

Düşük ve Yüksek Sıcaklık Uygulamalarının Arbüsküler Mikorizal Spor Uygulanan Mısırın
Isı Şoku Proteinleri Ekspresyonu ve Mineral Alımındaki Değişimler

Vedia Türüdü

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Anabilim Dalı

Mayıs 2023

Changes in Heat Shock Proteins Expression and Mineral Uptake Of Corn Applied With
Arbuscular Micorizal Sports of Low and High Temperature Applications

Vedia Türüdü

MASTER OF SCIENCE THESIS

Department of Soil Science and Plant Nutrition

May 2023

Düşük ve Yüksek Sıcaklık Uygulamalarının Arbüsküler Mikorizal Spor Uygulanan Mısırın
Isı Şoku Proteinleri Ekspresyonu ve Mineral Alımındaki Değişimler

Vedia Türüdü

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği Uyarınca
Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Anabilim Dalı
Bitki Besleme Bilim Dalında
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

Danışman: Prof. Dr. Nurdilek Gülmezoğlu
İkinci Danışman: Doç. Dr. İmren Kutlu

“ESOGÜ-BAP tarafından FYL-2022-2288 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir.”

Mayıs 2023

ONAY

Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Anabilim Dalı Bitki Besleme Bilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi **Vedia Türüdü**'nün YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı “Düşük ve Yüksek Sıcaklık Uygulamalarının Arbüsküler Mikorizal Spor Uygulanan Mısırın Isı Şoku Proteinleri Ekspresyonu ve Mineral Alımındaki Değişimler” başlıklı bu çalışma, jürimizce lisansüstü yönetmeliğin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek oybirliği ile kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Nurdilek Gülmezoğlu

İkinci Danışman : Doç. Dr. İmren Kutlu

Yüksek Lisans /Doktora Tez Savunma Jürisi:

Üye: Prof. Dr. Nurdilek GÜLMEZOĞLU

Üye: Doç. Dr. Gülçin IŞIK

Üye: Dr. Öğretim Üyesi Ertuğrul KARAŞ

Üye:

Üye:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr.

Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Prof. Dr. Nurdilek GÜLMEZOĞLU ve Doç. Dr. İmren KUTLU danışmanlığında hazırlamış olduğum “Düşük Ve Yüksek Sıcaklık Uygulamalarının Arbüskülar Mikorizal Spor Uygulanan Mısırın Isı Şoku Proteinleri Ekspresyonu Ve Mineral Alımındaki Değişimler” başlıklı Yüksek Lisans tezimin özgün bir çalışma olduğunu; tez çalışmamın tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallarına uygun davrandığımı; tezimde verdiğim bilgileri, verileri akademik ve bilimsel ilke ve kurallara uygun olarak elde ettiğimi; tez çalışmamda yararlandığım eserlerin tümüne atıf yaptığımı ve kaynak gösterdiğimi ve bilgi, belge ve sonuçları bilimsel etik ilke ve kurallara göre sunduğumu beyan ederim.23/05/2023

Vedia Türüdü

İmza

ÖZET

Bu çalışmada, düşük ve yüksek sıcaklık stresi altında mikoriza uygulanan mısır bitkilerinin mineral element konsantrasyonları, fizyolojik parametreleri ve ısı şoku proteinlerinin gen ekspresyonunda ki değişimler araştırılmıştır. Çalışma 3 tekerrürlü olarak faktöriyel deneme desenine göre kontrollü koşullarda ve saksılarda yürütülmüştür. Bir mikorizasız (M0=kontrol/şahit) ve dört adet arbüsküler mikorizal fungus AMF türü (M1, M2, M3, M4) olmak üzere 5 mikoriza uygulaması altında 7 farklı sıcaklık (5 °C, 10 °C, 15 °C, 25°C (kontrol), 35 °C, 40 °C ve 45 °C) uygulaması denemenin faktörlerini oluşturmaktadır. Mikorizalar her bir kilogram toprağa 2000 spor olacak şekilde uygulanmıştır. Mikoriza uygulanmasıyla toprak üstü yaş ve kuru ağırlığı M3 mikoriza tür karışımının uygulandığı kontrol bitkilerinde en yüksek bulunmuştur. Mineral element içeriklerinde en yüksek değerler N, P, K, Ca ve Fe konsantrasyonlarında M4, Cu ve Mn konsantrasyonlarında M3, Mg ve Zn konsantrasyonlarında ise M2 mikoriza tür karışımlarının uygulandığı mısır bitkisinde kontrol sıcaklığında (25 °C) belirlenmiştir. Lipit peroksidasyonunun tüm uygulamalarda sıcaklık değişimleriyle birlikte giderek arttığı, prolinin koruyucu etkisinin yüksek sıcaklıklarda düşük sıcaklıklara göre daha belirgin olduğu belirlenmiştir. GR aktivitesinin M1 ve M2, APX ve CAT enzim aktivitelerinin ise M3 ve M4 türleriyle olan simbiyozda sıcaklık değişimlerine tolerans sağlamada daha önemli etkilerinin olduğu, SOD aktivitesinin ise etkisiz olduğu belirlenmiştir. Tüm mikoriza uygulamalarında HSP70 ve HSP90 sentezi 10 °C, 40 °C ve 45 °C’de maksimuma ulaşmıştır. Mısır bitkisinde düşük ve yüksek sıcaklık uygulamalarının, mikoriza simbiyozunda, incelenen parametreler bazında ciddi değişimlere neden olduğu, bu değişimlerin sıcaklık değişimlerine ve mikoriza türleri arasındaki farklılıklara bağlı olarak farklı seviyelerde meydana geldiği ortaya konmuştur. Bu konuda ileriki aşamada yapılabilecek farklı transkriptomik çalışmalara temel oluşturarak, düşük veya yüksek sıcaklık stresine tolerant mikoriza türlerinin geliştirilmesine yönelik çalışmalara yardımcı olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Düşük sıcaklık, yüksek sıcaklık, mikoriza, mısır, HSP70 ve HSP90, antioksidan enzimler, mineral elementler

SUMMARY

In this study, changes in mineral element concentrations, physiological parameters and gene expression of heat shock proteins were investigated in maize plants subjected to mycorrhiza under low and high temperature stress. The study was carried out in controlled conditions and in pots according to the factorial experimental design with 3 replications. The application of 7 different temperatures (5 °C, 10 °C, 15 °C, 25°C (control), 35 °C, 40 °C and 45 °C) under 5 mycorrhizal treatments, including one mycorrhizal-free (M0=control/witness) and four arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) species (M1, M2, M3, M4) constitutes the factors of the experiment. Mycorrhizas were applied to 2000 spores per kilogram of soil. With the application of mycorrhiza, the above-ground fresh and dry weights were found to be the highest in the control plants where the M3 mycorrhiza species mixture was applied. The highest values in mineral element contents were determined at the control temperature (25 °C) in the maize plant, where M4 at N, P, K, Ca and Fe concentrations, M3 at Cu and Mn concentrations, and M2 at Mg and Zn concentrations. It was determined that lipid peroxidation gradually increased with temperature changes in all applications, and the protective effect of proline was more pronounced at high temperatures than at low temperatures. It has been determined that GR activity has more important effects in providing tolerance to temperature changes in symbiosis with M1 and M2, APX and CAT enzyme activities with M3 and M4 species, while SOD activity is ineffective. In all mycorrhiza applications, the synthesis of HSP70 and HSP90 reached a maximum at 10 °C, 40 °C and 45 °C. It has been revealed that low and high temperature applications in maize plant cause serious changes in the mycorrhiza symbiosis on the basis of the investigated parameters, and these changes occur at different levels depending on the temperature changes and the differences between mycorrhiza species. It will also help the studies on the development of mycorrhizal species that are tolerant to low or high temperature stress by forming the basis for different transcriptomic studies that can be done in the future on this subject.

