve 200 mM NaCl stresi uygulanan gruplarda hem yaş hem de kuru ağırlıklarda kontrol grubuna göre belirgin bir azalma görüldü. Başak yaş ağırlıklarına baktığımızda 21. Gün yaş ağırlıkları kontrol grubu ile karşılaştırdığımızda 100 mM NaCl uygulanan grupta %22 oranında ağırlığında azalma, 200 mM NaCl uyguladığımız gruplarda %29 azalma görüldü. 28. Günde ise 100 mM NaCl uygulanan grupta %17 oranında ağırlığında azalma, 200 mM NaCl uyguladığımız gruplarda %36 oranında azalma görüldü. Özellikle başakta dane dolumunun başladığı 35. günde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında başak yaş ağırlığı 100 mM NaCl uygulanan

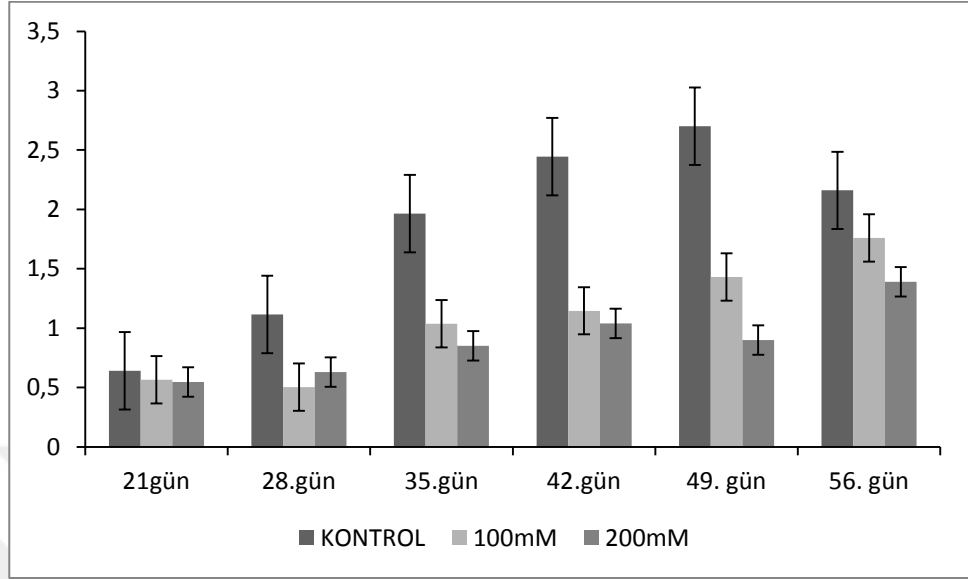
grupta %50; 200 mM NaCl uygulanan grupta ise %55 oranlarında azaldı (Şekil 3.5). 42. güne baktığımızda 100 mM NaCl uygulanan grupta %55 oranında ağırlığında azalma , 200 mM NaCl uyguladığımız gruplarda %59 azalma görüldü. 49. günde ise 100 mM NaCl uygulanan grupta %66 oranında ağırlığında azalma , 200 mM NaCl uyguladığımız gruplarda %76 oranında azalma görüldü. Son gün olan 56. günde 100 mM NaCl uygulanan grupta %19 oranında ağırlığında azalma , 200 mM NaCl uyguladığımız gruplarda %36 azalma gözlemledik.



Şekil 3.5 *Triticum aestivum* L bitkisinde tuz stresi koşullarında 21., 28., 35. ve 42. günlerde Kontrol 100 mM ve 200 mM NaCl gruplarında başak yaş ağırlık (g) değerlerinde ki değişimler.

Başak kuru ağırlığında stres uygulamasının 21. gününde ise stres grupları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 100 mM NaCl uygulanan grupta %11 oranında ağırlığında azalma , 200 mM NaCl uyguladığımız gruplarda %15 oranında azalma meydana geldi . 28. günden itibaren kontrol ve tuz stresi uygulanan gruplar arasında belirgin farklılıklar görüldü 100 mM NaCl uygulanan grupta %55 oranında kuru ağırlıkta azalma , 200 mM NaCl uyguladığımız gruplarda %43 oranında azalma görüldü. 35. günlerde 100 mM NaCl grubunda %47'lik; 200 mM NaCl grubunda ise %57'lik bir azalma belirlendi. Tuz stresi uygulamasının 42. gününe gelindiğinde ise kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 100 mM grubunda %53 lük; 200 mM grubunda ise %57 'lik bir azalma kaydedildi. 49. günde 100 mM NaCl uygulanan grupta %47 oranında ağırlığında azalma , 200 mM NaCl uyguladığımız gruplarda %67 oranında azalma gözlemledik. Son günümüz olan 56. günde 100 mM NaCl uygulanan grupta

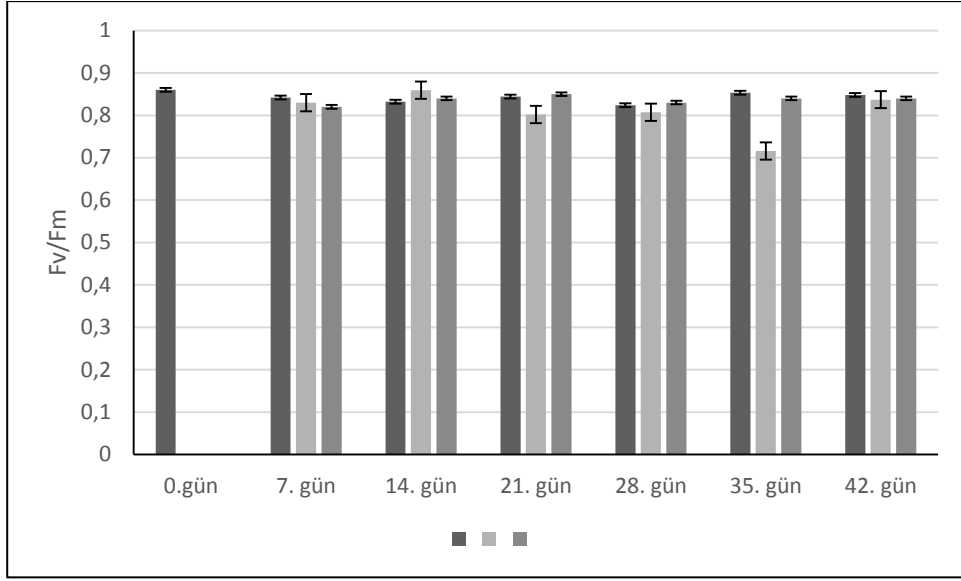
kontrol grubu ile karşılaştırılın stres gruplarının başak kuru ağırlıklarında 100 mM NaCl uygulanan grupta %19 oranında ağırlığında azalma , 200 mM NaCl uyguladığımız gruplarda %36 azalma gözlemledik. (Şekil 3.6)



Şekil 3.6 *Triticum aestivum* L bitkisinde tuz stresi koşullarında 21., 28., 35. ve 42. günlerde Kontrol 100 mM ve 200 mM NaCl uygulanan gruplarda başak kuru ağırlık (g) değerlerinde ki değişimler.

3.4 Fotosentetik verim

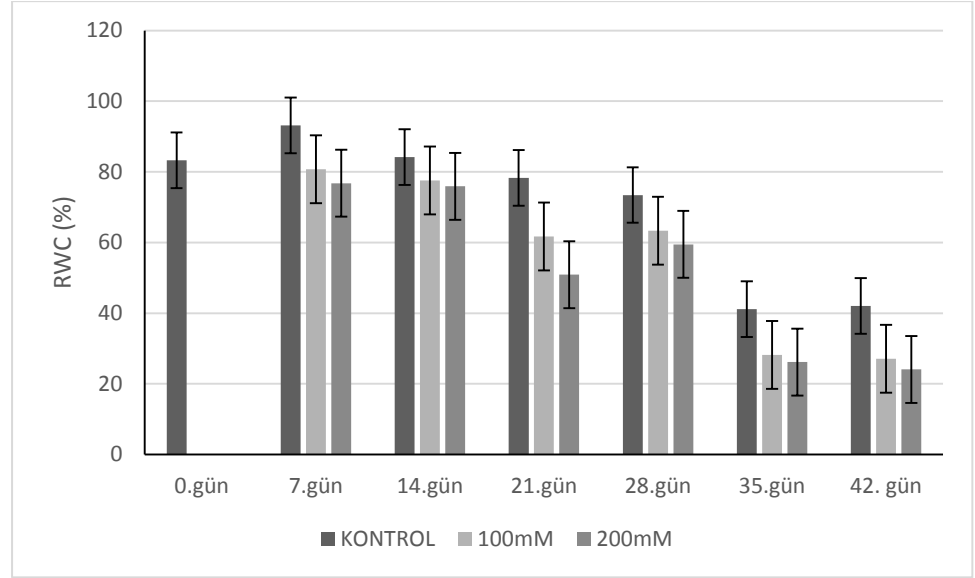
Bitkilerin tuz stresinden etkilenme derecelerini gösteren parametrelerden biri de fotosentetik verimdir. Buğday bitkisine uygulanan tuz stresinin fotosentetik verim üzerine olan etkisinin saptanması için 0., 7., 14., 21., 28. 35. ve 42. günlerde Fv/Fm oranları ölçüldü (şekil 3.7). Genel olarak Fv/Fm değerleri kontrol grubunda 0.842.- 0.848 ; 100 mM NaCl uygulanan grupta 0.716 - 0.859 ; 200 mM NaCl uygulanan grupta ise 0.820 - 0.840 arasındaki belirlendi. Tüm sonuçlar karşılaştırıldığında kontrol grupları ile stress uygulaması yapılan gruplar arasında fotosentetik verim değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmedi.



