



T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İSPANAKTA SEL BASKINI ZARARINI
AZALTMADA MELATONİN VE NİTRİK
OKSİT'İN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

RAID ALKHATEB

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tarımsal Yapılar ve Sulama Anabilim Dalı

Haziran - 2024
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Raid ALKHATEB tarafından hazırlanan “İspanakta Sel Baskını Zararını Azaltmada Melatonin ve Nitrik Oksit'in Etkilerinin Araştırılması” adlı tez çalışması 04/06/2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarımsal Yapılar ve Sulama Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Prof. Dr. Bilal ACAR

.....

Danışman

Prof. Dr. Duran YAVUZ

.....

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Furkan Ömer KANARYA

.....

Yukarıdaki sonucu onaylıyorum.

Prof. Dr. Ömer Faruk YÜKSEL
FBE Müdürü

Bu tez çalışması “TÜBİTAK” 1002-Hızlı Destek programı tarafından desteklenen 2220541 no'lu proje sonuçları kullanılarak hazırlanmıştır.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

İmza
Raid ALKHATEB
Tarih:06/05/2024

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İSPANAKTA SEL BASKINI ZARARINI AZALTMADA MELATONİN VE NİTRİK OKSİT'İN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

RAID ALKHATEB

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Tarımsal Yapılar ve Sulama Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Duran YAVUZ

2024, 64 Sayfa

Jüri

Prof. Dr. Bilal ACAR

Prof. Dr. Duran YAVUZ

Dr. Öğr. Üyesi Furkan Ömer KANARYA

Tarımsal üretimde verim ve kaliteyi kısıtlayan asıl faktörler faktörler abiyotik ve biyotik stres faktörleridir. Bu stres faktörleri küresel iklim değişikliği sonucunda etkisini artırarak tarımsal üretimi ciddi anlamda etkilemektedir. Sel baskını stresi günümüzde tarımsal yetiştiriciliği kısıtlayan verim ve kalite kayıplarına neden olan ve gün geçtikçe etkisini artıran bir stres faktörü haline gelmiştir. Son zamanlarda araştırmacılar sel baskını stresinin olumsuz etkisini azaltmak için stratejiler geliştirmeyi hedeflemektedirler. Melatonin (MEL) ve nitrik oksit (NO) uygulamaları bu stratejiler arasında yer almaktadır. Bu amaçla mevcut çalışmada, sakı şartlarında bir tam sulama konusu (S100), bir sel baskını stresi konusu (SB), sel baskını+50 µM MEL uygulaması (SB+MEL50), sel baskını+100 µM MEL uygulaması (SB+MEL100), sel baskını +50 µM NO uygulaması (SB+NO50) ve sel baskını +100 µM NO uygulaması (SB+NO100) olmak üzere 6 farklı uygulama konusu denenmiştir. Sel baskını konularına hasattan 10 gün önce stres uygulanmış ve hasata kadar bu stres devam ettirilmiştir. MEL ve NO uygulamaları bitki yapraklarına sprey yöntemiyle bütün bitki kaplanacak şekilde birer hafta ara ile toplamda iki kez uygulanmıştır. Hasat öncesi ve hasat sonrasında agronomik, fizyolojik ve biyokimyasal parametreler üzerine sel baskını stresinin etkileri belirlenmiştir. Çalışma sonucunda, sel baskını stresi bazı agronomik parametrelerde azalmaya neden olmuş ve yine YOSİ, klorofil a ve b, karotenoid, protein ve a* yaprak rengi üzerinde olumsuz etki ortaya çıkarmıştır. Sel baskını stresi, stres şartlarında meydana gelen ROS oluşumunu artırmasının yanı sıra, prolin, yaprak sıcaklığı, antioksidan enzim aktivitesi, yaprak rengi L* ve a* değerlerinde önemli artışlar meydana getirmiştir. Uygulanan MEL ve NO dozlarının bitki gelişimine katkı sağlamasının yanı sıra, pigment içeriğinin düzenlenmesi, ROS temizleyen antioksidan savunma sisteminin teşvik edilmesinde katkı sağlamıştır. Verilerin toplu olarak birarada değerlendirilmesi amacıyla yapılan temel bileşenler analizi (TBA) sonucunda tam sulama konusu (S100) agronomik ve fizyolojik parametreler açısından en iyi sonuçların elde edildiği uygulama olmuştur. Yine TBA sonuçları, tam sulama konusuna en yakın bölgede yer alan SB+MEL100 konusu sel baskını stresi şartlarında en etkin uygulama olarak dikkat çekmiştir. Sürdürülebilir tarım açısından ıspanak tarımının yapıldığı ve sel baskını riski olan bölgelerde nitrik oksit uygulamalarına nazaran melatonin uygulamalarının verim ve kalite kayıplarını azaltmada önemli bir uygulama olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Agronomi, Fizyoloji, Küresel iklim değişikliği, Sel bakını, *Spinacea oleracea*

ABSTRACT

MS THESIS

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF MELATONIN AND NITRIC OXIDE IN REDUCING FLOODING DAMAGE IN SPINACH

RAID ALKHATEB

**THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN DEPARTMENT OF FARM STRUCTURES AND IRRIGATION**

**Advisor: Prof. Dr. Duran YAVUZ
2024, 64 Pages**

**Jury
Prof. Dr. Bilal ACAR
Prof. Dr. Duran YAVUZ
Assist. Prof. Dr. Furkan Ömer KANARYA**

The most important factors limiting yield and quality in sustainable agriculture are abiotic and biotic stress factors. These stress factors increase their impact as a result of global climate change, seriously affecting agricultural production. Flooding stress has become a stress factor that restricts agricultural cultivation, causes yield and quality losses, and increases its effect day by day. Recently, researchers aim to develop strategies to reduce the negative effects of flooding stress. Melatonin (MEL) and nitric oxide (NO) applications are among these strategies. For this purpose, in the current project, there were 6 application subjects; a full irrigation subject (I100), a flooding stress subject (SB), flooding + 50 μ M MEL application (SB + MEL50), flooding + 100 μ M MEL application (SB + MEL100), flooding + 50 μ M NO application (SB + NO50) and flooding + 100 μ M NO application (SB + NO100). Stress was applied to flooding subjects ten days before harvest. MEL and NO applications were applied to the plant leaves by spray method, covering the entire plant twice and with an interval of one week. The effects of flooding stress on the agronomic, physiological and biochemical parameters specified in the project were determined before and after harvest. As a result of the study, flooding stress not only caused a decrease in important agronomic parameters, but also had a negative effect on YOSI, chlorophyll a, b, carotenoid, protein and a* leaf color. Flooding stress, in addition to promoting ROS formation that occurs under stress conditions, caused significant increases in proline, leaf temperature, antioxidant enzyme activity, leaf color, L* and a* values. In addition to the applied MEL and NO doses contributing to plant development, the regulation of pigment content contributed to the promotion of the ROS-scavenging antioxidant defense system. As a result of the pirincipal component analysis of all parameters, full irrigation (S100) was the application that gave the best results in terms of agronomic and physiological parameters. 100 μ M melatonin application in the area closest to full irrigation was the most effective application under flooding stress conditions. In terms of sustainable agriculture, it has been determined that melatonin applications are an important application in reducing yield and quality losses in regions where spinach cultivation is carried out and there is a risk of floods.

Keywords; Agronomy, Physiology, Global climate change, Flooding, Spinacea oleracea

ÖNSÖZ

Son yıllarda iklim değişikliğinin etkisiyle birlikte yağış rejimlerinde düzensizlikler meydana gelmektedir. Bu bağlamda dünyanın birçok bölgesinde özellikle deniz kenarına yakın sahil bölgelerinde ani ve şiddetli yağışlar sel rejimine dönüşmekte ve bu durum tarımsal üretimde önemli verim ve kalite kayıplarına neden olmaktadır. Uzun süre su altında kalan bitkilerde stresin etkisinin hafifletmede biyostimulantların oynadıkları rollerin belirlenmesi oldukça önemlidir. Yapılan bu çalışma ile serada saksı koşullarında yetiştirilen ve fazla su stresine (sel stresine) maruz bırakılan ıspanakta melatonin ve nitrik oksit'in etkinlikleri araştırılmıştır.

Tez çalışmamın yürütülmesinde ve sonuçların değerlendirilmesinde önemli katkıları olan danışman hocam Prof. Dr. Duran YAVUZ'a, yine bu çalışmada önemli katkıları bulunan Doç. Dr. Musa SEYMEN'e ve Abdurrahman MUTLU'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Bu çalışmanın gerçekleşmesinde maddi destek sağlayan TÜBİTAK-TOVAG grubuna teşekkür ederim.

Ayrıca ailemin tüm bireylerine verdikleri destek ve gösterdikleri hoşgöründen dolayı sonsuz teşekkür ederim.

Raid ALKHATEB
KONYA-2024

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	5
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	18
3.1. Bitkisel Materyal.....	18
3.2. Toprak Örneklerinin Alınması ve Analiz Yöntemleri	18
3.3. İklim Verilerinin Alınması.....	19
3.4. Denemede Kullanılan Saksıların Özellikleri.....	19
3.5. Denemenin Kurulması ve Uygulamaların Yapılışı.....	20
3.6. Hasat.....	23
3.7. Bitkisel Parametrelerinin Belirlenmesi	23
3.7.1. Yaprak sayısının belirlenmesi	23
3.7.2. Yaprak alanı	23
3.7.3. Yaş ve kuru ağırlık ölçümleri.....	24
3.7.4. Kök uzunluğu	24
3.8. Fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerin belirlenmesi.....	24
3.8.1. Yaprak Oransal Su İçeriği (YOSİ) (%).....	24
3.8.2. Membran geçirgenliği	25
3.8.3. Yapraklardaki pigment içeriğinin belirlenmesi.....	26
3.8.4. Yaprak dokularında Malondialdehit (MDA) miktarının belirlenmesi	26
3.8.5. Yaprak dokularında Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂) miktarının belirlenmesi .	27
3.8.6. Yaprak dokularında prolin miktarının belirlenmesi	28
3.8.7. Protein içeriğinin belirlenmesi	28
3.8.8. Katalaz (CAT) aktivitesi	29
3.8.9. Süperoksit Dismutaz (SOD) aktivitesinin belirlenmesi	30
3.8.10. Peroksidaz (POD) aktivitesinin belirlenmesi	31
3.8.11. Yaprak sıcaklığı	31
3.8.12. Yaprak renklerinin belirlenmesi.....	32
3.9. İstatistiksel analizler.....	33
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	34
4.1. MEL ve NO Uygulamalarının Agronomik Parametrelere Etkisi.....	34
4.2. MEL ve NO Uygulamalarının YOSİ, Membran Geçirgenliği ve Pigment İçeriklerine Etkisi	37
4.3. MEL ve NO Uygulamalarının MDA, H ₂ O ₂ , Prolin ve Protein İçeriklerine Etkisi	40
4.4. MEL ve NO Uygulamalarının Antioksidan Enzim Aktivitelerine Etkisi	42
4.5. MEL ve NO Uygulamalarının Yaprak Sıcaklığı Üzerine Etkisi.....	43
4.6. MEL ve NO Uygulamalarının Yaprak Rengine Etkisi	44
4.7. Temel Bileşenler Analizi	45
5. TARTIŞMA	49
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	55
7. KAYNAKLAR	56
ÖZGEÇMİŞ	64

SİMGELER VE KISALTMALAR

MEL	: Melatonin
NO	: Nitrik Oksit
SB	: Sel Baskını
TBA	: Temel Bileşenler Analizi
μM	: Micromolar
YOSİ	: Yaprak oransal su içeriği
QPSII	: Fotosentez verimliliği
Fv/Fm	: Fotokimyasal verim
MDA	: Malondialdehit
CaCO_3	: Kalsiyum Karbonat
EC	: Elektriksel İletkenlik
dS	: Desisiemens
pH	: Hidrojen İyon Konsantrasyonunun Negatif Logaritması
%	: Yüzde
$^{\circ}\text{C}$	: Santigradderece
atm	: Atmosfer basıncı
mg	: Miligram
g	: Gram
kg	: Kilogram
t	: Ton
L	: Litre
m^3	: Metreküp
s	: Saniye
h	: Saat
m^2	: Metrekare
ha	: Hektar
da	: Dekar
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
SOD	: Süperoksit Dismutaz
CAT	: Katalaz
POD	: Peroksidaz
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
H_2O_2	: Hidrojenperoksit

1. GİRİŞ

Küresel iklim değişikliği, gün geçtikçe olumsuz etkisini artırmasının yanı sıra, tarımda abiyotik stres faktörlerini tetikleyerek bitki gelişimini sınırlandırmaktadır. Elde edilen verilere göre dünya tarım alanlarının yaklaşık %95'inin abiyotik stres faktörlerinden olumsuz şekilde etkilendiği bildirilmektedir. Buna bağlı olarak, gıda güvenliğinin tehlikeye girdiği, verimliliğin korunması ve iyileştirilmesi günümüzde en kritik ve acil sorun olduğu görülmektedir (FAO, 2019). Küresel iklim değişikliğine sebep olan sera gazlarındaki artış, sıcaklıkları artırmasının yanı sıra ani sıcaklık değişimleri ve yağış düzenini de etkilemektedir (Gray ve Brady, 2016). Sıcaklıkların artması kuraklık stresini beraberinde getirmekte, buda bitkilerin su ihtiyacını artırmaktadır (Shah ve ark., 2019). Ani sıcaklık değişimleri kuraklık olarak karşımıza çıkmasının yanı sıra, sel baskını riskini artırarak tarımsal üretimi kısıtlayan önemli bir faktör haline gelmektedir (Kıratlı ve ark., 2023). Buna bağlı olarak, küresel model simülasyonlarına ve çok çeşitli senaryolara dayanarak yapılan çalışmalarda ileriki yıllarda sel baskınları riskinin daha fazla artacağı ve zararlarının ciddi seviyelere ulaşacağı bildirilmektedir (Mirza, 2002). Bu sebeple son zamanlarda sel baskını stresi önemli verim kayıplarına neden olmaktadır. Sel baskınının bitkilerdeki olumsuz etkilerini azaltmak için bu konu üzerinde yoğun çalışmalar yürütülmektedir.

Sel baskını, meydana gelme sıklığı ve zamanlaması açısından değişken olmasına rağmen, ekosistemlerdeki toprak yapısını ve besin dinamiklerini değiştirir (Glazebrook ve Robertson, 1999; Martínez-Alcántara ve ark., 2012). Küresel boyutta incelendiğinde, günümüzde tarım arazilerinin % 10'u sel baskınlarından olumsuz etkilenmekte ve stres şartlarında tarımsal alanlarda bitki gelişimini önemli oranda kısıtlanmaktadır. Sel baskınları nedeniyle yaşanan verim kayıpları tür, toprak tipi ve strese maruz kalınan süreye bağlı olarak %15 ile %80 arasında değişmektedir (Patel ve ark., 2014).

Sel baskınlarının bitkilerdeki metabolik ve fizyolojik değişimlere yol açmasının sebebi ilk olarak aerobik kök solunumunun bozulması ve ardından oksijen yoksunluğundan kaynaklandığı bilinmektedir. Toprakta bulunan fazla su, toprak redoks potansiyelinde büyük ölçüde düşüşe sebep olarak toprak besin içeriğinde önemli değişikliklere neden olmaktadır. Serbest oksijen tükendiğinde; azot, toprak mikroorganizmaları tarafından solunumda alternatif bir elektron alıcısı olarak kullanılır. İlerleyen aşamalarda manganez (Mn) oksitler, demir (Fe) ve sülfat (SO_4^{2-}) elektron

alıcısı olarak görev yapar. Bunun sonucunda da genellikle toprak çözeltisindeki çözünür demir (Fe^{+2}) ve Mn^{+2} miktarında toksik seviyelerin üzerinde bir artış meydana gelir (Kal ve ark., 2023). Ayrıca sel baskını sırasında toprakta engellenen gaz değişimi nedeniyle kök bölgesinde yüksek kısmi CO_2 basıncı oluşur ve bu da kök büyümesi ve metabolizma için bazı ciddi sonuçlar doğurur (Patel ve ark., 2014).

Reaktif oksijen türleri (ROS), sel, ağır metal ve yüksek tuzluluk gibi stres koşullarına karşı tepkilere aracılık eden ikincil bir küçük molekül sınıfı olarak tanımlanmaktadır. ROS moleküler oksijenden üretilir ve kökenleri çeşitlidir. Apoplastik ROS, plazma zarına yerleştirilmiş Rboh proteinleri aracılığıyla üretilir. Bitkilerdeki Rboh proteinleri, süperoksit anyonları (O_2^-) üretmektedir. Kısa ömürlü O_2^- kendiliğinden ya da süperoksit dismutaz (SOD) veya askorbat peroksidazlar (POD) tarafından katalize edilerek radikal olmayan hidrojen peroksit (H_2O_2) dönüşür. Biyotik ve abiyotik stres koşulların altında, hücrel ROS dengesi bozularak bitki gelişimi olumsuz etkilenir (Steffens, 2014; Sasidharan ve ark., 2018).

Sel baskını stresinin bitkilerdeki olumsuz etkisini azaltmak için son yıllarda bazı uygulamalar üzerine yoğunlaşmıştır. Aşılı fide kullanımı (Zhang ve ark., 2023), toleran tür ve çeşit seçimi (Kıratlı ve ark., 2023), bazı besin elementi uygulamaları (Kal ve ark., 2023), biyostimulantların uygulanması (Seymen ve ark., 2023) gibi çalışmalar bunlardan bazılarıdır. Biyostimulant kelimesi bilimsel literatürde ilk defa 2007 yılında, az miktarda uygulandıklarında bitki gelişimini teşvik eden gübre dışındaki uygulamalar olarak isimlendirilmiştir (Kauffman ve ark., 2007). Son yıllarda tarımda sürdürülebilirliğin sağlanması ve insan sağlığının korunması adına kimyasal gübre ve tarım ilacı kullanımını azaltmak için biyostimulantların kullanılması önemli bir hal almıştır. Biyostimulant kelimesi, bitki besin elementi alınımını artıran, toprak verimliliğini koruyan ve bitki gelişimine olumlu şekilde katkı sağlayan biyolojik uygulamalar için kullanılmaktadır. Biyostimulant olarak kullanılan melatonin ve nitrik oksit birçok stres faktörlerinde bitki gelişimine olumlu katkı sağlayan bir hormondur (Yakupoglu ve ark., 2018; Yavuz ve ark., 2023).

Melatonin ilk olarak alglerde keşfedilmesiyle, diğer canlılarda yapılan araştırmalar sonucunda bitkilerin, kök, gövde, yaprak, meyve ve tohumlarında bol miktarda bulunduğu bildirilmiştir (Reiter ve ark., 2007). Her türlü bitki türünde bulunan melatonin, her türde farklı miktarda olduğu gibi farklı dönemler ve farklı organlarda farklı seviyelerde bulunmaktadır (Posmyk ve ark., 2009). Yapılan çalışmalarda öğleden sonra ışık yoğunluğunun yüksek olduğu ve sıcak saatlerde MDA içeriğinin artması ile

melatonin sentezinin de arttığı bildirilmiştir. Oksidatif stres şartlarında stresin ilk aşamalarında melatoninin önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Diğer taraftan stres şartlarında meydana gelen reaktif oksijen türevlerinin (ROS) oluşumu aşamasında melatoninin önemli bir ROS süpürücü olduğu bildirilmiştir (Yakupoğlu ve ark., 2018). Melatonin indol asetik asit (IAA) ile benzer rol üstlendiği, yüksek dozlarda bir engelleyici olarak görev alırken, uygun dozlarda bitki gelişimini teşvik ettiği ortaya konmuştur (Hernández-Ruiz ve Arnao, 2008). Bitkilere dışarıdan yapılan melatonin uygulamaları sonucunda stres şartlarında ROS seviyelerinde azalmaya rastlanırken, aminoasit, şeker ve organik asit içeriklerinde artış meydana geldiği bildirilmiştir (Shi ve ark., 2015). Melatoninin sel baskını stresi şartlarında da bitki gelişiminde önemli katkı sağladığı birçok araştırmacı tarafından ortaya konmuştur (Zeng ve ark., 2022; Seymen ve ark., 2023).

Nitrik oksit doğada gaz formunda bulunan, antioksidan görevi gören bir moleküldür (Kausar ve Shahbaz, 2013; Ekinci ve ark., 2018). Aynı zamanda bitkilerde stres koşulları altında üretildiği bilinen sinyal molekülüdür. Bu molekül bitki gelişimi sırasında farklı dönemlerde (tohum çimlenmesi, kök gelişimi, çiçeklenme, meyve olgunlaşması vb.) görev almaktadır. Nitrik oksit molekülünde yer alan eşlenmemiş elektron nedeniyle reaktif bir türdür. Bu nedenle NO-ROS kombinasyonu toksik ya da koruyucu etki gösterebilir. Nitrik oksitin düşük miktarlarda bulunması ROS savunma mekanizmasını tetiklerken, yüksek konsantrasyonları zararlanmalara yol açabilir (Kopyra ve Gwó d, 2004; Ekinci ve ark., 2018). Nitrik oksit ROS ve hormonlar arası dengeyi de düzenleyerek sinyal iletimi, savunma mekanizmalarının ortaya çıkarılması gibi süreçleri kontrol eden genleri aktive ederek önemli bir savunma görevi de görmektedir. Nitekim sel baskını stresi şartlarında uygulanan nitrit oksitin bitki gelişiminde önemli katkı sağladığı birçok araştırmacı tarafından ortaya konmuştur (Khan ve ark., 2019; Lee, 2022; Park ve ark., 2022).

Ispanak (*Spinacea oleracea* L.) yüksek yaz sıcaklarının olduğu dönemler hariç her türlü ekolojide rahatlıkla yetiştirilebilen ve insan beslenmesinde önemli bir yere sahip olan ekonomik anlamda değerli bir sebze türüdür. Dünyada yaklaşık olarak 32.3 milyon ton ıspanak üretimi gerçekleşirken, bu üretimde 29.8 milyon ton ile Çin ilk sırayı alırken, 0.31 milyon ton ile Amerika (USD) ikinci sırada ve 0.22 milyon ton ile Türkiye üçüncü sırada yer almaktadır (FAO, 2021). Taze olarak yaprakları tüketilen ıspanak, bünyesinde yüksek miktarda mineral ve vitamin içermesi ve insan sağlığı için gerekli olan C vitamini içeriği yüksek olan önemli bir sebzedir (Ekinci ve ark., 2015).

Ayrıca, önemli bir diyet ürünü olup, glukuronik asit türevleri ve güçlü antioksidan aktivite gösteren p-kumarik asit türevleri yönünden zengin bir besindir (Xu ve Leskovar, 2015). Ispanak yüksek oranda su içeriğine sahip olduğundan dolayı, birçok bölgede verim ve kalitenin artırılması için sulama mutlak gereklidir. Diğer taraftan karasal iklimin egemen olduğu bölgelerde ilkbahar ve sonbahar dönemlerinde yetiştiriciliği yapılan ıspanağın bu dönemlerde meydana gelen yoğun yağışlardan olumsuz etkilendiği bilinmektedir. Diğer taraftan ılıman iklim kuşağına sahip bölgelerde ise kış dönemlerinde yapılan ıspanak yetiştiriciliğinde meydana gelen yağışlar sel baskını riskini ortaya çıkarmaktadır. Yaprığı tüketilen bir bitki olan ıspanakta meydana gelen sel baskınlarının verim ve kalite açısından önemli kayıplara neden olduğu bildirilmiştir (Seymen, 2021). Bu sebeple ıspanakta sel baskını stresinin olumsuz etkisinden sakınmak için ya da etkilerini azaltmak için bazı uygulamalar gerekmektedir.

Mevcut çalışmada uygulanan melatonin ve nitrik oksitin birçok kuraklık ve sel baskını stresi şartlarında bitki gelişimine önemli katkı sağladığı yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Fakat sel baskını stresi şartlarında melatonin ve nitrik oksitin ıspanakta etkileri hakkında çok fazla bilgiye rastlanılmamıştır. Bu nedenle bu çalışmada, ıspanakta sel baskını stresi şartlarında melatonin ve nitrik oksit uygulamalarının agronomik özelliklere, fizyolojik ve biyokimyasal içeriklere etkileri belirlenerek sel baskını stresinin ıspanaktaki etkileri ortaya çıkarılmaya çalışılmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Sel baskını stresi şartlarında melatonin uygulamalarının birçok bitki türünde önemli katkılarının olduğu bildirilmiştir. Yapılan bazı çalışmalar özetlenerek aşağıda sunulmuştur.

Seymen ve ark. (2023), karnabaharda yapmış oldukları bir çalışmada sel baskını stresi şartlarında melatonin uygulamalarının bitki büyümesi üzerindeki etkilerini, fizyolojik ve biyokimyasal değişiklikleri belirlemeyi hedeflemişlerdir. Bu amaçla bir aylık karnabahar fidelerine sel baskını stresi uygulanmış ve fidelere sprey şeklinde üç doz (0, 50 ve 100 μ M) melatonin uygulaması gerçekleştirmişlerdir. Çalışmada uygulanan sel baskını stresinin fidelerin büyümelerini önemli ölçüde kısıtladığı ve toprak üstü taze ve kuru ağırlıkta, toprak altı taze ve kuru ağırlıkta ve yaprak alanında sırasıyla %68, %58, %45, %62 ve %40 azalmaya neden olduğunu ortaya koymuşlardır. Bunun yanı sıra, yaprak su potansiyeli, klorofil b ve stoma iletkenliği değerlerinde önemli azalma görülmüştür. Araştırma sonucunda uygulanan melatonin dozlarının sel baskını stresinden korunmak için fazla etkili olmadığı ve daha yüksek dozların uygulanarak denenmesi gerektiği bildirilmiştir.

Can (2023), lahananın fide döneminde oluşan sel baskını stresinin ve uygulanan farklı melatonin dozlarının fizyolojik tepkileri üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçlamıştır. Lahanada oluşturulan sel baskını stresi sonucunda fotosentez, antioksidan enzimler, klorofil floresansı ve agronomik parametrelerde önemli değişimler ortaya çıktığı belirtilmiştir. 150 μ M melatonin uygulaması yaprak alanı, yaprak oransal su içeriği, klorofil b ve protein içeriğinde önemli iyileştirmeler ortaya çıkardığı bildirilmiştir. Çalışma sonucunda 150 μ M melatonin uygulamasının lahana fidelerinde sel baskını stresinin olumsuz etkisini azaltmada önemli bir rol üstelendiği kanısına varılmıştır.

Khosravi ve ark. (2023), biberde sel baskını ve kuraklık stresi şartlarında uyguladıkları 500 μ M melatonin uygulamasının etkilerini belirlemeye çalışmışlardır. Melatonin uygulaması bitki yaş ağırlığı ve kök kuru ağırlığı üzerinde önemli artış ortaya koymuştur. Bunun yanı sıra melatonin uygulamalarının fotosentez ve klorofil içeriğine önemli katkılarının olduğu bildirilmiştir. Melatonin uygulaması prolin ve protein içeriğini artırırken, nitrat redüktazı ve amonyum içeriğine katkı sağlamıştır. Araştırmacılar çalışma sonucunda 500 μ M melatonin uygulamasının sel baskını ve

kuraklık stresi şartlarında stresin etkisini azaltmada önemli bir uygulama olduğunu bildirmişlerdir.