Keywords: Low temperature, high temperature, mycorrhiza, maize, HSP70 and HSP90, antioxidant enzymes, mineral elements

TEŞEKKÜR

Çalışmaktan büyük keyif aldığım tez çalışmamın planlanması, yürütülmesi ve tamamlanma sürecinde ilgi ve desteğini esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım değerli danışman hocalarım Prof. Dr. Nurdilek GÜLMEZOĞLU'na ve Doç. Dr. İmren KUTLU'ya, proje desteğinden dolayı Eskişehir Osmangazi Üniversitesi BAP koordinatörlüğüne, laboratuvar çalışmaları sırasında yardımlarını esirgemeyen yoğun desteklerini gördüğüm Ziraat Yüksek Mühendisleri Merve BEŞER ve Rana ÖZSOY'a, çalışma materyalimin teminini sağlayan ve değerli bilgilerini benimle paylaşarak uzaktan her türlü desteği sağlayan Ziraat Yüksek Mühendisi Aysel BARS ORAK'a şükranlarımı sunar, minnettar olduğumu belirtmek isterim.

Varlığıyla hayatımı güzelleştiren, hep yanımda olan kızıma, hayatımın her alanında, maddi ve manevi desteğini esirgemeyen, her daim yanımda olan babama, varlığını her an hissettiğim anneme en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	vi
SUMMARY	vii
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI	7
2.1. Mikorizanın Bitki Gelişimine Etkileri.....	7
2.2. Mısır - Mikoriza Simbiyozunun Sıcak Stresine Etkileri	10
3. MATERYAL VE YÖNTEM	14
3.1. Materyal	14
3.1.1 Mısır çeşidinin özellikleri.....	14
3.1.2 Arbusküler mikorizal fungus (AMF) izolatları	14
3.1.3 Araştırmada kullanılan toprağın özellikleri.....	14
3.2. Yöntem.....	15
3.2.1. Toprağın özellikleri ve analizleri	15
3.2.2. Bitki yetiştirme ortamı, saksı ve tohumların sterilizasyonu	16
3.2.3. Denemenin kurulması, mikoriza uygulamaları ve bitkilerin yetiştirilmesi	16
3.2.4. Sıcaklık uygulamaları ve hasat.....	18
3.2.5. Bitkilerde incelenen özellikler.....	18
3.2.5.1. <u>Yaş ve kuru ağırlığın belirlenmesi</u>	18
3.2.5.2. <u>Mineral element içeriğinin belirlenmesi</u>	18
3.2.5.3. <u>Klorofil içeriğinin belirlenmesi</u>	19

İÇİNDEKİLER

Sayfa

3.2.5.4.	<u>Membran dayanıklılık indeksinin (MDİ) belirlenmesi</u>	19
3.2.5.5.	<u>Malondialdehit (MDA) miktarının belirlenmesi</u>	20
3.2.5.6.	<u>Prolin Analizi</u>	20
3.2.5.7.	<u>Antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesi</u>	21
3.2.5.8.	<u>Gen ekspresyonlarının belirlenmesi</u>	22
3.2.5.9.	<u>Western blot analizleri</u>	23
3.2.5.10.	<u>Köklerde mikoriza kolonizasyonun belirlenmesi</u>	24
3.2.6.	İstatiksel analizler	26
4.	BULGULAR VE TARTIŞMA	27
4.1.	Yaş ve Kuru Ağırlık	27
4.2.	Bitkilerin Mineral Element Konsantrasyonu	30
4.3.	Bitkilerin Fizyolojik Parametreleri	43
4.4.	Antioksidan Enzim Aktiviteleri	50
4.5.	Isı Şoku Proteinlerinin Gen İfadesi	57
4.6.	Western Blot Analizleri	63
4.7.	Mikoriza Kolonizasyonu	64
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER	66
	KAYNAKLAR DİZİNİ	70

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.1. Mısır bitkisinin klorofil içeriği değişimi	45
4.2. Mısır bitkisinin membran dayanıklılık indeksine ait değişimi	46
4.3. Mısır bitkisinin lipid peroksidasyonuna ait değişimi	48
4.4. Mısır bitkisinin prolin içeriğine ait değişimi	49
4.5. Mısır bitkisinin SOD aktivitesine ait değişimi	52
4.6. Mısır bitkisinin GR aktivitesine ait değişimi.....	53
4.7. Mısır bitkisinin APX aktivitesine ait değişimi	55
4.8. Mısır bitkisinin CAT aktivitesine ait değişimi	56
4.9. Düşük ve yüksek sıcaklık uygulamaları ile mısır bitkisinin (a) ve mikoriza türlerinin (b) HSP70 gen ekspresyonlarının değişimi	60
4.10. Düşük ve yüksek sıcaklık uygulamaları ile mısır bitkisinin (a) ve mikoriza türlerinin (b) HSP90 gen ekspresyonlarının değişimi	62
4.11. HSP70 ve HSP90 protein ekspresyonlarının değişimi	64
4.12. Mısır bitkisinin köklerindeki mikoriza kolonizasyonunun değişimi.....	65

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
3.1. Araştırma topraklarının bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	15
3.2. Ekspresyon analizi yapılan genlerin primer dizileri	23
4.1. Mısır bitkisinin yaş ve kuru ağırlıklarına ait kareler ortalamaları	27
4.2. Mısır bitkisinin yaş ve kuru ağırlığına (g) ait ortalama değerleri.....	28
4.3. Mısır bitkisinin makro element konsantrasyonuna ait kareler ortalamaları	30
4.4. Mısır bitkisinin makro element konsantrasyonuna (%) ait ortalama değerleri	32
4.5. Mısır bitkisinin mikro element konsantrasyonuna ait kareler ortalamaları	38
4.6. Mısır bitkisinin mikro element konsantrasyonuna (mg kg ⁻¹) ait ortalama değerleri	39
4.7. Mısır bitkisinin fizyolojik parametrelerine ait kareler ortalamaları	43
4.8. Mısır bitkisinin fizyolojik parametrelerine ait ortalama değerler.....	44
4.9. Mısır bitkisinin antioksidan enzim aktivitelerine ait kareler ortalamaları.....	50
4.10. Mısır bitkisinin antioksidan enzim aktivitelerine ait ortalama değerler	51
4.11. Mısır bitkisinin ve mikoriza türlerinin HSP70 ve HSP90 gen ekspresyonlarına ait kareler ortalamaları.....	58
4.12. Mısır bitkisinin ve mikoriza türlerinin HSP70 ve HSP90 gen ekspresyonlarına ait ortalama değerler	59

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**Simgeler**

°C	Santigrat Derece
Ca	Kalsiyum
CaCO ₃	Kalsiyum Karbonat
Cu	Bakır
Fe	Demir
K	Potasyum
K ₂ O	Potasyum Oksit
Mg	Magnezyum
Mn	Mangan
N	Azot
P	Fosfor
P ₂ O ₅	Difosfor Pentaoksit
Zn	Çinko

Kisaltmalar**Açıklama**

da	Dekar
g	Gram
kg	Kilogram
kDa	Kilodalton
mg	Miligram
ml	Mililitre
mM	Milimolar
pH	Potansiyel Hidrojen
µl	Mikrolitre

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
μmol	Mikromol
AFA	Alkol, Formaldehit, Asetik Asit
AMF	Arbüsküler Mikoriza Fungusları
APX	Askorbat peroksidaz
CAT	Katalaz
CM	Klorofil birimi
CO ₂	Karbon Dioksit
DNA	Deoksiribo nükleik asit
GR	Glutasyon Redüktaz
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
HSP	Isı Şoku Proteinleri
MO	Mikorizasız (Şahit/Kontrol)
M1	DYB4 (Mikoriza Tür Karışımları)
M2	DYB17 (Mikoriza Tür Karışımları)
M3	DYB22 (Mikoriza Tür Karışımları)
M4	ERS (Mikoriza Tür Karışımları)
NASA	Amerika Ulusal Havacılık ve Uzay Ajansı
O.M.	Organik Madde
OMU	Ondokuz Mayıs Üniversitesi
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
S.D.	Serbestlik Derecesi
T.İ.G.M.	Tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğü
TMO	Toprak Mahsulleri Ofisi
UNFPA	Birleşmiş Milletler Nüfus Fonu
V.K.	Varyans Kaynakları

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Son yıllarda, küresel iklim değişikliğine bağlı olarak insan yaşamı, çevre ve sürdürülebilirlik açısından olumsuz sorunlar yaşanması sebebiyle emisyonların azaltılması, çevre koşullarının iyileştirilmesi, sürdürülebilirliğinin sağlanması ve küresel iklim değişikliğinin olumsuz etkilerinin giderilmesi global bir öncelik haline gelmiştir (Raihan, 2023). Türkiye, küresel ısınmadan dolayı tarımsal üretimden en fazla etkilenebilecek ülkeler arasında yer almaktadır (Appenzerler ve Dimick, 2004) ve iklimde meydana gelen dalgalanmalara, hızlı nüfus artışı da eklenince beslenme ihtiyacı küresel bir sorun haline gelmektedir.