Şekil 3.7 *Triticum aestivum* L bitkisinde tuz stresi koşullarında 21., 28., 35. ve 42. günlerde Kontrol 100 mM ve 200 mM NaCl uygulanan gruplarda fotosentetik verim (Fv/Fm) değerlerindeki değişimlerin belirlenmesi.

3.5 Bağlı su içeriği (RWC)

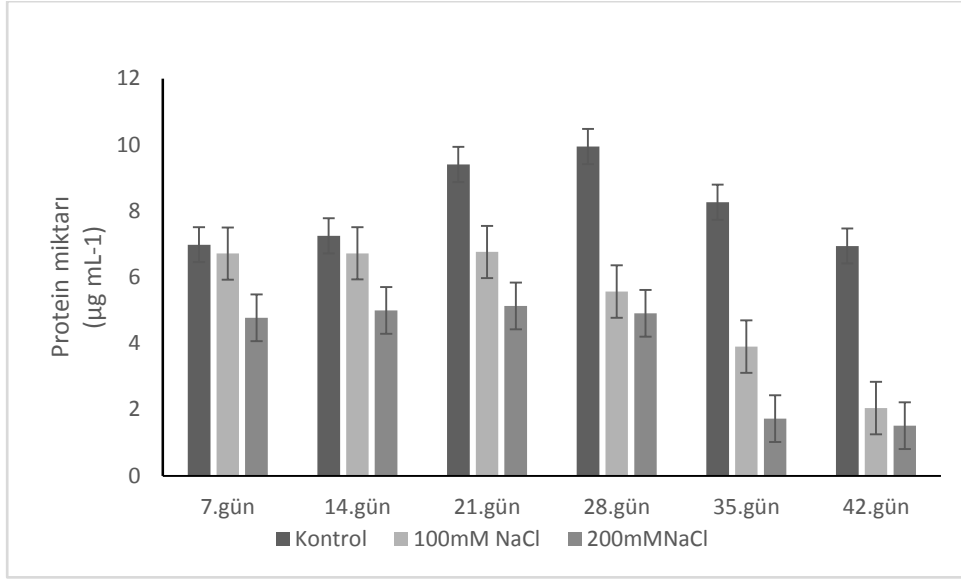
Buğday bitkisinde tuz stresi uygulaması sonrasında yaprakların bağlı su içeriğindeki değişimler belirlendi (şekil 3.8). Stres uygulamasının 7. gününde kontrol grupları ile karşılaştırılan stres gruplarından 100mM NaCl uygulanan grupta %13'lük, 200 mM NaCl uygulanan grupta ise %17'lik bir azalış belirlendi. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 14. günde tuz stresi uygulanan grupların RWC değerlerinde 100 mM NaCl uygulanan grupta %9 200 mM NaCl uygulanan gruplarda %10'luk 21. günde 100 mM grubunda %21 'lik 200 mM grubunda %35'lik bir azalış gözlemlenmiştir. 28. Günde kontrol grubu ile karşılaştırılan stres gruplarımızdan ,100 mM NaCl grubunda %13 'lük ve 200 mM grubunda %19'luk bir azalış gözlemlenmiştir. 35. güne geldiğimizde ise 100 mM NaCl grubunda %31 ,200 mM da ise %36 lık bir azalma saptandı. Son günümüz olan 42. Günde ise 100 mM NaCl grubunda %35 200 mM NaCl uygulanan stres grubunda ise %42 oranında azalma görüldü.



Şekil 3.8 *Triticum aestivum* L bitkisinde tuz stresi koşullarında 0., 7., 14., 21., 28. ve 35. günlerde Kontrol 100 mM ve 200 mM NaCl uygulanan gruplarda bağıl su içeriği değerlerindeki değişimlerin belirlenmesi.

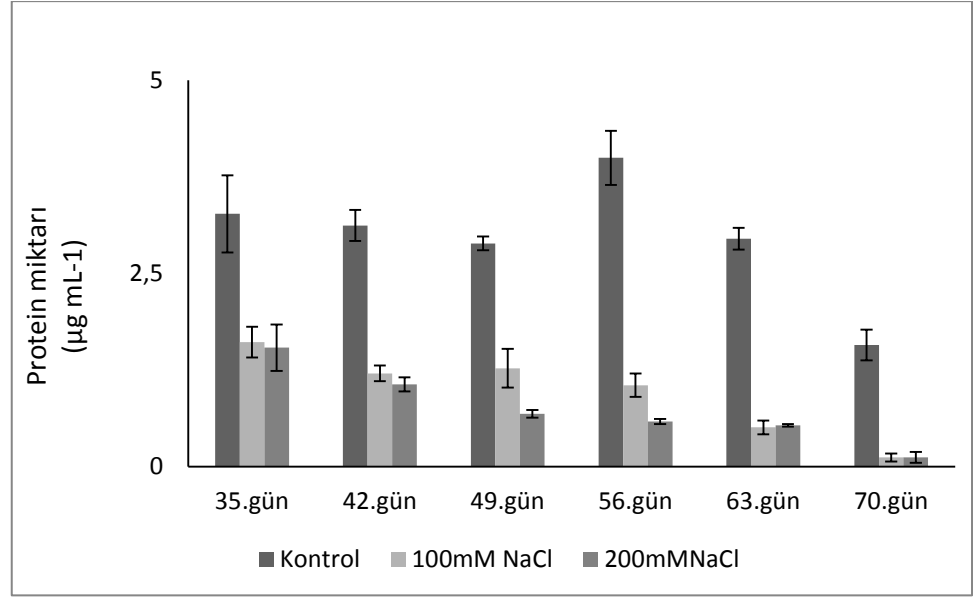
3.6 Total protein miktarının belirlenmesi

Buğday bitkisinde tuz stresi koşullarında bayrak yaprak ve başak örneklerinde protein miktarındaki değişimler belirlendi (şekil 3.9 -3.10). Genel olarak yaprak örneklerinde tuz stresi uygulanan gruplarda protein miktarının azaldığı görüldü. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 7. ve 14. günlerde 100 mM NaCl uygulanan grupta belirgin bir değişiklik gözlenmezken, 200 mM NaCl uygulanan grupta protein miktarında %20'lik bir azalma tespit edildi. 21. günde ise her iki tuz stresi grubunda da protein miktarları azaldı (100 mM grubunda %21, 200 mM grubunda ise %40'lık oranında). Takip eden günlerde yaprak protein miktarında meydana gelen değişim giderek yükselen oranlarda azalma olarak kaydedildi. 28. günde 100 mM grubunda %40; 200 mM grubunda ise %50'lik bir azalma gözlemlendi. 35. günde 100 mM NaCl grubunda %43'lük; 200 mM NaCl grubunda ise %65'lik bir düşüş belirlendi. Yaprak örneklerinin alındığı son gün olan 42. günde ise kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 100 mM grubunda %49; 200 mM grubunda ise %54'lük bir azalma görüldü.



Şekil 3.9 *Triticum aestivum* L bitkisinde tuz stresi koşullarında 0., 7., 14., 21., 28., 35. Ve 42. Günlerde bayrak yaprakta protein miktarının belirlenmesi.

Başak örneklerindeki protein miktarlarına baktığımızda ise 35. Günde stres grubu örnekleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 100 mM NaCl grubunda %51 oranında azalma ve 200 mM NaCl uygulanan grupta %52 oranında azalma görüldü. 42. Günde 100 mM NaCl grubunda %61 oranında azalma ve 200 mM NaCl uygulanan grupta %67 oranında azalma görüldü. 49. günde ise 100 mM NaCl grubunda %56 oranında azalma ve 200 mM NaCl uygulanan grupta %76 oranında azalma görüldü. 56. güne baktığımızda 100 mM NaCl grubunda %74 oranında azalma ve 200 mM NaCl uygulanan grupta ise %85 oranında azalma meydana geldi. 63. Gün analizlerinde kontrol grubu ile karşılaştırılan 100 mM NaCl grubunda %83 oranında azalma ve 200 mM NaCl uygulanan grupta ise %82 oranında azalma gözlemlendi. Analizimizin son günü olan 70. günde ise 100 mM NaCl grubunda %92 oranında azalma ve 200 mM NaCl uygulanan grupta da %92 oranında protein içeriklerinde azalma gözlemlendi.