Ahmad ve ark. (2022), mısırdaki yaptıkları bir çalışmada, sel baskını stresi şartlarında uyguladıkları melatonin ve potasyum nitrat (KNO_3)'ın bitki gelişimine katkılarını ortaya koymaya çalışmışlardır. Bu amaçla sel baskını stresi şartlarında mısıra $100 \mu\text{M}$ melatonin ve farklı seviyelerde (0.25 , 0.50 ve 0.75 g) KNO_3 uygulamışlardır. Araştırmacılar sel baskını stresi şartlarında uyguladıkları KNO_3 ile melatoninin mısır fidelerinin bitki büyümesini ve biyokimyasal parametrelerini önemli ölçüde iyileştirdiğini bildirmişlerdir. Bununla birlikte, melatoninin KNO_3 muameleleri ile birlikte uygulanması, bitki büyüme özelliklerini, klorofil içeriğini ve net fotosentetik oranını önemli seviyede arttırmıştır. Ayrıca, sel baskını stresi şartlarında KNO_3 uygulamaları ile melatonin, mısır fidelerinin enzimatik aktivitelerini ve çözünür protein içeriğini artırırken, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve malondialdehit (MDA) birikimini önemli ölçüde azaltmış ve piruvat dekarboksilaz ve alkol dehidrojenaz aktivitesini azaltmıştır. Sonuç olarak araştırmacılar $100 \mu\text{M}$ melatonin ve 0.50 g KNO_3 uygulamalarının sel baskını stresi şartlarında mısır fidesinin bitki büyüme özelliklerini, klorofil içeriğini, fotosentetik hızını ve enzimatik aktivitesini önemli ölçüde iyileştiren etkili tedavi olduğunu bildirmişlerdir.

Gu ve ark. (2021), şeftali yetiştiriciliğinde anaç kullanmanın sel baskını stresine karşı olumlu bir etki göstermediğini ve stresin olumsuz etkisini azaltmak için melatonin uygulamalarının etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar, şeftali ağaçlarına sel baskını stresi şartlarında 0 , 100 , 200 ve $400 \mu\text{M}$ melatonin uygulaması yapmışlardır. $200 \mu\text{M}$ melatonin uygulamasının şeftali ağaçlarında sel baskını stresine karşı tolerantlığı artırdığını bildirilmişlerdir. Araştırmada $200 \mu\text{M}$ melatonin uygulamalarının daha yüksek yeşil aksam ve kök oluşturmalarının yanı sıra klorofil içeriğine katkı sağladığını tespit etmişlerdir. Diğer taraftan daha yüksek SOD ve POD aktivitesi ve daha düşük lipid peroksidasyonu, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve etilen seviyeleri elde etmişlerdir.

Cao ve ark. (2023), elmada sel baskını stresi şartlarında uyguladıkları melatonin ve dopaminin etkilerini araştırmayı hedeflemişlerdir. Araştırmacılar stres şartlarında, melatonin ve dopamin uygulamalarının, antioksidan enzim sistemini güçlendirdiğini ve bitkilerde reaktif oksijen türlerinin (ROS) seviyelerini azalttığını ortaya koymuşlardır. Bunun yanı sıra melatonin ve dopaminin, N taşınması ile ilgili genlerin ekspresyonunu düzenlediğini bildirmişlerdir. Sonuç olarak sel baskını stresi şartlarında uygulanan melatonin ve dopaminin ROS'u etkili bir şekilde azalttığını, N alımını ve kullanımını

desteklediğini ve spesifik mikrobiyal toplulukları düzenlediğini, böylece elma bitkilerinin büyümesi ve gelişmesi üzerine katkı sağladığını ortaya koymuşlardır.

Wang ve ark. (2021), sel baskını stresi şartlarında uygulanan melatoninin bitki, gelişimi üzerine etkilerinin belirlemeye çalışmışlardır. Sel baskını stresinin soyada büyümeyi yavaşlatmasının yanı sıra hücre ölümlerine neden olduğu ve uygulanan melatoninin ise sel baskını stresine karşı tolerantlılığı desteklediği bildirilmiştir. Sonuç olarak uygulanan melatoninin protein metabolizmasını desteklediği ve bu proteinlerin RNA regülasyonu ve hücre duvarına katkı sağladığını vurgulamışlardır.

Zhang ve ark. (2021), sel baskını stresi şartlarında iki sorgum çeşidinde uyguladıkları melatonin (MT) ve nitrojen (N) uygulamalarının etkilerini araştırmayı hedeflemişlerdir. Çalışma sonucunda uygulanan sel baskını stresinin her iki sorgum çeşidinde büyümeyi ciddi şekilde sınırladığını ve kuru madde birikimini azalttığı bildirmişlerdir. Buna karşın uygulanan MT ve N uygulamalarının sel baskını stresine karşı tolerantlılığı artırdığını öne sürmüşlerdir. Özellikle, MT ve N'nin eksojen olarak yaprağa püskürtülmesi ile klorofil içeriğini arttırdığı, fotosistem II fotokimyasının (Fv/Fm) maksimum kuantum verimini iyileştirdiği ve daha yüksek fotosentez oranlarıyla sonuçlandığı ortaya çıkmıştır. Ek olarak, MT ve N'nin dışarıdan püskürtülmesi, antioksidan enzim aktivitelerini artırarak malondialdehit (MDA) içeriğini önemli ölçüde azaltmıştır. Sonuçlar ayrıca, MT ve N'nin birleşik etkilerinin, tek başına uygulanmasından daha iyi olduğunu, MT ve N'nin eksojen yapraklara püskürtülmesinin sorgum yapraklarının çözünür protein içeriğini önemli ölçüde arttırdığını göstermektedir. Genel olarak, araştırmacılar elde ettikleri sonuçların sorgumda sel baskını stresini hafifletmede MT ve N'nin faydalı roller üstlendiğini ve bunların uygulamalarının tarımsal üretim sırasında sel baskını stresinin olumsuz etkisini azaltmak için önemli bir strateji olduğunu ortaya koymuşlardır.

Zhang ve ark. (2019), melatonin (MT), poliaminler (PA) ve etilenin, çevresel abiyotik streslere yanıt olarak bitki büyüme ve gelişmesinde kilit rol oynadığını öne sürmüşlerdir. Bununla birlikte, sel baskını stresi altında melatoninin poliamin ve etilen metabolizması üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Araştırmada yoncaya on günlük sel baskını stresi şartlarında 100 μ M melatonin uygulaması yapılmıştır. Uygulanan sel baskını stresi bitki büyümesinde, klorofil içeriğinde, fotokimyasal verimde (Fv/Fm) ve net fotosentez oranında (Pn) önemli bir azalmaya neden olurken, ayrıca yaprak elektrolit sızıntısı (EL) ve malondialdehit (MDA) içeriğinin artmasına neden olduğunu ortaya koymuşlardır. Uygulanan melatoninin ise bitkilerdeki hasarı düzenlediği, bitki

büyümesine katkı sağladığı, klorofil içeriğini artırdığı, Fv/Fm ve Pn'deki azalmayı önlediği bildirilmiştir. Sel baskını stresi, yaprak poliaminlerini (Put, Spd, Spm) ve etilen seviyelerini önemli ölçüde arttırmıştır. Artan PA' lar ve etilen seviyelerinin, daha yüksek metabolik enzimler ve gen ifadeleri ile birleştirildiği ortaya konmuştur. Melatonin ile ön tedavi Put, Spd ve Spm seviyelerini daha da arttırırken, sel baskını altında etilen seviyelerinin de düştüğü ve artan PA seviyeleri veya azalan etilen seviyelerinin metabolik enzimler ve gen ifadeleri tarafından düzenlendiği ortaya çıkmıştır. Araştırmacılar sonuç olarak yoncada uygulanan melatoninin sel baskını stresine karşı toleransı artırdığını öne sürmüşlerdir.

Zheng ve ark. (2017), elmada sel baskını stresi şartlarında uyguladıkları melatoninin etkisini araştırmışlardır. Bu amaçla sel baskını stresi uygulanan elma fidanlarına 50, 100 ve 200 μ M melatonin uygulaması yapmışlardır. Araştırmacılar elmada sel baskını stresinin bitki gelişimini kısıtladığı ve yapraktan sprey şeklinde uygulanan melatoninin ise toleransı ciddi ölçüde artırdığını bildirmişlerdir. Melatoninin aerobik solunumu sürdürmek, fotosentezi korumak ve sel baskını stresi şartlarında bitkilerin oksidatif hasarını azaltmak için önemli bir uygulama olduğunu öne sürmüşlerdir.

Aspir'in taze ve yaşlı tohumlarına kuraklık stresi şartlarında 0.1 ve 0.5 μ M melatonin uygulamalarının antioksidan ve biyokimyasal içerik üzerine etkileri araştırılmıştır. Taze tohum uygulamaları, yaşlı tohum uygulamalarına göre daha iyi bir bitki gelişimi göstermesinin yanı sıra lipit peroksidaz içeriğinde önemli azalmalar ortaya koymuştur. Çalışma sonucunda kuraklık stresi şartlarında uygulanan melatoninin antioksidan enzim sistemini aktive ettiğini ve ROS'ların temizlenmesinde önemli bir etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Taze aspir tohumlarında melatonin uygulamalarının kuraklık stresinin olumsuz etkisini azalttığını bildirmişlerdir (Heshmati ve ark., 2021).

Kuraklık stresi şartlarında mısırdaki uygulanan melatoninin etkileri belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışmada 12 günlük kuraklığa maruz bırakılan mısır bitkilerine 50 μ M melatonin sprey şeklinde uygulanmıştır. Çalışma sonucunda kuraklık stresi şartlarında uygulanan melatoninin karbon ve azot metabolizması üzerine olumlu etkilerinin olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar çalışmada bitki transkripsiyonunu incelemişler ve polyubiquitin, PS-II light harvesting complex, ATP synthase subunit, phosphoglycerate kinase, ADP-glucose pyrophosphorylase, Sucrose-phosphate synthase, trehalose-6-phosphate phosphatase, Glutamate synthase GOGAT, glutamic dehydrogenase GDH gibi genelerin ekspresyon profillerini çıkarmışlardır. Bahsedilen

genlerin karbon asimilasyonunda, enerji ve antioksidan savunma mekanizmasında yer aldığı anlaşılmıştır. Tüm bu verilere dayanarak kuraklık stresi şartlarında fotosentez aktivitesinin, şeker biyosentezinin, azot asimilasyonunun ve protein biyosentezinin arttığı belirlenmiştir (Ren ve ark., 2021).

Melatonin uygulamalarının aşılı *Carya cathayensis* bitkilerinde kuraklık stresinin etkilerinin belirlendiği bir çalışmada, bitki gelişimi ve fotosentez aktivitesi gibi parametreler takip edilmeye çalışılmıştır. Çalışma sonucunda stres şartlarında uygulanan melatoninin bitki gelişimi ve fotosentez etkinliğine önemli katkılarının olduğu ortaya konmuştur. Melatonin uygulamalarının antioksidan enzim sistemini desteklemesinin yanı sıra prolin ve toplam şeker içeriğini artırdığı belirlenmiştir. Çalışmalarında antioksidan özelliği gösteren SOD, POD, APX, CAT, PAL ve CHLASE gibi genlerin ekspresyonlarını incelemişler ve kuraklığın etkisi ile ilişkilendirmişlerdir. Sonuç olarak; melatoninin klorofil içeriğini düzenlemesinin yanı sıra diğer bazı hormonlarında düzenlenmesine yardımcı olarak kuraklığın olumsuz etkisinin azaltıldığı bildirilmiştir (Sharma ve ark., 2020).

Kuraklık stresi şartlarında iki kolza çeşidinde uygulanan melatonin ve giberelik asit uygulamalarının etkileri belirlenmeye çalışılmıştır. Yapılan uygulamaların kuraklık stresi şartlarında antioksidan enzimler ve prolin miktarını artırarak daha iyi ROS sistemi ortaya çıkarmıştır. Araştırmacılar bu uygulamalarının yarı kurak ve kısıtlı sulama şartlarında bitki gelişimine önemli katkılar sağladığını bildirmişlerdir (Khan ve ark., 2020).

Kivi fidelerine kuraklık stresi şartlarında uyguladıkları 50, 100 ve 200 μM dozlarındaki melatonin uygulamalarının bitki gelişimi ve fotosentez aktivitelerinin belirlendiği bir çalışmada, 100 μM melatonin uygulamalarının kuraklık stresi şartlarında önemli etkilerinin olduğu bildirilmiştir. Melatonin uygulamalarının kök gelişimini arttırdığı, lipid peroksidaz içeriğini, pigment zararlanmalarını ve membran zararlanmasını azalttığını ortaya koymuşlardır. Diğer taraftan melatonin, fotosentez aktivitesini artırmasının yanı sıra karbondioksit fiksasyonunda sorumlu olan toplam 11 genin (Rubisco, PGK, GAPA, FBA, FBP, TIM, TKT, RPK, SEBP, RPI ve RPE) düzenlemesinde rol aldığı bildirilmiştir. Elde edilen sonuçlarda melatonin uygulamalarının bitki gelişimini desteklediği ve kurağa tolerantlılığı artırdığı belirtilmiştir (Liang ve ark., 2019).

Su ve ark. (2019) çalışmalarında mısır fidelerine su stresi ve melatonin uygulamışlardır. Bu kapsamda hasat ettikleri fidelerde boy, kuru/yaş ağırlık, bağıl su

içeriği, üretilen melatonin miktarı, H_2O_2/O_2^- oranı, antioksidan enzimler, MDA, GSH, fotosentez, klorofil floresan değeri ve protein içeriklerini incelemişlerdir. Elde ettikleri proteinlerin hangi yolaklarda çalıştığını belirledikten sonra bu yolaklar ile ilgili gen ekspresyonlarını da incelemişlerdir. Bu kapsamda fotosistem, şeker metabolizması ve enerji metabolizmasında çalışan 16 adet gen transkripsiyonu incelenmiştir. Sonuç olarak çalışmalarında, melatonin uygulanmış mısır fidelerinin kuraklık stresine verdikleri fizyolojik ve moleküler yanıtlar hakkında daha bütünleşik bir tablo sunmuşlardır.

Kolzaya uygulanan kuraklık stresi sonucunda 500 μ M melatonin uygulamasının antioksidan savunma sistemi, ROS, osmolitler, stoma iletkenliği ve kloroplastlar üzerine etkileri araştırılmıştır. PEG-6000 ile oluşturulan kuraklık stresinin kanola bitkisinde oksidatif hasara neden olarak klorofil içeriği ve bitki gelişimini olumsuz etkilemiştir. Melatonin uygulaması oksidatif zararı azaltarak klorofil içeriğine katkıda bulunmuştur. Yapılan uygulama stoma uzunluğu ve genişliğine olumlu katkı sağlamıştır. Melatonin, antioksidan savunma sistemini teşvik ederek ozmolitlerin artmasına neden olmuştur. Elde edilen sonuçlara göre kanolada tohumlara uygulanan melatoninin kuraklık stresine karşı tolerantlılığı artırdığı ortaya konulmuştur (Khan ve ark., 2019).

Tütünde yapılan bir çalışmada tuzluluk ve kuraklık stresi şartlarında uygulanan 50 μ M melatonin uygulamasının fizyolojik değişimler üzerine etkisini araştırmışlardır. Araştırma sonucunda stres şartlarında klorofil içeriğinde önemli bir azalma elde edilmiştir. Bunun yanı sıra stres bitkilerde karotenoid, prolin, MDA ve POD içeriklerinde artış görülmüştür. Uygulanan melatonin ise pigment, prolin, MDA ve enzim aktivitelerinde bir artış meydana getirmiştir. Araştırmacılar melatonin uygulamasının kuraklık ve tuzluluk stersinin olumsuz etkilerini azalttığını bildirmişlerdir (Kaya ve İnan, 2018).

Yapılan bir çalışmada buğday fidelerine tarla kapasitesine göre uygulanan %60 ve %40 sulama kısıdında 500 μ M melatoninin etkisi araştırılmıştır. Melatonin uygulaması membran zararlanmasının azalmasına ve fotosentez oranını artmasına dolayısıyla buğdayda kuraklığa toleransı arttırmıştır. Melatonin, hidrojen peroksidaz ve süperoksidi azaltmanın yanı sıra, antioksidan içeriğini, GSH ve AsA içeriğinde önemli artışlar ortaya koymuştur. Bu artışların sebebini araştırmak için MDHAR 4, APX, DHAR, GST2, GR, GSHS ve GPX1 gibi genlerin ekspresyon verilerini incelemişlerdir. İncelemiş oldukları gen bölgeleri genellikle bitki antioksidan savunma sistemi ile ilişkili olan genlerdir. Çalışma sonucunda uygulanan melatoninin, buğdayda kuraklık stresinin olumsuz etkisini azalttığını bildirmişlerdir (Cui ve ark., 2017).

Hıyarda yapılan bir çalışmada soğuk zararına karşı uygulanan 1, 10, 20, 30, 40 ve 50 μM melatonin uygulamalarının fide kalitesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda bitki gelişim parametreleri ve görsel parametreler sonucunda 40 μM melatonin uygulamasının soğuk zararında önemli rol oynadığı bildirilmiştir (Başlak ve ark., 2021).

Lee (2022), soya fasulyesinde uygulamış olduğu 3 ve 7 günlük sel baskını stresinin olumsuz etkilerini azaltmak için 100 μM SNP, 150 μM L-NAME ve 150 μM cPTIO uygulamaları yapmıştır. Araştırmacı, eksojen nitrik oksit donörü (SNP) uygulamasının bitkilerin büyümesini ve gelişimini, peroksidaz (POD), katalaz (CAT), süperoksit dismutaz ve indirgenmiş glutatyon (GSH) gibi antioksidan enzim aktivitesindeki artışın yanı sıra klorofil içeriğine katkı sağladığını bulmuştur. Bunun yanı sıra NO uygulamalarının H_2O_2 birikimini temizleyerek bitkileri oksidatif hasardan koruduğunu ortaya çıkarmıştır. Araştırmacı, NO uygulamalarının prolin içeriğini desteklemesinin yanı sıra fotosentez ve stoma iletkenliğine katkı sağladığını vurgulamıştır. Çalışma sonucunda NO uygulamalarının bitkilerin su baskını stresine karşı toleransını arttırdığını ve bitki büyümesine katkı sağladığını öne sürmüştür. Sel baskını sırasında SNP'nin veya ilgili NO kaynaklarının potansiyel faydası, ABA biyosentezi üzerindeki antagonistik etkilerinden kaynaklandığı ve bunun da sel baskını toleransına katkı sağladığı vurgulanmıştır.

Mfarrej ve ark. (2022), buğdayda yapmış oldukları bir çalışmada sel baskını stresi şartlarında uyguladıkları nitrik oksit (NO) ve hidrojen sülfür (H_2S)'ün etkilerini araştırmışlardır. Sel baskını stresinin bitki büyümesinde, verimde, klorofilde, çözünebilir şekerlerde ve serbest amino asitlerde gözle görülür bir azalmaya neden olduğu görülmüştür. Ayrıca sel baskını stresi oksidatif hasarın yanı sıra Fe^{+2} ve Mn^{+2} içeriğindeki belirgin artışla birlikte antioksidan enzim aktivitesinin de arttığı belirlenmiştir. Sel baskını stresi prolin içeriğini artırmış ve temel besin elementlerinin alınımını engellemesinin yanı sıra Fe^{+2} ve Mn^{+2} toksisitesine yol açtığı ortaya çıkmıştır. Eksojen NO ve H_2S , oksidatif savunmayı güçlendirerek ve beslenme durumunu düzenleyerek bitkileri aşırı su etkilerinden önemli ölçüde koruduğu görülmüştür. Ayrıca araştırmacılar, eksojen NO'nun koruyucu etkileri H_2S 'nin etkilerine göre daha belirgin olduğunu bildirmişlerdir.

Park ve ark. (2022), sel baskını stresine duyarlı ve tolerant tatlı patatesten etilen (ET), reaktif oksijen türleri (ROS) ve nitrik oksit (NO) metabolizmasıyla ilgili sel baskınına karşı tolerantlığı sağlayan genleri taramışlardır. Çalışma sonucunda düşük

oksijen sinyallemede rol oynayan ERFVII genlerinin ekspresyonu, sel stresi tedavileri sırasında yapraklarda olumlu gelişim göstermiştir. NO biyosentezi ve temizlemede rol oynayan genlerin ekspresyonu da toleranslı çeşitte tolerantlığı artırıcı etken olmuştur. Sonuç olarak, NO temizlemeyle ilgili MDHAR ifadeleri ve enzimatik aktivite, sele tolerant çeşitte sele duyarlı çeşitten daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar tatlı patatesten ET, ROS ve NO regülasyonunda yer alan genlerin sel baskını stresine karşı tepki mekanizmalarında önemli bir rol oynadığını göstermektedir.

Khan ve ark. (2019), soya fasulyesinde 3 ve 6 günlük sel baskını stres şartlarında biyokimyasal değişiklikleri incelemişlerdir. Çalışma sonucunda, soya fasulyesinde kısa süreli sel baskını sırasında glutatyon aktivitesini indüklediğini ve ortaya çıkan süperoksit anyon içeriğini azalttığını bulmuşlardır. Uygulanan NO'nun, soya fasulyesinde absisik asit (ABA) içeriğinin yükselmesine neden olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar sel baskını stres şartlarında uygulanan NO'nun biyokimyasal değişimlere neden olarak bir savunma mekanizması ortaya koyabileceğini açıklamışlardır.

Jaiswal ve Srivastava (2018), sel baskını stresine duyarlı ve tolerant iki mısır genotipinde uyguladıkları 50, 500 ve 2000 $\mu\text{mol/L}$ NO'nun ROS ve antioksidanlar üzerine etkilerini incelemişlerdir. Sel baskını stres şartlarında CAT, SOD, PO, APX ve ADH'nin önemli seviyede arttığını ortaya koymuşlardır. Çalışma sonucunda 500 ve 2000 $\mu\text{mol/L}$ NO uygulamalarının sel baskını stresinin olumsuz etkisini azaltmada önemli bir rol oynadığı kanısına varılmıştır.

Chen ve ark. (2016), Suaeda salsa bitkilerine sel baskını stres şartlarındaki NO donörü sodyum nitroprussid (SNP) etkilerini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda uygulanan SNP, sel baskınına maruz kalan *S. Salsa*'da büyüme inhibisyonunu hafifletmiş ve tesadüfi kök oluşumunu, endojen NO seviyelerini ve tesadüfi kök hücre bütünlüğünü arttırdığı ortaya çıkmıştır. SNP tedavisi, adventif köklerde nitrat redüktaz aktivitesini azaltmış ancak nitrik oksit sentaz (NOS) aktivitesini arttırdığı bildirilmiştir. Araştırmacılar bu sonuçlar ışığında *S. Salsa*'da NO'nun tesadüfi kök oluşumunu arttırarak sel baskını toleransına katıldığını ve NO oluşumunun NOS ile ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir.

Jaiswal ve Srivastava (2015), iki farklı mısır çeşidinde sel baskını stres ve uygulanan 50, 500 ve 2000 $\mu\text{mol L}^{-1}$ sodyum nitroprussid (SNP)'in etkisini araştırmışlardır. Sel baskını her iki genotipte de yaprak sayısında, yaprak alanında ve bitkilerin kuru ağırlığında azalmaya neden olmuştur. Sel baskını stres arttıkça stoma

iletkenliği, terleme hızı ve klorofil içeriğinde önemli azalmaların olduğu görölmüştür. Bunun yanı sıra sel baskını stresi şartlarında kök ve sürgünlerindeki azot içeriğinin de önemli ölçüde azaldığı ortaya çıkmıştır. Araştırmacılar sel baskını stresinin olumsuz etkisini azaltmada 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$ SNP uygulamasının önemli katkısı olduğunu bildirmişlerdir. Sonuç olarak SNP uygulamalarının sel baskını stresinin olumsuz etkisini azalttığı fakat uygun doz ve genotiplere göre etkinliğinin değıştiğı tespit edilmiştir.

Fan ve ark. (2014), hıyarda yapmış oldukları bir çalışmada sel baskını stresi şartlarında uyguladıkları NO uygulamalarının bitki gelişimi ve fizyolojik değışimlere etkilerini incelemişlerdir. Sel baskını stresi hıyar fidelerinin gelişimini önemli derecede kısıtlarken, uygulanan SNP'nin önemli katkısının olduğunu bulmuşlardır. Sel baskını ayrıca antioksidan enzimlerin (süperoksit dismutaz (SOD), peroksidaz (POD), katalaz (CAT) ve askorbat peroksidaz (APX)) aktivasyonuna, klorofil içeriğinin azalmasına ve MDA ve proteinin yaprakta birikmesine neden olduğunu ortaya koymuşlardır. Uygulanan SNP'nin antioksidan enzim aktivitelerini daha da güçlendirdiğı ve tüm su tutma dönemi boyunca klorofil ve protein içeriğini koruduğı bulunmuş ve MDA içeriğini azalttığını tespit etmişlerdir. Sonuç olarak NO, bitkileri oksidatif hasardan koruduğı ve yapraklardaki antioksidan enzimleri membran hasarını hafifletmeye yetecek ölçüde aktive ederek büyümeyi desteklediğini savunmuşlardır. Bununla birlikte, eksojen NO'nun stres olmayan koşullar altında hıyar fidelerinin büyümesi ve antioksidan enzim aktiviteleri üzerinde önemli bir etkisi olmadığını vurgulamışlardır.

Sánchez ve ark. (2010) dört farklı soya fasulyesinde yapmış oldukları bir çalışmada, simbiyotik olarak yaşayan *Bradyrhizobium japonicum*'un sel baskını stresi şartlarında soya fasulyesi nodüllerinde NO oluşumuna katkısını araştırmışlardır. Sel baskınına maruz kalan nirK ve norC nodüllerindeki nitrosilhemoglobin (LbNO) seviyeleri diğerk tip nodüllerde gözlemlenenlerden önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur. nirK ve norC nodüllerinin diğerklerine göre çok daha fazla nitrit ve NO biriktirdikleri ortaya çıkmıştır. Sonuç olarak sel baskını stresi şartlarında bakterisidal denitrifikasyon tarafından üretilen NO ve nitritin detoksifikasyonunda önemli bir role sahip olduğu bildirilmiştir.