Dünyada toplam nüfus sayısı günümüzde 8 milyara ulaşmış ve hızlı artış göz önüne alındığında 2030'da 8,5 milyar, 2050'de 9,7 milyar, 2100'de 10,4 milyara ulaşacağı öngörülmektedir (UNFPA, 2022). Dünya nüfusunu besleyebilmek ve küresel gıda güvenliğini sağlamak adına bugünkü gıda üretiminin de aynı oranda artırılması gerekliliği belirtilmektedir (Mahajan ve Tuteja, 2005; Korkmaz, 2007).

Tarım sektörü iklime doğrudan bağımlı olması sebebiyle iklim değişikliğinden etkilenirken, üretim şekli olarak da iklim değişikliğini etkilemektedir (Demirdöğen, 2020). Sıcaklık, her on yılda yaklaşık olarak 0,2 °C artmakta olup (Sehgal vd. 2016), küresel sıcaklıktaki ortalama artış 1900-2020 yılları arasında 1,13 °C iken, 2100 yılında 1,4 °C-5,8 °C artış göstermesi beklenmektedir (El-Sappah vd., 2022).

Sanayi devrimi sonrası özellikle karbondioksitin (CO₂) atmosferik konsantrasyonunda ciddi artış yaşanmış, bu sebeple sera etkisi artmış, dünyanın yüzey sıcaklığı da aynı oranda yükselmiştir (Maslin, 2008). Türkiye'de küresel iklim değişikliği ile beraber yaz-kış sıcaklıklarının yükseleceği, yağış oranlarının düşeceği, bitki gelişimi ve verimin, yüksek atmosferik CO₂ konsantrasyonu ve sıcaklıkla, yağış rejimindeki değişimlerle, ekstrem hava fenomenleriyle büyük bir kayıp yaşayacağı (Çakmak ve Gökalp, 2011) ve yine sıcaklık artışıyla yağış dengesizlikleri ile toprağın ve tarım arazilerinin yitirilebileceği (Dale ve Rauscher, 1994) ve yetiştirilen türlerin de azalmasına bağlı olarak tarımsal üretimin azalacağı öngörülmektedir (Appenzerler ve Dimick, 2004). Binlerce yıl

uyum sağlamış olan canlıların bütünü adına küresel ısınma ve iklim değişikliği, küresel olarak tarımsal üretim için tehlike niteliği taşımakta, verim için de ciddi bir tehdit olmaktadır (Wang vd., 2018).

Artan sıcaklık, değişen iklim ve buna bağlı olarak kuraklık, toprak verimsizliği ve bunun gibi çevresel tehditler, tarımdaki başlıca zorlukları oluşturmaktadır. Ayrıca yanlış toprak işleme, gereğinden fazla pestisit ve kimyasal madde kullanımı, yanlış sulama, tek yönlü üretim beraberinde birçok olumsuzluğu meydana getirmiştir. Verim artırmak amacıyla kullanılan bu kimyasalların artışı ile sürdürülebilirlik azalmış olup, zamanla doğal yaşam üzerinde ekotoksik etkiler oluşturarak insan ve çevre sağlığını tehdit eder hale gelmiştir. (Demirözer ve Özgönen, 2013).

Beslenme ihtiyacının karşılanabilmesi için 2050 yılına kadar 3 önemli besin kaynağı tahılların (buğday, pirinç ve mısır) üretiminin %70 oranında artırılması gerekmektedir (Cairns vd., 2013; Duran, 2019). Amerika ulusal havacılık ve uzay ajansı, küresel iklim değişikliği sebebiyle 2030 yılına kadar insan ve hayvan beslenmesinde önemli yer alan mısır veriminin, %25 azalacağını öngörmektedir. Mısır da buğday gibi stratejik olarak önemli bir bitkidir (Panda vd. 2004) ve sahip olduğu yüksek besin değeri, ana ve yan ürünlerinin geniş kullanım alanı sebebiyle dünya genelinde “geleceğin hububatı” olarak görülmektedir (Yuan ve Flores, 1996).

Orijini ve gen merkezi Amerika kıtası olan mısırın, yeteri kadar ve ekonomik düzeyde üretimi, büyük önem taşımaktadır. Ülkemizde mısır, hayvan yemi, endüstride ham madde ve insan gıdasında kullanılan bir bitkidir. Çerezlik olarak da tüketilen mısırın tanelerinin dışındaki organları da hayvan yemi olarak değerlendirilmektedir. Ayrıca kâğıt ve bazı hasır el işlerinde de kullanılmaktadır. Bunlara ek olarak, benzinde biyoetanol karışımında da kullanılmaktadır. Kullanım alanının çok olmasından kaynaklı mısır, tahıllar içinde ekim alanı açısından ikinci, verimde ve üretiminde ise birinci sırada yer almaktadır (OMU, 2021; TMO, 2021).

Türkiye’de uygun iklim koşulları sebebiyle neredeyse her bölgede mısır üretimi yapılabilmekte, ancak çevresel faktörler (düşük/yüksek sıcaklık, kuraklık ve tuzluluk vb.), mısırın büyümesini ve yayılışını etkilemekte olup, sıcaklık ise mısırın gelişimini engelleyen

en önemli çevresel stres faktörlerinden biridir (Song ve Wang, 2005). Düşük ve yüksek sıcaklık stresi tarımsal üretimin yapılabilirliği açısından kritik önem arz etmekte (Yadav, 2010), bitkilerde çok sayıda fizyolojik, morfolojik ve anatomik bozukluklara neden olmasının yanı sıra, günümüzde ekstrem sıcaklıkla ilgili yapılan çalışmaların büyük bir kısmı, ekilebilir tarım arazilerinin yaklaşık %6'sını doğrudan etkilemesi sebebiyle düşük sıcaklık stresi üzerinde yoğunlaşmıştır (Turk vd., 2014; Erdal vd., 2015). Düşük sıcaklık, mısır bitkilerinde bir çekirdek gen takımının yukarı veya aşağı regüle edilmesine yol açmaktadır. Tanımlanmış yukarı regüle edilmiş genler, sitokinin glukozid biyosentez enzimlerini, transkripsiyon faktörlerini, sinyalleme moleküllerini ve çeşitli çevresel tepkilere dahil olan proteinleri kodlarken, aşağı regüle edilmiş genler fotosentez, translasyon ve Deoksiribo nükleik asit (DNA) replikasyonu ile ilgili olanları içermektedir (Avila vd., 2018). Ayrıca sıcaklık vejetatif gelişimden generatif gelişime kadar olan bütün süreci etkilemektedir (Hatfield ve Prueger, 2015). Bitki gelişim sürecinde yüksek sıcaklıklar sebebiyle bitki daha hızlı gelişmekte, bu sebeple vejetasyon süresi düşmekte ve böylece verimde düşme ile sonuçlanmaktadır (Morales vd., 2020). Mısır bitkisinin gelişim sürecinde meydana gelen stres, bitki verimine oldukça fazla zarar vermekte (Kılınç, 2016), dolayısıyla bitkilerin sıcaklık karşısında verdikleri biyokimyasal, fizyolojik ve moleküler tepkimeler / değişimler araştırılmalıdır.

Mısır bitkisi hemen her tür toprakta yetişebilmesine rağmen yüksek verim için mineral elementçe zengin, sulama sorununun olmadığı iyi strüktürlü toprakları seçmektedir. Ancak mısır yetiştiriciliğini sınırlandıran faktörlerin başında gelen sıcaklık stresi, makro moleküllerden biri olan proteinleri etkilemektedir (Timperio vd., 2008). Moleküler seviyede ısı stresi, ozmoprotektanlar, iyon taşıyıcılar, detoksifiye edici enzimler, transkripsiyon faktörleri ve ısı şoku proteinlerini (HSP) kodlayan bir dizi genin ifadesinde değişikliklere neden olur. Isı stresine duyarlı genler arasında HSP'ler, çeşitli bitki türlerinde yüksek sıcaklık stresi koşulu altında en sık ve kantitatif olarak gözlemlenen genlerdir. Sıcaklık stresi, mitokondri ve kloroplastın plazma zarının bütünlüğünü bozarak reaktif oksijen türlerinin (ROT) aşırı birikimine yol açar. Sinyal dizisinin aktivasyonu ile HSP'nin transkripsiyonu indüklenir (El-Sappah vd., 2022).