Şekil 3.10 *Triticum aestivum* L bitkisinde tuz stresi koşullarında 35., 42., 49., 56., 63. ve 70. günlerde başakta protein miktarının belirlenmesi.

3.7 Başak verimi ile ilgili parametreler

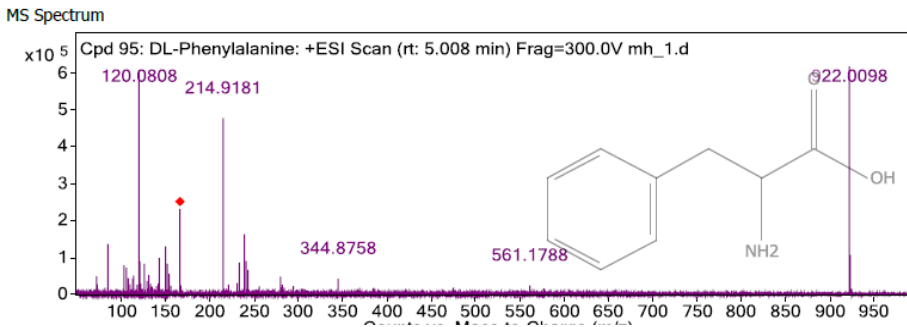
Başak veriminin belirlenmesi için başakta bulunan dane sayısı, bin dane ağırlığı ve başak uzunluğu belirlendi. Bu değerler sadece tuz stresi uygulamasının ve denemenin son günü olan 70. gününde ölçüldü (çizelge 3.1). Başak uzunluğu ölçümleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 100 mM NaCl uygulanan gruplarda %1 oranında azalma 200 mM NaCl uygulanan gruplarda %6 oranında azalma gözlemlendi. Başakta bulunan dane sayısında çok aşırı bir fark gözlemlenmezken kontrol grubu ile karşılaştırdığımız zaman 100 mM NaCl stresi uyguladığımız grupta %5'lik bir azalma 200 mM NaCl uygulanan grupta %9 'luk bir azalma görüldü. Hesaplanan 100 dane ağırlığı verileri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 100 mM NaCl uyguladığımız grupta %12 oranında bir azalma 200 mM NaCl uyguladığımız grupta ise %33'lük bir azalma gözlemledik (çizelge 3.1).

	Başakta bulunan dane sayısı	1000 dane ağırlığı	Başak uzunluğu
KONTROL	35,7±3,22	29,5±2,96	8,6±0,27
100 mM	33,8±2,48	26±2,80	8,5±0,25
200 mM	32,4±2,54	19,8±2,98	8,1±0,17

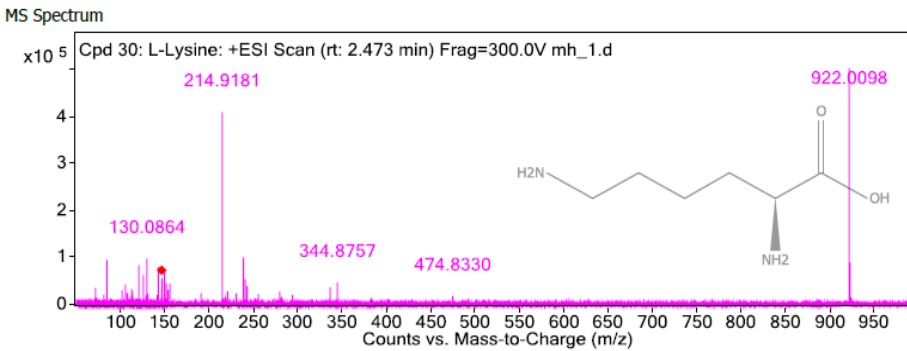
Çizelge 3.1 *Triticum aestivum* L bitkisinde tuz stresi koşullarında 70. günlerde başakta bulunan dane sayısı , 1000 dane ağırlığı (g) ve başak uzunluğu (cm) verileri .

3.8 Yaprak ve başak örneklerinin amino asit profilinin belirlenmesi

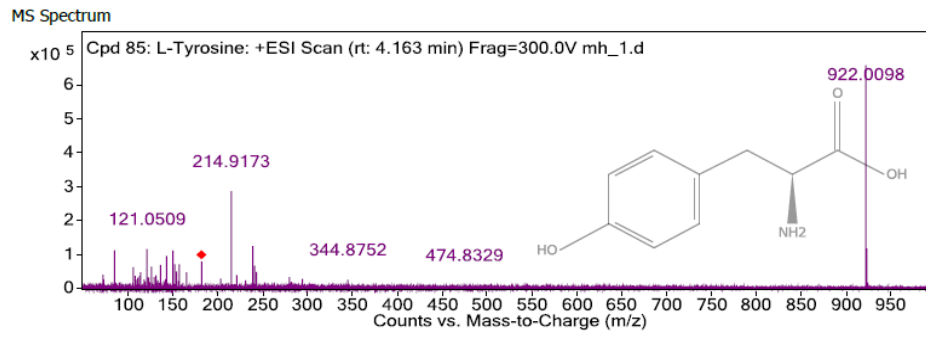
Kontrol ve tuz stresi (100 ve 200 mM NaCl) uygulanan gruplardan alınan bayrak yaprak (7.-42. günler) ve başak (35.-70. günler) örneklerinin amino asit profili Ege-Matal'da Agilent marka LC-qTOF-MS cihazı ile kalitatif olarak belirlendi. Örneklerde belirlenen fenil alanin, lizin, treonin, tirozin, glutamin, arginin, glutamat vb amino asitlere ait örnek MS-spektrumları şekiller 3.11-3.18'de verildi.



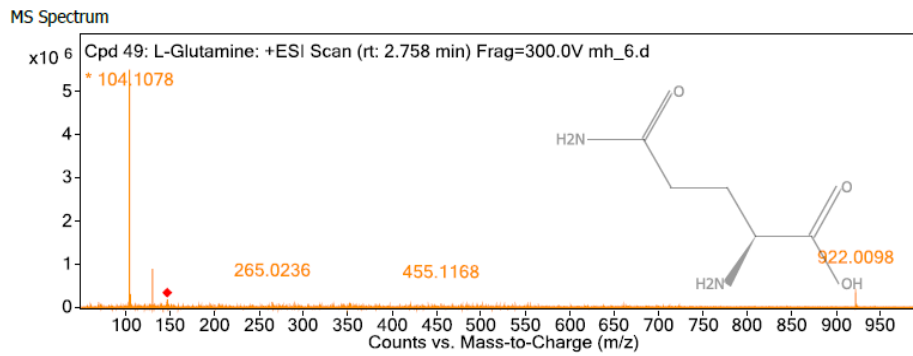
Şekil 3.11 Fenilalanin amino asitinin MS-spektrumu.



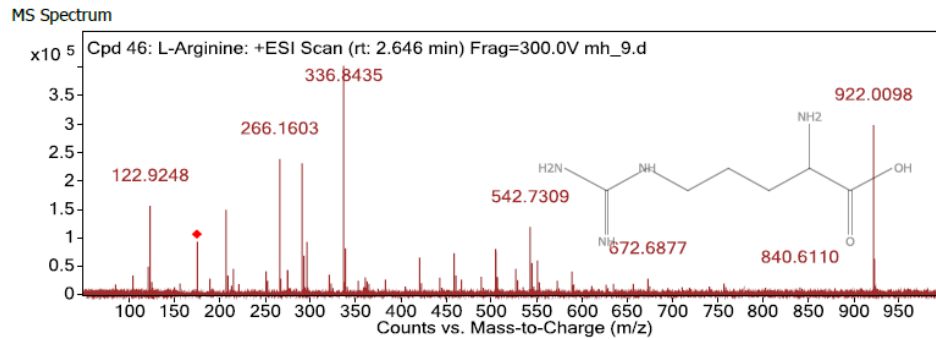
Şekil 3.12 Lizin amino asitinin MS-spektrumu.



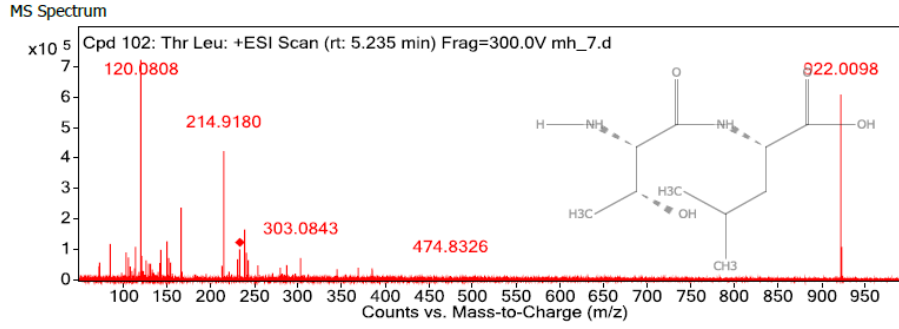
Şekil 3.13 Tirozin amino asitinin MS-spektrumları.