Yavuz ve ark. (2023) marulda yaptıkları bir çalışmada, eksojen sodyum nitroprussid (SNP, NO donörü) uygulayarak marulun su stresi toleransını arttırmanın yollarını belirlemeye çalışmışlardır. Bu amaçla, dört sulama seviyesinde (%100, %80, %60 ve %40) üç SNP dozu (0, 50 ve 100 μM) uygulaması yapılarak marulda etkileri belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışma sonucunda NO dozlarındaki artış, tam ve kısıtlı

sulama koşullarında marulun su tüketimini kısmen artırmıştır. En yüksek su tüketimi (125.1 mm) ve en yüksek verim (39.1 t/ha), 100 μ M SNP ile tam sulama uygulamasının uygulandığı marul bitkilerinde kaydedilmiştir. SNP, eksik sulama ve tam sulama koşullarında marul verimini ve sulama suyu verimliliğini (IWP) önemli ölçüde artırmıştır. SNP, fotosentezi artırarak klorofil sentezini desteklemiştir. 100 μ M SNP uygulaması, kontrol grubundaki CAT aktivitesini yaklaşık üç kat, peroksidaz (POD) aktivitesini de önemli ölçüde artırdığı bildirilmiştir. Ek olarak yüksek dozda SNP, marul yapraklarındaki membran hasarını azaltmıştır. Bu sonuçlar, su stresi altında eksojen NO'nun klorofil sentezini artırarak fotosentezi iyileştirdiğini, CAT ve POD gibi antioksidan enzimleri aktive ettiğini, marulu oksidatif hasara karşı koruduğunu ve sulama suyu verimliliğini artırdığı araştırmacılar tarafından ortaya konulmuştur.

Biberde kuraklık stresinin etkisi altında meydana gelen bazı metabolik değişikliklerde nitrik oksit (NO) ve antioksidan enzim aktiviteleri arasındaki ilişki belirlenmeye çalışılmıştır. Kontrollü bir ortamda yürütülen çalışmada bitkilere polietilen glikol (PEG 6000) uygulanarak kuraklık stresi oluşturulmuştur. Kuraklık stresi uygulanmadan önce, biber fideleri farklı dozlarda sodyum nitroprusid (SNP) ve karboksi-PTIO (potasyum tuzu) (cPTIO) (SNP 0.01 μ M, SNP 1 μ M, SNP 100 μ M ve SNP 0.01 + cPTIO) ile ön işleme tabi tutulmuştur. Kuraklık uygulamasının 10. gününde bitkilerin büyüme parametreleri; bitki yaş ağırlıkları ve antioksidan enzim aktiviteleri (SOD, CAT ve APX) belirlenmiştir. Çalışma sonucunda bitki büyüme parametreleri açısından, 0.01 ve 1 μ M doz SNP ile ön işleme tabi tutulan bitkilerin hem bitki büyüme hem de antioksidan enzim aktiviteleri, yüksek doz SNP (100 μ M) ve ön işlemsiz PEG uygulamasına göre daha düşük olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmada NO uygulamasının biberde kuraklık stresini azaltıcı etkileri ortaya konulmuştur (Yaşar ve Üzal, 2021).

Bir araştırmada, kuraklık stresine karşı koruyucu bir ajan olarak nitrik oksitin (NO) bitkilerde çeşitli fizyolojik fonksiyonlarda etkileri incelenmiştir. İki bakla çeşidinin (Giza 3 ve El-masria 3) tohumları NO'da (0.1 mM) 8 saat süreyle önceden ıslatılmıştır. Bitkiler, üç farklı sulama seviyesinde (%100, %70 ve %50) yetiştirilmiştir. El-masria 3 çeşidinde kuraklığın zararlı etkisi klorofil a, toplam protein ve çözünür proteinin azalmasına neden olmuştur. Kuraklık stresi sekonder metabolitleri ve fenolik bileşikleri azaltırken, antosiyaninler stres tarafından arttırılmıştır. Ancak eksojen nitrik oksit (0.1 mM NO) uygulamasının, baklanın performansını kuraklığa daha toleranltı olacak şekilde iyileştirebileceği belirtilmiştir (Aldaby ve ark., 2021).

Domateste yapılan başka bir araştırmada, nitrik oksit donörü olan eksojen olarak takviye edilmiş sodyum nitroprussid (SNP), poliamin (PA) ve putresin (PUT)'nin in-vitro koşullarda yetiştirilen bitkilerde polietilen glikol (PEG) tarafından uygulanan kuraklık stresinin etkilerini hafifletmedeki etkinliği test edilmiştir. Farklı konsantrasyonlarda (%1, %2, %5, %10 ve %15) PEG uygulamaları sonrasında, etkili kuraklık uygulaması olarak %10 PEG'in seçilmiş ve farklı kombinasyonlarda SNP (100, 150 ve 200 μ M) ve PUT (0.1, 0.3 ve 0.5 mM) konsantrasyonları, hafifletici etkilerinin belirlenmesi için incelenmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, test edilen kombinasyonlar arasında SNP (150 μ M)+PUT (0.3 mM)'nin *S. lycopersicum* fidelerinde kuraklık stresinin etkili bir şekilde azaltılmasına neden olduğunu ortaya koymuştur. SNP ve PUT uygulaması, sürgün ve kök uzunluğu ve bitki taze ağırlığı gibi büyüme parametrelerini iyileştirmiştir. Ayrıca, oransal su içeriği (RWC), klorofil ve prolin içerikleri, kontrole kıyasla önemli ölçüde artmıştır. Yine kontrole kıyasla uygulama yapılan bitkilerde malondialdehit (MDA) ve hidrojen peroksitte (H_2O_2) etkili azalma, antioksidan enzimlerde önemli bir artış ve antioksidan genlerin ve kuraklığa duyarlı genlerin transkripsiyonel seviyesinin artışı gözlenmiştir. Tüm bu sonuçlar, kuraklık stresi koşullarında SNP ve PUT uygulamalarının domateste kuraklık stresinin hafifletilmesinde olumlu bir etkiye sahip olduğunu gösterdiği savunulmuştur (Sundararajan ve ark., 2022).

Örs ve ark. (2021) tarafından farklı NO uygulamalarının, kuraklık koşulları altındaki pazıların besin alımına etkileri incelenmiştir. Nitrik oksit kaynağı olarak kontrolle birlikte beş doz (0, 50, 100, 150 ve 200 μ M) sodyum nitroprussid ile NO çözeltileri hazırlanmıştır. Bu çözeltiler tohumlara veya farklı seviyelerde pazı tohumu ve yaprağına eksojen olarak uygulanmıştır. Çalışmada 3 farklı sulama seviyesinde uygulama yapılmıştır (%100, %67 ve %33). Besin alımı, kuraklık stresi altında büyük ölçüde azalmıştır. Bununla birlikte hem kontrol hem de kuraklık koşullarında NO uygulamalarının besin alımı üzerindeki olumlu etkileri gözlenmiştir. Bitkinin N ve P alımındaki artış özellikle 100 ve 150 μ M dozlarında en önemli seviyelere ulaşmıştır. En yüksek Fe, Cu ve Zn içeriği 150 μ M NO uygulamasından, en yüksek Mn ve B ise 150 μ M ve 200 μ M NO uygulamasından elde edilmiştir. NO kuraklık koşullarında bitkilerin besin elementi alımına etki ettiği belirlenmiştir.

Streslerin zararlı etkilerini en aza indirmek için bitki büyüme düzenleyicileri (PGR'ler), strese eğilimli ortamlarda bitki yaşamını sürdürmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Yapılan bir çalışmada iki farklı kanola (*Brassica napus* L.) çeşidinin,

kısıtlı sulama koşulları altında yaprağa uygulanan iki potansiyel PGR'ye, nitrik oksit (NO) ve 5-aminolevulinik aside (ALA) tepkisi değerlendirilmiştir. Çalışmada 0.02 mM NO ve 0.895 mM ALA uygulanmıştır. Her iki kanola çeşidinin bitkileri kontrol (%100 tarla kapasitesi) ve su kısıdı (%60 tarla kapasitesi) uygulamasına tabi tutulmuştur. Kuraklık stresi büyümeyi, klorofil pigmentlerini, oransal su içeriğini (RWC) ve çözünür proteinleri önemli ölçüde azaltırken, oransal zar geçirgenliğini (RMP), prolin, glisin betain (GB), malondialdehit (MDA), toplam fenolikler ve katalaz (CAT) aktivitelerini artırmıştır. PGR'lerin yaprakтан uygulanması, her iki kanola çeşidinde de RMP, MDA ve POD aktivitesini azaltırken, büyüme, klorofil a, GB, toplam fenolikler, CAT aktivitesi ve toplam çözünür proteinleri iyileştirmiştir. Klorofil b, RWC, hidrojen peroksit (H₂O₂) ve prolin içerikleri gibi diğer fizyo-biyokimyasal özellikler ve ayrıca süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi, PGR'lerin uygulanması nedeniyle etkilenmemiştir. Dolayısıyla, bu çalışmanın sonuçları, NO ve ALA'nın eksojen uygulamasının, oksidatif savunma sistemini yukarı doğru düzenlediğini, lipid peroksidasyonunu en aza indirerek kanola bitkilerinin kuraklık toleransını arttırmak için yararlı olabileceğini ortaya koymuştur (Akram ve ark., 2018).

Nitrik oksit (NO) ve brassinosteroid (24-epibrassinolide, EBL) uygulamasının hem ayrı ayrı hem de kombine olarak domatese uygulanması ile kuraklık koşullarını hafifletici etkileri incelenmiştir. Kuraklık stresi, domateste yaprak sayısı, RWCL, meyve tutumu yüzdesi, ilk meyve tutumuna kadar geçen gün sayısı, salkım sayısı, likopen içeriği, meyve çapı ve meyve verimi üzerinde olumsuz etkiler göstermiştir. Çalışmada NO ve EBL'nin hem ayrı hem de kombine uygulaması, SOD aktivitesini, meyve verimini ve diğer fizyolojik süreçleri artırarak kuraklığın zararlı etkilerini azaltmış ve kuraklık toleransını iyileştirmiştir (Jangid ve Dwivedi, 2017).

Çeltikte kuraklık stresi koşulları altında farklı NO donörlerinin etkisi araştırılmış, 150 µM SNP uygulamasının kuraklık stresine maruz kalan çeltiklerin yaprak su potansiyelinin korunması ve antioksidan kapasitesinin artması, hücrel membranların stabilitesinin artması ve fotosentetik kapasitenin artmasını sağladığı belirlenmiştir (Xiong ve ark., 2012).

Hayat ve ark. (2011), domateste kısıtlı sulama koşullarında NO uygulamasının (1, 10 ve 100 µM) antioksidan kapasitesi, karbonik anhidraz aktivitesi, prolin seviyesi ve fotosentez miktarında artışlar sağladığı ve stres etkisini azalttığını belirtmişlerdir.

Hıyar fidelerine uygulanan NO'nun kuraklık stresinin farklı aşamalarında (5 saat-17 saat) etkisi araştırılmıştır. Stres süresinin erken aşamasında (5 saat) NO, lipoksijenaz

(LOX) aktivitesinde periyodik bir artışa neden olduğu, bu da lipid peroksidasyonunun zamana bağlı olarak artmasıyla ilişkili olduğu belirtilmiştir. Ancak 10 saatten başlayarak şiddetli strese (17 saat) kadar eksojen olarak uygulanan NO, LOX aktivitesini azalttığı, su eksikliğine bağlı membran geçirgenliğini ve lipid peroksidasyonunu hafiflettiği ortaya konulmuştur. Sonuçlar neticesinde NO takviyesinin, doku dehidrasyonunun ilk aşamasında hıyarda etkili mekanizmaları tetikleyerek fidelerinin köklerinde ciddi su eksikliği etkilerinin hafifletilmesine yardımcı olabileceği ifade edilmiştir (Arasimowicz-Jelonek ve ark., 2009).

Melatonin (MT) ve nitrik oksit (NO), abiyotik streslere karşı potansiyel rolleri yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Kuraklık streşiyle mücadelede optimum yararlı MT ve NO konsantrasyonunu belirlenmesi ve daha sonra biyokimyasal ve moleküler seviyelerde tepkileri belirlenmesi amacıyla bir çalışma planlanmıştır. Araştırmacılar ABAR1, ABAR2, TOCI-2, GmGSNOR, GmNR, GmNCED3, GmDREB2A;2, GmMYB174, GmWRKY27, GmNAC29 ve GmbZIP1 gibi genlerin ekspresyonlarını incelemişlerdir. İncelenilen genler arasında DREB, NCED kuraklıkla ilgili klasik genler olmak üzere WRKY ve bZIP gibi bazı transkripsiyon faktörleri de yer almıştır. Çalışma sonuçları, soya fasulyesinde (*Glycine max* L.) eksojen MT ve sodyum nitroprussidin (NO donörü olarak SNP), bitki biyokütlesini, fotosentez verimliliğini ve su içeriğini artırarak ve reaktif oksijen türlerinin birikimini azalttığı, kuraklıkla indüklenen büyüme inhibisyonunu etkisiz hale getirdiğini göstermiştir. MT ve NO uygulamaları, kuraklık sırasında kontrole göre önemli ölçüde daha yüksek antioksidan enzim aktiviteleri aracılığıyla lipid peroksidasyonunu azaltmış ve savunma yanıtlarını iyileştirmiştir (Imran ve ark., 2021).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Proje Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'ne ait cam serada yürütülmüştür. Projede agronomik ölçümler serada alınmıştır. Diğer alınan yaprak örneklerinde ise fizyolojik ve biyokimyasal içeriklerin analizleri için fakülte bünyesinde bulunan ve Bahçe Bitkileri Bölümü'ne ait Doku Kültürü ve Fizyoloji Laboratuvarı kullanılmıştır

3.1. Bitkisel Materyal

Projede bitkisel materyal olarak Syngenta tarım firmasından temin edilen El Lucio F1 ıspanak çeşidi kullanılmıştır. Denemede kullanılan çeşit, koyu yaprak rengine, dik yaprak yapısına ve oval yaprak şekline sahip olup, büyüme gücü yüksektir ve üretici ve tüketiciler tarafından tercih edilen ticari bir çeşittir (Şekil 3.1). Bununla birlikte, denemede kullanılan El Lucio F1 ıspanak çeşidinin sel baskını stresine tolerantlığı bilinmemektedir.



Şekil 3.1 Denemede kullanılan bitkisel materyalden görüntüler (Orjinal)

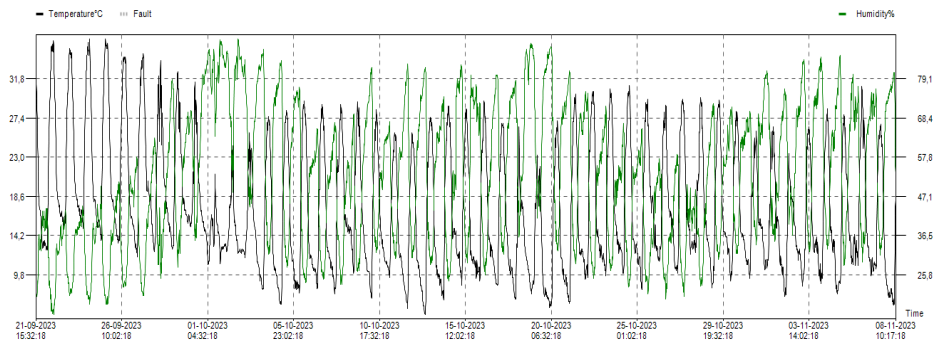
3.2. Toprak Örneklerinin Alınması ve Analiz Yöntemleri

Araştırmada bahçe toprağı kullanılmıştır. Alınan bahçe toprağı elendikten sonra homojen şekilde yığın haline getirilmiş ve yığının beş farklı yerinden karışım yapılarak bazı fiziksel ve kimyasal analizler yapılmıştır. Araştırmada kullanılan toprak killi-tınlı

yapıda olup, organik madde içeriğinin (%2.9) orta seviyede olduğu görülmüştür. Hafif bazık yapıda olan (pH-7.65) bahçe toprağının EC değeri 1.17 dS/m ve kireç içeriği %7.9 olarak bulunmuştur. Besin içeriği yönünden iyi olan bahçe toprağının tarla kapasitesi ve solma noktası nem içerikleri sırası ile %29.2 ve %13.5 olarak bulunmuştur. Yapılan analizler sonunda denemede kullanılan bahçe toprağının ıspanak yetiştiriciliğinde kullanılabileceği kanısına varılmıştır.

3.3. İklim Verilerinin Alınması

Sera içine yerleştirilen portatif sıcaklık ve nem ölçer cihazı ile nem ve sıcaklık değerleri deneme süresi boyunca kayıt altına alınmış ve Şekil 3.2’de sunulmuştur. Söz konusu şekil incelendiğinde, denemenin ilk başlarında sıcaklıklar biraz yüksek seyreitse de ileriki dönemlerde sıcaklıklar düşmüştür. Tohum çıkışından sonra genellikle sıcaklıklar 9-27 °C arasında değişmiştir. İlk tohum ekim dönemlerinde sera içi boş olmasından dolayı nem değerleri düşük seyretilmiştir. Fakat bu dönemlerde saksılar tül ile örtülerek çıkışların engellenmesi önlenmiş ve homojen çıkış elde edilmiştir. Çıkıştan sonraki dönemlerde ise sera içi yaklaşık %30-80 arasında neme sahip olmuştur. Araştırma süresi boyunca iklim değerleri açısından ıspanak yetiştiriciliğinde stres yaratacak bir olumsuzluk görülmemiştir.



Şekil 3.2 Sera içi sıcaklık ve nem değerleri (Orjinal)

3.4. Denemede Kullanılan Saksıların Özellikleri

Denemenin kurulduğu saksıların üst çapı 29 cm, alt çapı, 19 cm ve yüksekliği 24 cm’dir. Kullanılacak olan saksılar doldurulmadan önce drenaj deliklerinin kapatılması

için içine poşet yerleştirilmiştir. Daha sonra hazırlanan bahçe toprağından 10 kg tartılarak saksılara doldurulmuştur. Saksılar doldurulduktan sonra üst kısımda 3-5 cm arasında boşluk kalmasına özen gösterilmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3 Deneme toprağıının hazırlanması ve saksılara doldurulması (Orjinal)

3.5. Denemenin Kurulması ve Uygulamaların Yapılışı

Deneme 21 Eylül 2023 tarihinde saksılara tohum ekimi ile başlamıştır. Tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulan çalışmada, bir tam sulama konusu (S100), bir sel baskını stresi konusu (SB), sel baskını + 50 μM MEL uygulaması (SB+MEL50), sel baskını + 100 μM MEL uygulaması (SB+MEL100), sel baskını + 50 μM NO uygulaması (SB+NO50) ve sel baskını + 100 μM NO uygulaması (SB+NO100) olmak üzere 6 uygulama konusu yer almıştır. Çalışma, 3 tekerrür ve her tekerrürde 3 saksı bulunacak şekilde tasarlanmıştır. Tohum ekimleri her ocağı 2-3 tohum olacak şekilde yapılmış ve daha sonra her saksıda 4 bitki kalacak şekilde seyretme işlemi yapılmıştır. Tohum ekiminden sonra tüm konulara 1 L sulama suyu verilmiştir. Çalışmada tarla kapasitesi nem miktarları dikkate alınarak sulamalar yapılmıştır. Bu amaçla, tanık konu olarak seçilen S100 konusu günlük olarak tartılmış ve bu konudaki faydalı su kapasitesi %30-35'e düştüğünde sulama yapılmış ve her defasında toprak nemi tarla kapasitesine ulaştırılmıştır. Sel baskını stresi uygulanana kadar tüm sulama konularına eşit sulama yapılmış ve toplam sekiz sulama gerçekleştirilmiştir. 30 Ekim 2023 tarihinde stres

uygulanacak konulara sel baskını stresi uygulanmıştır. Sel baskını stresi uygulanan konularda toprak yüzeyinde 2-3 cm su kalacak şekilde uygulama yapılmıştır. Stres uygulanan konularda 10 gün boyunca toprak yüzeyinden yaklaşık 2-3 cm yükseklikte su bulundurulmasına özen gösterilmiştir. Bu süreçte kontrol konusuna (S100) tarla kapasitesi hesabına göre sulamalara devam edilmiştir.

Deneme süresince iki defa MEL ve NO uygulamaları yapılmıştır. İlk uygulama sel stresinin uygulandığı gün (30 Ekim 2023), ikinci uygulama ise sel stresinin yedinci günü (6 Kasım 2023) yapılmıştır. MEL ve NO uygulamaları için hesaplanan dozlar saf suda çözündürüldükten sonra bitki yapraklarına spreyci yöntemiyle bütün bitki kaplanacak şekilde uygulanmıştır (Dadasoglu ve ark., 2022). Çapalama, hastalık ve zararlılar ile mücadele düzenli şekilde yapılmıştır. Aşağıdaki şekillerde deneme süresince serada yapılan bazı işlemler verilmiştir (Şekil 3.4; Şekil 3.5; Şekil 3.6; Şekil 3.7).



Şekil 3.4 Deneme deseninin oluşturulması ve seyreltme yapılışı (Orjinal)



Şekil 3.5 Denemede bazı kültürel işlemlerden görüntü (Orjinal)



Şekil 3.6 Denemede sel baskını konularına stresin uygulanması (Orjinal)



Şekil 3.7 Denemede NO ve MEL dozlarının uygulanışı (Orjinal)

3.6. Hasat

Ispanak bitkileri on günlük sel baskını stresi tamamlandıktan sonra makas ile hasat edilmiştir (Şekil 3.8). Hasat edilen bitkilerde agronomik ölçümler hasat döneminde yapılırken bazı fizyolojik ve biyokimyasal ölçümlerin yapılması için alınan örnekler dolapta (-80 C°) muhafaza altına alınmıştır.



Şekil 3.8 Denemede hasat dönemine gelmiş bitkiler ve hasattan görüntüler (Orjinal)

3.7. Bitkisel Parametrelerinin Belirlenmesi

3.7.1. Yaprak sayısının belirlenmesi

Her tekerrürden beş bitkinin yaprakları sayılarak bitki başına yaprak sayıları belirlenmiştir.

3.7.2. Yaprak alanı

Her parselden beş bitkiden gelişimini tamamlamış yapraklar alınmış, bilgisayar destekli programla fotoğrafı çekilen yaprakların cm^2 cinsinden yaprak alanları belirlenmiştir.

3.7.3. Yaş ve kuru ağırlık ölçümleri

Kökleri ile topraktan sökülen beş bitkinin kökleri topraktan temizlendikten sonra toprak üstü ve toprak altı kısımları tartılarak kayıt altına alınmıştır. Daha sonra bitki sayısına bölünerek yaş ağırlıklar “g” olarak belirlenmiştir. Daha sonra ilk önce laboratuvarında gölgede bir miktar kurutulan örnekler daha sonra 72 °C’lik etüvde 48 saat bekletilmiş ve sabit ağırlığa gelen örneklerin kuru ağırlığı alınmış “g” olarak hesaplanmıştır.

3.7.4. Kök uzunluğu

Her tekerrürden beş bitkinin kökleri söküldükten sonra cm olarak kök uzunlukları belirlenmiştir.

3.8. Fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerin belirlenmesi

3.8.1. Yaprak Oransal Su İçeriği (YOSİ) (%)

Hasattan hemen önce alınan yaşlı yapraklardan YOSİ değerleri belirlenmiştir (Sánchez ve ark., 2004; Demiral ve Türkan, 2005). Yaprak örneklerinin oransal su içeriklerinin belirlenmesi için, taze ağırlıkları alınmış, daha sonra alınan bu yapraklar 4 saat saf su içerisinde bekletilmiş ve bu süre sonunda turgor ağırlıkları saptanmıştır. Ağırlıkları belirlenen yaprak örnekleri 65 °C etüvde 48 saat kurutulduktan sonra kuru ağırlıkları tartılmıştır (Şekil 3.9). Elde edilen taze ve kuru ağırlıklar aşağıdaki formül yardımıyla oranlanarak yaprak oransal su içerikleri (%) hesaplanmıştır.

$$YOSİ(\%) = \frac{(TA - KA)}{(TuA - KA)} \times 100$$

TA: Taze Ağırlık

KA: Kuru Ağırlık

TuA: Turgor Ağırlığı



Şekil 3.9 Ispanak yapraklarında YOSİ'nin belirlenmesi (Orjinal)

3.8.2. Membran geçirgenliği

Membran geçirgenliği için her biri 1 cm² büyüklüğünde 3 yaprak diski alınmış ve cam tüpler içerisinde 3 kez saf sudan geçirilmiştir. Bu işlemin ardından 10 ml su eklenip kapalı viallerde 24 saat 25 °C'de çalkalayıcıda çalkalanmıştır. Hemen ardından EC ölçülerek (C1), aynı örnekler 20 dk 120 °C'de otoklavda bekletildikten sonra 25 °C'ye kadar soğumaları beklenmiş ve sonra yine EC ölçümü yapılmıştır (C2) (Şekil 3.10). Membran geçirgenliği aşağıdaki formülle belirlenmiştir (Lutts ve ark., 1996).

$$\text{Membran geçirgenliği} = (C1 / C2) \times 100$$



Şekil 3.10 Ispanak yapraklarında membran geçirgenliğinin belirlenmesi (Orjinal)

3.8.3. Yapraklardaki pigment içeriğinin belirlenmesi

Uygulamalardan alınan yaprak örneklerinde Lichtenthaler (1987)' in belirlemiş olduğu yöntem uygulanarak spektrofotometre yardımı ile klorofil a, klorofil b ve karotenoid konsantrasyonları belirlenmiştir (Şekil 3.11).