1962'de *Drosophila melanogaster* (Meyve sineği) hücrelerinde tanımlanan HSP'ler, (Ritossa, 1962) sıcaklık gibi çevresel stres faktörlerine maruz kaldığında uyarılmakta,

(Rizhsky vd. 2002) ve protein kalite kontrolünde yer alan moleküler şaperonlar, esas olarak stres sırasında yanlış katlanmış proteinlerin doğru şekilde yeniden katlanmasına yardımcı olmakta ve bu da protein kümelenmesini önlemektedir. HSPler, ısı stresinin bir sonucu olarak bitkilerde biriktiklerinde, başlangıçta tanınan strese duyarlı bir protein ailesini içerir ve daha sonra termo-toleransta temel işlevlerde rol almaktadır. Aynı zamanda, pek çok çevresel gelişimsel olay da HSP'lerin oluşumunu indükleyebilir (Feder ve Hofmann, 1999).

Isı şoku proteinlerinden HSP90 ve HSP70 protein grubu bitkilerin normal gelişimi ve stres koşulları altında önemli rol oynamaktadır. Aynı zamanda bu iki HSP ailesinin yüksek ve düşük sıcaklık stresinde olduğu kadar tuzluluk, ağır metal ve kuraklık streslerinde de canlıların çoğunda potansiyel bir biyo-markör olarak önerildiği bildirilmiştir (Timperio vd., 2008). HSP90 bitki bağışıklığında temel rol oynarken (Kadota ve Shirasu, 2012), HSP70 üzerinde en çok çalışılan ve evrimsel süreçte en çok korunan stres uyarımlı proteindir (Masand ve Yadav, 2016).

Bitkilerde mikorizal simbiyozun, sıcaklık stresine karşı toleransı geliştirmek adına etkin bir strateji olduğu (Duhamel ve Vandenkoornhuyse, 2013) ve bitkiyle alakalı uyarıcı görevi bulunan mikroorganizmaların bitki büyümesini uyarabilirliği, biyotik ve abiyotik stres karşısında bitki direncini artırabilirliği bilinmektedir. Bitkilerin topraktan kolay bir şekilde aldığı besin elementleriyle gübrenmesinin yerine toprakta bulunan bitki besin elementlerinden optimum bir fayda sağlamaları, çevre sağlığı ve doğal kaynaklardan yararlanmaları adına daha etkin bir uygulama olmaktadır (Ortaş, 1997).

Doğal yayılım gösteren bitki kökleri ile ortak yaşam alanı oluşturan "tarımsal ekosistem mühendisleri" olarak adlandırılan mikoriza mantarları (Jajoo ve Mathur, 2021), çevresel streslere karşı bitkinin toleransını artıran (Ortaş vd. 1997), toprak verimliliği, mahsul verimliliği, verim, kalite ve ekosistem dayanıklılığı için temel olan ve bu nedenle tarım için oldukça önemli bileşenlerdir (Smith ve Read, 2008).

Mısır bitkisi ile simbiyotik yaşayan mikorizanın, bitkinin düşük veya yüksek sıcaklıklara dayanımı ile ilgili çalışmalar, çoğunlukla bitkilerin besin elementi ve su durumuna, klorofil içeriklerine, lipid peroksidasyonu, osmotik ayarlama, çözünebilir şekerler, prolin miktarı ve antioksidan enzim aktiviteleri üzerine yoğunlaşmıştır. Zhu vd.

(2010b), 10 °C'nin altındaki sıcaklıklarda mısır bitkisinin gelişiminin engellenmesiyle birlikte mikorizanın kolonizasyonun tamamen durduğunu (Liu vd. 2016), düşük sıcaklıklarda mısır köklerinde mikoriza kolonizasyonunun azaldığını, ancak mikorizalı bitkilerde azot (N), fosfor (P), potasyum (K) ve bakır (Cu) konsantrasyonlarının daha yüksek olduğunu, mikoriza inokulasyonunun mısırın besin durumunu ve bitki büyümesini geliştirerek düşük sıcaklığa dayanımını artırdığını belirlemiştir. Mikoriza mantarlarının düşük sıcaklık stresi altında mısır fidelerinde fotosentez ve solunum metabolizması ile ilgili 24 farklı ifade edilen gen tanımlanmıştır (Li vd., 2020a). Düşük sıcaklıklar bitkilerde büyümeyi ve fizyolojik süreçleri kısıtlamasına rağmen, mikoriza ile ortak yaşayan mısır bitkisinin soğuğa dayanımını artırabilmektedir (Zhu vd., 2015).

Yüksek sıcaklık stresi altında, mikoriza ile aşılınmış bitkilerin daha iyi büyüme gösterdiği belirtilmiştir (Gavito vd., 2005). Mikoriza ile simbiyotik yaşayan mısırın yapraklarındaki net fotosentez oranının, stoma iletkenliğinin ve transpirasyon oranının önemli ölçüde arttığını bildiren Zhu vd. (2011), mikorizal olmayan bitkilerle karşılaştırıldığında, mikorizal bitkilerin 40 °C stres altında daha düşük, hücreler arası CO₂ konsantrasyonuna sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Mikoriza kolonizasyonu su kullanım verimliliğini, su tutma kapasitesini, nispi su içeriğini, stoma iletkenliği ve fotosentezi iyileştirerek bitkileri yüksek sıcaklık stresine karşı koruyabilmektedir (Mathur ve Jajoo, 2020).

Olumsuz sıcaklık koşulları mikoriza sporlarının kolonizasyon kapasitesini, spor çimlenmesini ve fungal hif büyümesini engelleyebilmektedir. Sıcak toprak koşulları, mikorizal spor aktivitesini farklı şekilde etkilemekte ve olumsuz etki yapmaktadır (Liu vd., 2016). Genel olarak, bitki köklerinin mikoriza mantarları tarafından kolonizasyonu, sıcaklık 30 °C'yi aştığında azalmakta ve sıcaklık 40 °C'yi aştığında mikoriza mantarları için öldürücü hale gelebilmektedir (Martin ve Stutz, 2004).

Birçok araştırmada kullanılan mısır, yerinde bir model ve öncü olarak nitelendirilmekte, mikorizalar ile simbiyotik ilişkide oldukça başarılı sonuçlar alınan konukçu bir bitki olarak gösterilmekte olup, bitkilerin mikorizal ortak yaşamları ile sağladığı yararlar, tarımsal üretimde büyümenin, verimin ve kalitenin artması, çevresel etkinlikte ise uyumun artırılışı olarak tanımlanmaktadır. Artan insan sayısı ile doğru orantıda artış

gösteren gıda ihtiyacı, küresel ısınmanın sebebiyet verdiği tarımsal verim kayıpları ve gıda güvenliği adına ivedi bir iyileştirilme çalışmalarının yapılması gerektiğini gözler önüne getirmektedir (Abdelrahman vd., 2017). Mısır bitkisinde, düşük veya yüksek sıcaklık koşulları altında, mikoriza uygulaması bulunmayan çalışmalarda, termotoleransı sağlayan HSP'ler tanımlanmış (Abou-Deif vd. 2019; Kumar vd. 2019; Zhang vd. 2020), ancak literatürlerde mikoriza mantarları için tanımlanmış HSP'lere rastlanmamıştır.

Bu çalışma ile düşük ve yüksek sıcaklıklarda mikoriza ile infekte olan mısırın, çevresel stres koşulunda önemli role sahip olan HSP70 ve HSP90 proteinlerinin mısır ve mikorizadaki düzenlenmesi ve aynı zamanda fizyolojik parametreler ile mineral besin element alımlarındaki değişimlerin araştırılması hedeflenmiştir.