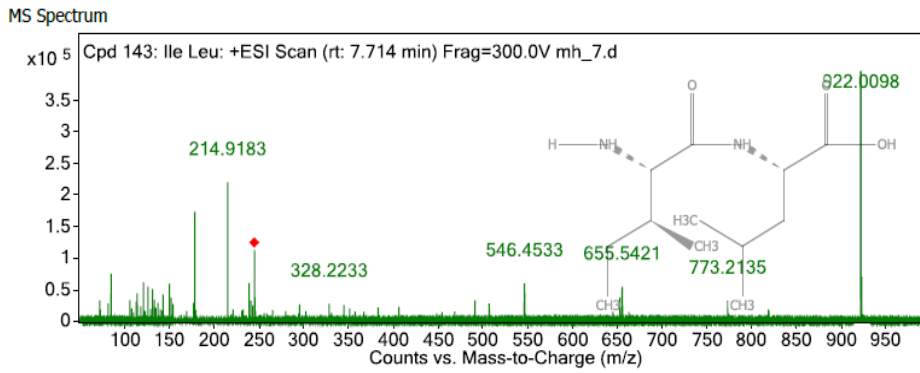
Şekil 3.14 Glutamin amino asitinin MS-spektrumu.



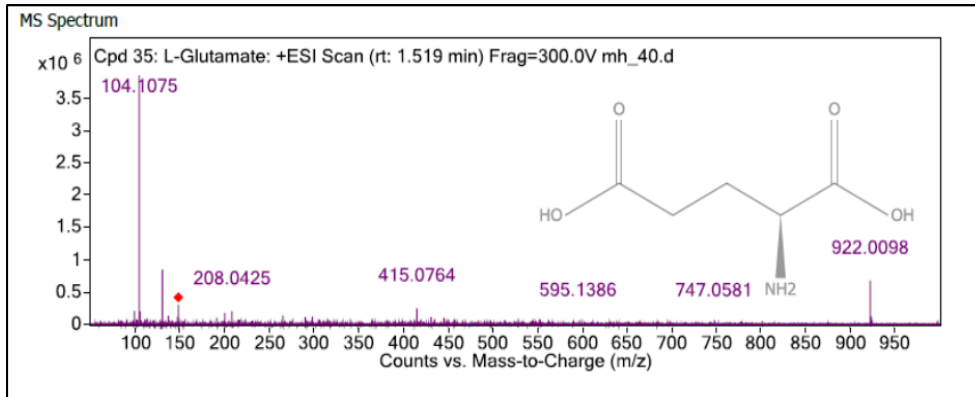
Şekil 3.15 Arginin amino asitinin MS-spektrumu.



Şekil 3.16 Treonin-lösin amino asitlerinin MS-spektrumları.



Şekil 3.17 İzolösin-lösin amino asitlerinin MS-spektrumu.



Şekil 3.18 Glutamat amino asitinin MS-spektrumu.

Bayrak yaprak örneklerinde kalitatif olarak belirlenen amino asitler çizelge 3.2'de verildi. Genel olarak incelendiğinde bayrak yaprak örneklerinde arginin, glutamin, glutamik asit, fenilalanin, triptofan, lisin, lösin, izolösin, valin, treonin ve tirozin olmak üzere toplam 11 amino asit belirlendi. Kantitatif analiz

yapılmadığı için kontrol ve tuz stresi uygulanan gruplarda belirlenen amino asitleri karşılatırmak için göreceli olarak birim kavramı kullanıldı. Arginin amino asidi 7. gün kontrol grubunda 2 birim; 100 mM ve 200 mM NaCl uygulanan gruplarda ise 1 birim olarak saptandı. 14. gün örneklerinin hiçbir grubunda arginin bulunmazken, 21. günde sadece 200 mM NaCl uygulanan grupta görüldü. 28. günde kontrol grubunda 2 birim, 100 ve 200 mM NaCl uygulanan gruplarda 1'er birim bulundu. Arginin, 35. günde sadece 100 mM NaCl uygulanan grupta gözlenirken, 42. günde her iki tuz uygulaması grubunda da 1 birim tespit edildi. Glutamin amino asiti ise tuz uygulamasının 7. gününde 200 mM NaCl uygulanan grupta 2 birim görüldü. 14. günde 200 mM grubunda 1 birim glutamin bulunurken 21. günde 100 mM NaCl grubunda 2 birim; 200 mM NaCl grubunda 1 birim gözlemlendi. 28. Günde ise kontrol ve 200 mM NaCl gruplarında 1'er birim olarak kaydedildi. Glutamik asit sadece 35. gün kontrol grubunda 1 birim olarak bulundu.

	R	Q	E	F	W	Y	K	L	V	I	T
7 Kontrol	xx			xxx		xx	x	xxx	x	xxx	xxx
7 100mM NaCl	x			xxx		x	x	xx	x	xx	x
7 200mM NaCl	x	xx		xxx		x	x	xx			xx
14 Kontrol				x		x		x			x
14 100mM NaCl											
14 200mM NaCl		x									
21 Kontrol				x							
21 100mM NaCl		xx		xx							
21 200mM NaCl	x	x		x							
28 kontrol	xx	x		xx							
28 100mM NaCl	x			x							
28 200mM NaCl	x	x		xx							
35 Kontrol			x	xx							
35 100mM NaCl	xx			xxx	xx	x					
35 200mM NaCl				xx							
42 Kontrol				xxx							
42 100mM NaCl	x			x							
42 200mM NaCl	x			xxx		xx					

Çizelge 3.2 Kontrol ve tuz stresi uygulanan gruplardan alınan yaprak örneklerinde kalitatif olarak belirlenen amino asitler. (R: arginin , Q: glutamin , E : glutamik asit , F: fenilalanin , W: triptofan , Y: trozin , K: lizin , L: lözin ,V: valin , I: izolösin , T: trionin)

Tüm gruplarda deneme boyunca yoğun olarak bulduğumuz fenilalanin 7. gün kontrol ve 100 mM NaCl uygulanan gruplarda 3 birim; 200 mM NaCl

uygulanan grupta ise 2 birim bulundu. 21. günde ise hem kontrol hem de tuz stresi uygulanan gruplarda 2 birim gözlemlendi. 28. günde kontrol ve 200 mM NaCl uygulanan gruplarda 2 birim; 100 mM NaCl uygulanan grupta ise 1 birim tespit edildi. 35. günde en fazla miktarda (3 birim) 100 mM NaCl grubunda görülürken, kontrol ve 200 mM NaCl uygulanan yaprak örneklerinde 2 birim saptandı. Bununla birlikte, 42. değerleri ele alındığında en yüksek (3 birim) fenilalanin miktarının kontrol ve 200 mM NaCl uygulanan bitkilerde görüldüğü, 100 mM NaCl uygulanan grupta ise 2 birim fenilalanin biriktiği gözlemlendi (çizelge 3.2).

Diğer amino asitler incelendiğinde aralarında çok belirgin bir korelasyon gözlemlenmedi. Triptofan amino asidi yalnızca 35. günde 100 mM grubunda 2 birim bulundu. Tirozin amino asidi 7. günde kontrol ve tuz stresi uygulanan gruplarda 1'er birim; 14. günde ise yalnızca kontrol grubunda 1 birim görüldü. 35. günde ise 100 mM NaCl grubunda 1 birim; 42. günde yine aynı grupta 2 birim olarak saptandı (çizelge 3.2). Yaprak örneklerinde lizin amino asidi sadece 7. günde tüm gruplarda 1 birim görüldü. Lösin amino asidi 7. günde kontrol grubunda 3 birim; 100 ve 200 mM NaCl uygulanan gruplarda ise 2'şer birim bulundu. 14. günde ise sadece kontrol grubunda 1 birim olarak belirlendi. Valin amino asidi 7. günde kontrol ve 100 mM NaCl uygulanan gruplarda 1 birim olarak bulundu. İzolösin amino asidi 7. gün kontrol grubunda 3 birim; 100 mM NaCl uygulanan grupta ise 2 birim tespit edildi. Treonin amino asidi 7. gün örneklerinde kontrol grubunda 3 birim, 100 mM NaCl uygulanan grupta 1 birim ve 200 mM NaCl uygulanan grupta 2 birim olarak bulundu. 14. gün örneklerinde ise sadece kontrol grubunda 1 birim olarak belirlendi.

Başak örneklerinde kalitatif olarak belirlenen amino asitler Çizelge 3.3'te verildi. Örneklerde başaklanmanın başladığı 35. günden son hasatın yapıldığı 70. gün sonuna kadar belirlenen amino asitler şunlardı; arginin, glutamin, glutamik asit, fenilalanin, triptofan, tirozin, lizin ve histidin. 35. günde 3 grupta da (kontrol, 100mM NaCl, 200 mM NaCl) 3 birim arginin belirlendi. 42. günde kontrol ve 100 mM NaCl grubunda 2 birim; 200 mM NaCl uygulanan grupta ise 3 birim arginin bulundu. 49. günde üç grupta da 3 birim arginin bulunurken, 56. gün kontrol grubunda 1 birim; 100 mM NaCl ve 200 mM NaCl uygulanan gruplarda ise 2 birim arginin saptandı. 63. günde tüm gruplarda 3 birim arginin görüldü. Bununla

birlikte, 70. günde kontrol grubunda 2 birim; 100 mM NaCl grubunda 3 birim; 200 mM NaCl grubunda ise 1 birim arginin tespit edildi.