Şekil 3.11 Ispanak yapraklarında pigment içeriğinin belirlenmesi (Orjinal)

3.8.4. Yaprak dokularında Malondialdehit (MDA) miktarının belirlenmesi

Yaprak dokularında membran hasarının son ürünü olan malondialdehit (MDA) miktarı Esterbauer ve Cheeseman (1990)'ın metoduna göre belirlenmiştir. Bitkilerden alınan 0.1 g yaprak örneği 4 ml %0.1 trikloroasetik asit (TCA) ile 4 °C'de homojenize edilmiştir. Homojenat, 10000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatandan 0.5 ml cam tüpe aktararak üzerine 1 ml TCA-TBA-HCl ajanı ile 0.5 ml olan 0.1 M tris/HCl tamponundan (pH 7.6) eklenmiştir. Reaksiyon karışımı, 97 °C'lik su banyosunda 45 dk reaksiyona sokulduktan sonra tekrar santrifüjlenip spektrofotometrede 532 ve 600 nm dalga boylarında absorbans değerleri okunmuştur (Şekil 3.12). Yaprak dokularındaki MDA miktarı nmol g T.A.⁻¹ olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.12 Ispanak yapraklarında MDA içeriğinin belirlenmesi (Orjinal)

3.8.5. Yaprak dokularında Hidrojen peroksit (H_2O_2) miktarının belirlenmesi

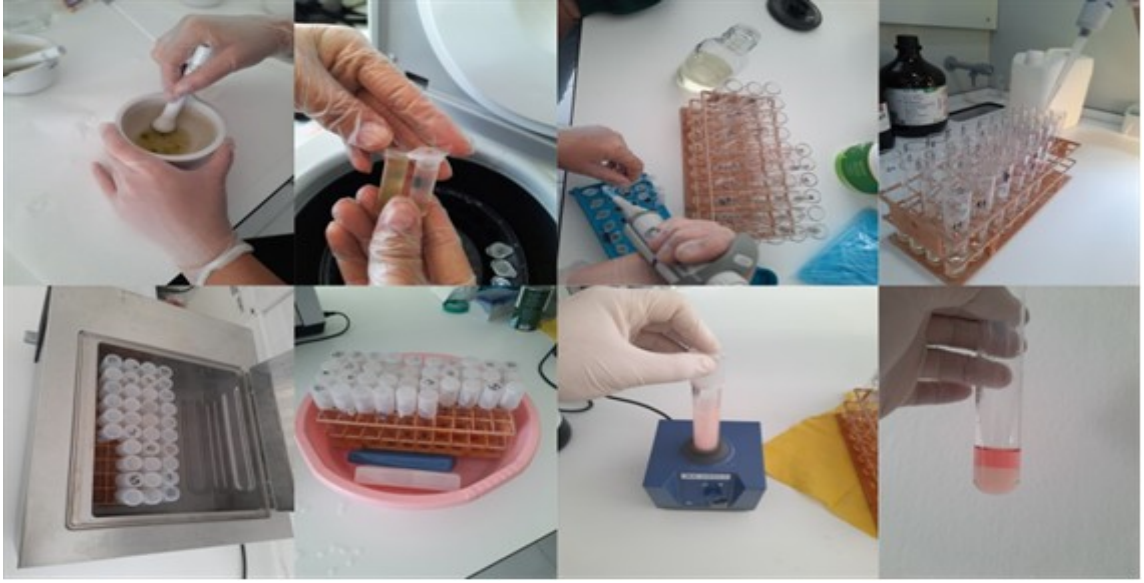
Yaprak dokularında oksidatif stres sonucu oluşan ve bir aktif oksijen türü olan hidrojen peroksit (H_2O_2)'in miktarı Esterbauer ve Cheeseman (1990)' ın metoduna göre belirlenmiştir. Bitkilerden alınan 0.1 g yaprak örneği 4 ml %0.1 trikloroasetik asit (TCA) ile 4 °C'de homojenize edilmiştir. Homojenat, 10000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatanta 0.5 ml cam tüpe aktarılacak üzerine 0.5 ml pH'sı 7.6 olan 0.1 M tris/HCl tamponu ve 1 ml 1 M KI eklenmiştir. Reaksiyon karışımı 90 dk karanlıkta bekletildikten sonra spektrofotometrede 390 nm dalga boyunda absorbans değerleri okunmuştur (Şekil 3.13). Yaprak dokularındaki H_2O_2 $\mu\text{mol g T.A.}^{-1}$ olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.13 Ispanak yapraklarında H_2O_2 içeriğinin belirlenmesi (Orjinal)

3.8.6. Yaprak dokularında prolin miktarının belirlenmesi

Yaprak dokularındaki prolin miktarı Bates ve ark. (1973)'nın metoduna göre belirlenmiştir. Bitkilerden alınan taze yaprak örneği (0.5 gr) 10 ml %3'lük sülfosalisilik asit ile homojenize edilmiştir. Prolin analizi, asit-ninhidrin metoduna göre hazırlanmış ve örneklerin absorbensları spektrofotometrede 520 nm'de okunmuştur (Şekil 3.14). Yaprak dokularındaki prolin miktarı $\mu\text{mol g T.A.}^{-1}$ olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.14 Ispanak yapraklarında prolin içeriğinin belirlenmesi (Orjinal)

3.8.7. Protein içeriğinin belirlenmesi

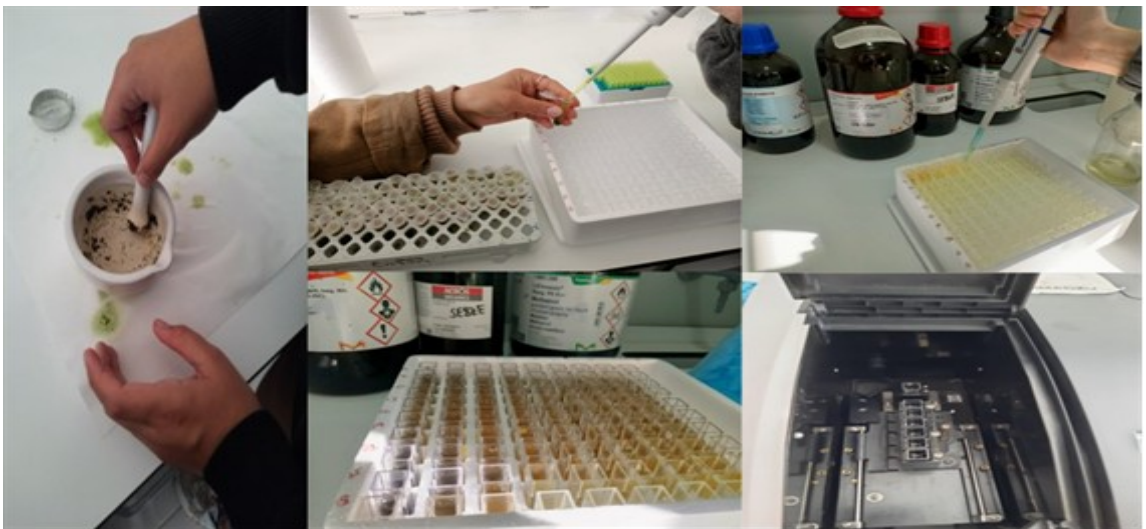
Kontrol ve uygulama grubuna ait bitkilerden alınan yaprak örneklerinin protein konsantrasyonları, Bradford metoduna (Bradford, 1976) göre sığır serum albümini (BSA) standardı kullanılarak belirlenmiştir (Şekil 3.15).



Şekil 3.15 Ispanak yapraklarında protein içeriğinin belirlenmesi (Orjinal)

3.8.8. Katalaz (CAT) aktivitesi

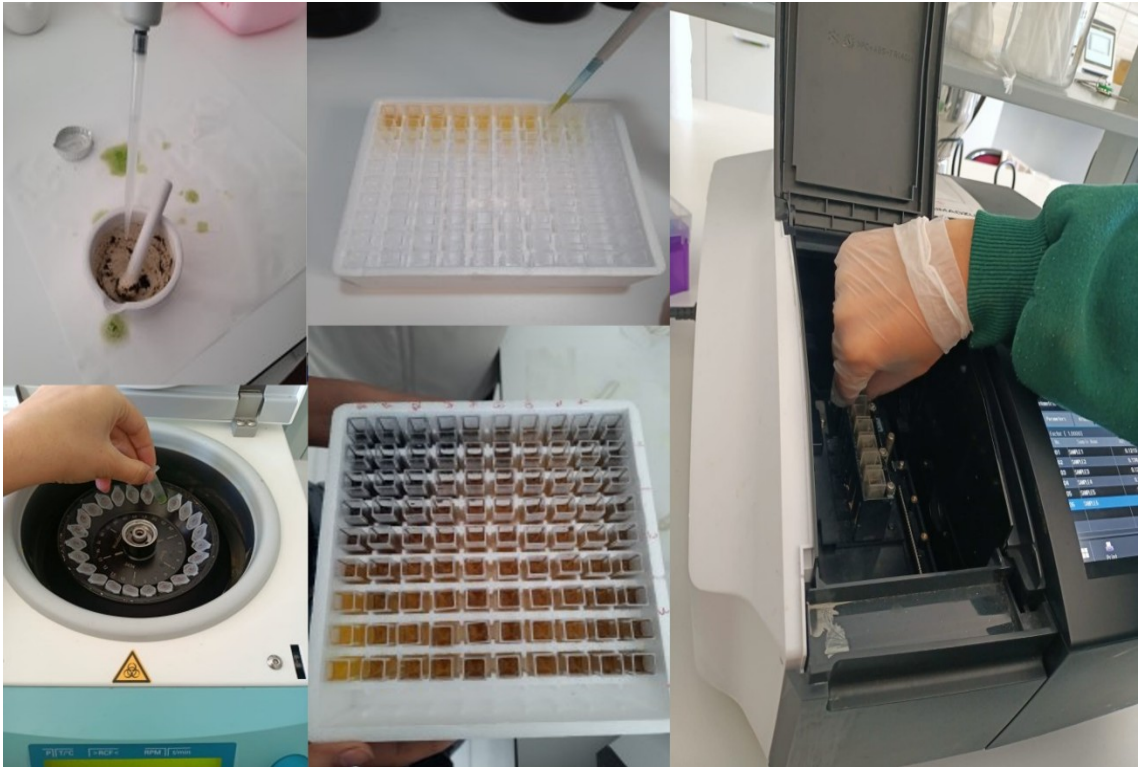
Katalazın aktivite tayini için Havir ve McHale (1987)'nin Lück (1965)' dayandırarak uyguladığı metot kullanılmıştır. Bu metot, katalazın ortamdaki H_2O_2 'nin oksijen ve suya dönüşümünü sağlarken meydana gelen absorbans değişiminin 240 nm'de izlenmesi esasına dayanır (Havir ve McHale, 1987). Önce reaksiyonda azalan H_2O_2 miktarını belirlemek için standart grafik hazırlanmıştır. Standart grafik hazırlamak için, 5 mM H_2O_2 çözeltisinden 3 mL'lik spektrofotometre tüplerine sırasıyla; 0.15, 0.3, 0.45, 0.6, 0.75, 0.9, 1.05, 1.2, 1.35 ve 1.5 mL konularak tüplerin hacimleri saf su ile 1.5 mL'ye tamamlanmış ve her tüpe 1.47 mL 103.5 mM KH_2PO_4 ve 30 μ L su ilave edilmiştir. Küvet spektrofotometreye yerleştirildikten sonra 240 nm'de absorbans köre karşı okunmuş ve absorbans değerlerine karşılık gelen μ M H_2O_2 değerleri kullanarak standart grafik elde edilmiştir. Aktivite ölçümü için 3 mL'lik spektrofotometre küvetine, 103 mM KH_2PO_4 tamponundan 1.475 mL ve 40 mM'lık H_2O_2 substrat çözeltisinden 1.5 mL konulduktan sonra, 25 μ L enzim ekstraktı ilave edilmiştir. Küvet spektrofotometreye yerleştirildikten sonra 240 nm'de 3 dakika boyunca köre karşı absorbansı okunmuştur. Ölçümlerde absorbansın doğrusal olarak azaldığı aralıktan dakika başına absorbans azalması hesaplanmıştır. Bu ortalama absorbans değerleri, standart grafik yardımıyla μ mol cinsinden H_2O_2 miktarına dönüştürülmüştür. 25 °C'de, 1 dakika içinde, absorbansı 1 μ mol azaltan enzim miktarı 1 enzim ünitesi olarak kabul edilmiş ve sonuçlar g yaprak başına düşen enzim ünitesi (EU/g yaprak) olarak belirlenmiştir (Gong ve ark., 2001) (Şekil 3.16).



Şekil 3.16 Ispanak yapraklarında CAT aktivitesinin belirlenmesi (Orjinal)

3.8.9. Süperoksit Dismutaz (SOD) aktivitesinin belirlenmesi

Süperoksit dismutaz (SOD; EC 1.15.1.1) enzim aktivitesi, Nitrobluetetrazolyum'un (NBT) fotokimyasal indirgenmesini esas alan yöntemle göre 560 nm'de spektrofotometrik olarak belirlenmiştir (Beyer Jr ve Fridovich, 1987). Bitkilerden alınan taze yapraklar (0.5 g) sıvı azotta özütlendikten sonra 1.5 ml'lik ekstraksiyon çözeltisi [100 mM K-PO₄ tamponu (pH 7.0), %2'lik PVP (polivinilpirolidon) ve 1mM Na₂ EDTA] ile homojenize edilmiştir. Bu karışım +4 °C'de 14000 rpm'de 20 dakika santrifüjledikten sonra süpernatan kısmından alınan örnek, 50 mM fosfat tamponu (pH 7.8), 9.9 mM L-Metiyonin, 57µM NBT ve %1 Triton X-100 ile karıştırılmış ve reaksiyonu başlatmak için 10µL riboflavin ilave edilmiştir. Karıştırma işleminden sonra tüpler 375 µmol. m⁻².s⁻¹ ışık yoğunluğunda 15 dakika boyunca floresan ışığına maruz bırakılmış ve absorbans değerleri spektrofotometrede 560 nm dalga boyunda köre karşı okunmuştur (Şekil 3.17). Toplam SOD aktivitesi ünite mg protein⁻¹ olarak hesaplanmıştır. Bir enzim ünitesinin aktivitesi, NBT redüksiyonunda %50'lik bir inhibisyon oluşturmak için gereken SOD miktarı olarak tanımlanmıştır.



Şekil 3.17 Ispanak yapraklarında SOD aktivitesinin belirlenmesi (Orjinal)

3.8.10. Peroksidaz (POD) aktivitesinin belirlenmesi

Peroksidaz (POD; EC 1.11.1.7) enzim aktivitesi (Bergmeyer, 1965)'e göre belirlenmiştir. Reaksiyon karışımı 3ml olup 100 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7.0), 20.1 mM guaiakol, 12.3 mM H₂O₂ ve enzim ekstraktı içermektedir. Reaksiyon enzim ekstraktının ilavesiyle başlatılmış ve 10 dakikalık süre içinde izlenmiştir (Şekil 3.18). Toplam POD enzim aktivitesi, guaiakol'ün ekstinksiyon katsayısı (26.6 mM.cm⁻¹, 470 nm) kullanılarak reaksiyon başlangıç hızından (nmol H₂O₂ dak⁻¹.mg protein⁻¹) hesaplanmıştır.



Şekil 3.18. Ispanak yapraklarında POD aktivitesinin belirlenmesi (Orjinal)

3.8.11. Yaprak sıcaklığı

LI-600 florometre cihazı ile gelişimini tamamlamış her uygulamadan beş adet ıspanak yaprağında yaprak sıcaklığı ölçümleri yapılmıştır. LI-600 florometre cihazı ile yapılan ölçümlerden bazı görüntüler Şekil 3.19'da verilmiştir.



Şekil 3.19 Ispanak yapraklarında LI-600 florometre cihazı ile yapılan ölçümlerden görüntüler (Orjinal)

3.8.12. Yaprak renklerinin belirlenmesi

“Chroma meter CR-400” renk ölçer cihazı ile tam sulama ve stres konularındaki ıspanak yapraklarından yaprak renkleri ölçümleri yapılmıştır (Şekil 3.20). Yaprak renkleri L^* , a^* ve b^* olarak kaydedilmiştir.



Şekil 3.20 Ispanak yapraklarında CR-400 renk cihazı ile yapılan ölçümlerden görüntüler (Orjinal)

3.9. İstatistiksel analizler

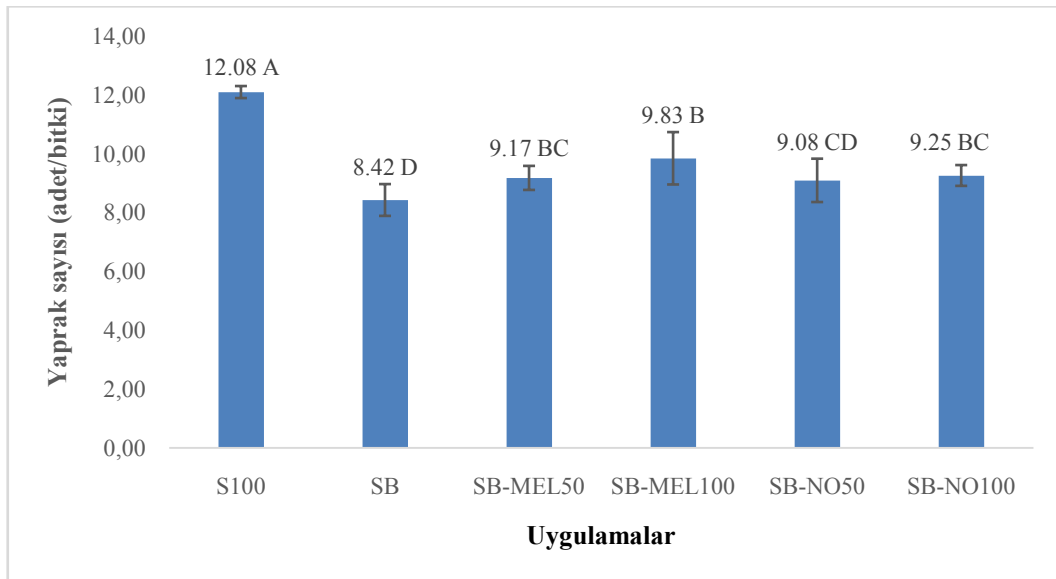
Ispanakta sel baskını ve uygulanan MEL ve NO dozlarına ait agronomik, fizyolojik ve biyokimyasal içerikler JMP-13 istatistik programında analiz edilerek uygulamalar arasındaki önemli farklar %5 önem seviyesine göre gruplara ayrılmış ve yorumlanmıştır. Aynı istatistik programında alınan parametreler temel bileşenler analizine tabi tutularak önemli parametreler ve önemli uygulamalar yorumlanmıştır.



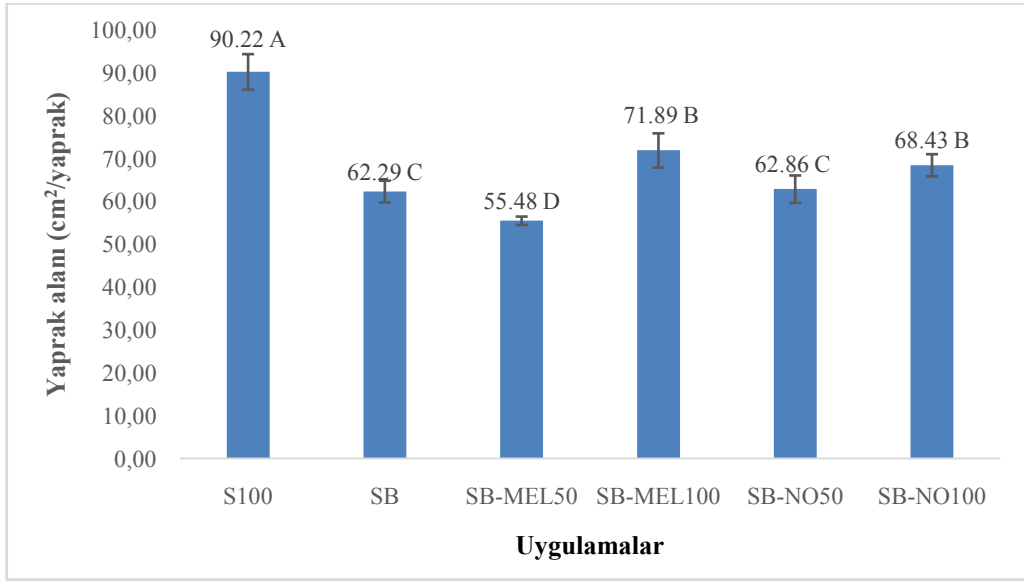
4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. MEL ve NO Uygulamalarının Agronomik Parametrelere Etkisi

Ispanakta uygulanan sel baskını stresi ve bu stresin olumsuz etkisini azaltmak için uygulanan MEL ve NO uygulamalarının agronomik parametrelerde istatistiki olarak anlamlı farklar ortaya çıkmıştır. Tam sulama şartlarında 12.06 adet/bitki yaprak sayısı elde edilirken sel baskını stresi şartlarında yaprak sayısı yaklaşık %30 oranında azalmıştır (Şekil 4.1). Uygulanan biyostimulantların özellikle MEL uygulaması sel baskını stresi şartlarında yaprak sayısına olumlu katkıları olmuş ve en fazla katkı sağlayan uygulama ise SB-MEL100 uygulamasından elde edilmiştir. Benzer şekilde sel baskını stresi ıspanakların yaprak alanlarında önemli kayıplara neden olmuştur (Şekil 4.2). Tam sulama şartlarında 90.22 cm²/yaprak alanı elde edilirken, sel baskını stresi şartlarında 62.29 cm²/yaprak alanı elde edilmiş ve yaklaşık %31'lik bir kayıp ortaya çıkmıştır. Bunun yanı sıra uygulanan MEL ve NO dozlarının sel baskını stresi şartlarında olumlu katkılarının olduğu görülmüştür. MEL100 ve NO100 uygulamaları sel baskını stresi şartlarında yaprak alanına en fazla katkı sağlayan uygulamalar olmuşlardır (Şekil 4.2).

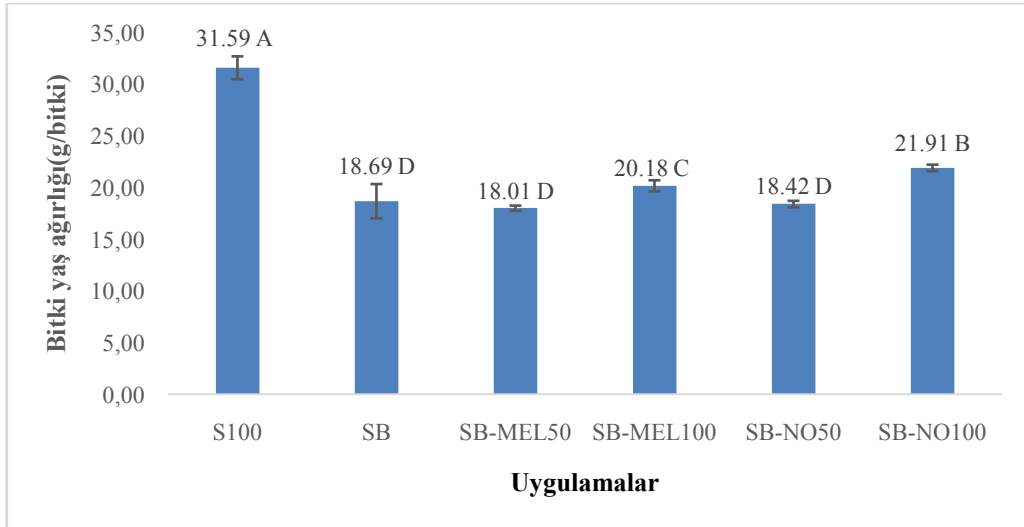


Şekil 4.1 MEL ve NO uygulamalarının yaprak sayısı üzerine etkileri

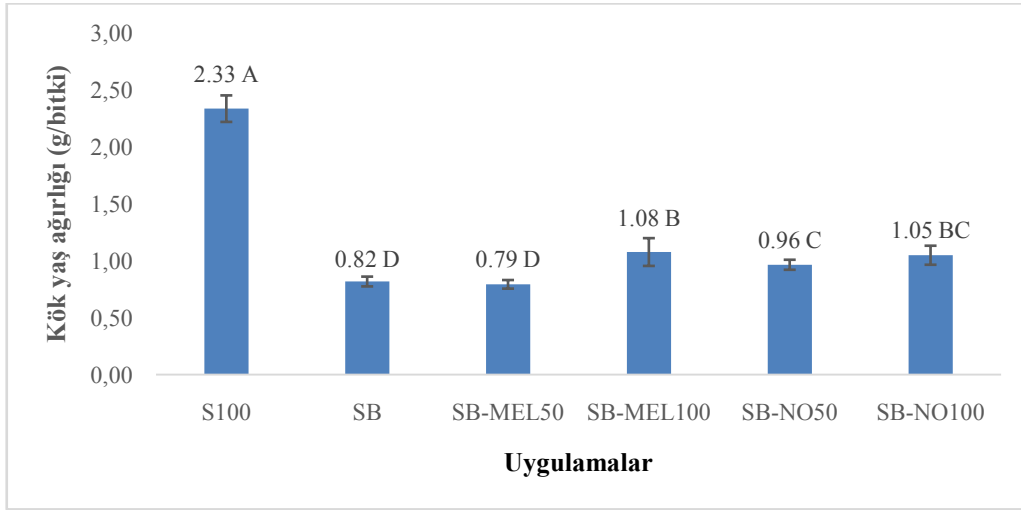


Şekil 4.2 MEL ve NO uygulamalarının yaprak alanı üzerine etkileri

Sel baskını stresi ıspanağın bitki yaş ve kök yaş ağırlığını azaltmıştır (Şekil 4.3 ve 4.4). On günlük sel baskını stresi bitki yaş ağırlığında yaklaşık %41 kayıp ortaya koyarken, kök yaş ağırlığında bu oran artarak %65 olarak bulunmuştur. Sel baskını stresi şartlarında uygulanan NO100 uygulaması bitki yaş ağırlığını SB konusuna göre yaklaşık %17 artırırken MEL100 uygulaması ise yaklaşık %8 artırmıştır. Diğer uygulamaların ise bitki yaş ağırlığına istatistiki anlamda herhangi bir katkısı olmamıştır. Başka bir deyişle MEL ve NO'nun yüksek dozlarının bitki yaş ağırlığına önemli etkileri olmuştur. Kök yaş ağırlığında ise MEL100 uygulaması %31 artış sağlarken, NO100 uygulaması yaklaşık %28 artış ortaya koymuştur (Şekil 4.4).