2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

2.1. Mikorizanın Bitki Gelişimine Etkileri

Mikorizal yaşamın çoğu karasal bitkilerde görüldüğü, tek çenekli bitkilerin %79'u, çift çenekli bitkilerin %83'ü ve açık tohumlu bitkilerin bütününün mikorizalarla karşılıklı fayda sağlanan yaşam sürdürdüğü, bitki topluluklarının %90'ının ise köklerinin mikoriza mantarı ile infekteli olduğu (Ortaş ve Varma, 2007; Okkaoğlu, 2010), uzun köklü bitkilere oranla kısa köklü bitkilerin (Fitter ve Hay, 1987) daha fazla infekte olduğu, (Okkaoğlu, 2010) toprak işleme, toprağa pestisit uygulanması ve ekim nöbeti gibi tarımsal faaliyetlerin mikorizanın infeksiyon oranını etkilediği bilinmektedir (Bagyaraj, 1991; Vestberg vd., 2005). Mikorizal infeksiyon için, mikoriza ya organik salgılar salmakta yada toprakta alınamaz durumdaki P'yi fosfataz enzimi salgılayarak, kimyasal olarak değişimini sağlayarak yararlanılmasını sağlamaktadır (Allen vd., 1981).

Mikorizanın, rizosfer alanında bulunan bitkilerle simbiyotik ilişki içinde olduğu, verim ve büyümeyi artırıcı bitki hormonları üretimi ile karakterize edildiği (Siddiqui ve Futai, 2008), mikorizalı bitkilerin saplarında daha düşük kuru madde oranına sahip olmalarının ve birim kuru maddede daha fazla fotosentez gerçekleştirmesinin sebebinin saptaki karbonu daha etkin kullanmasından kaynaklandığı belirlenmiştir (Snellgrove vd., 1982).

Mikoriza mantarları doğada yaygın olarak bulunurlar ve genellikle yaşamlarını bitkilerle ortak sürdürmektedirler. Mikoriza mantarları bitki köklerine besin maddelerini uzaktan taşıyarak ulaştırırlar. Mikorizal bağlantının olduğu bitkiler toprak kökenli mantar patojenlerine ve nematodlara da dayanıklı olmaktadır (Yıldız, 2009). Mikoriza mantarları bitkilerin besin ve su alımında yardımcı oldukları gibi abiyotik streslere karşı dayanımlarını da arttırmaktadırlar (Ortaş vd., 1999). Bitki kökleri ile ortak yaşam alanı oluşturan bu mantarlar, ticari önemi olan çoğu bitkiye yayılabilmektedir.

Mikoriza mantarları P başta olmak üzere bitki gelişimi için gerekli mineralleri enzimler tarafından çözünür hale getirerek hifleri yardımıyla bitkiye taşımaktadırlar. Mikoriza simbiyozunun genellikle tarımsal ekosistemler için gübre girdisine olan ihtiyacı azaltmak, toprak stabilitesini artırmak ve bitkileri abiyotik ve biyotik streslere karşı korumak gibi birçok faydası olduğu kabul edilmektedir (Gianinazzi vd., 2010).

Yüksek ve düşük sıcaklıklar nedeniyle mikorizal etkinliğin azaldığı, 40 °C üzerinde sporların çimlenmesi durduğu, 20 °C'nin altında mikoriza sporlarının etkinliğinin yavaşladığı (Bagyaraj, 1991), hayatta kalabilmeleri için gerekli optimum sıcaklığın 30 °C olduğu bildirilmiştir (Schenck ve Schroder, 1974).

Çevresel faktörler ve biyolojik çeşitliliğin mikoriza ile konukçu bitki arasındaki besin değişimini etkilediği bilinmektedir (Palta vd., 2010). Mikorizalar kök korteksine kolonize olmakta, yüksek miktarlarda hif üretimi yaparak bitki kök yüzey alanını genişletmekte, uzak mesafede bulunan ve bitkinin topraktan alması mümkün olmayan besin maddelerini hifleriyle alıp, bitkinin üst bölümlerine taşınmasını sağlamaktadır. Ayrıca su taşınımıyla da bitkilerin su stresine maruz kalmasının önüne geçmektedir. Bu sayede bitkinin mikorizal fungusa karbon sağladığı, mikorizal fungusun ise bitkiye besin elementi sunduğu simbiyotik yaşam döngüsü meydana gelmektedir (Marschner ve Dell, 1994; Ortaş, 1997; Al-Karaki, 2000). Mikorizaların su ve besin maddelerinin alımını iyileştirmesinin dışında bitki büyümesini, antioksidan enzim aktivitelerini artırdığı, stres faktörleri karşısında bitkide dayanıklılık etkisi gösterdiği, çözülebilir şeker içeriği gibi net fotosentez hızı ve etkinliğini, fotosentetik su kullanımındaki etkinliği ve bunların sonucunda toplam verimi artırdığı tespit edilmiştir (Al-Karaki, 2000; Ruiz-Lozano, 2003). Uygun koşullarda, mikoriza bitkide P, Ca, Zn, Cu, Fe, Mg ve Mn içeriğini artırdığını bildirilmiştir (Smith ve Read, 2008; Küçükşumuk vd., 2014). Mısır ve buğday gibi bazı tahıl bitkilerinde toprakta Zn azlığında mikoriza uygulandığında Zn alımını arttığı belirlenmiştir. (Faber vd., 1991; Korkmaz, 2005).

Mikorizaların, biyotik ve abiyotik etkenlere bağlı olarak farklılık gösterebildiği, hifler ile kök bölgesinin 4 cm uzağında bulunan besinlerin alınarak bitki köküne iletildiği (Smith ve Smith, 1981), kök bölgesinin absorbe alanında 10 kata kadar genişleme sağladığı, P, Zn ve Cu gibi topraktan alınmasının yavaş olduğu, elementlerin alınmasını ise 60 kata kadar artırabildiği bilinmektedir. Bunun dışında N gibi kısmen hareketli olan besinlerin

alınmasında, besin kayıplarının da en aza indirgenmesinde rol almakta olduğu tespit edilmiştir (Linderman, 1994). Fosfor, Zn ve Cu gibi toprakta bulunan, alınması zor olan besin elementlerinden yararlanabilmek adına bitkinin kök bölgesine difüzyonla ulaşması gerekmektedir (Allen vd., 1981).

Reich vd. (2006), mikorizal funguslar besin alımını artırarak bitki büyümesini sağlanmasının yanı sıra CO₂ konsantrasyonundaki yükselmeye gelişiminde desteklenebildiği bildirilmektedir. Tisdall (1994), mikorizaların besin maddesi alımında artış sağlamasının haricinde stres faktörleri karşısında bitkinin dayanıklılığını artırarak, bitkinin büyümesini destekleyen hormonlar salgılamasını sağlamakta, miselleriyle toprak agregatlarını bir yumak şeklinde sarmakta, salgılanan enzimler ile toprak strüktürünü iyileştirerek toprak erozyonunu da engellemektedir.

Ortaş ve Akpınar (2011), mikorizanın, mısırın büyümesinde etkili olduğu, kök ve sürgün kuru ağırlığı üretiminde en verimli türün *Glomus intraradices* olduğu, kök kolonizasyonuna bakıldığında ise en yüksek *Glomus clarium*'un olduğu belirlenmiştir. Pagasso mısır çeşidinin Zn alımının yüksek, P.32K61 mısır çeşidinin ise P alımının yüksek olduğu belirlenmiştir. *Glomus clarium* ile aşılansmış mısırdaki fazla miktarda Zn ve P içeriğine rastlanılmışken; *Glomus intraradices*'in Zn ve P alımında etkili olduğu belirlenmiştir.

Chen vd. (2014), kolonizasyon oranları düşük sıcaklıklara oranla ortam sıcaklıklarında önemli ölçüde daha yüksek olduğu, en yüksek kolonizasyon oranı *Glomus etunicatum*'da görülmekteyken takiben *Glomus tortuosum* gelmekte, en düşük oran ise *Glomus intraradices*'de görülmüştür. Düşük sıcaklıkta en yüksek kolonizasyon oranı *Glomus intraradices*'de görülmekteyken, en düşük kolonizasyon oranı % 50,2 oranından % 26,3 oranına düşen *Glomus tortuosum*'da ve % 55,6 oranından % 20 oranına düşen *Glomus etunicatum*'da görülmüştür. Düşük sıcaklıklarda 4 mikoriza türünün ortalama kolonizasyon oranı % 17,7 oranında düşmüş ve sonuç olarak aşılansan bitkilerin aşılansmayan bitkilere oranla daha iyi performans gösterdiği saptanmıştır.