Glutamin amino asiti ise ; 35. Gün kontrol grubunda 2 birim , 200 mM NaCl uygulanan grupta 3 birim olarak bulundu . 42. günde glutamin kontrol ve 100 mM NaCl uygulanan grupta 1 birim bulunurken 200 mM grubunda görülmedi.49. güne baktığımızda 100 ve 200 mM NaCl uygulanan gruplarda glutamin 2 birim görüldü. Glutamat amino asidi, 35.günde kontrol grubunda 2 birim; 100 mM NaCl grubunda 1 birim belirlendi. 42. ve 49. gün örneklerinde kontrol ve 100mM NaCl gruplarında 1'er birim; 56. günde ise tüm gruplarda 1'er birim olarak saptandı.

	R	Q	E	F	W	Y	K	H
35 Kontrol	xxx	xx	xx	xxx				
35 100mM NaCl	xxx		x	xxx	xx			
35 200mM NaCl	xxx	xxx		xx		xx		
42 Kontrol	xx	x	x	xxx	xx			
42 100mM NaCl	xx	x	x	xx		x		x
42 200mM NaCl	xxx			xx	xxx		x	
49 Kontrol	xxx	xx	x	xxx	x			
49 100mM NaCl	xxx		x	xx	xxx			
49 200mM NaCl	xxx	xx		xxx	xx	x		
56 Kontrol	x		x	xx	xx	x		
56 100mM NaCl	xx		x	x				
56 200mM NaCl	xx		x	x	x	x		
63 Kontrol	xxx				xxx			
63 100mM NaCl	xxx				xx			
63 200mM NaCl	xxx			xx	xxx			
70 Kontrol	xx			x	xxx			
70 100mMNaCl	xxx				xx			
70 200mM NaCl	x				xxx			

Çizelge 3.3 Kontrol ve tuz stresi uygulanan gruplardan alınan başak örneklerinde kalitatif olarak belirlenen amino asitler.(R: arginin , Q: glutamin , E: glutamik asit , F: fenilalanin , W: Triptofan , Y: tirozin , K: lizin , H: histidin , L: lösin)

Fenilalanin; 35. günde kontrol ve 100 mM NaCl uygulanan grupta 3 birim; 200 mM NaCl uygulanan grupta ise 2 birim bulundu. 42. güne baktığımızda kontrol grubunda 3 birim; 100 ve 200 mM NaCl uygulanan grupta ise 2 birim görüldü. 49. günde kontrol ve 200 mM NaCl uygulanan grupta 3 birim; 100 mM

NaCl uygulanan grupta ise 2 birim belirlendi. 56. Günde, kontrol grubunda 2 birim; 100 ve 200 mM NaCl uygulanan gruplarda ise 1'er birim olarak tespit edildi. Fenilalanin amino asidi, 63. günde yalnızca 200 mM NaCl uygulanan grupta (2 birim) ve 70. Günde ise kontrol grubunda 1 birim olarak saptandı. Triptofan amino asidi, 35.günde sadece 100 mM NaCl uygulanan grupta 1 birim bulundu. 42. günde kontrol grubunda 2 birim; 200 mM NaCl grubunda ise 3 birim olarak gözlemlendi. 49. günde kontrol grubunda 1 birim; 100 mM NaCl grubunda 3 birim; 200 mM NaCl grubunda ise 2 birim olarak belirlendi. 56. günde kontrol grubunda 2 birim, 200 mM NaCl grubunda ise 1 birim tespit edildi. 63. günde kontrol grubu ve 200 mM NaCl uygulanan grupta 3'er birim; 100 mM NaCl grubunda ise 2 birim görüldü. Tritofan, 70. günde ise kontrol ve 200 mM NaCl gruplarında 3'er birim; 100 mM NaCl grubunda ise 2 birim bulundu. Diğer amino asitlerden lizin ve histidin 42. Tuz stresi uygulanan gruplarda 1'er birim görüldü (lizin, 200 mM NaCl grubunda, histidin, 100 mM NaCl grubunda). Tirozin; 35. günde 200 mM NaCl grubunda 2 birim; 42. günde 100 mM NaCl grubunda 1 birim tespit edildi. 49. günde 200 mM NaCl grubunda 1 birim; 56. Günde ise hem kontrol grubunda hem de 200 mM NaCl uygulanan grupta 1'er birim gözlemlendi.

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Kuraklık, tuzluluk, yüksek ve düşük sıcaklık, ağır metal birikimi gibi çeşitli çevresel stresler doğal bitki örtüsünü ve tarımsal üretimi belirgin bir biçimde tehdit eder (Wang *et al.*, 2003). Adı geçen stresler arasında tuz stresi dünya genelinde özellikle verimli tarım arazilerinin kaybedilmesine neden olan ciddi bir sorundur (Boyer, 1982). Ekilebilir arazilerin daha fazla tuzlanması küresel olarak olumsuz bir etkiye sahip olacaktır. Önümüzdeki 25 yıl içinde dünya genelinde tarımsal arazilerin yaklaşık %30'unun; 2050 yılında ise yaklaşık %50'sinin kaybedileceği ön görülmektedir (Wang *et al.*, 2003). Dünya genelinde tuz stresinden etkilenen toprakların toplam alanının yaklaşık 830 milyon hektar olduğu tahmin edilmektedir (Martinez-Beltran and Manzur, 2005). Artan dünya nüfusu ve bunun aksine azalan tarımsal üretim önümüzdeki yıllarda çok büyük bölgesel ve küresel sorunların açığa çıkmasına neden olacaktır. Bu nedenle tuz stresi gibi tarımsal üretimi kısıtlayan çeşitli stres faktörlerine dayanıklı bitkilerin geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır. Tuz stresinin bitkiler üzerindeki etkisinin detaylı olarak incelenmesi ve doğal olarak tolerans geliştirmiş bitkilerin savunma mekanizmalarının anlaşılması gereklidir.

Tuz stresi, bitki hücrelerinde tuz iyonlarının birikimi sonucunda hem topraktan su alınımının kısıtlanmasına hem de biriken iyonların toksik etkisine neden olur. Bu nedenle ozmotik stres ve iyonik stres etkilerini birlikte içerir. Bitkilerde tuz stresi büyüme ve gelişme süreçlerini olumsuz etkiler. Yaprak alanı, yaprak uzunluğu, kök uzunluğu ve kuru ağırlık gibi büyüme parametrelerinde belirgin bir azalmaya neden olur (Ashrafuzzaman *et al.*, 2002). Tohum çimlenmesi, su ve besin alımı ve büyüme dahil bitkilerin tüm fizyolojik, morfolojik ve biyokimyasal süreçleri tuzluluktan etkilenir (Willenborg *et al.*, 2004). Tuz stresi, fizyolojik süreçleri, özellikle fotosentezi bozarak bitki büyümesinde ve verimliliğinde azalmaya neden olur (Sudhir *et al.*, 2004).

Çalışmamızda kuraklık stresine toleranslı bir ekmeklik buğday çeşidi olan Pamukova bitkisinde farklı büyüme evrelerinde tuz stresinin büyüme, gelişme süreçlerine olan etkilerini ve amino asit profilindeki değişimi inceledik. Genel olarak büyüme ile ilgili parametrelerde (kök ve gövde yaş- kuru ağırlığı) stres

uygulanması ile birlikte kontrol grupları ile karşılaştırıldığında belirgin bir azalma görüldü. Benzer sonuçlar daha önce yapılan tuz stresi ile ilgili çalışmalarda da görülmüştür (Cuin et al., 2010). Çalışmamızda tuz stresi uygulaması sonucunda yaş ve kuru ağırlıklarda en fazla azalmanın en yüksek tuz konsantrasyonu (200 mM NaCl) uygulanan grupta olduğu gözlemlendi. 200 mM tuz uygulanan gruplarda kök yaş ağırlığındaki azalma daha belirgindir. Ancak zamana bağlı değişim incelendiğinde özellikle 42. günden itibaren kontrol grupları ile karşılaştırıldığında tuz stresi uygulanan gruplarda görülen azalma seviyelerinin daha düşük olduğu belirlendi. Kök kuru ağırlıklarında meydana gelen değişim genel olarak değerlendirildiğinde erken dönemde azalma oranlarının daha belirgin olduğu görülmektedir. Bununla birlikte yine en düşük kök kuru ağırlık değerleri 200 mM NaCl uygulanan gruplarda bulunmaktadır. Başak yaş ve kuru ağırlık verileri değerlendirildiğinde ise artan tuz konsantrasyonu ve stres süresine bağlı olarak her iki tuz grubunda da belirgin bir azalma görüldü. Elde ettiğimiz bulgular Blum and Jordan (1985)'in yapmış olduğu çalışmalar ile paralellik göstermektedir. Buğday bitkisinde başak büyüme ve gelişme süreçleri ile ilgili değerler önemli verim kriterleridir. Bu bağlamda, başak yaş ve kuru ağırlıklarında meydana gelen değişimlerin belirlenmesi tuz stresinin bitkiyi ne oranda etkilediğini anlayabilmemiz açısından önem taşımaktadır. Özellikle başakların dolma döneminden itibaren başak yaş ve kuru ağırlıklarında her iki tuz uygulamasında da belirgin azalma görüldü. Bu oranlar beklenildiğini aksine hem 100 hem de 200 mM NaCl gruplarında benzer oranlarda değişti. Diğer sonuçlarla birlikte değerlendirildiğinde belki de tuz stresinden en çok zararı başakların gördüğü ve eşik tuz konsantrasyonu aşıldıktan sonra uygulanan dozun ve uygulama süresinin önemli olmadığını ön görebiliriz.