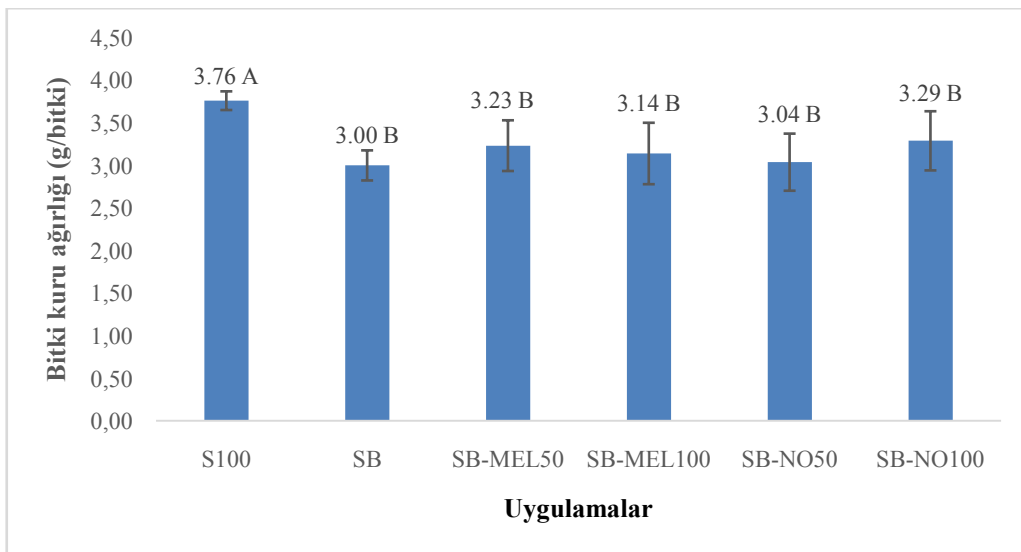


Şekil 4.3 MEL ve NO uygulamalarının bitki yaş ağırlığı üzerine etkileri

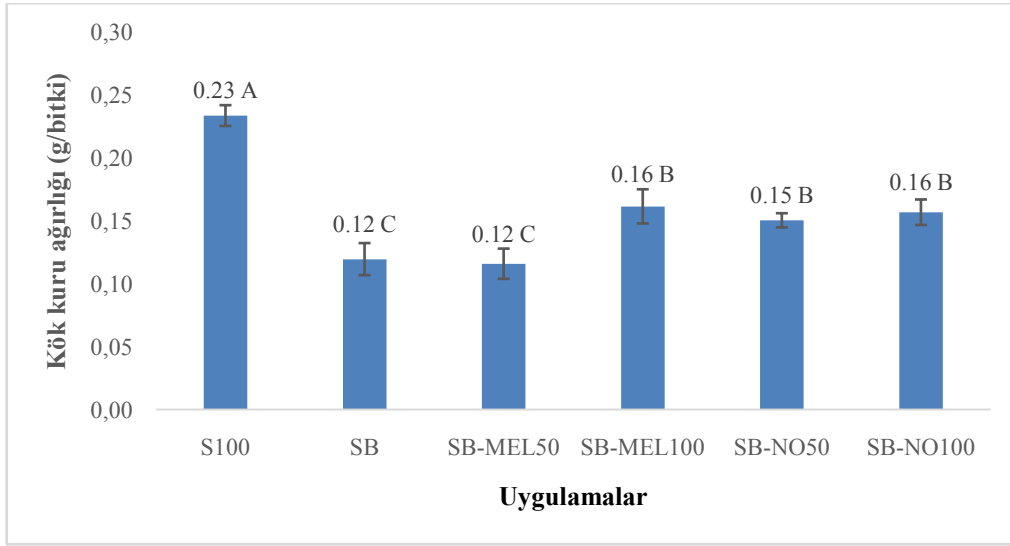


Şekil 4.4 MEL ve NO uygulamalarının kök yaş ağırlığı üzerine etkileri

Ispanakta sel baskını stresi şartlarında bitki kuru ağırlığında önemli kayıpların olduğu görülmüştür (Şekil 4.5). Tam sulama şartlarında 3.76 gr/bitki bitki kuru ağırlığı elde edilirken, sel baskını stresi şartlarında 3.00 gr/bitki bitki kuru ağırlığı elde edilmiştir. Yapılan MEL ve NO uygulamalarının her ne kadar bitki kuru ağırlığına katkı sağladığı görülsede bu katkı istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur (Şekil 4.6). Tam sulama şartlarında 0.23 gr/bitki kök kuru ağırlığı elde edilirken, sel baskını stresi şartlarında %50'ye varan azalışlar kaydedilmiştir. Sel baskını stresi şartlarında uygulanan MEL100, NO50 ve NO100 uygulamalarının kök kuru ağırlığına istatistiki anlamda önemli katkıların olduğu görülmektedir (Şekil 4.6).

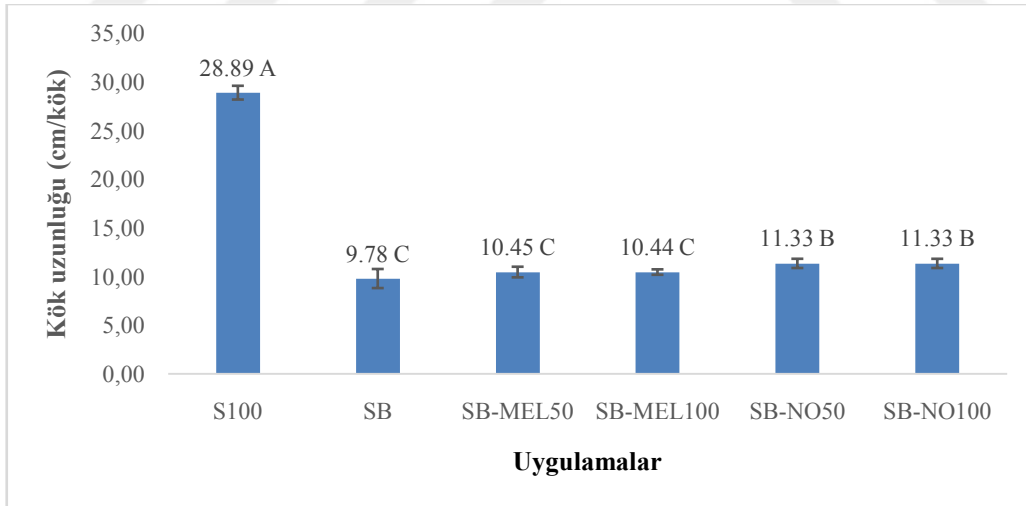


Şekil 4.5 MEL ve NO uygulamalarının bitki kuru ağırlığı üzerine etkileri



Şekil 4.6 MEL ve NO uygulamalarının kök kuru ağırlığı üzerine etkileri

Tam sulama şartlarında ıspanaklardan 28.89 cm kök uzunluğu elde edilirken, stres şartlarında önemli bir kayıp meydana gelerek 9.78 cm'e düşmüştür (Şekil 4.7). Sel baskını stresi şartlarında uygulanan NO dozlarının kök uzunluğuna istatistiki olarak önemli katkılarının olduğu görülmüştür.

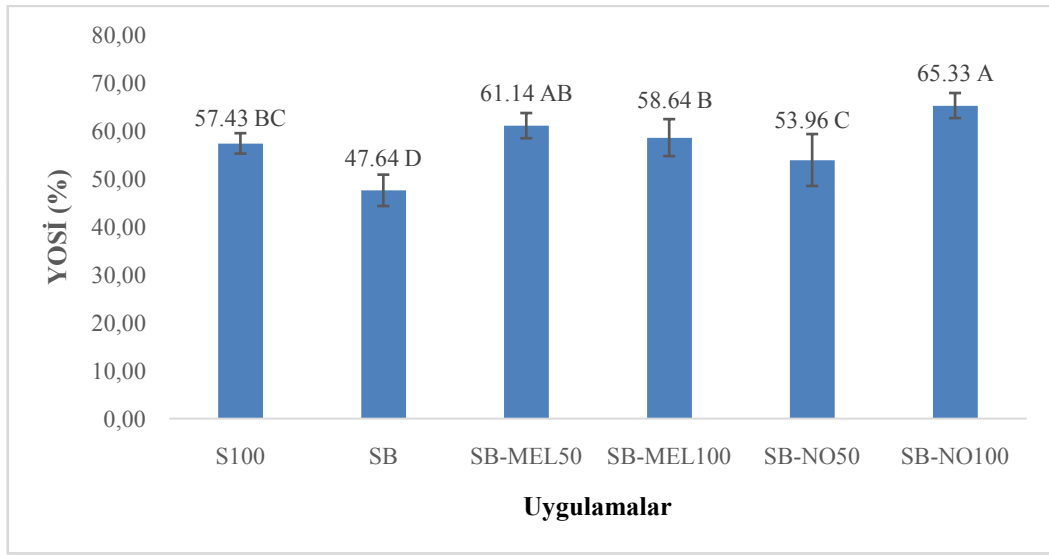


Şekil 4.7 MEL ve NO uygulamalarının kök uzunluğu üzerine etkileri

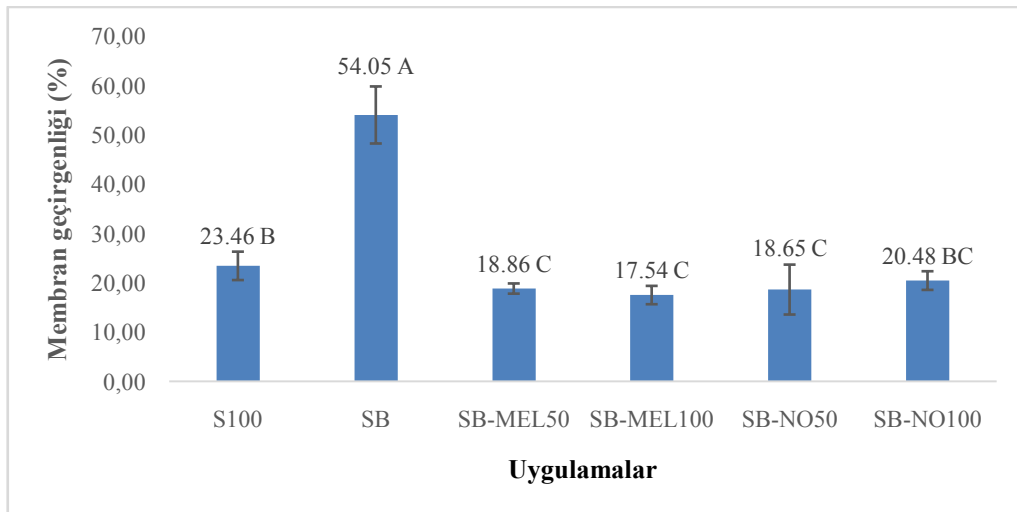
4.2. MEL ve NO Uygulamalarının YOSİ, Membran Geçirgenliği ve Pigment İçeriklerine Etkisi

Sel baskını stresi şartlarında ıspanakta uygulanan MEL ve NO uygulamalarının, YOSİ ve membran geçirgenliği üzerine istatistiki anlamda önemli farklar ortaya

koymuştur. Tam sulama şartlarında %57.43 YOSİ elde edilirken, sel baskını stresi şartlarında %47.64 YOSİ elde edilmiş ve stres yaklaşık %17 azalmaya sebep olmuştur. Uygulanan bütün MEL ve NO dozlarının YOSİ'yi artırmaya katkı sağlamıştır (Şekil 4.8). En yüksek YOSİ NO100 uygulamasından %65.33 olarak elde edilmiştir. Membran geçirgenliği incelendiğinde, sel baskını stresi yaklaşık %130'luk artış ortaya koymuştur. Bütün MEL ve NO uygulamaları ise membran geçirgenliğini önemli oranda azaltmışlardır (Şekil 4.9).

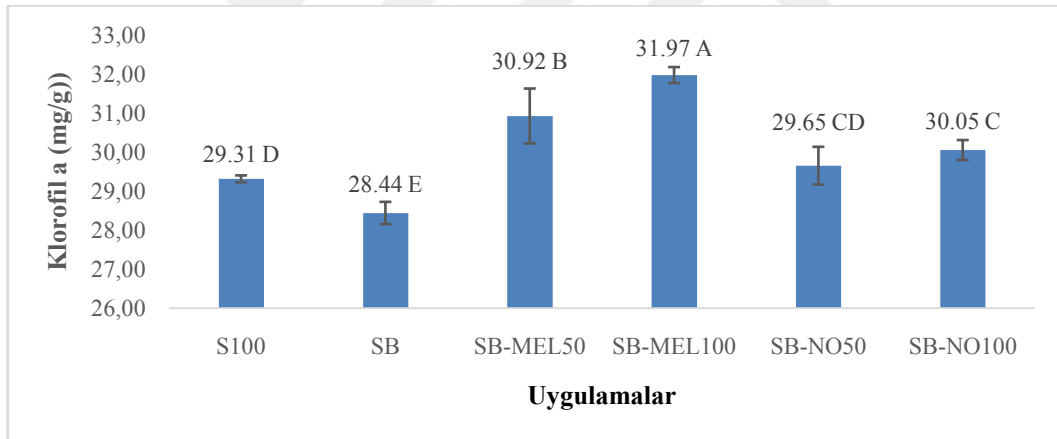


Şekil 4.8 MEL ve NO uygulamalarının YOSİ üzerine etkileri

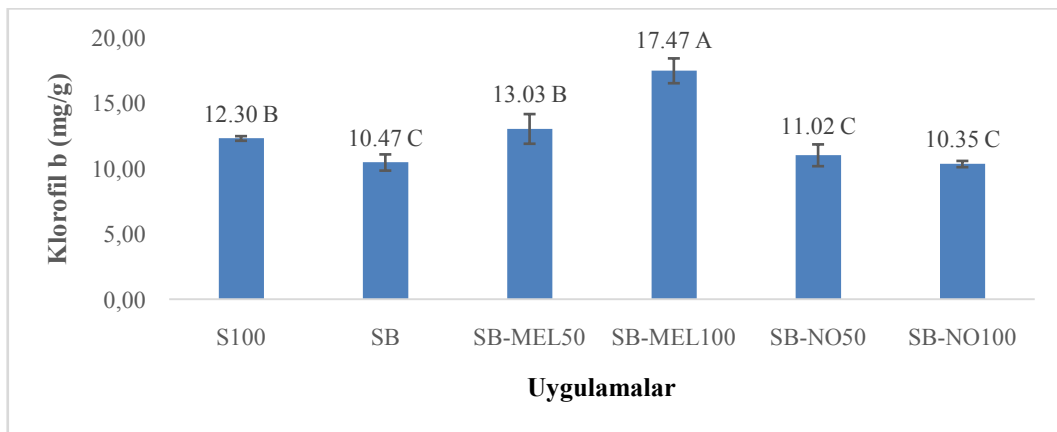


Şekil 4.9 MEL ve NO uygulamalarının membran geçirgenliği üzerine etkileri

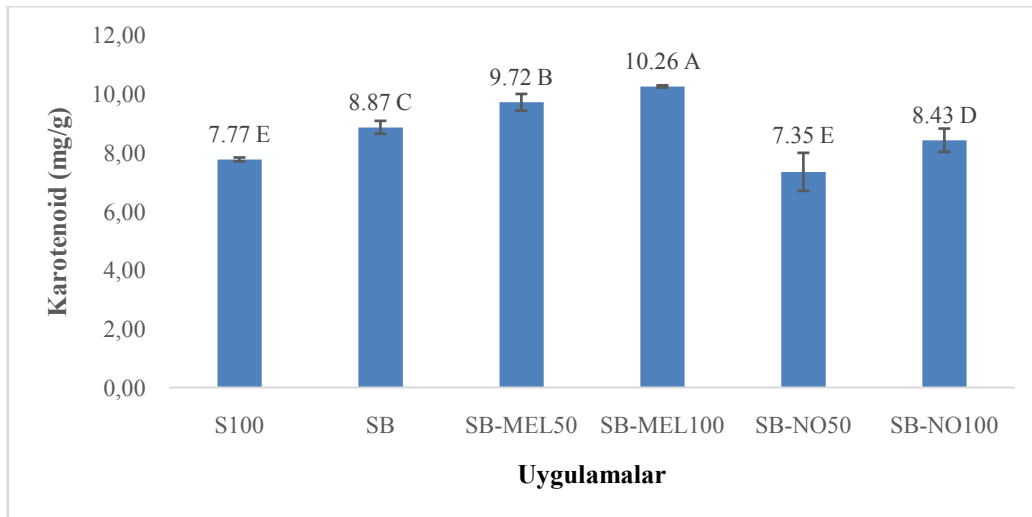
Ispanakta uygulanan sel baskını, MEL ve NO uygulamalarının yapraktaki pigment içeriğinde istatistiki anlamda önemli farklılıklar ortaya koymuştur. Tam sulama şartlarında 29.31 mg/g klorofil a içeriği elde edilirken, sel baskını stresi şartlarında 28.44 mg/g'a düşmüştür (Şekil 4.10). Sel baskını stresi şartlarına göre tüm uygulamalar klorofil a içeriğini önemli seviyelerde artırmıştır. En önemli artışlar ise MEL uygulamalarından elde edilmiştir. En yüksek klorofil a içeriği MEL100 uygulamasından 31.97 mg/g olarak elde edilmiştir. Benzer şekilde sel baskını stresi klorofil b içeriğinde de önemli azalmaya sebep olmuştur (Şekil 4.11). Klorofil a içeriğine benzer olarak stres şartlarında uygulanan MEL dozları klorofil b içeriğine önemli katkı sağlamıştır. MEL100 uygulaması ise tam sulama konusundan da daha yüksek klorofil b içeriğine sahip olmuştur. Karotenoid içerikleri incelendiğinde, sel baskını stresi şartlarında artış görülmüştür. Uygulanan MEL dozları ise karotenoid içeriğini daha da fazla artırmıştır. En yüksek karotenoid içeriği ise 10.26 mg/gr ile MEL100 uygulamasından elde edilmiştir (Şekil 4.12).



Şekil 4.10 MEL ve NO uygulamalarının klorofil-a üzerine etkileri



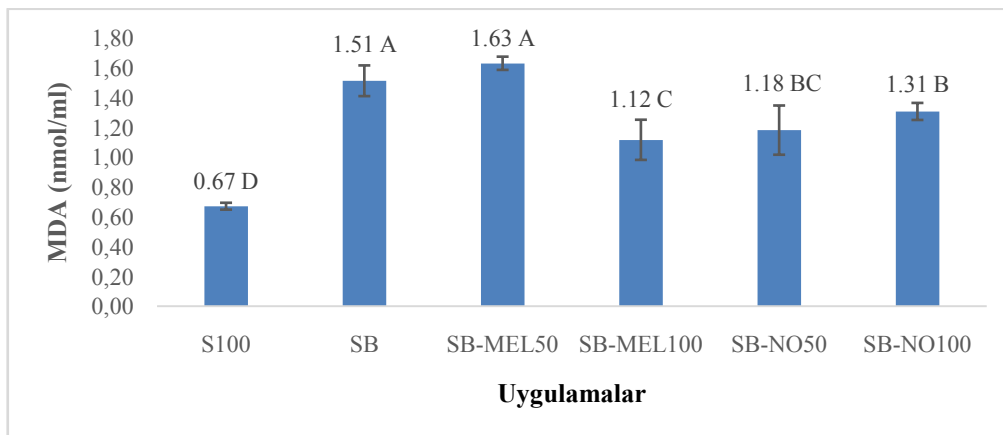
Şekil 4.11 MEL ve NO uygulamalarının klorofil-b üzerine etkileri



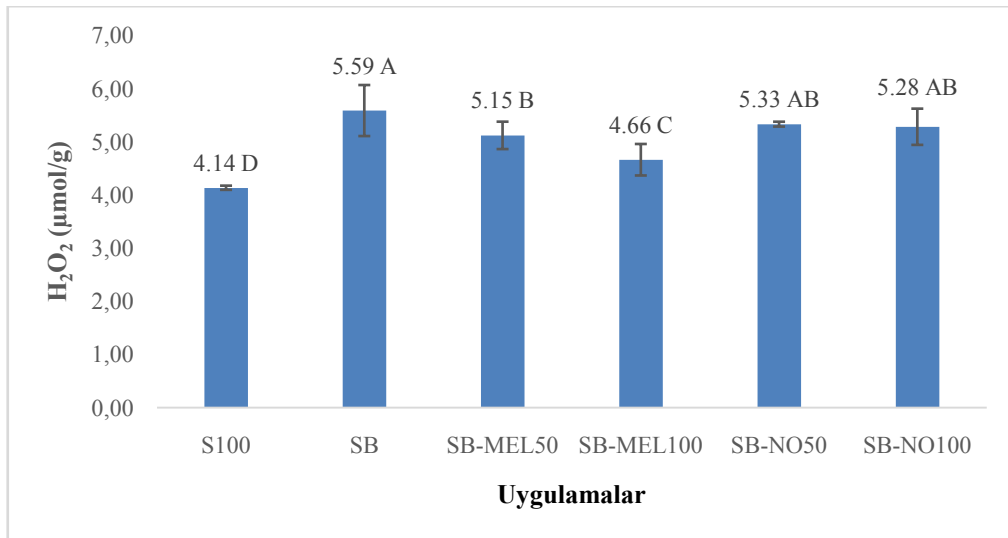
Şekil 4.12 MEL ve NO uygulamalarının karotenoid üzerine etkileri

4.3. MEL ve NO Uygulamalarının MDA, H₂O₂, Prolin ve Protein İçeriklerine Etkisi

Ispanakta on günlük uygulanan sel baskını stresi ve sel baskını stresinin olumsuz etkisini azaltmak için uygulanan MEL ve NO uygulamalarının MDA, H₂O₂, prolin ve protein içeriklerine istatistiki anlamda önemli etkilerinin olduğu görülmüştür. MDA içerikleri incelendiğinde (Şekil 4.13), tam sulama şartlarında 0.67 nmol/ml elde edilen MDA içeriği, sel baskını stresi şartlarında 1.51 nmol/ml elde edilmiş ve yaklaşık olarak %125 artış görülmüştür. MDA içeriğinde ise en fazla azalmayı ortaya koyan uygulamalar MEL100 ve NO50 konularında görülmüştür. H₂O₂ içeriklerine bakıldığında, sel baskını stresi %35 artış ortaya koymuştur. Stres şartlarında uygulanan MEL100 uygulaması H₂O₂ içeriğinde önemli azalma ortaya koymuştur (Şekil 4.14).

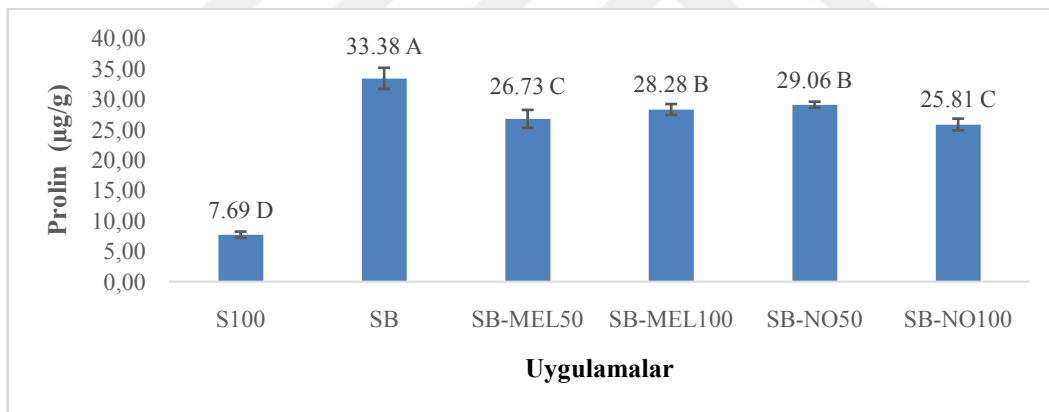


Şekil 4.13 MEL ve NO uygulamalarının MDA üzerine etkileri

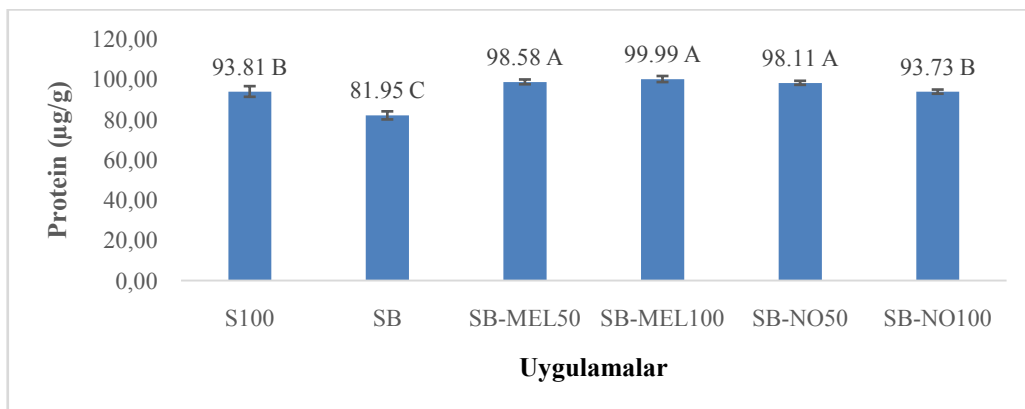


Şekil 4.14 MEL ve NO uygulamalarının H₂O₂ üzerine etkileri

Bu çalışmada sel baskını stresi şartlarında prolin içeriklerinde önemli artışlar kaydedilmiş olup en yüksek prolin içeriği SB konusunda kaydedilmiştir (Şekil 4.15). Buna karşılık ıspanak yapraklarında sel baskını stresi koşullarında ölçülen protein içerikleri 81.95 μg/g ile 99.99 μg/g arasında değişmiştir (Şekil 4.16).