2.2. Mısır - Mikoriza Simbiyozunun Sıcak Stresine Etkileri

Küresel sıcaklıklar iklim değişikliği nedeniyle keskin bir şekilde değişerek mısır üretimini ciddi şekilde etkilemektedir. Aynı etki simbiyotik mikoriza mantarlarının büyümesi ve aktivitesi üzerinde de görülmüştür. Yüksek sıcaklıkların mikorizanın kolonizasyon kapasitesini, spor çimlenmesini ve fungal hif büyümesini engelleyebildiği, mikoriza aktivitesi için ideal sıcaklığın 15-25 °C arasında olduğu belirlenmiştir. Daha fazla sıcaklıkların ise olumsuz etki yaptığı söylenmektedir (Liu vd., 2016). Genel olarak, bitki köklerinin mikoriza mantarları tarafından kolonizasyonunun, sıcaklık 30 °C'yi aştığında azaldığı (Heinemeyer ve Fitter, 2004) ve sıcaklık 40 °C'ye çıktığında genellikle mikoriza mantarları için öldürücü hale geldiği bildirilmiştir (Martin ve Stutz, 2004).

Sıcaklık, mısır bitkilerinin büyümesini ve yayılışını etkileyen en önemli çevresel faktörlerden biridir (Song ve Wang, 2005). Mısır, çeşitli sıcaklık koşullarına duyarlı, termofilik bir bitkidir. Hem yüksek hem de düşük sıcaklıklar, mısır bitkilerinin fizyolojisi ve metabolizması üzerinde etkili olarak büyüme ve gelişmesini engellemektedir. Yüksek veya düşük sıcaklıklara maruz kalan mısır bitkilerinde, i) bitki canlılığı kaybı ve tohum çimlenmesinin engellenmesi, ii) gecikmiş büyüme hızı, iii) biyokütle üretiminin azalması, iv) yaprakların ve üreme organlarının solması ve yanması, v) yapraklarda solma ve yaşlanma, vi) meyvede hasar ve renk değişikliği, vii) verimde azalma ve hücre ölümü, viii) oksidatif stres gibi sebeplerden dolayı bitki büyüme ve gelişmelerinde önemli ölçüde azalmalar meydana gelir (Wahid vd., 2007; Hasanuzzaman vd., 2013). Cheikh ve Jones (1994), 25 °C olan optimum sıcaklığın 1 °C'lik bir artışının mısır tane verimini %3 civarında düşürdüğünü bildirmiştir.

Mısır bitkisi ile simbiyotik yaşayan mikorizanın, bitkinin yüksek veya düşük sıcaklıklara dayanımı ile ilgili çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalarda, bitkilerin besin elementi ve su durumları, klorofil içerikleri, lipid peroksidasyonu, osmotik ayarlama, çözünabilir şekerler, prolin miktarı ve antioksidan enzim aktiviteleri incelenmiştir (Zhu vd., 2010a; Zhu vd., 2010b; Chen vd., 2014). Bitkiler yüksek veya düşük sıcaklığa maruz kaldıklarında ilk olarak lipid kompozisyonu ve metabolik reaksiyonları değişerek hücre membranları etkilenmektedir. Membran hasarı iyon sızıntısına, ROT'un üretimine ve lipid peroksidasyonuna neden olmaktadır (Huang vd., 2012). Reaktif oksijen türlerinin aşırı

üretimi lipid, protein, DNA ve diğer önemli makromoleküllere zarar verir. Ekstra ROT' u ortadan kaldırmak için bitkiler, enzimatik olmayan ve enzimatik antioksidan mekanizmaları içeren spesifik savunma stratejisi geliştirirler. Ayrıca, prolin ve çözünür şeker birikimi gibi bazı ozmotik ayarlamalar, hücresel membranı sıcaklık stresine karşı koruyabilir (Jaspers ve Kangasjärvi, 2010).

Genel olarak mikoriza ile aşılınmış bitkiler, yüksek sıcaklık stresi altında aşılınmamış bitkilerden daha iyi büyüme gösterirler (Gavito vd., 2005). Mikoriza ile simbiyoz yaşayan mısırın yapraklarındaki net fotosentez oranının, stoma iletkenliğinin ve transpirasyon oranının önemli ölçüde arttığını bildiren Zhu vd. (2011), mikorizal olmayan bitkilerle karşılaştırıldığında, mikorizal bitkilerin 40 °C stres altında daha düşük hücreler arası CO₂ konsantrasyonuna sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Mikoriza kolonizasyonu su kullanım verimliliğini, su tutma kapasitesini, nispi su içeriğini, stoma iletkenliği ve fotosentezi iyileştirerek bitkileri yüksek sıcaklık stresine karşı koruyabilir (Mathur ve Jajoo, 2020). Mısır bitkisi yüksek sıcaklıklardan olduğu kadar düşük sıcaklıklardan da olumsuz etkilenmektedir ve özellikle büyümesinin ilk aşamalarında verim azalışıyla sonuçlanan düşük sıcaklıklarla karşılaşabilmektedir. Soğuk stresi mısırdaki fotosentezin ve enzim aktivitelerinin azalmasına, yapraklarda ve tanede karbonhidratların bozulmasına, hücre duvarı değişimlerine ve su açıklarına neden olabilir (Leipner ve Stamp, 2009; Bilska-Kos vd., 2017). Mikorizanın, bitkinin soğuk stresine toleransını artırabileceği ve pek çok bitkide olduğu gibi mısırın da mikoriza ile aşılınması durumunda soğuk stresi altında oksidatif stresin ve ROT birikiminin azalmasıyla soğuk toleransının artarak bitkilerin daha iyi gelişme gösterdiği bildirilmiştir (Chen vd., 2014). Zhu vd. (2010a), 10 °C'nin altındaki sıcaklıklarda mısır bitkisinin gelişiminin engellenmesiyle birlikte mikorizanın kolonizasyonun da tamamen durduğunu bildirmişlerdir.

Düşük sıcaklıklar mikorizal bitkilerde büyümeyi ve fizyolojik süreçleri kısıtlamasına rağmen, mikorizal simbiyozun hem konukçu bitkinin hem de mikoriza bitkisinin soğuğa dayanımını arttırdığı önceki çalışmalarla rapor edilmiştir (Smith vd., 2011; Zhu vd., 2015). Liu vd. (2017), düşük sıcaklıklarda mısır köklerinde mikoriza kolonizasyonunun azaldığını, ancak mikorizalı bitkilerde N, P, K ve Cu konsantrasyonlarının daha yüksek olduğunu, mikoriza inokulasyonunun mısırın besin durumunu ve bitki büyümesini geliştirerek düşük sıcaklığa dayanımını arttırdığını belirlemişlerdir.

Yapılan bazı çalışmalar, düşük sıcaklığın, mısır bitkilerinde bir çekirdek gen takımının yukarı veya aşağı regüle edilmesine yol açtığını göstermiştir. Tanımlanmış yukarı regüle edilmiş genler, sitokinin glukozid biyosentez enzimlerini, transkripsiyon faktörlerini, sinyalleme moleküllerini ve çeşitli çevresel tepkilere dahil olan proteinleri kodlarken, aşağı regüle edilmiş genler fotosentez, translasyon ve DNA replikasyonu ile ilgili olanları içermektedir (Avila vd., 2018). Li vd. (2020b), mikoriza mantarlarının düşük sıcaklık stresi altında mısır fidelerinde gen ekspresyonuna etkilerini incelemişler, fotosentez ve solunum metabolizması ile ilgili 24 farklı ifade edilen gen tanımlamışlardır. Bunun yanı sıra, mitojenle aktive olan protein kinaz transdüksiyon yolunun, ROT sinyalinin ve HSP'nin sinyal yollarının yukarı regülasyonu, bitkinin düşük veya yüksek sıcaklık stresi altında transkripsiyonel regülasyonunda önde gelen oyuncular gibi görünmektedir (Kotak vd., 2007). Isı stresi esas olarak proteinin uygunsuz katlanmasıyla sonuçlanır ve bu da protein disfonksiyonuna ve kümelenmesine yol açar. Proteinlerin veya enzimlerin yanlış katlanması, bitkinin genel büyümesini ve gelişimini olumsuz etkiler. Bitkiler ısı stresi ile baş edebilmek için sinyal basamaklarını ve ısı şoku transkripsiyon faktörleri gibi düzenleyici proteinleri aktive ederek, hücrel dengeleşimi sürdürmek için antioksidan savunma sistemini aktive veya modifiye ederek, ozmotik ayarlamaya yardımcı olan poliaminler, şekerler, prolin, betainler vb. uyumlu çözeltileri sentezleyerek ve biriktirerek metabolizmalarını birçok şekilde değiştirirler.