Tuz stresi koşullarında bitkilerde gözlenen tepkilerden bir diğeri ise yaprak su içeriğinin azalmasıdır. Çalışmamızda, *Triticum aestivum* bitkisine uygulanan 100 ve 200 mM NaCl konsantrasyonlarının her ikisinde yaprak bağıl su içeriğini (RWC) kontrol grubuna göre azalttığı gözlemlendi. Beklendiği gibi en düşük RWC değerleri 200 mM NaCl uygulanan grupta belirlendi. RWC değerleri stres süresi ve konsantrasyonundaki artışla bağlı olarak tuz stresi uygulanan tüm gruplarda azaldı. Bununla birlikte, RWC değerlerinde gözlenen azalma özellikle 21. günden sonra belirgin hale geldi. İki aşamalı (ozmotik ve iyonik) bir abiyotik stres olan

tuz stresinin iyon toksisitesine bağı olan etkileri genellikle stres uygulamasını daha geç dönemde ortaya çıkmaktadır (Bor et al. 2003; Yolcu et al. 2016). Ancak, bitkilerin hem ozmotik hem de iyonik stres aşamalarına verdiği yanıtlar ve tolerans değerleri farklılık gösterdiği için RWC'nin de dahil olduğu çeşitli fizyolojik parametrelerde gözlenecek değişim için standart bir zaman aralığı vermek mümkün değildir. Bu açıdan ele alındığında, çalıştığımız buğday çeşidinin kuraklığa dayanıklı bir çeşit olması nedeniyle tuz stresinin iki aşamasından da eş değer seviyede ve aynı zaman aralığında etkilendiğini ön görülebilir. Tuz stresine dayanıklı bitkilerde ozmotik düzenlemenin etkin bir şekilde yapılması hem bitkinin yaprak su içeriğini uzun süre korumasına hem de iyon toksisitesinden daha az etkilenmesine olanak sağlar (Bor ve ark. 2003; Yolcu ve ark. 2016). Peng ve ark. (2016) buğdayında dahil olduğu birçok tarım bitkisinde tuz stresinin olumsuz etkilerinden korunmanın temel mekanizmalarından birinin kökten Na^+ ve Cl^- iyonlarının alınımını engellemek olduğu ancak bu mekanizmanın uzun dönemde sürdürülebilir olmadığını belirtmiştir.

Bitkilerin büyüme ve gelişme süreçlerini yürütebilmeleri için büyük önem taşıyan fotosentez verimi genellikle tuz stresi koşullarından olumsuz etkilenir (Chaves ve ark. 2009; Munns ve Gilliam, 2015; Bor ve Özdemir, 2018). Yaptığımız çalışmada, kontrol ve tuz stresi (100 ve 200 mM NaCl) uygulanan gruplarda deneme süresince klorofil floresans (Fv/Fm) değerlerini belirleyerek fotosentezin stres koşullarından ne derece etkilendiğini ortaya koymaya çalıştık. Fv/Fm değerlerinde tüm gruplarda birbirine benzer sonuçlar gözlemlendi. Bulgularımız Sharma ve Hall (1991)'ın tuza toleranslı arpa ve sorgum bitkilerinde yaptığı çalışmaların sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Tuz stresinin fotosentez üzerindeki olumsuz etkisi büyük ölçüde, tek değerlikli oksijen, süperoksit, hidrojen peroksit, hidroksil radikali gibi reaktif oksijen türlerinin birikimi sonucunda artan oksidatif yük nedeniyle tillakoid membranlar ve fotosistemlerde meydana gelen hasara bağlıdır (Bor ve ark. 2003; Munns ve Tester, 2008; Sekmen ve ark. 2014; Yolcu ve ark. 2016). Dayanıklı bitkilerde reaktif oksijen türlerini yok eden çeşitli enzimatik ve enzimatik olmayan mekanizmalar aktif bir biçimde çalıştığı için stres kökeni ne olursa olsun zarar neden olacak reaktif oksijen türleri etkili bir şekilde uzaklaştırılabilir. Bu

bağlamda, fotosentez veriminin tuz stresinden çok fazla etkilenmemesinin nedeni çalıştığımız buğday çeşidinin (*Triticum aestivum* cv Pamukova) kuraklığa dayanıklı olması ile ilişkili olabilir.

Tarımsal üretim açısından son derece kritik bir bitki olan buğday bitkisinde ürün kalitesi ve verimin değerlendirilmesinde buğday danesine ait özellikler ve başak fenotipi büyük önem taşımaktadır. Normal koşullarda verimin göstergesi olan bu parametrelerdeki değişim stres koşullarında bitkinin stresten etkilenme düzeyinin anlaşılabilmesi için önemlidir. Buğday bitkisinde buğdayın ürün kalitesi üzerinde etkili olan parametrelerden birisi de bin dane ağırlığıdır. Yapmış olduğumuz çalışmada bin dane ölçümlerinden elde ettiğimiz sonuçlara göre özellikle yüksek tuz (200 mM NaCl) konsantrasyonunun bin dane ağırlığını azalttığını belirledik. Bununla birlikte başak uzunluğu ölçümlerinde de yine 200 mM NaCl stresi uygulanan grubun kontrol grubuna göre daha kısa boylu başaklara sahip olduğunu kaydettik. Başak verimi ile ilgili son kriter olan başak başına düşen dane sayısı değerlendirildiğinde üç grup arasında çok büyük bir fark saptanmadı. Ancak bu sonuç dane ağırlığı ile birlikte incelendiğinde başaklarda dane sayısı eşit olsa bile dane dolumu ile ilgili süreçlerin tuz stresinden olumsuz etkilendiği gözlemlendi. Elde ettiğimiz bulgular Huijie (2016)'nın buğdayda tuz stresi altında büyüme parametreleri ile yapmış olduğu çalışma ile benzerlik göstermektedir.

Sağlıklı ve verimli bir bitkinin büyüme ve gelişme süreçlerinin etkin bir şekilde yürütülmesi için amino asit havuzunun korunması, protein, karbohidrat ve lipid biyosentezinin aktif bir şekilde yürütülmesi büyük önem taşır (Bor ve Özdemir, 2018). Stres koşulları altında da çeşitli metabolik yolların aktif bir şekilde çalışabilmesi, önemli metabolitlerin miktarlarının korunabilmesi önemlidir. Bu bakış açısı ile çalışmamızda tarla koşullarında yetiştirilen buğday bitkilerinde tuz stresi koşullarında hem gelişim dönemine bağlı olarak yaprak ve başaklardaki serbest protein ve amino asit profilini inceledik. Protein miktarı yaprak ve başak örneklerinde 200 mM NaCl uygulanan bitkilerde belirgin düzeyde azaldı. Kontrol grupları ile karşılaştırıldığında protein miktarındaki değişim stres uygulamasının son haftalarında daha çarpıcı şekilde görüldü. Protein biyosentezi tuz stresinden olumsuz etkilenmektedir özellikle biriken iyonların