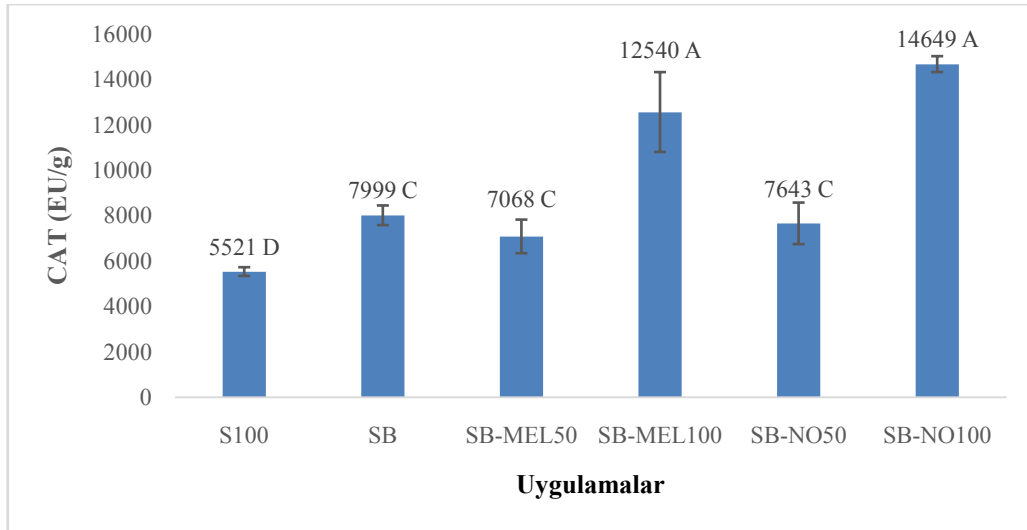
Şekil 4.15 MEL ve NO uygulamalarının prolin üzerine etkileri



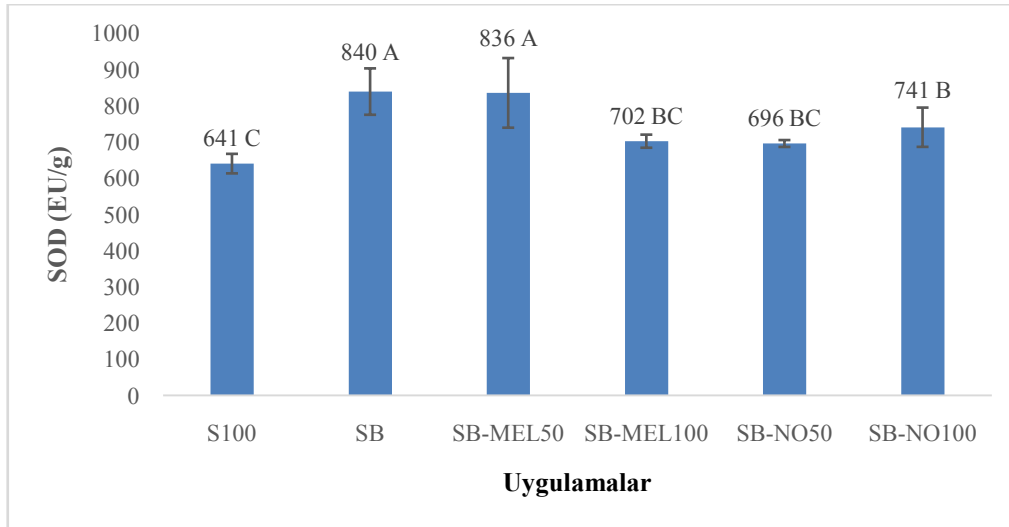
Şekil 4.16 MEL ve NO uygulamalarının protein üzerine etkileri

4.4. MEL ve NO Uygulamalarının Antioksidan Enzim Aktivitelerine Etkisi

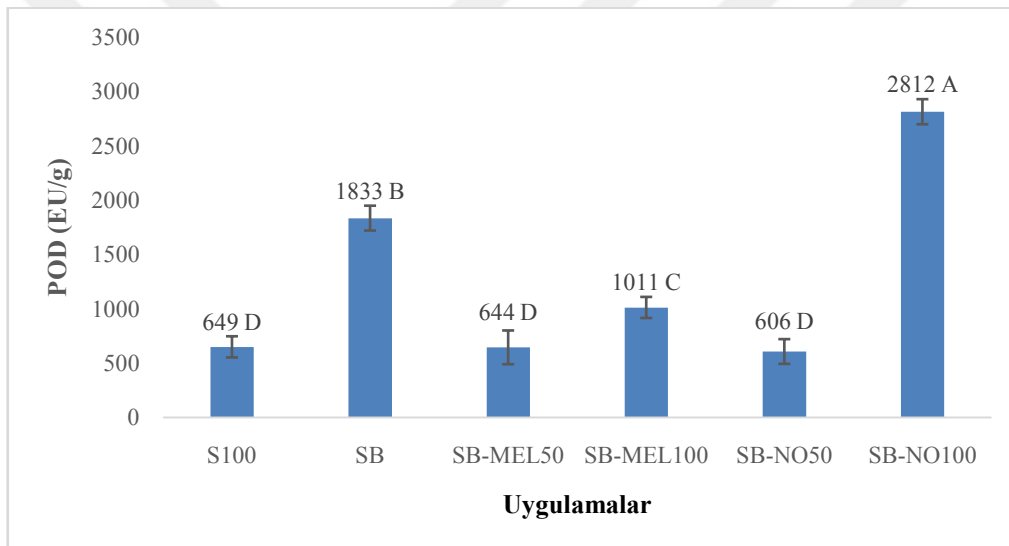
Antioksidanlar stresin olumsuz etkisini azaltmakta önemli etkenlerdir. Ispanakta sel baskını stresi şartlarında uygulanan MEL ve NO uygulamalarının istatistiki anlamda antioksidanlar üzerinde önemli etkilerinin olduğu görülmüştür. Ispanakta sel baskını stresi tam sulama konusuna göre CAT aktivitesini yaklaşık %45 artırmıştır. Bunun yanı sıra sel baskını stresi şartlarında uygulanan MEL100 ve NO100 uygulamaları CAT aktivitesinde önemli artış ortaya koymuştur (Şekil 4.17). Benzer şekilde SOD aktivitesi incelendiğinde, tam sulama şartlarında 641 EU/g elde edilirken, sel baskını stresi şartlarında 840 EU/g elde edilmiş ve yaklaşık %31 artış sağlanmıştır (Şekil 4.18). MEL50, NO50 ve NO100 uygulamaları ise SOD aktivitesinde önemli azalma ortaya koymuşlardır. POD aktiviteleri incelendiğinde, sel baskını stresi şartlarında önemli artış ortaya çıkmıştır. MEL50, MEL100 ve NO50 uygulamaları POD içeriğinde önemli azalmalar ortaya koyarken NO100 uygulaması önemli artış ortaya koymuştur (Şekil 4.19).



Şekil 4.17 MEL ve NO uygulamalarının CAT üzerine etkileri



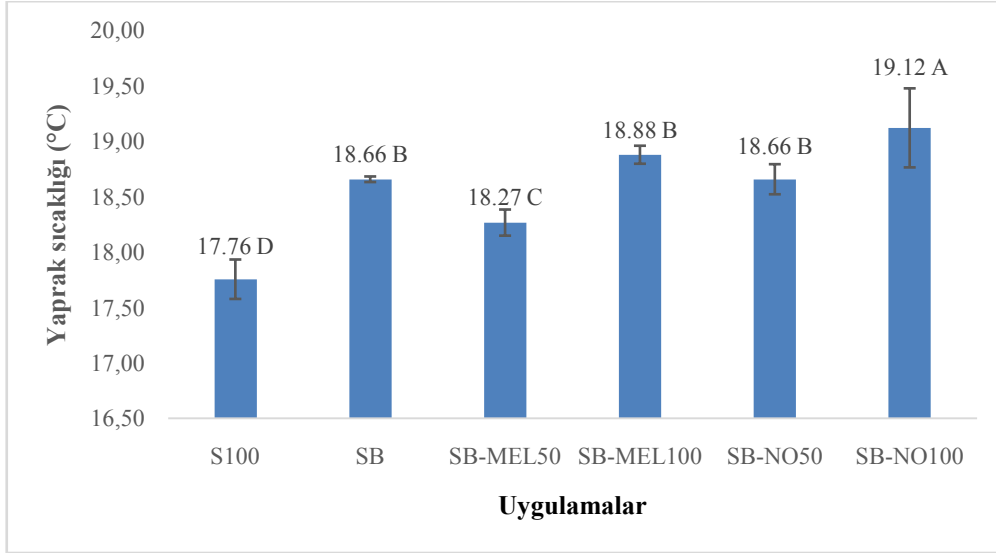
Şekil 4.18 MEL ve NO uygulamalarının SOD üzerine etkileri



Şekil 4.19 MEL ve NO uygulamalarının POD üzerine etkileri

4.5. MEL ve NO Uygulamalarının Yaprak Sıcaklığı Üzerine Etkisi

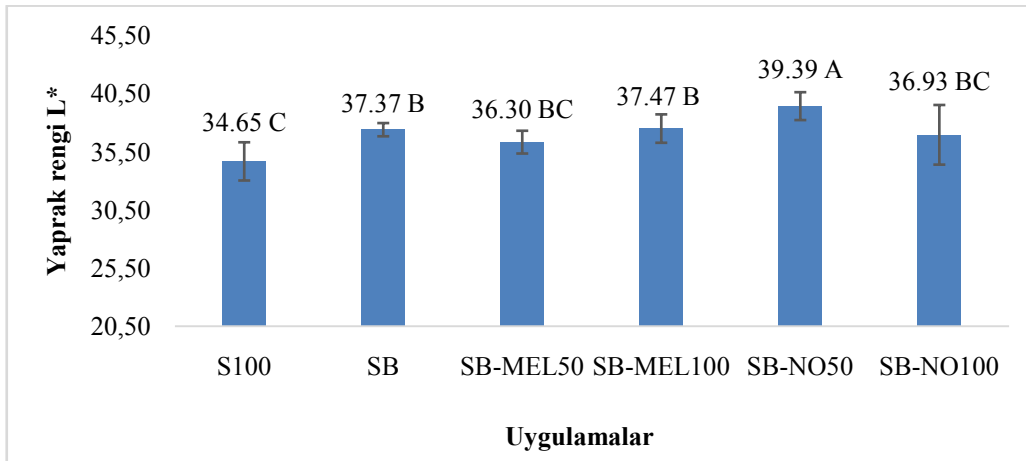
Ispanakta sel baskını stresi şartlarında uygulanan MEL ve NO uygulamalarının yaprak sıcaklığı üzerine etkileri istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur. Tam sulama şartlarında 17.76 °C elde edilen yaprak sıcaklığı stres şartlarında yaklaşık %5 artarak 18.66 °C olarak kaydedilmiştir (Şekil 4.20). Stres şartlarına göre yaprak sıcaklığını azaltan tek uygulama MEL50 uygulaması olmuştur. En yüksek yaprak sıcaklığı ise 19.12 °C ile NO100 uygulamasından elde edilmiştir.



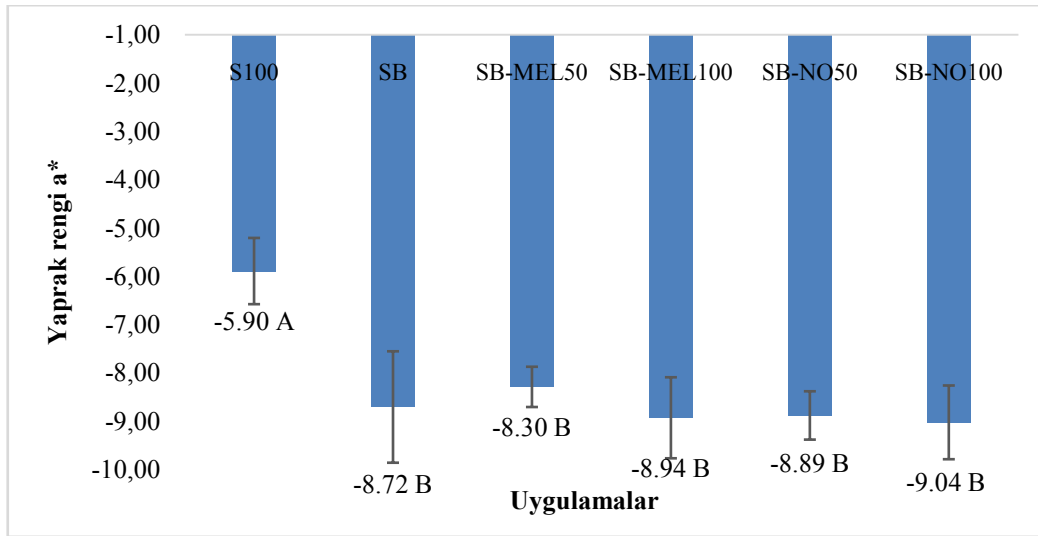
Şekil 4.20 MEL ve NO uygulamalarının yaprak sıcaklığı üzerine etkileri

4.6. MEL ve NO Uygulamalarının Yaprak Rengine Etkisi

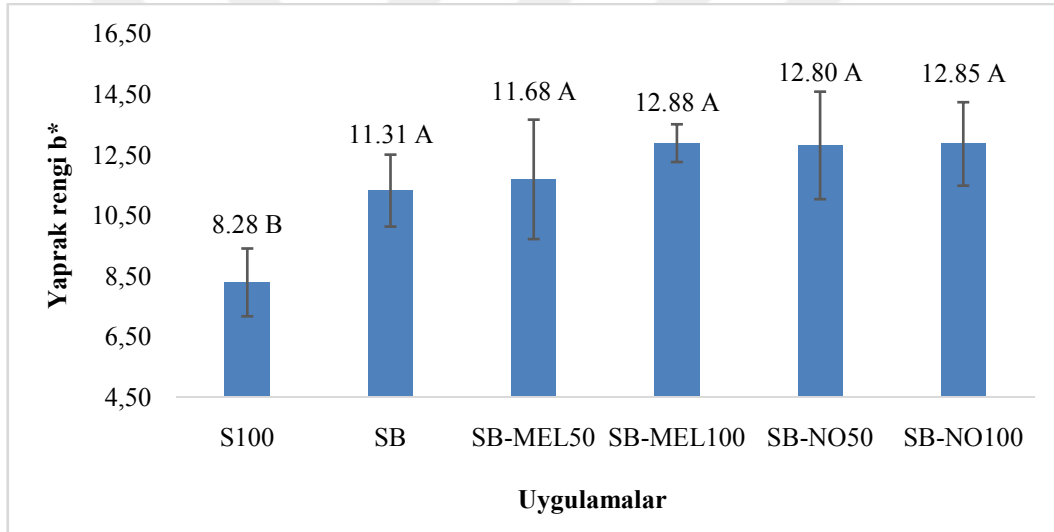
Sel baskını stresi şartlarında ıspanağa uygulanan MEL ve NO dozları ıspanak yapraklarının renk değerleri üzerine istatistiki anlamda önemli farklılıklar ortaya koymuştur. L^* değeri incelendiğinde, tam sulama şartlarına göre stres şartlarında önemli bir artış olduğu görülmüştür (Şekil 4.21). En yüksek artış ise sel baskını stresi şartlarında NO50 uygulamasından elde edilmiştir. Yaprak rengi a^* değerleri incelendiğinde tam sulama şartlarında -5.9 elde edilirken, stres şartlarında -8.72 olarak kaydedilmiştir (Şekil 4.22). Yaprak rengi b^* değerleri incelendiğinde ise, stres şartlarında b^* değerlerinde önemli bir artış görülmüştür. MEL ve NO uygulamaları yaprak rengi b^* değerlerinin sel baskını stresi uygulamasına göre artış gösterse de istatistiki olarak aynı grup içerisinde yer almışlardır (Şekil 4.23).



Şekil 4.21 MEL ve NO uygulamalarının yaprak rengi L üzerine etkileri



Şekil 4.22 MEL ve NO uygulamalarının yaprak rengi a üzerine etkileri



Şekil 4.23 MEL ve NO uygulamalarının yaprak rengi b üzerine etkileri

4.7. Temel Bileşenler Analizi

Ispanakta sel baskını stresi şartlarında uygulanan MEL ve NO uygulamaları sonucu elde edilen bazı agronomik, fizyolojik ve biyokimyasal parametreler temel bileşenler analizine (TBA) tabi tutulmuştur (Tablo 4.1). Tablo incelendiğinde, çalışma beş bileşende %100 açıklanmıştır. En yüksek açıklanan ilk bileşen çalışmanın %57.26'sını açıklamıştır. İlk bileşende YS, YA, BYA, KYA, BKA, KKA, KU, QPSII, GSW ve Fv/Fm parametreleri pozitif yönde en yüksek açıklayan parametreler olmuştur. Yine ilk bileşende MDA, H₂O₂, PL ve SOD negatif yönde en güçlü açıklayan

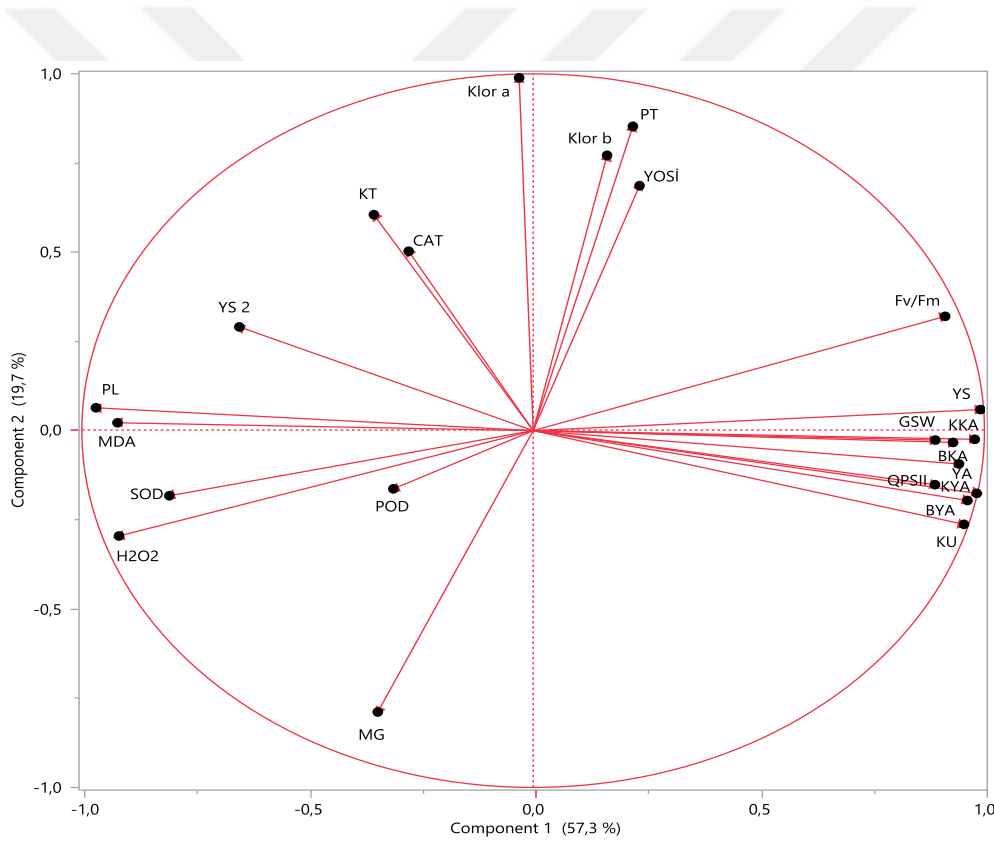
parametreler olmuşlardır. İkinci bileşen incelendiğinde, çalışmanın %19.68'ini açıklamış olup, YOSİ, Klorofil a, Klorofil b, KT, PT ve CAT pozitif yönde MG ise negatif yönde en güçlü açıklayan parametreler olmuşlardır. Üçüncü bileşen incelendiğinde, çalışmanın %11.24'ünü açıklamış olup, YOSİ, CAT, POD ve YSI pozitif yönde en güçlü açıklayan parametreler olmuşlardır. Dördüncü bileşen incelendiğinde, çalışmanın %6,68'ini açıklamış olup, MG, Klorofil b, KT, SOD ve GSW pozitif yönde PT ise negatif yönde en güçlü açıklayan parametreler olmuşlardır. Beşinci ve son bileşen incelendiğinde, çalışmanın %5.12'sini açıklamış olup, BKA, YOSİ, MDA ve SOD pozitif yönde, YSI ise negatif yönde en güçlü açıklayan parametreler olmuşlardır.

Tablo 4.1. Sel baskını stresi şartlarında ıspanakta MEL ve NO uygulamalarından elde edilen agronomik, fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerden elde edilen temel bileşen analiz sonuçları

İtems	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5
Özdeğer	13.16	4.52	2.58	1.53	1.17
Varyans yüzdesi	57.26	19.68	11.24	6.68	5.12
Kümülatif varyans	57.26	76.94	88.18	94.87	100
Özvektörler					
YS	0.273	0.027	-0.057	0.055	0.020
YA	0.259	-0.043	0.118	0.123	-0.187
BYA	0.265	-0.091	0.079	0.087	0.078
KYA	0.270	-0.082	-0.002	0.042	-0.008
BKA	0.256	-0.015	0.020	0.059	0.328
KKA	0.269	-0.011	0.096	-0.055	-0.103
KU	0.263	-0.123	-0.064	0.014	0.086
YOSİ	0.064	0.322	0.242	-0.131	0.499
MG	0.094	-0.370	0.013	0.396	-0.121
Klor a	-0.008	0.464	-0.056	0.085	-0.032
Klor b	0.045	0.362	-0.173	0.331	-0.333
KT	-0.097	0.284	-0.088	0.561	0.051
MDA	-0.253	0.010	-0.052	0.090	0.334
H ₂ O ₂	-0.252	-0.138	0.108	-0.155	0.051
PL	-0.266	0.030	0.035	0.015	-0.213
PT	0.060	0.400	-0.136	-0.337	0.010
CAT	-0.076	0.236	0.501	0.076	-0.097
SOD	-0.222	-0.085	-0.099	0.275	0.384
POD	-0.085	-0.076	0.559	0.150	0.165
QPSII	0.245	-0.071	0.240	-0.094	-0.133
GSW	0.245	-0.012	0.184	0.276	-0.003
YSI	-0.179	0.136	0.400	-0.054	-0.245
Fv/Fm	0.251	0.150	-0.009	0.136	0.173

*istatistik önem seviyeleri $P < 0.05$ ve 0.01 'e göre belirlenmiştir. YS; yaprak sayısı, YA; yaprak alanı, BYA; bitki yaş ağırlığı, KYA; kök yaş ağırlığı, BKA; bitki kuru ağırlığı, KKA; kök kuru ağırlığı, KU; kök uzunluğu, YOSİ; yaprak oransal su içeriği, MG; membran geçirgenliği, Klor a; klorofil a, Klor b; klorofil b, KT; karotenoid, MDA; manoldialdehit, H₂O₂; hidrojen peroksit, PL; prolin, PT; protein, CAT; katalaz, SOD; süperoksit dismutaz, POD; peroksidaz, QPSII; fotosentez kuantum verimliliği, GSW; stoma iletkenliği, YSI; yaprak sıcaklığı, Fv/Fm; klorofil floresansı.

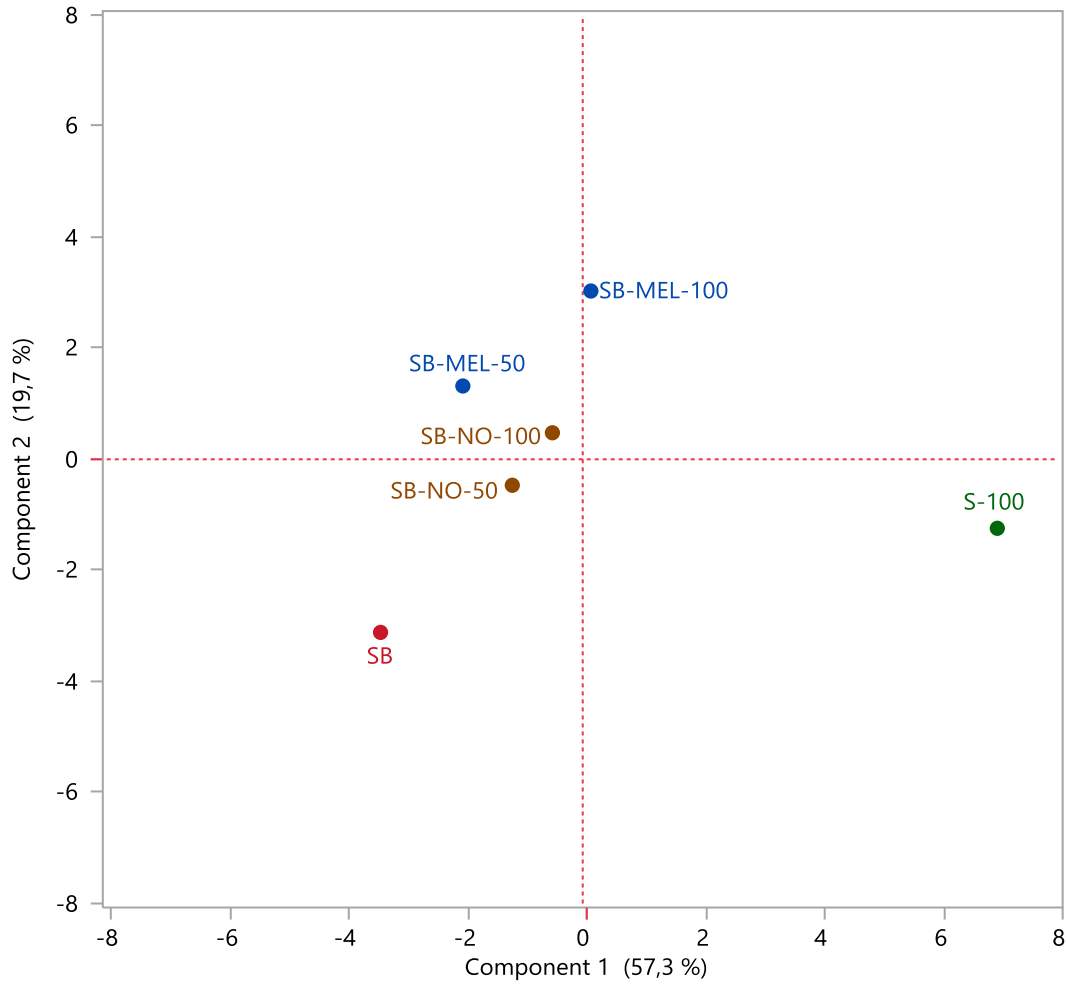
Yapılan TBA sonucunda ortaya çıkan ve çalışmayı en güçlü açıklayan ilk iki bileşenden parametreler arasındaki ilişkileri yorumlamak için yükleme grafiği çizilmiştir (Şekil 4.24). Grafik incelendiğinde, BYA, BKA, KYA; KKA, KU, YA, YS gibi agronomik parametreler ve GSW, QPSII ve Fv/Fm gibi fizyolojik parametreler arasında güçlü pozitif korelasyon görülmüştür. Bu parametrelerin ise stres şartlarında artış gösteren MDA, H2O2, PL, SOD, POD ve YSI parametreleri ile güçlü negatif korelasyon sergilediği görülmüştür. Bu sebeple ilk bileşen stresin etkisini gösteren en güçlü bileşen kanısına varılmıştır. Bunun yanı sıra CAT ve KT arasında güçlü pozitif korelasyon bulunmuştur. Klorofil a, Klorofil b, PT ve YOSİ arasında güçlü pozitif korelasyon görülürken bu parametrelerin MG ise güçlü negatif korelasyon sergilediği görülmüştür.



Şekil 4.24 Sel baskını stresi şartlarında ıspanakta MEL ve NO uygulamalarından elde edilen agronomik, fizyolojik ve biyokimyasal parametreleri sonucu PC1 ve PC2’den çizilen loading plot grafiği.

İspanakta sel baskını stresi sonucu MEL ve NO uygulamalarını yorumlamak için yapılan TBA sonucunda elde edilen ilk iki bileşenden skor plot grafiği çizilmiştir (Şekil 4.25). Grafik incelendiğinde, tam sulama konusu (S100) ilk bileşenin pozitif bölgesinde yer almış olup agronomik ve fizyolojik parametreler açısından en iyi sonuçları veren

uygulama olmuştur. Yine aynı şekilde SB-MEL100 uygulaması birinci komponentin pozitif bölgesinde yer almıştır. Yani sel baskını stresi şartlarında stresin olumsuz etkilerini azaltan uygulama 100 μ M melatonin uygulaması olmuştur. SB uygulaması ise her iki bileşenin negatif bölgesinde yer alan MDA H_2O_2 , prolin, membran geçirgenliği, SOD ve POD gibi enzim aktivitelerinin yüksek olduğu bölgeyi temsil etmiştir. Bunun yanı sıra 100 μ M melatonin uygulaması YOSİ ve pigment içeriğine katkı sağlayan en önemli uygulama olarak ortaya çıkmıştır. 50 μ M melatonin, 50 μ M ve 100 μ M nitrik oksit uygulamaları ise ilk bileşenin negatif bölgesinde yer alarak sel baskını stresinin olumsuz etkisini azaltmada çok fazla katkı sağlamamışlardır.