Moleküler seviyede ısı stresi, ozmoprotektanlar, iyon taşıyıcılar, detoksifiye edici enzimler, transkripsiyon faktörleri ve HSP'leri kodlayan bir dizi genin ifadesinde değişikliklere neden olur. Isı stresine duyarlı genler arasında HSP'ler, çeşitli bitki türlerinde yüksek sıcaklık stresi koşulu altında en sık ve kantitatif olarak gözlemlenen genlerdir. Isı şoku proteinleri, protein kalite kontrolünde yer alan moleküler şaperonlardır, esas olarak stres sırasında yanlış katlanmış proteinlerin doğru şekilde yeniden katlanmasına yardımcı olurlar ve bu da protein kümelenmesini önler, dolayısıyla mahsullerde ısı ve diğer abiyotik stres toleransının olumsuz etkisinin azalmasında önemli bir rol oynarlar. Isı şoku proteinleri, ısı stresinin bir sonucu olarak bitkilerde biriktiklerinde başlangıçta tanınan strese duyarlı bir protein ailesini içerir ve daha sonra termo-toleransta temel işlevleri de rol oynarlar. Aynı zamanda, çevresel gelişimsel pek çok olay da HSPlerin oluşumunu indükleyebilir (Feder ve Hofmann, 1999). Mısır bitkisinde yüksek veya düşük sıcaklık koşulları altında

termotoleransı sağlayan HSPler tanımlanmış olmasına rağmen (Abou-Deif vd. 2019; Kumar vd. 2019; Zhang vd. 2020), mikoriza mantarları için tanımlanmış HSP'lere rastlanmamıştır. Aynı zamanda mısır bitkisiyle simbiyotik yaşıyan mikoriza mantarlarının yüksek ve düşük sıcaklıklara toleransının genetik mekanizmasına ait açıklanamayan kısımlar mevcuttur. Bu nedenle, mısır genotipleri arasındaki yüksek ve düşük sıcaklık toleransı farklılıklarının belirlenmesi yanında, mikorizanın da ısı stresine toleransının geliştirilmesi için farklı moleküler yaklaşımların temelini sağlayacak ve böylece çok sayıda tarımsal faydaya sahip olabilecek çalışmalara ihtiyaç vardır.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1 Mısır çeşidinin özellikleri

Araştırmada kullanılan mısır çeşidinin (PL472) tohumları ticari bir şirketten temin edilmiştir. Mısır çeşidinin koçanları kırmızı, daneleri koyu sarı, at dişi tane tipi özelliğinde, orta erkenci (FAO500) ve yüksek verim potansiyeline sahiptir (Polen Tohumculuk, 2023).

3.1.2 Arbusküler mikorizal fungus (AMF) izolatları

Çalışmada mısır bitkilerine dört farklı mikoriza tür karışımı uygulanmıştır. Üç farklı mikoriza tür karışımı, Diyarbakır Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü'nden ve bir ticari mikoriza tür karışımı ise ithal edilip üreticilere satış yapan bir şirketten (Bioglobal Endo Roots Soluble-ERS) temin edilmiştir. Mikoriza preperatları deneme kuruluncaya kadar +4 °C'de muhafaza edilmiştir. Mikoriza izolat karışımlarının içerikleri aşağıda belirtilmiştir.

M1-DYB4 (*Glomus mossea*, *Glomus intraradices*)

M2-DYB17 (*Glomus intraradices*, *Glomus constrictum*, *Glomus microcarpum*)

M3-DYB22 (*Gigaspora sp.*, *Glomus constrictum*, *Glomus fasciculatum*)

M4-ERS (*Glomus intraradices*, *Glomus aggregatum*, *Glomus mosseage*, *Glomus clarium*, *Glomus monosporus*, *Glomus deserticola*, *Glomus brasilianum*, *Glomus etunicatum*, *Gigaspora margarita*)

3.1.3 Araştırmada kullanılan toprağın özellikleri

Toprak materyali Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Ziraat Fakültesi Uygulama ve Araştırma arazisinden 0-30 cm derinlikten alınmış, fiziksel ve kimyasal özellikleri belirlenmiş ve içerikleri yorumlanmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Araştırma topraklarının bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri

Kum	Silt	Kil	pH	Tuz	CaCO ₃	O.M	P ₂ O ₅	K ₂ O	Fe	Zn	Cu	Mn
(%)				(%)			(kg da ⁻¹)		(mg kg ⁻¹)			
44,2	32,64	23,16	7,99	0,01	1,98	1,08	5,6	254	2,81	0,24	1,73	5,64
Kumlu tın			Alkalın	Tuzsuz	Kireçli	Az	Az	Yeterli	Orta	Az	Yeterli	Az

3.2. Yöntem

3.2.1. Toprağın özellikleri ve analizleri

Araziden getirilen toprak örnekleri kurutulup, 2 mm'lik elekten geçirildikten sonra bazı fiziksel ve kimyasal analizleri Soil Survey Manual (2004)'de belirtilen standart yöntemlere göre yapılmıştır. Toprakların kum, silt ve kil içerikleri, Bouyoucus tarafından belirtildiği şekilde hidrometre yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Toprakların tekstür sınıfları, tekstür üçgeninden yararlanılarak tespit edilmiştir (Bouyoucous, 1952).

Toprakların pH'sı Richards (1954), tarafından bildirildiği şekilde 1:2,5 toprak-su (kütle:hacim) oranında sulandırılarak, pH metre ile belirlenmiştir. Tuz içeriği, saturasyon ekstraktındaki iletkenlik, iletkenlik ölçer (kondaktivimetre) aletiyle ölçülerek belirlenmiştir. Organik madde miktarı Walkley-Black yöntemine göre tayin edilerek, sonuçlar % olarak ifade edilmiştir. Kireç içerikleri ise Scheibler kalsimetresi ile belirlenmiştir.

Topraktaki alınabilir P miktarı Grewelling ve Peech (1960)'in geliştirdiği yöntemine göre (pH 8,5'da 0,5 M sodyum bikarbonat ile ekstrakt edilerek) belirlenmiştir. Topraktaki alınabilir K miktarı Sillanpaa (1990)'nın geliştirdiği metoda göre 1 N NH₄OAc (pH 7,0) ile ekstraktla çözeltiye geçen potasyum, alev fotometresi ile tayin edilmiştir.

Toprakların alınabilir Zn, Fe, Cu ve Mn konsantrasyonları Dietilentriaminpentaasetikasit (DTPA) yöntemine göre (Lindsay, 1979) yapılmış olup bu metallerin derişimleri Atomik Absorpsiyon Spektrometrede (Analitik Jena, NovAA 350) belirlenmiş ve analizin doğruluğu laboratuvarımızda bulunan standart sertifikalı toprak (GBW07412a) ile doğrulanmıştır.

Toprakların tarla kapasitesini belirlemek için ilk önce tüm saksılar yetiştirme materyali ile doldurularak ve sulama suyu uygulanarak doyurulmuştur. Üstleri naylon ile kapatılarak buharlaşmanın önüne geçilmiş, saksıların altında yer alan deliklerden su akışı takip edilmiştir. Saksılardan su akışının kesilmesi ile saksılar tartılmış ve böylece saksıların tarla kapasitesi belirlenmiş olup, bitki yetiştirilmesinde buna göre sulama yapılmıştır (Camoglu, 2013).

3.2.2. Bitki yetiştirme ortamı, saksı ve tohumların sterilizasyonu

Bu çalışma, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü laboratuvarı, bitki büyütme odası ve bitki büyütme kabininde yürütülmüştür.

Bitkilerin yetiştirildiği toprak:torf:perlit:kum (1:1:0,5:0,5 oranında) hazırlanarak otoklavda 2 saat 121 °C’de 1,5 Atm basınçta sterilize edilmiştir. Deneme başlayıncaya kadar topraklar ağzı kapalı naylon torbada muhafaza edilmiştir. Denemelerde 3 litrelik plastik saksılar kullanılmıştır. Saksılar deneme öncesinde çeşme suyu ile yıkandıktan ve %10’luk sodyum hipoklorid (NaOCl) çözeltisinden geçirildikten sonra 3 defa saf sudan geçirilmiştir. Ardından deneme öncesinde saksılar bir kez de etanol ile steril edilmiştir.