oluşturduğu toksik etki protein biyosentezi ile ilgili süreçlerin inhibisyonuna neden olmaktadır (Bor ve Özdemir, 2018). Elde ettiğimiz sonuçlar Dhingra (1996)'nın bezelyede yapmış olduğu çalışmalar ile paralellik göstermektedir. Genel olarak amino asit havuzundaki değişim ile protein miktarı arasında bir ilişki olduğu öngörülmektedir. Bununla birlikte aminoasitlerin birçok metabolitin öncül molekülü olmaları miktarlarındaki değişimin bu tip moleküllerin biyosentezi ile ilişkili olduğunda gösterebilir (Bor ve Özdemir, 2018). Tuz stresi koşullarında yaprak ve başak örneklerinde bulgular kısmında da belirtildiği gibi amino asit profili sadece kalitatif (nitelik) olarak belirlendi. Kontrol ve tuz stresi uygulanan gruplarda amino asit profilindeki değişim açısından anlamlı bir ilişki görülmedi. Yaprak ve başak örneklerinde belirlenen amino asitlerin büyük bir bölümü aynı amino asitlerdi (arginin, glutamin, glutamik asit, fenilalanin, triptofan, tirozin, lizin). Yapraklarda farklı belirlenen amino asitler lösin, izolösin, valin ve treonin iken başak örneklerinde sadece histidin farklı olarak bulundu. Kalitatif olarak tespit edilen amino asitler için kontrol ve stres grubuna özgü veya gelişim dönemine göre farklılık gösteren belirli bir amino asit görülmedi. Hemen hemen tüm kontrol ve tuz stresi uygulanan grupların yaprak örneklerinde arginin ve fenilalanin gözlenirken başak örneklerinde arginin, triptofan ve fenilalanin belirlendi. Amino asitlerin miktarları belirlenmediği için tuz stresine ve gelişime bağlı değişim ile ilişkili bir ön görüde bulunmak mümkün değildir. Ancak gözlenen amino asitlerin genel özellikleri incelendiğinde bu amino asitlerin tuz stresine verilen yanıtlardan bağımsız olarak büyüme ve gelişme süreçleri ile ilişkili olduğu ön görülebilir. Guo ve ark. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada *Triticum aestivum*'da tuz stresi koşullarında buğday bitkilerinde toplam 75 metabolitte farklılık tespit edilmiştir. Bu metabolitler arasında amino asitlerden lösin, izolösin, valin ve prolin miktarında artış tespit edilmiştir (Guo ve ark. 2015; Bor ve Özdemir, 2018)

Sonuç olarak; çalışmamızda Türkiye'de yaygın olarak yetiştirilen *Triticum aestivum* L. bitkisinde NaCl ile oluşturulan tuz stresi koşullarında büyüme ve gelişme parametrelerini, protein miktarındaki ve aminoasit kompozisyonundaki değişimleri inceledik. Tuz stresinin olumsuz etkileri yaprak ve köklerde 14. haftadan itibaren başaklarda ise 35. haftadan itibaren gözlemlendi. Özellikle 200 mM NaCl uygulanan gruplarda stres etkilerinin daha erken aşamalarda ortaya çıktığı

tespit edildi.Yaprak ve başak örneklerindeki serbest amino asit içeriği ile diğer fizyolojik parametreler arasında tuzu stresinin şiddetine ve bitkilerin gelişim dönemlerine paralel olarak uyumlu bir ilişki görüldü. Tarla koşullarında yapılan denemenin buğday bitkisinin tuz stresine verdiği yanıtların anlaşılması buna yönelik yaklaşımların geliştirilebilmesi açısından önemli olduğu düşünülmektedir.



KAYNAKLAR DİZİNİ

Anjum SA, Xie X, Wang L, Saleem MF, Man C, Lei W., 2011, Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stres. *Afr. J. Agric. Res.*, 6: 2026-2032.

Araújo, W. L., Ishizaki, K., Nunes-Nesi, A., Larson, T. R., Tohge, T., Krahnert, I., ... & Leaver, C. J., 2010, Identification of the 2-hydroxyglutarate and isovaleryl-CoA dehydrogenases as alternative electron donors linking lysine catabolism to the electron transport chain of Arabidopsis mitochondria. *The Plant Cell*, tpc-110.

Ashrafuzzaman, M., M.A.H. Khan and S.M. Shahidullah., 2002. Vegetative growth of maize (*Zea mays*) as affected by a range of salinity. *Crop Res. Hisar*, 24: 286–91

Ashraf, M., 2009, Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers, *Biotechnology Advances*, 27: 84-93.

Binder, S., Knill, T., and Schuster, J., 2007 , Branched-chain amino acid metabolism in higher plants. *Physiol. Plant.* 129:68–78.

Boyer, J. S., 1982, Plant productivity and environment. *Science*, 218(4571), 443-448.

Blum, A., & Jordan, W. R., (1985) Breeding crop varieties for stress environments. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2(3), 199-238.

Cavanagh, C., Morell, M., Mackay , I. And Powell, W., 2008 , From mutations to MAGIC : resources for gene discovery, validation and delivery in crop plants, *Current Opinion in Plant Biology*, 11, 215-221 pp.

Chen, Z. et al., 2007 , Compatible solute accumulation and stressmitigating effects in barley genotypes contrasting in their salt tolerance. *J. Exp. Bot.* 58, 4245–4255

Choudhary, N.L. et al., 2005 , Expression of delta1-pyrroline-5-carboxylate synthetase gene during drought in rice (*Oryza sativa* L.). *Ind. J. Biochem. Biophys.* 42, 366–370

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Csonka, L.N. and Hanson, A.D., 1991 , Prokaryotic osmoregulation: genetics and physiology. *Annu. Rev. Microbiol.* 45, 569–606.

Csonka, L.N. et al., 1988 , Nucleotide sequence of a mutation in the proB gene of *Escherichia coli* that confers proline overproduction and enhanced tolerance to osmotic stress. *Gene* 64, 199–205

Cuin, T.A., Miller, A.J., Laurie, S.A., Leigh R.A., 2003, Potassium activities in cell compartments of salt-grown barley leaves, *J Exp Bot*, 54: 657-661.

Dhingra, H. R., Varghese, T. M., & Kajal, N., 1996. Salinity induced changes in protein metabolism in developing chickpea seeds. *INDIAN JOURNAL OF PLANT PHYSIOLOGY*, 1, 220-222.

Fabro, G. et al., 2004 , Proline accumulation and AtP5CS2 gen activation are induced by plant-pathogen incompatible interaction in *Arabidopsis*. *Mol. Plant–Microbe Interact.* 17, 343–350

Gabrijel, O., Davor, R., Zed, R., Marija, R., & Monika, Z., 2009, Cadmium accumulation by muskmelon under salt stress in contaminated organic soil. *Science of the total environment*, 407(7), 2175-2182.

Galili, G., Avin-Wittenberg, T., Angelovici, R., & Fernie, A. R., 2014, The role of photosynthesis and amino acid metabolism in the energy status during seed development. *Frontiers in plant science*, 5, 447.

Gama, P. B. S., Inanaga, S., Tanaka, K., & Nakazawa, R. 2007. Physiological response of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings to salinity stress. *African Journal of biotechnology*, 6(2).

Ghassemi, Fereidoun, Anthony John Jakeman, and Henry Allan Nix., 1995 , *Salinisation of land and water resources: human causes, extent, management and case studies*. CAB international.

Hallett, S. H., Ozden, D. M., Keay, C. M., Koral, A., Keskin, S., & Bradley, R. I., 2003, A land information system for Turkey-a key to the country's sustainable development.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Hannah, M. A., Caldana, C., Steinhauser, D., Balbo, I., Fernie, A. R., & Willmitzer, L., 2010, Combined transcript and metabolite profiling of *Arabidopsis* grown under widely variant growth conditions facilitates the identification of novel metabolite-mediated regulation of gene expression. *Plant physiology*, 152(4), 2120-2129.

Hare, P. and Cress, W., 1997 , Metabolic implications of stress induced proline accumulation in plants. *Plant Growth Regul.* 21, 79–102

Haudecoeur, E. et al., 2009 , Proline antagonizes GABA- induce quenching of quorum-sensing in *Agrobacterium tumefaciens*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 106, 14587–14592.

Häusler, R. E., Ludewig, F., & Krueger, S., 2014 , Amino acids—a life between metabolism and signaling. *Plant Science*, 229, 225-237.

Hildebrandt, T. M., Nesi, A. N., Araújo, W. L., & Braun, H. P., 2015 , Amino acid catabolism in plants. *Molecular Plant*, 8(11), 1563-1579

Hong, Z. et al., 2000 , Removal of feed back inhibition of delta(1)-pyrroline-5-carboxylate synthetase results in increased proline accumulation and protection of plants from osmotic stress. *Plant Physiol.* 122, 1129–1136.

Jones, H. G., & Jones, M. B., 1989, Some terminology and common mechanisms. *Jones, HG et al.*

Kavi Kissor, P. B., & Sreenivasulu, N., 2014, Is proline accumulation per se correlated with stress tolerance or is proline homeostasis a more critical issue?. *Plant, cell & environment*, 37(2), 300-311.

Kavi Kishor, P.B. et al., 2005 , Regulation of proline biosynthesis degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. *Curr. Sci.* 88, 424– 438

Kemble, A.R. and MacPherson, H.T. , 1954 , Liberation of amino acids in perennial ray grass during wilting. *Biochem. J.* 58, 46–59

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Koca, H., Bor, M., Özdemir, F., & Türkan, I., 2007, The effect of salt stress on lipid peroxidation, antioxidative enzymes and proline content of sesame cultivars. *Environmental and experimental botany*, 60(3), 344-351.