Şekil 4.25 Sel baskını stresi şartlarında ıspanakta MEL ve NO uygulamalarından elde edilen agronomik, fizyolojik ve biyokimyasal parametreleri sonucu PC1 ve PC2'den çizilen skor plot grafiği

5. TARTIŞMA

Yoğun yağışlar ya da taban suyundaki yükselmeler bitkinin rizosferindeki boşluklarda O₂ miktarını azaltır. Topraktaki O₂'nin azalması ise bitkinin kök sistemine zarar vermektedir. Bitki kök bölgesindeki hava-su dengesinin su lehine bozulması, hipoksi ve anoksi koşulların oluşmasına, kök metabolizmasının yavaşlamasına, ATP üretiminin gerilemesine neden olmakta ve bu durum enerji arzındaki azalmayı beraberinde getirerek besin elementi taşınımını olumsuz etkilemekte ve bitki beslenmesinde sorunlar meydana getirmektedir (Bhatt ve ark., 2015). Farklı türlerde ve tür içindeki farklı genotiplerde sel baskını stresinin etkilerinin farklı olduğu bildirilmiştir (Ezin ve ark., 2010). Yapılan çalışmada ıspanağa uygulanan 10 günlük sel baskını stresi şartlarında bitki gelişiminin önemli derecede olumsuz etkilendiği ortaya çıkmıştır. Agronomik parametreler incelendiğinde, sel baskını stresi yaprak sayısında, yaprak alanında, bitki yaş ağırlığında, kök yaş ağırlığında, bitki kuru ağırlığında, kök kuru ağırlığında ve kök uzunluğunda sırası ile %31, %31, %41, %65, %21, %48 ve %76 azalma meydana getirmiştir. Uygulanan MEL100 ve NO100 dozlarının sel baskını stresinin olumsuz etkisini azaltmada önemli rol oynadığı görülmüştür. Seymen (2021), ıspanakta yapmış olduğu çalışmada sel baskını stresinin bitki gelişim parametrelerinde azalmalara sebep olduğunu ve sekiz günlük sel baskını stresinden sonra bitkilerin stresten daha fazla etkilendiğini bildirmiştir. Benzer şekilde Cao ve ark. (2017) *Salix integra*'da yapmış olduğu çalışmada sel baskını stresinin bitki gelişimini olumsuz etkilediğini ifade etmişlerdir. Domateste farklı genotiplerde yapılan çalışmada ise sel baskını stresinin bitki boyu, yaprak sayısı ve yaprak uzunluğunda önemli azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (Ezin ve ark., 2010). Yapılan çalışmalar incelendiğinde, ıspanakta uygulanan sel baskını stresi toprakta hipoksi koşullarına sebep olarak kök metabolizmasının yavaşlamasına, besin elementi alınımının kısıtlanmasına ve fotosentezin olumsuz etkilenerek bitki gelişiminin kısıtlanmasına sebep olduğu anlaşılmaktadır. Karnabaharda yapılan bir çalışmada uygulanan sel baskını stresinin bitki gelişimini olumsuz etkilediği, uygulanan MEL dozlarının bitki gelişimine katkı sağlasa da istatistiki olarak önemli olmadığı bildirilmiştir (Seymen ve ark., 2023). Lahanada yapılan bir çalışmada ise uygulanan MEL dozlarının sel baskını stresinin olumsuz etkisini azalttığı bildirilmiştir (Can, 2023). Tatlı patateste NO uygulamasının sel baskını stresinin olumsuz etkisini azalttığı bildirilmiştir (Park ve ark., 2022). MEL ve NO uygulamalarının hücrelerde ROS aktivitesini ve birikimini azalttığına yönelik

birçok çalışma bulunmaktadır (Wang ve ark., 2021; Seymen ve ark., 2023; Yavuz ve ark., 2023). Sel baskını stresi şartlarında MEL ve NO uygulamalarının hücrelere zarar veren ROS'ların azaltılmasının yanı sıra antioksidan savunma sistemini teşvik etmesi ve köklerdeki hücre ölümlerini engelleyerek bitki gelişimine katkı sağlamaktadır (Wang ve ark., 2021; Zeng ve ark., 2022; Can, 2023). Elde ettiğimiz sonuçlarda da 100 μ M MEL ve NO uygulamalarının bitki gelişimine önemli katkılarının olduğu görülmüştür.

Ispanakta uygulanan sel baskını stresi YOSİ' de önemli derecede azalma ortaya koyarken, membran geçirgenliğinde artış meydana getirmiştir. Diğer yandan, uygulanan MEL ve NO uygulamaları YOSİ ve membran geçirgenliği üzerine olumlu etkilerde bulunmuştur. Soya fasulyesinde uygulanan sel baskını stresinin membran geçirgenliğini azalttığı bildirilmiştir (Mutava ve ark., 2015). Stres şartlarında YOSİ içeriğinde azalmanın ve membran geçirgenliğinin olumsuz etkilendiği birçok çalışmada bildirilmiştir (Liang ve ark., 2019; Raja ve ark., 2020; Korkmaz ve ark., 2022). Elektrolit sızıntısı membran zararlanmasının ciddi bir göstergesidir ve stres koşullarında artan ROS türleri ile artmaktadır. Stres şartlarında ıspanakta uygulanan 100 μ M MEL uygulamasının membran hasarının önüne geçerek YOSİ'ye katkı sağladığı bildirilmiştir (Seymen ve ark., 2023). Benzer şekilde uygulanan MEL dozlarının karnabaharda sel baskını stresinin YOSİ ve membran geçirgenliği üzerine olumsuz etkisini azaltmıştır (Seymen ve ark., 2023). Bu sonuçlar ışığında uygulanan MEL ve NO dozlarının sel baskını stresi şartlarında ıspanakta hücre yapısındaki hasarı azaltmada önemli rol üstlendikleri görülmüştür.

Uygulanan sel baskını stresi yapraklardaki klorofil a ve b içeriğini önemli seviyede düşürürken, karotenoid içeriğini artırmıştır. MEL dozları başta olmak üzere tüm uygulamalar klorofil içeriklerine olumlu katkı sağlamıştır. Karotenoid içeriğini ise MEL dozları artırırken, NO dozları ise azaltmıştır. Klorofil ve karotenoidler, kloroplastların thylakoid membranında pigment protein kompleksleri olarak bulunan iki önemli fotosentetik pigment türüdür (Bartley ve Scolnik, 1995). Yaprakların yaşlanması ile kloroplastlar parçalanır, klorofil içeriğinde bir azalma olur ve fotosentetik aktivite azalır (Cardini ve Bonzi, 2005). Bazı araştırmacılar, stres şartlarında klorofil a ve b içeriğindeki azalmaların bitkilerin metabolik faaliyetlerdeki bozulmadan kaynaklandığını düşünmektedir (Foyer ve Shigeoka, 2011). Bitkilerin fotosentetik içeriği, stres durumuna duyarlı olan fotosentetik aktivitenin durumunu yansıtmaktadır (Kalaji ve ark., 2016; Kaya ve ark., 2019). Yapılan birçok çalışmada sel baskını stresi şartlarında klorofil içeriğinin olumsuz etkilendiği bildirilmiştir (Jaiswal ve Srivastava,

2015; Seymen, 2021; Khosravi ve ark., 2023; Seymen ve ark., 2023). Diğer taraftan stres şartlarında marulda (Basahi ve ark., 2014; Yavuz ve ark., 2021) ve ıspanakta (Xu ve Leskovar, 2015; Seymen, 2021) karotenoid miktarında artış olduğu bildirilmiştir. Sel baskını stresi şartlarında uygulanan MEL uygulamalarının karnabaharda (Seymen ve ark., 2023), lahanada (Can, 2023) ve mısırdaki (Zhang ve ark., 2021) klorofil içeriklerini artırdığı bildirilmiştir. Diğer taraftan NO uygulamalarının da sel baskını stresi şartlarında hıyarda (Fan ve ark., 2014), domateste (Safavi-Rizi ve ark., 2020), soya fasulyesinde (Imran ve ark., 2021), mısırdaki (Jaiswal ve Srivastava, 2015) ve buğdayda (Mfarrej ve ark., 2022) olumlu katkı sağladığı görülmüştür. Yapılan önceki çalışmalar ve mevcut çalışma sonuçları MEL ve NO'nun stres şartlarında yaprak pigment içeriğine katkı sağladığını ortaya koymaktadır.

İspanakta sel baskını stresi MDA (%125), H_2O_2 (%35) ve prolin (%334) içeriğini artırırken, protein (%13) içeriğinde azalmaya sebep olmuştur. Uygulanan MEL ve NO ise MDA, H_2O_2 ve prolin içeriğini azaltırken, protein içeriğine katkı sağlamıştır. H_2O_2 ve MDA içeriğinin stres koşullarında arttığı birçok araştırmacı tarafından vurgulanmaktadır (Cao ve ark., 2017; Radmann ve ark., 2018; Seymen, 2021). Hıyarda yapılan bir çalışmada sel stresi şartlarında kontrol bitkilerine göre prolin içeriğinde %58.9'luk bir artış olduğu bildirilmiştir (Barickman ve ark., 2019). Farklı abiyotik stres faktörlerine maruz kalan bitkilerin büyümelerinin kısıtlanması ile ilk olarak reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi teşvik edilmekte ve malondialdehit (MDA) birikimi artmaktadır. Bitkiler stres koşullarına çeşitli yanıtlar vermektedir ve endojen olarak üretilen melatonin bu yanıtlardan biridir. Bununla birlikte, stres şartlarında eksojen olarak uygulanmış melatonin, çeşitli türlerde serbest radikal türlerini azaltarak kuraklık stresinin etkilerini hafifletmiş ve fotosentetik mekanizmayı iyileştirmiştir (Szafranska ve ark., 2016; Liu ve ark., 2018; Ahmad ve ark., 2019). Sel stresi şartlarında katlanmış proteinlerin aşırı birikmesi, protein bozulmasını dolayısıyla bitkiyi hücre ölümünden koruduğu ve MEL uygulamaları ile kök hücrelerindeki ölümlerin engellendiğini bildirmişlerdir (Hashimoto ve ark., 2020; Wang ve ark., 2021). MEL uygulamalarının MDA içeriğini azaltarak ROS oluşumunu engellediği ve bitki gelişimine katkı sağladığı vurgulanmıştır (Gholami ve ark., 2022). Zhang ve ark. (2019) yoncada sel stresinin MDA içeriğini artırdığını ve MEL'in ise bu içeriği azalttığını ortaya koymuştur. Prolin, stres şartlarında dokularda bol miktarda bulunan aminoasitlerden biri olup, bitkilerde serbest O_2 radikallerinin detoksifikasyonuna katıldığı bildirilmiştir (Knörzer ve ark., 1999). ROS'un zararlı etkilerini baskılamak için NO uygulamalarının enzimatik ve

enzimatik olmayan antioksidanlar dahil olmak üzere savunma mekanizmaları üzerinde önemli bir sinyal molekülü olduğu bilinmektedir.

SOD, CAT ve POD gibi antioksidan enzimlerin hücrelerde miktarının artmasının bitkilerde strese maruz kaldığının bir göstergesi olmasının yanı sıra ROS'u nötralize etmenin önemli yollarından biridir. Bu antioksidanların salgılanması önemli savunma mekanizmalarından birisi olarak bilinmektedir. Genel olarak, SOD süperoksitin H_2O_2 ve O_2 'ye dönüşümünün katalizlenmesinde, POD reaktif oksijen türlerinin (ROS) tespit edilmesinde, CAT ise ROS'ların temizlenmesinde görev almaktadırlar (Mittler, 2002; Demiral, 2003; Kalefetoğlu ve Ekmekci, 2005). Yapılan birçok çalışmada sel baskını stresinin SOD, CAT ve POD aktivitelerinde bir artışa neden olduğu bildirilmiştir (Sairam ve ark., 2009; Damanik ve ark., 2010; Seymen, 2021). MEL uygulamalarının sel baskını stres şartlarında ROS'u ortadan kaldırma, oksidatif hasarı hafifletme ve tolerantlılığı artırdığı bildirilmiş buna bağlı olarak verim ve kalite kayıplarının önüne geçtiği açıklanmıştır (Chen ve ark., 2016). Lahanada yapılan bir çalışmada, sel baskını stresi şartlarında uygulanan MEL uygulamalarının CAT aktivitesini artırdığı bildirilmiştir (Can, 2023). Sel baskını stresi şartlarında yoncada uygulanan 100 μM MEL uygulamasının antioksidan enzim aktivitesini ve fotosentez aktivitesini artırdığını bildirmişlerdir (Zhang ve ark., 2019). Benzer şekilde elmada uygulanan 200 μM MEL uygulamasının sel baskını stresi şartlarında ROS ve MDA içeriğini azalttığını, antioksidan enzim aktivitesini, klorofil içeriğini ve fotosentez aktivitesinin arttığı bildirilmiştir (Zheng ve ark., 2017). Yaptığımız çalışmada, yapılan çalışmalara benzer olarak, 100 μM MEL uygulaması CAT içeriğinde önemli seviyede artış sağlarken, 50 μM MEL uygulaması SOD aktivitesine katkı sağlayarak oksidatif hasarı hafifletmede önemli katkı sağlamıştır. Ayrıca, eksojen SNP uygulamalarının oksidatif hasarı azalttığı ve sel baskını stresi şartlarında bitkilerde antioksidan enzim aktivitelerini iyileştirdiği gösterilmiştir (Mata ve Lamattina, 2001; Tan ve ark., 2008; Gan ve ark., 2015; Ekinci ve ark., 2020). Hıyarda yapılan bir çalışmada sel baskını stresi şartlarında uygulanan NO'nun SOD, CAT ve POD aktivitelerini önemli derecede artırarak ROS'un temizlenmesinde önemli katkı sağladığı bildirilmiştir (Fan ve ark., 2014). Elde ettiğimiz sonuçlar yapılan çalışmalarla paralellik göstererek, ıspanakta sel baskını stresi şartlarında her iki NO uygulaması (50 μM ve 100 μM) CAT içeriğini artırırken, 100 μM NO uygulaması ise POD içeriğine önemli katkı sağlamıştır.

Sel baskını stresi yaprakta solma, yaralanma ve klorofil parçalanmasından dolayı fotosentezi azalttığı birçok araştırmacı tarafından ortaya koyulmuştur (Shao ve ark.,

2013; Zhang ve ark., 2019). Bu durum stres şartlarında etilenin miktarındaki artışlara bağlanmaktadır (Loreti ve ark., 2016). Sel baskını stresi şartlarında birçok çalışmada etilen miktarının arttığı bildirilmiştir (Chen ve ark., 2002; Najeeb ve ark., 2017). Diğer taraftan, stoma iletkenliği doğrudan bitkilerdeki CO₂ mevcudiyetini ortaya koyan ve CO₂ ile ilişkili olarak da özellikle fotosentezin sürekliliğine etki eden fizyolojik bir parametredir. Stres şartlarında araştırmacıların gözlemlediği ve fikir birliğine vardığı durum stoma iletkenliğinin su kaybını engellemek adına azalmasıdır (Munemasa ve ark., 2015). Bu azalma bir yandan su kaybını engellemek gibi bir fayda sağlarken diğer yandan transpirasyon oranının azalmasıyla yaprak ısının yükselmesi gibi bir dezavantajı da beraberinde getirmektedir. Nitekim, lahanada sel baskını stresi şartlarında uygulanan MEL dozlarının yaprak sıcaklığını düşürerek, stoma iletkenliği artırdığı, QPSII ve Fv/Fm'ye katkı sağladığı bildirilmiştir (Can, 2023). Yoncada yapılan çalışmada sel baskını stresi şartlarında uygulanan MEL uygulamalarının etilen sentezini azalttığı ortaya çıkmıştır (Zhang ve ark., 2019). MEL stres şartlarında stoma fonksiyonlarını düzenlediği (Ahmad ve ark., 2019), QPSII'nin ve tüm fotosentezin verimliliğini artırdığı (Zuo ve ark., 2017) ve karbon asimilasyonuna katkı sağladığı açıklanmıştır (Xu ve ark., 2016). Yaptığımız çalışmada uyguladığımız MEL uygulamalarının fazla su stresine maruz kalan bitkilerde yaprak sıcaklığını düşürdüğü görülmüştür. Buğdayda yapılan bir çalışmada, stres şartlarında 150 µM SNP uygulamasının su kaybını önemli derecede azalttığı bildirilmiştir (Mata ve Lamattina, 2001). Soya fasulyesinde stres koşullarında uygulanan melatonin ve NO uygulamalarının ROS birikimini azalttığı, fotosentetik verimliliği artırdığı ve bitkileri hücrel hasardan koruduğu belirtilmiştir (Imran ve ark., 2021). NO farklı bitki türlerinde stoma fonksiyonlarında etkin rol oynayan önemli bir ikinci habercidir (Shi ve ark., 2015). Bunun yanı sıra ABA sentezi sonucu stoma kapanmasını düzenleyerek bitkiden su kaybını önleyen endojen bir modülatör olarak görev alır (Daszkowska-Golec ve Szarejko, 2013). Özellikle, NR1 tarafından üretilen NO, sinyal molekülü olarak görev alarak ABA'ya bağlı stoma kapanmasını düzenler (Neill ve ark., 2008). Bu sebeple eksojen olarak uygulanan NO bitki türüne bağlı olarak stres şartlarında tolerantlılık sağlamaktadır (Sharma ve ark., 2020).

Bu çalışmada, ispanağa uygulanan sel stresi yaprak L, a ve b değerlerinde önemli değişikliğe neden olmuştur. Genel olarak, "L" değerinin artması parlaklığın fazla olduğunu, "a" değerinin negatif olması yeşil rengin fazla oluşunu, pozitif olarak artışı ise kırmızılık oranının arttığını, "b" değerinin negatif olarak artışı sarı rengin, pozitif arması ise mavi rengin yoğunluğunun arttığını belirtmektedir (Bosland, 1994).

Elde ettiğimiz sonuçlar incelendiğinde, sel baskını stresi ile L^* değeri artarak parlaklığın arttığı görülmüştür. Uygulanan 100 μM MEL ve NO uygulamaları ise L^* değerini azaltmıştır. a^* değeri sel baskını stresi ile daha koyu yeşile doğru dönüşmüş olup, uygulanan MEL ve NO uygulamalarının herhangi bir katkısı olmamıştır. Sel baskını stresi ıspanak yapraklarındaki b^* yaprak değerinde artış ortaya koymuş ve uygulanan MEL ve NO'nun herhangi bir etkisi olmamıştır. Özetle, sel stresi ıspanak yapraklarındaki mavi renk yoğunluğunu artırmıştır.

TBA birçok stres çalışmasında elde edilen parametrelerin ve uygulanan yöntemlerin etkinliğini yorumlamada kullanılan önemli bir analiz metodudur (Seymen ve ark., 2019; Yavuz ve ark., 2020; Seymen, 2021; Kal ve ark., 2023). Mevcut çalışmada, ilk iki bileşenin varyans yüklerinin %75'in üzerinde olması verilerin değerlendirilmesinde TBA'nın etkin sonuçlar ürettiğini ortaya koymaktadır. Toplam varyansın %57.26'sını açıklayan ilk bileşen, sel baskını stresini açıklayan bileşen olarak değerlendirilmiştir. Yapılan birçok stres çalışmasında ilk komponentin uygulanan abiyotik stresi açıkladığı bildirilmiştir (Yavuz ve ark., 2020; Seymen, 2021; Seymen ve ark., 2023; Yavuz ve ark., 2023). Ispanakta yapılan sel baskını stresi çalışmasında büyüme parametreleri arasında pozitif korelasyon olduğu ve aynı bölgede yer alarak kontrol uygulaması ile açıklandığı bildirilmiştir (Seymen, 2021). Çilekte yapılan bir çalışmada ise UDW, SOD ve POD arasında güçlü pozitif ilişki bulunurken bunların H_2O_2 ile güçlü negatif ilişki sergilediği görülmüştür (Mozafari ve ark., 2019). Elde ettiğimiz sonuçlarda tam sulama konusu (S100) ilk bileşenin pozitif bölgesinde yer almış ve agronomik ve fizyolojik parametreler açısından en iyi sonuçları veren uygulama olmuştur. Sel baskını stresinin olumsuz etkisini azaltan en iyi uygulama yöntemi ise 100 μM melatonin uygulaması olmuştur.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

İspanakta on günlük uygulanan sel baskını stresi ve stresin olumsuz etkisini azaltmak için uygulanan MEL ve NO uygulamalarının agronomik, fizyolojik ve biyokimyasal değişimler üzerine istatistiki anlamda önemli etkilerinin olduğu görülmüştür. İspanakta uygulanan sel baskını stresi bazı önemli agronomik parametrelerde azalma ortaya koymasının yanı sıra YOSİ, klorof a ve b, karotenoid, protein ve yaprak rengi a^* üzerinde olumsuz etki meydana getirmiştir. Sel baskını stresi ROS oluşumunu artırmasının yanı sıra, prolin, yaprak sıcaklığı, antioksidan enzim aktivitesi, yaprak rengi L^* ve a^* değerlerinde önemli artışlar meydana getirmiştir. Uygulanan MEL ve NO dozlarının bitki gelişimine katkı sağlamasının yanı sıra, pigment içeriğinin düzenlenmesi, ROS temizleyen antioksidan savunma sisteminin teşvik edilmesinde katkı sağlamıştır. Yapılan TBA sonucunda, agronomik parametreler ile bazı fizyolojik parametreler arasında güçlü pozitif korelasyon görülmüştür. Bu parametrelerin ise stres şartlarında artış gösteren MDA, H_2O_2 , prolin, SOD, POD ve yaprak sıcaklığı parametreleri ile güçlü negatif korelasyon sergilediği görülmüştür. Stres uygulanmayan S100 konusu agronomik ve fizyolojik parametreler açısından en iyi sonuçları veren uygulama olmuştur. Tam sulama konusu ile aynı bölgede (TB1'in pozitif bölgesi) yer alan SB-MEL100 uygulaması sel baskını stresi şartlarında diğer uygulamalara göre daha olumlu sonuçlar ortaya çıkarmıştır. Bunun yanı sıra 100 μ M melatonin uygulaması YOSİ ve pigment içeriğine katkı sağlayan önemli uygulama olarak dikkat çekmektedir. Küresel iklim değişikliği göz önüne alındığında gün geçtikçe sel baskını stresinin tarımdaki olumsuz etkisi artmaktadır. Bu sebeple sürdürülebilir tarım açısından çevre dostu bir uygulama olan melatonin uygulamalarının, ıspanak tarımı yapılan ve sel baskını riski olan arazilerde uygulanması verim ve kalite kayıplarının azaltılmasında önemli uygulama olarak görünmektedir. Elde edilen sonuçlar ışığında, sel baskını stresine maruz kalan ıspanakta stresin olumsuz etkilerinin azaltılması için MEL'in önemli bir uygulama olduğu, buna karşın, NO'nun ise MEL kadar ıspanakta önemli sonuçlar ortaya çıkarmadığı kanısına varılmıştır. Moleküler çalışmalarla MEL ve NO uygulamalarının mekanizmalarının ortaya konulması, sel baskını ve yapılan uygulamaların etkinliğini yorumlanmasında önemli sonuçlar vereceği düşünülmektedir.

7. KAYNAKLAR

- Ahmad, S., Kamran, M., Ding, R., Meng, X., Wang, H., Ahmad, I., Fahad, S. ve Han, Q., 2019, Exogenous melatonin confers drought stress by promoting plant growth, photosynthetic capacity and antioxidant defense system of maize seedlings, *PeerJ*, 7, e7793.
- Ahmad, S., Wang, G.-Y., Muhammad, I., Zeeshan, M. ve Zhou, X.-B., 2022, Melatonin and KNO₃ application improves growth, physiological and biochemical characteristics of maize seedlings under waterlogging stress conditions, *Biology*, 11 (1), 99.
- Akram, N. A., Iqbal, M., Muhammad, A., Ashraf, M., Al-Qurainy, F. ve Shafiq, S., 2018, Aminolevulinic acid and nitric oxide regulate oxidative defense and secondary metabolisms in canola (*Brassica napus* L.) under drought stress, *Protoplasma*, 255, 163-174.
- Aldaby, E., Diaf, N., Dawood, M. ve Zidan, M., 2021, Primary and secondary metabolites of *Vicia faba* plants cultivated under the interactive effect of drought and nitric oxide, *Egyptian Journal of Botany*, 61 (1), 177-190.
- Arasimowicz-Jelonek, M., Floryszak-Wieczorek, J. ve Kubiś, J., 2009, Interaction between polyamine and nitric oxide signaling in adaptive responses to drought in cucumber, *Journal of Plant Growth Regulation*, 28, 177-186.
- Barickman, T. C., Simpson, C. R. ve Sams, C. E., 2019, Waterlogging causes early modification in the physiological performance, carotenoids, chlorophylls, proline, and soluble sugars of cucumber plants, *Plants*, 8 (6), 160.
- Bartley, G. E. ve Scolnik, P. A., 1995, Plant carotenoids: pigments for photoprotection, visual attraction, and human health, *The Plant Cell*, 7 (7), 1027.
- Basahi, J. M., Ismail, I. M. ve Hassan, I. A., 2014, Effects of enhanced UV-B radiation and drought stress on photosynthetic performance of lettuce (*Lactuca sativa* L. Romaine) plants, *Annual Research & Review in Biology*, 1739-1756.
- Başlak, L., Özlem, Ü. ve Yaşar, F., 2021, Üşüme Stresi Altında Hıyar (*Cucumis sativus* L.) Fidelerinin Bazı Morfolojik Karakterleri Üzerine Melatonin Uygulamalarının Etkisi, *ISPEC Journal of Agricultural Sciences*, 5 (2), 350-361.
- Bates, L. S., Waldren, R. P. ve Teare, I., 1973, Rapid determination of free proline for water-stress studies, *Plant and soil*, 39 (1), 205-207.
- Bergmeyer, H.-U., 1965, Determination with glucose oxidase and peroxidase, *Methods of enzymatic analysis*.
- Beyer Jr, W. F. ve Fridovich, I., 1987, Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions, *Analytical biochemistry*, 161 (2), 559-566.
- Bhatt, R. M., Upreti, K. K., Divya, M., Bhat, S., Pavithra, C. ve Sadashiva, A., 2015, Interspecific grafting to enhance physiological resilience to flooding stress in tomato (*Solanum lycopersicum* L.), *Scientia Horticulturae*, 182, 8-17.
- Bosland, P., 1994, Breeding for quality in Capsicum.
- Bradford, M. M., 1976, A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Analytical biochemistry*, 72 (1-2), 248-254.
- Can, H., 2023, Melatonin Application at Different Doses Changes the Physiological Responses in Favor of Cabbage Seedlings (*Brassica oleracea* var. capitata) Against Flooding Stress, *Gesunde Pflanzen*, 1-13.

- Cao, Y., Ma, C., Chen, G., Zhang, J. ve Xing, B., 2017, Physiological and biochemical responses of *Salix integra* Thunb. under copper stress as affected by soil flooding, *Environmental pollution*, 225, 644-653.
- Cao, Y., Du, P., Yin, B., Zhou, S., Li, Z., Zhang, X., Xu, J. ve Liang, B., 2023, Melatonin and dopamine enhance waterlogging tolerance by modulating ROS scavenging, nitrogen uptake, and the rhizosphere microbial community in *Malus hupehensis*, *Plant and Soil*, 483 (1-2), 475-493.
- Cardini, F. ve Bonzi, L. M., 2005, Carotenoid composition and its chemotaxonomic significance in leaves of ten species of the genus *Ceratozamia* (Cycads), *Journal of Plant Physiology*, 162 (5), 517-528.
- Chen, H., Qualls, R. G. ve Miller, G. C., 2002, Adaptive responses of *Lepidium latifolium* to soil flooding: biomass allocation, adventitious rooting, aerenchyma formation and ethylene production, *Environmental and experimental botany*, 48 (2), 119-128.
- Chen, T., Yuan, F., Song, J. ve Wang, B., 2016, Nitric oxide participates in waterlogging tolerance through enhanced adventitious root formation in the euhalophyte *Suaeda salsa*, *Functional Plant Biology*, 43 (3), 244-253.
- Cui, G., Zhao, X., Liu, S., Sun, F., Zhang, C. ve Xi, Y., 2017, Beneficial effects of melatonin in overcoming drought stress in wheat seedlings, *Plant Physiology and Biochemistry*, 118, 138-149.
- Dadasoglu, E., Turan, M., Ekinci, M., Argin, S. ve Yildirim, E., 2022, Alleviation mechanism of melatonin in chickpea (*Cicer arietinum* L.) under the salt stress conditions, *Horticulturae*, 8 (11), 1066.
- Damanik, R. I., Maziah, M., Ismail, M. R., Ahmad, S. ve Zain, A. M., 2010, Responses of the antioxidative enzymes in Malaysian rice (*Oryza sativa* L.) cultivars under submergence condition, *Acta Physiologiae Plantarum*, 32, 739-747.
- Daszkowska-Golec, A. ve Szarejko, I., 2013, Open or close the gate—stomata action under the control of phytohormones in drought stress conditions, *Frontiers in Plant Science*, 4, 138.
- Demiral, M. A., 2003, Determination of salt tolerance of stock (*Matthiola tricuspidata*) as a potential oil crop, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 27 (4), 229-235.
- Demiral, T. ve Türkan, I., 2005, Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance, *Environmental and Experimental Botany*, 53 (3), 247-257.
- Ekinci, M., Ors, S., Sahin, U., Yildirim, E. ve Dursun, A., 2015, Responses to the irrigation water amount of spinach supplemented with organic amendment in greenhouse conditions, *Communications in soil science and plant analysis*, 46 (3), 327-342.
- Ekinci, M., Selda, Ö., TURAN, M. ve YILDIRIM, E., 2018, Nitrik Oksit Uygulamalarının Bitkilerde Abiyotik Stres Şartlarına Toleransı Arttırmadaki Etkileri, *Yuzuncu Yıl University Journal of Agricultural Sciences*, 28 (2), 254-265.
- Ekinci, M., Ors, S., Yildirim, E., Turan, M., Sahin, U., Dursun, A. ve Kul, R., 2020, Determination of physiological indices and some antioxidant enzymes of chard exposed to nitric oxide under drought stress, *Russian journal of plant physiology*, 67, 740-749.
- Esterbauer, H. ve Cheeseman, K. H., 1990, Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal, *Methods in enzymology*, 186, 407-421.

- Ezin, V., Pena, R. D. L. ve Ahanchede, A., 2010, Flooding tolerance of tomato genotypes during vegetative and reproductive stages, *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 22, 131-142.
- Fan, H., Du, C., Ding, L. ve Xu, Y., 2014, Exogenous nitric oxide promotes waterlogging tolerance as related to the activities of antioxidant enzymes in cucumber seedlings, *Russian journal of plant physiology*, 61, 366-373.
- FAO, 2019, <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC...Son>: [10 Ocak 2022].
- FAO, 2021, <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC...Son>: [11 Şubat 2023].
- Foyer, C. H. ve Shigeoka, S., 2011, Understanding oxidative stress and antioxidant functions to enhance photosynthesis, *Plant physiology*, 155 (1), 93-100.
- Gan, L., Wu, X. ve Zhong, Y., 2015, Exogenously applied nitric oxide enhances the drought tolerance in hullless barley, *Plant Production Science*, 18 (1), 52-56.
- Gholami, R., Hoveizeh, N. F., Zahedi, S. M., Gholami, H. ve Carillo, P., 2022, Melatonin alleviates the adverse effects of water stress in adult olive cultivars (*Olea europea* cv. Sevillana & Roughani) in field condition, *Agricultural Water Management*, 269, 107681.
- Glazebrook, H. S. ve Robertson, A. I., 1999, The effect of flooding and flood timing on leaf litter breakdown rates and nutrient dynamics in a river red gum (*Eucalyptus camaldulensis*) forest, *Australian Journal of Ecology*, 24 (6), 625-635.
- Gong, Y., Toivonen, P. M., Lau, O. ve Wiersma, P. A., 2001, Antioxidant system level in 'Braeburn' apple is related to its browning disorder, *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 42.
- Gray, S. B. ve Brady, S. M., 2016, Plant developmental responses to climate change, *Developmental biology*, 419 (1), 64-77.
- Gu, X., Xue, L., Lu, L., Xiao, J., Song, G., Xie, M. ve Zhang, H., 2021, Melatonin enhances the waterlogging tolerance of *Prunus persica* by modulating antioxidant metabolism and anaerobic respiration, *Journal of Plant Growth Regulation*, 40, 2178-2190.
- Hashimoto, T., Mustafa, G., Nishiuchi, T. ve Komatsu, S., 2020, Comparative analysis of the effect of inorganic and organic chemicals with silver nanoparticles on soybean under flooding stress, *International Journal of Molecular Sciences*, 21 (4), 1300.
- Havir, E. A. ve McHale, N. A., 1987, Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves, *Plant physiology*, 84 (2), 450-455.
- Hayat, S., Yadav, S., Wani, A. S., Irfan, M. ve Ahmad, A., 2011, Nitric oxide effects on photosynthetic rate, growth, and antioxidant activity in tomato, *International journal of vegetable science*, 17 (4), 333-348.
- Hernández-Ruiz, J. ve Arnao, M. B., 2008, Melatonin stimulates the expansion of etiolated lupin cotyledons, *Plant Growth Regulation*, 55, 29-34.
- Heshmati, S., Dehaghi, M. A., Farooq, M., Wojtyla, Ł., Maleki, K. ve Heshmati, S., 2021, Role of melatonin seed priming on antioxidant enzymes and biochemical responses of *Carthamus tinctorius* L. under drought stress conditions, *Plant Stress*, 2, 100023.
- Imran, M., Shazad, R., Bilal, S., Imran, Q. M., Khan, M., Kang, S.-M., Khan, A. L., Yun, B.-W. ve Lee, I.-J., 2021, Exogenous Melatonin mediates the regulation of endogenous nitric oxide in *Glycine max* L. to reduce effects of drought stress, *Environmental and Experimental Botany*, 188, 104511.

- Jaiswal, A. ve Srivastava, J., 2015, Effect of nitric oxide on some morphological and physiological parameters in maize exposed to waterlogging stress, *African Journal of Agricultural Research*, 10 (35), 3462-3471.
- Jaiswal, A. ve Srivastava, J., 2018, Changes in reactive oxygen scavenging systems and protein profiles in maize roots in response to nitric oxide under waterlogging stress.
- Jangid, K. K. ve Dwivedi, P., 2017, Physiological and biochemical changes by nitric oxide and brassinosteroid in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) under drought stress, *Acta Physiologiae Plantarum*, 39, 1-10.
- Kal, Ü., Dal, Y., Kayak, N., Yavuz, D., Türkmen, Ö. ve Seymen, M., 2023, Application of nitrogen for mitigating the adverse effects of flooding stress in lettuce, *Journal of Plant Nutrition*, 46 (20), 4664-4678.
- Kalaji, H. M., Jajoo, A., Oukarroum, A., Brestic, M., Zivcak, M., Samborska, I. A., Cetner, M. D., Łukasik, I., Goltsev, V. ve Ladle, R. J., 2016, Chlorophyll a fluorescence as a tool to monitor physiological status of plants under abiotic stress conditions, *Acta Physiologiae Plantarum*, 38, 1-11.
- Kalefetoğlu, T. ve Ekmekci, Y., 2005, The effects of drought on plants and tolerance mechanisms, *Gazi University Journal of Science*, 18 (4), 723-740.
- Kauffman, G. L., Kneivel, D. P. ve Watschke, T. L., 2007, Effects of a biostimulant on the heat tolerance associated with photosynthetic capacity, membrane thermostability, and polyphenol production of perennial ryegrass, *Crop science*, 47 (1), 261-267.
- Kausar, F. ve Shahbaz, M., 2013, Interactive effect of foliar application of nitric oxide (NO) and salinity on wheat (*Triticum aestivum* L.), *Pak. J. Bot*, 45, 67-73.
- Kaya, A. ve İnan, M., 2018, Kuraklık ve tuz streslerine maruz kalan tütün (*Nicotiana tabacum* L.) bitkisinde bazı fizyolojik ve biyokimyasal parametreler üzerine melatoninin etkileri, *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 21 (4), 559-564.
- Kaya, C., Ashraf, M., Wijaya, L. ve Ahmad, P., 2019, The putative role of endogenous nitric oxide in brassinosteroid-induced antioxidant defence system in pepper (*Capsicum annuum* L.) plants under water stress, *Plant Physiology and Biochemistry*, 143, 119-128.
- Khan, M. N., Zhang, J., Luo, T., Liu, J., Rizwan, M., Fahad, S., Xu, Z. ve Hu, L., 2019, Seed priming with melatonin coping drought stress in rapeseed by regulating reactive oxygen species detoxification: Antioxidant defense system, osmotic adjustment, stomatal traits and chloroplast ultrastructure perseveration, *Industrial Crops and Products*, 140, 111597.
- Khan, M. N., Khan, Z., Luo, T., Liu, J., Rizwan, M., Zhang, J., Xu, Z., Wu, H. ve Hu, L., 2020, Seed priming with gibberellic acid and melatonin in rapeseed: Consequences for improving yield and seed quality under drought and non-stress conditions, *Industrial Crops and Products*, 156, 112850.
- Khosravi, S., Haghighi, M. ve Mottaghipisheh, J., 2023, Effects of melatonin foliar application on hot pepper growth and stress tolerance, *Plant Stress*, 9, 100192.
- Kıratlı, H., Seymen, M. ve Kıymacı, G., 2023, Determination of tolerance to flooding stress in melon cultivars by agronomic and physio-biochemical responses, *Genetic Resources and Crop Evolution*, 1-15.
- Knörzer, O. C., Lederer, B., Durner, J. ve Böger, P., 1999, Antioxidative defense activation in soybean cells, *Physiologia Plantarum*, 107 (3), 294-302.
- Kopyra, M. ve Gwó d, E. A., 2004, The role of nitric oxide in plant growth regulation and responses to abiotic stresses, *Acta Physiologiae Plantarum*, 26, 459-473.

- Korkmaz, N., AŞKIN, M. A., Altunlu, H., Polat, M., Okatan, V. ve Kahramanoğlu, İ., 2022, The effects of melatonin application on the drought stress of different citrus rootstocks, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 46 (4), 585-600.
- Lee, I., 2022, Nitric oxide modulates Glycine max l. growth and physio-molecular responses during flooding stress, *Ann. Agric. Crop Sci*, 7, 1-18.
- Liang, D., Ni, Z., Xia, H., Xie, Y., Lv, X., Wang, J., Lin, L., Deng, Q. ve Luo, X., 2019, Exogenous melatonin promotes biomass accumulation and photosynthesis of kiwifruit seedlings under drought stress, *Scientia Horticulturae*, 246, 34-43.
- Lichtenthaler, H. K., 1987, [34] Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes, *Methods in enzymology*, 148, 350-382.
- Liu, X., Zhu, Q., Zhang, M., Yin, T., Xu, R., Xiao, W., Wu, J., Deng, B., Gao, X. ve Gong, W., 2018, Isoliquiritigenin ameliorates acute pancreatitis in mice via inhibition of oxidative stress and modulation of the Nrf2/HO-1 pathway, *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2018.
- Loreti, E., van Veen, H. ve Perata, P., 2016, Plant responses to flooding stress, *Current opinion in plant biology*, 33, 64-71.
- Lutts, S., Kinet, J. ve Bouharmont, J., 1996, NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa*L.) cultivars differing in salinity resistance, *Annals of botany*, 78 (3), 389-398.
- Lück, H., 1965, Catalase, In: *Methods of enzymatic analysis*, Eds: Elsevier, p. 885-894.
- Martínez-Alcántara, B., Jover, S., Quinones, A., Forner-Giner, M. Á., Rodríguez-Gamir, J., Legaz, F., Primo-Millo, E. ve Iglesias, D. J., 2012, Flooding affects uptake and distribution of carbon and nitrogen in citrus seedlings, *Journal of Plant Physiology*, 169 (12), 1150-1157.
- Mata, C. G. ve Lamattina, L., 2001, Nitric oxide induces stomatal closure and enhances the adaptive plant responses against drought stress, *Plant physiology*, 126 (3), 1196.
- Mfarrej, M., Wang, X., Hamzah Saleem, M., Hussain, I., Rasheed, R., Arslan Ashraf, M., Iqbal, M., Sohaib Chattha, M. ve Nasser Alyemeni, M., 2022, Hydrogen sulphide and nitric oxide mitigate the negative impacts of waterlogging stress on wheat (*Triticum aestivum* L.), *Plant Biology*, 24 (4), 670-683.
- Mirza, M. M. Q., 2002, Global warming and changes in the probability of occurrence of floods in Bangladesh and implications, *Global environmental change*, 12 (2), 127-138.
- Mittler, R., 2002, Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance, *Trends in plant science*, 7 (9), 405-410.
- Mozafari, A.-a., Ghaderi, N., Havas, F. ve Dedejani, S., 2019, Comparative investigation of structural relationships among morpho-physiological and biochemical properties of strawberry (*Fragaria× ananassa* Duch.) under drought and salinity stresses: A study based on in vitro culture, *Scientia Horticulturae*, 256, 108601.
- Munemasa, S., Hauser, F., Park, J., Waadt, R., Brandt, B. ve Schroeder, J. I., 2015, Mechanisms of abscisic acid-mediated control of stomatal aperture, *Current opinion in plant biology*, 28, 154-162.
- Mutava, R. N., Prince, S. J. K., Syed, N. H., Song, L., Valliyodan, B., Chen, W. ve Nguyen, H. T., 2015, Understanding abiotic stress tolerance mechanisms in soybean: A comparative evaluation of soybean response to drought and flooding stress, *Plant Physiology and Biochemistry*, 86, 109-120.

- Najeeb, U., Tan, D. K., Bange, M. P. ve Atwell, B. J., 2017, Protecting cotton crops under elevated CO₂ from waterlogging by managing ethylene, *Functional Plant Biology*, 45 (3), 340-349.
- Neill, S., Barros, R., Bright, J., Desikan, R., Hancock, J., Harrison, J., Morris, P., Ribeiro, D. ve Wilson, I., 2008, Nitric oxide, stomatal closure, and abiotic stress, *Journal of experimental botany*, 59 (2), 165-176.
- Örs, S., Yildirim, E., Ekinci, M., Turan, M., Dursun, A. ve Sahin, U., 2021, Monitoring Nutrient Uptake of Chard (*Beta vulgaris* var. *cicla* L.) Exposed to Exogenously Applied Nitric Oxide under Drought Stress, *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 52 (2), 160-166.
- Park, S.-U., Lee, C.-J., Park, S.-C., Nam, K. J., Lee, K.-L., Kwak, S.-S., Kim, H. S. ve Kim, Y.-H., 2022, Flooding tolerance in sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) lam) is mediated by reactive oxygen species and nitric oxide, *Antioxidants*, 11 (5), 878.
- Patel, P. K., Singh, A., Tripathi, N., Yadav, D. ve Hemantaranjan, A., 2014, Flooding: abiotic constraint limiting vegetable productivity, *Adv. Plants Agric. Res*, 1 (3), 00016.
- Posmyk, M., Kontek, R. ve Janas, K., 2009, Antioxidant enzymes activity and phenolic compounds content in red cabbage seedlings exposed to copper stress, *Ecotoxicology and Environmental safety*, 72 (2), 596-602.
- Radmann, E. B., Klumb, E. K., Deuner, S. ve Bianchi, V. J., 2018, Antioxidant capacity in leaf and root tissues of *Prunus* spp under flooding, *Journal of Experimental Agriculture International*, 26 (3), 1-10.
- Raja, V., Qadir, S. U., Alyemeni, M. N. ve Ahmad, P., 2020, Impact of drought and heat stress individually and in combination on physio-biochemical parameters, antioxidant responses, and gene expression in *Solanum lycopersicum*, *3 Biotech*, 10, 1-18.
- Reiter, R. J., Tan, D.-x., Manchester, L. C., Simopoulos, A. P., Maldonado, M. D., Flores, L. J. ve Terron, M. P., 2007, Melatonin in edible plants (phytomelatonin): identification, concentrations, bioavailability and proposed functions, *World Review of Nutrition and Dietetics*, 97, 211-230.
- Ren, J., Yang, X., Ma, C., Wang, Y. ve Zhao, J., 2021, Melatonin enhances drought stress tolerance in maize through coordinated regulation of carbon and nitrogen assimilation, *Plant Physiology and Biochemistry*, 167, 958-969.
- Safavi-Rizi, V., Herde, M. ve Stöhr, C., 2020, RNA-Seq reveals novel genes and pathways associated with hypoxia duration and tolerance in tomato root, *Scientific Reports*, 10 (1), 1692.
- Sairam, R., Kumutha, D., Ezhilmathi, K., Chinnusamy, V. ve Meena, R., 2009, Waterlogging induced oxidative stress and antioxidant enzyme activities in pigeon pea, *Biologia Plantarum*, 53, 493-504.
- Sánchez, C., Gates, A. J., Meakin, G. E., Uchiumi, T., Girard, L., Richardson, D. J., Bedmar, E. J. ve Delgado, M. J., 2010, Production of nitric oxide and nitrosylhemoglobin complexes in soybean nodules in response to flooding, *Molecular plant-microbe interactions*, 23 (5), 702-711.
- Sánchez, F., De Andres, E., Tenorio, J. ve Ayerbe, L., 2004, Growth of epicotyls, turgor maintenance and osmotic adjustment in pea plants (*Pisum sativum* L.) subjected to water stress, *Field Crops Research*, 86 (1), 81-90.
- Sasidharan, R., Hartman, S., Liu, Z., Martopawiro, S., Sajeev, N., van Veen, H., Yeung, E. ve Voeselek, L. A., 2018, Signal dynamics and interactions during flooding stress, *Plant physiology*, 176 (2), 1106-1117.

- Seymen, M., Yavuz, D., Dursun, A., Kurtar, E. S. ve Türkmen, Ö., 2019, Identification of drought-tolerant pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) genotypes associated with certain fruit characteristics, seed yield, and quality, *Agricultural Water Management*, 221, 150-159.
- Seymen, M., 2021, How does the flooding stress occurring in different harvest times affect the morpho-physiological and biochemical characteristics of spinach?, *Scientia Horticulturae*, 275, 109713.
- Seymen, M., Çiçek Arı, B., Kal, Ü., Issı, N., Atakul, Z. ve Yavuz, D., 2023, Mitigation effects of melatonin applied to cauliflower seedlings under different flooding durations, *Gesunde Pflanzen*, 75 (4), 1031-1045.
- Shah, K., Chaturvedi, V. ve Gupta, S., 2019, Climate change and abiotic stress-induced oxidative burst in rice, In: *Advances in rice research for abiotic stress tolerance*, Eds: Elsevier, p. 505-535.
- Shao, G., Lan, J., Yu, S., Liu, N., Guo, R. ve She, D., 2013, Photosynthesis and growth of winter wheat in response to waterlogging at different growth stages, *Photosynthetica*, 51 (3), 429-437.
- Sharma, A., Wang, J., Xu, D., Tao, S., Chong, S., Yan, D., Li, Z., Yuan, H. ve Zheng, B., 2020, Melatonin regulates the functional components of photosynthesis, antioxidant system, gene expression, and metabolic pathways to induce drought resistance in grafted *Carya cathayensis* plants, *Science of The Total Environment*, 713, 136675.
- Shi, H., Jiang, C., Ye, T., Tan, D.-X., Reiter, R. J., Zhang, H., Liu, R. ve Chan, Z., 2015, Comparative physiological, metabolomic, and transcriptomic analyses reveal mechanisms of improved abiotic stress resistance in bermudagrass [*Cynodon dactylon* (L.) Pers.] by exogenous melatonin, *Journal of experimental botany*, 66 (3), 681-694.
- Steffens, B., 2014, The role of ethylene and ROS in salinity, heavy metal, and flooding responses in rice, *Frontiers in plant science*, 5, 685.
- Su, X., Fan, X., Shao, R., Guo, J., Wang, Y., Yang, J., Yang, Q. ve Guo, L., 2019, Physiological and iTRAQ-based proteomic analyses reveal that melatonin alleviates oxidative damage in maize leaves exposed to drought stress, *Plant Physiology and Biochemistry*, 142, 263-274.
- Sundararajan, S., Shanmugam, R., Rajendran, V., Sivakumar, H. P. ve Ramalingam, S., 2022, Sodium nitroprusside and putrescine mitigate PEG-induced drought stress in seedlings of *Solanum lycopersicum*, *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 1-14.
- Szafańska, K., Reiter, R. J. ve Posmyk, M. M., 2016, Melatonin application to *Pisum sativum* L. seeds positively influences the function of the photosynthetic apparatus in growing seedlings during paraquat-induced oxidative stress, *Frontiers in Plant Science*, 7, 1663.
- Tan, J., Zhao, H., Hong, J., Han, Y., Li, H. ve Zhao, W., 2008, Effects of exogenous nitric oxide on photosynthesis, antioxidant capacity and proline accumulation in wheat seedlings subjected to osmotic stress, *World J. Agric. Sci*, 4 (3), 307-313.
- Wang, X., Li, F., Chen, Z., Yang, B., Komatsu, S. ve Zhou, S., 2021, Proteomic analysis reveals the effects of melatonin on soybean root tips under flooding stress, *Journal of Proteomics*, 232, 104064.
- Xiong, J., Zhang, L., Fu, G., Yang, Y., Zhu, C. ve Tao, L., 2012, Drought-induced proline accumulation is uninvolved with increased nitric oxide, which alleviates drought stress by decreasing transpiration in rice, *Journal of plant research*, 125, 155-164.

- Xu, C. ve Leskovar, D. I., 2015, Effects of *A. nodosum* seaweed extracts on spinach growth, physiology and nutrition value under drought stress, *Scientia Horticulturae*, 183, 39-47.
- Xu, W., Cai, S. Y., Zhang, Y., Wang, Y., Ahammed, G. J., Xia, X. J., Shi, K., Zhou, Y. H., Yu, J. Q. ve Reiter, R. J., 2016, Melatonin enhances thermotolerance by promoting cellular protein protection in tomato plants, *Journal of Pineal Research*, 61 (4), 457-469.
- Yakupoğlu, G., Köklü, Ş. ve Korkmaz, A., 2018, Bitkilerde melatonin ve üstlendiği görevler, *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 21 (2), 264-276.
- Yaşar, F. ve Üzal, Ö., 2021, Effects of nitric oxide application on antioxidant enzyme activities of pepper plants under drought stress, *ISPEC Journal of Agricultural Sciences*, 5 (4), 846-853.
- Yavuz, D., Seymen, M., Süheri, S., Yavuz, N., Türkmen, Ö. ve Kurtar, E. S., 2020, How do rootstocks of citron watermelon (*Citrullus lanatus* var. *citroides*) affect the yield and quality of watermelon under deficit irrigation?, *Agricultural Water Management*, 241, 106351.
- Yavuz, D., Seymen, M., Yavuz, N., Çoklar, H. ve Ercan, M., 2021, Effects of water stress applied at various phenological stages on yield, quality, and water use efficiency of melon, *Agricultural Water Management*, 246, 106673.
- Yavuz, D., Seymen, M., Kal, Ü., Atakul, Z., Tanrıverdi, Ö. B., Türkmen, Ö. ve Yavuz, N., 2023, Agronomic and physio-biochemical responses of lettuce to exogenous sodium nitroprusside (SNP) applied under different irrigation regimes, *Agricultural Water Management*, 277, 108127.
- Zeng, H., Liu, M., Wang, X., Liu, L., Wu, H., Chen, X., Wang, H., Shen, Q., Chen, G. ve Wang, Y., 2022, Seed-soaking with melatonin for the improvement of seed germination, seedling growth, and the antioxidant defense system under flooding stress, *Agronomy*, 12 (8), 1918.
- Zhang, B., Sun, M., Liu, W., Lian, M., Yang, S., Peng, F. ve Xiao, Y., 2023, Waterlogging resistance and evaluation of physiological mechanism of three peach (*Prunus persica*) rootstocks, *Protoplasma*, 1-14.
- Zhang, Q., Liu, X., Zhang, Z., Liu, N., Li, D. ve Hu, L., 2019, Melatonin improved waterlogging tolerance in alfalfa (*Medicago sativa*) by reprogramming polyamine and ethylene metabolism, *Frontiers in Plant Science*, 10, 44.
- Zhang, R., Yue, Z., Chen, X., Wang, Y., Zhou, Y., Xu, W. ve Huang, R., 2021, Foliar applications of urea and melatonin to alleviate waterlogging stress on photosynthesis and antioxidant metabolism in sorghum seedlings, *Plant Growth Regulation*, 1-10.
- Zheng, X., Tan, D.-X. ve Kong, J., 2017, Melatonin improves waterlogging tolerance of *Malus baccata* (Linn.) Borkh. seedlings by maintaining aerobic respiration, photosynthesis and ROS migration, *Frontiers in plant science*, 8, 250970.
- Zuo, Z., Sun, L., Wang, T., Miao, P., Zhu, X., Liu, S., Song, F., Mao, H. ve Li, X., 2017, Melatonin improves the photosynthetic carbon assimilation and antioxidant capacity in wheat exposed to nano-ZnO stress, *Molecules*, 22 (10), 1727.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : RAID ALKHATEB
Uyruğu : Suriye

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: Zikar Lisesi	2013
Üniversite	: Idlib Üniversitesi	2020
Yüksek Lisans	: S.Ü. Fen Bimleri Ens. Tarımsal Yapılar ve Sulama	Devam Ediyor
Doktora	:	

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
-----	-------	--------

UZMANLIK ALANI

Tarımsal Yapılar ve Sulama

YABANCI DİLLER

İngilizce

İLETİŞİM BİLGİLERİ

Tel:

e-mail:

BELİRTMEK İSTEĞİNİZ DİĞER ÖZELLİKLER

YAYINLAR

Seymen, M., Alkhateb, R., Mutlu, A., & Yavuz, D. (2024). Do exogenous melatonin and nitric oxide mitigate the adverse effects of flooding stress in spinach?. Scientia Horticulturae, 330, 113081.