Lam, H. M., Coschigano, K., Schultz, C., Melo-Oliveira, R., Tjaden, G., Oliveira, I., ... & Coruzzi, G., 1995 , Use of Arabidopsis mutants and genes to study amide amino acid biosynthesis. *The Plant Cell*, 7(7), 887.

Läuchli, A., & Grattan, S. R., 2007, Plant growth and development under salinity stress. In *Advances in molecular breeding toward drought and salt tolerant crops* (pp. 1-32). Springer, Dordrecht.

Liang, X., Zhang, L., Natarajan, S. K., & Becker, D. F., 2013, Proline mechanisms of stress survival. *Antioxidants & redox signaling*, 19(9), 998-1011.

Liu, J. and Zhu, J.K., 1997 , Proline accumulation and salt-stress-induced gene expression in a salt-hypersensitive mutant of Arabidopsis. *Plant Physiol.* 114, 591–596.

Mahajan, S., & Tuteja, N., 2005 , Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Archives of biochemistry and biophysics*, 444(2), 139-158.

Mattioli, R. et al., 2008 , Modulation of intracellular proline levels affects flowering time and inflorescence architecture in Arabidopsis. *Plant Mol. Biol.* 66, 277–288.

Miller, G. et al., 2009 , Unraveling delta1-pyrroline-5-carboxylate-proline cycle in plants by uncoupled expression of proline oxidation enzymes. *J. Biol. Chem.* 284, 26482–26492

Moe, L.A., 2013 , Amino acids in the rhizosphere: from plants to microbes. *Am. J. Bot.* 100:1692–1705.

Munss, R. And Tester, M., 2008 , Mechanisms of salinity tolerance , Annual Review of Plant Biology, 59, 651-681 pp

Munns, R., 2002 , Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, cell & environment*, 25(2), 239-250.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Obata, T., & Fernie, A. R., 2012 , The use of metabolomics to dissect plant responses to abiotic stresses. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 69(19), 3225-3243.

Parihar, P., Singh, S., Singh, R., Singh, V. P., & Prasad, S. M., 2015 , Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(6), 4056-4075.

Saradhi, P.P. et al., 1995 , Proline accumulates in plants exposed to UV radiation and protects them against UV induced peroxidation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 209, 1–5

Schat, H. et al., 1997 , Heavy metal-induced accumulation of free proline in a metal-tolerant and a nontolerant ecotype of *Silene vulgaris*. *Physiol. Plant.* 101, 477–482

Serrano, R., Mulet, J.M., Rios, G., Marquez, J.A., de Larrinoa, I., Leube, M.P., Mendizabal, I., Pascual-Ahuir, A., Proft, M., Ros, R., Montesinos, C., 1999, A glimpse of the mechanisms of ion homeostasis during salt stress, *J Exp Bot*, 50: 1023–1036.

Sharma, P.K., Hall, D., 1992, Changes in carotenoid composition and photosynthesis in sorghum under high light and salt stresses, *Journal of Plant Physiology*, 140(6):661-666.

Sudhir, P., & Murthy, S. D. S., 2004 , Effects of salt stress on basic processes of photosynthesis. *Photosynthetica*, 42(2), 481-486.

Szabados, L., & Savoure, A., 2010, Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in plant science*, 15(2), 89-97.

Sze'kely, G. et al., 2008 , Duplicated P5CS genes of *Arabidopsis* play distinct roles in stress regulation and developmental control of proline biosynthesis. *Plant J.* 53, 11–28.

Tegeder M, Rentsch D., 2001, Uptake and partitioning of amino acids and peptides. *Mol Plant* , 3:997-1011.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Tegeder, M., & Weber, A. P., 2008, Metabolite transporters in the control of plant primary metabolism. *Control of primary metabolism in plants*, 22, 85-120.

Tilman, D., Balzer, C., Hill, J., & Befort, B. L ., 2011, Global food demand and the sustainable intensification of agriculture. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(50), 20260-20264.

Tuteja, N., 2007, Mechanisms of high salinity tolerance in plants. In *Methods in enzymology* (Vol. 428, pp. 419-438). Academic Press.

Verbruggen, N. and Hermans, C., 2008 , Proline accumulation in plants: a review. *Amino Acids* 35, 753–759

Wang, W., Vinocur, B. and Altman, A., 2003, Plant responses to drought salinity and extreme temperatures : towards genetic engineering for stress tolerance , *Planta* , 218 1-14 pp.

Watanabe, M., Balazadeh, S., Tohge, T., Erban, A., Giavalisco, P., Kopka, J., ... & Hoefgen, R., 2013 , Comprehensive dissection of spatio-temporal metabolic shifts in primary, secondary and lipid metabolism during developmental senescence in *Arabidopsis thaliana*. *Plant physiology*, pp-113.

Widodo et al., 2009 , Metabolic responses to salt stress of barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars, Sahara and Clipper, which differ in salinity tolerance. *J. Exp. Bot.* 60, 4089–4103

Willenborg, C. J., R. H. Gulden, E. N. Johnson, and S. J. Shirtliffe., 2004. Germination characteristics of polymer-coated canola (*Brassica napus* L.) seeds subjected to moisture stress at different temperatures. *Agronomy Journal* 96:786–791.

Witte, C. P., 2011, Urea metabolism in plants. *Plant Science*, 180(3), 431-438.

Xin, Z. and Browse, J., 1998 , Eskimo1 mutants of *Arabidopsis* are constitutively freezing-tolerant. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 95, 7799–7804

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Yang, S.L. et al., 2009 , Hydrogen peroxide-induced proline and metabolic pathway of its accumulation in maize seedlings. *J. Plant Physiol.* 166, 1694–1699.

Yoshida, Y. et al., 1995 , Correlation between the induction of a gene for delta 1-pyrroline-5-carboxylate synthetase and the accumulation of proline in *Arabidopsis thaliana* under osmotic stress. *Plant J.* 7,751–760.

Zeier, J., 2013, New insights into the regulation of plant immunity by amino acid metabolic pathways. *Plant, Cell & Environment*, 36(12), 2085-2103.

Zhao, J., Williams, C. C., & Last, R. L., 1998 , Induction of *Arabidopsis* tryptophan pathway enzymes and camalexin by amino acid starvation, oxidative stress, and an abiotic elicitor. *The Plant Cell*, 10(3), 359-370.

Zhu, J. K., 2001, Plant salt tolerance. *Trends in plant science*, 6(2), 66-71.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım süresince değerli bilgi ve katkılarını esirgemeyen danışmanım, Sayın Hocam Prof. Dr. Melike BOR 'a yüksek lisansım boyunca her türlü desteğini eksik etmeyen, bilgi ve birikimini paylaşmaktan çekinmeyen Sayın Hocam Filiz ÖZDEMİR 'e teşekkürlerimi sunarım.

Lisans ve lisansüstü dönemlerimde değerli bilgilerini benimle paylaşan hocalarım Prof.Dr İsmail TÜRKAN, Doç. Dr. Hediye SEKMEN, Dr. Öğr. Üyesi Barış Uzilday ve Araş. Gör. Dr Rengin UZİLDAY 'a teşekkür ederim.

Bitkilerin tarla koşullarında yetiştirilmesi sürecinde değerli bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan Dr. Öğr. Üyesi . Nedim ÇETİNKAYA 'ya Ziraat Mühendisi Arş. Gör. Sercan PAZAR'lara teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarımı tamamlamamda bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım arkadaşlarım Merve KAHRAMAN ve Gülçin SEVİM 'e teşekkür ederim.

Tez projemi 17/FEN/018 numaralı BAP projesi kapsamında destekleyen Ege Üniversitesi Araştırma Fon Saymanlığına teşekkür ederim.

Çalışmamızda amino asit analizlerini yaptığımız Ege Üniversitesi Merkezi Araştırma Test ve Analiz Laboratuvar çalışanlarına teşekkür ederim.

Hayatımın her alanında benden desteklerini esirgemeyen, her verdiğim kararda yanımda olan ve bana güvenlerini her zaman hissettiğim babam Salih ŞAHİN'e, annem Gazel ŞAHİN 'e , ablam Pınar ŞAHİN KUMYALILI'ya kardeşim Murat ŞAHİN 'e ve eşim Şefik KARANLIK 'a sonsuz teşekkürler.

01 / 03 / 2019

İmzası

Adı-Soyadı

Hazal Şahin

ÖZGEÇMİŞ

28.04.1992’ de Lefkoşa’da doğdu . İlkokulu Kumyalı İlkokulu’nda , ortaokulu Mehmetçik Ortaokulu’nda ve liseyi 20 Temmuz Fen Lisesi’nde okudu. 2010 yılında liseden mezun oldu ve aynı yıl Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü’nde öğrenim görmeye hak kazandı. 1 yıl hazırlık 4 yıl lisans öğreniminin ardından 2015 yılında Biyoloji bölümü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı’nda mezun oldu. 2016 yılında Ege Üniversitesi Genel Biyoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans programına kabul edildi. 2019 Mart ayında tez çalışmasını tamamladı.