Denemede kullanılan mısır tohumları ekimden önce %70’lik alkolde 1 dakika, %2’lik sodyum hipoklorid (NaOCl) çözeltisinde 3 dakika bekletilmiş, 4 defa steril saf su ile durulandıktan sonra tohumlar saf su bulunan 100 ml erlenlere koyulup 1 gün bekletilmiştir.

3.2.3. Denemenin kurulması, mikoriza uygulamaları ve bitkilerin yetiştirilmesi

Çalışmanın; (1) toprak analizleri, sterilizasyon, yetiştirme ortamının hazırlığı, ekim, hasat, bitki örneklerinin alınması, bitki analizleri bölümleri laboratuvarında; (2) bitkilerin 6 hafta boyunca 25/17 °C’de %65 nem, 14 saat aydınlık ve 10 saat karanlık periyodunda 20000 lux ışık şiddeti ile yetiştirilmesi aşaması bitki büyütme odasında; (3) düşük ve yüksek sıcaklık uygulamaları ise sıcaklığı 0 ile +60 °C arasında 20000 lux ışık şiddetine ayarlanabilen bitki büyütme kabininde yürütülmüştür.

Beş mikoriza uygulaması (M0:mikorizasız/kontrol, M1, M2, M3 ve M4 mikoriza preparatları) altında bir mısır çeşidinin (PL472) yetiştirilmesi ve 7 sıcaklık (S) uygulaması (5 °C, 10 °C, 15 °C, 25 °C (kontrol), 35 °C, 40 °C ve 45 °C) ile 3 tekerrürlü olarak faktöriyel deneme desenine göre deneme kurulmuştur.

Temel besin elementlerini içeren gübre çözeltileri, her kg toprağa 200 mg N için $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 125 mg K ve 100 mg P için KH_2PO_4 , 2,5 mg Fe için Fe-EDTA ve 5 mg Zn için $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 'dan hazırlanmış ve sterilize edilen deneme toprağı ile karıştırılmıştır. İncelenen mikoriza türlerinden ayrı ayrı her bir kg toprağa 2000 mikoriza sporu tohum yatağının 3 cm altına gelecek şekilde toprağa uygulanmış, sonra üzerine bir miktar toprak örtülüp, saksılara 8 adet tohum ekildikten sonra tekrar üzerine uygun miktarda toprak ilave edilerek ekim işlemi tamamlanmıştır. Bitkilerin çıkışından sonra her saksıda 4 bitki kalacak şekilde seyreltme yapılmıştır. Bitkiler 25/17 °C'de, 14 saat aydınlık/10 saat karanlık, 20000 $\text{lux m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ışık yoğunluğu ve %60 nem koşullarında yetiştirilmiştir. Bitkiler hasata kadar tarla kapasitesinde olacak şekilde deiyonize su ile sulanmıştır. Bitkilerin 5-6 yapraklı döneminde üst gübre olarak ekimdeki miktarda N uygulanmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Mısır bitkilerinin görünümü

3.2.4. Sıcaklık uygulamaları ve hasat

Sıcaklık uygulamalarına bitkiler 6 haftalık olduğunda başlanılmıştır. Mısır bitkileri 6 haftalık oldukları dönemde optimum mikoriza kolonizasyonu sağlanmış olmaktadır (Kothari vd. 1991; Zhu vd. 2010a; 2011; 2015). Ayrıca belirlenen düşük ve yüksek sıcaklıklar ile mısır bitkisinin arazi koşullarında karşılaşacağı dönemi de temsil etmektedir.

Kontrol grubundaki mikoriza uygulanmayan (M0) ve mikoriza uygulanan (M1, M2, M3 ve M4) bitkiler, 25/17 °C sıcaklıkta kontrolü koşullarda yetiştirilip, 6 hafta sonunda hasat edilmiştir. Düşük ve yüksek sıcaklık uygulamalarında, bitkiler sıcaklığı 0 ile +60 °C arasında 20000 lüks ışık şiddetine ayarlanabilen bitki büyütme kabine alınmış ve 24 saat boyunca (14 saat aydınlık; 10 saat karanlık) (5 °C, 10 °C, 15 °C, 35 °C, 40 °C ve 45 °C'lerde) tutulup, 24 saatlik süre sonunda her sıcaklık derecesine ait bitkiler sırasıyla kabinden alınarak hasat edilmiştir.

3.2.5. Bitkilerde incelenen özellikler

3.2.5.1. Yaş ve kuru ağırlığın belirlenmesi

Hassas terazi ($\pm 0,1$ g) kullanılarak belirlenen bitkinin yaş ağırlıkları, kese kağıtlarına alındıktan sonra 65 °C'de sabit bir ağırlığa geldiğinde tartımları alınarak kuru ağırlıkları belirlenmiştir.

3.2.5.2. Mineral element içeriğinin belirlenmesi

Hasat edilen bitkilerin toprak üstü kısımları önce musluk suyu ile yıkandıktan sonra sırasıyla bir kez saf su, 0,2 N HCl çözeltisi, iki kez saf su ile yıkanmış, kaba filtre kâğıdı üzerinde fazla suları alınarak ve kurutma dolabında 65 °C'de sabit ağırlığa gelinceye kadar kurutulmuştur. Kuruyan örneklerin ağırlıkları belirlendikten sonra tungsten kaplı bitki öğütme değirmeninde öğütülmüştür.

Kurutulan ve öğütülen örneklerden 0,3 g tartılarak HNO₃ ile mikrodalga fırında (CEM Mars6) çözündürülmüş, örnekler 25 ml'lik balon jojeye aktararak soğutulmuş ve ultra saf su ile derecesine tamamlanmıştır. Bu süzükler mavi bant filtre kağıdı ile süzülerek

25 ml'lik polietilen şişelere aktarılmış ve süzükte toplam N kjeldahl yöntemine göre, P vanadamolibdat sarı renk yöntemine göre spektrofotometrede (Thermo AQA2000E), K, Ca ve Mg alev fotometre (BWB/XP2011) ile Zn, Fe, Cu ve Mn ise atomik absorpsiyon spektrofotometre cihazı (Analytik Jena, NovAA 350) ile belirlenmiştir (Kacar ve İnal, 2008).

3.2.5.3. Klorofil içeriğinin belirlenmesi

Bitki yaprağının klorofil içeriği klorofil metrenin (Spectrum Field Scout CM 1000) yaprakdan 30 cm uzak tutulması ile hasattan hemen önce belirlenmiştir (Wenkel vd., 2003).

3.2.5.4. Membran dayanıklılık indeksinin (MDİ) belirlenmesi

Bitkilerin yapraklarında membran dayanıklılık indeksini belirlemek amacıyla her koşuldaki bitkilerden şansa bağlı olarak hasat edilen yapraklar, bir bistüri ile dikkatlice kesilmiş ve buradan alınan yaprak örnekleri en az 6-7 kez saf su ile iyice yıkanmıştır. Bu işlemle yaprakların kesilen bölgelerinden gelebilecek hücresel sıvı kontaminasyonun MDİ değerlerinin etkilenmesi önlenmiştir (Griffith vd., 1992). Daha sonra bu örneklerden 1 cm yaprak kesiti dikkatlice alınmış 5 ml tüpler içine konulmuş üzerine 5 ml saf su ilave edilerek çalkalayıcıda 24 saat çalkalanmış ve 5 ml'lik saf suya geçen nisbi iyon miktarı (A), elektrik kondüktivimetre ile ölçülmüştür. Daha sonra aynı örnekler 100 °C'lik su banyosunda 30 dakika tutulmuş, kaynatma sonrası oda sıcaklığına gelene kadar bekletilmiş ve nisbi iyon miktarı (B) tekrar ölçülmüştür. Bu işlemlerden sonra yaprakların membran dayanıklılık indeksi % olarak denklem 3.1'e göre hesaplanmıştır:

$$MDİ = (1 - A/B) \times 100 \quad (3.1.)$$

3.2.5.5. Malondialdehit (MDA) miktarının belirlenmesi

Bitkilerin yaprak dokularındaki membran zararı, Hodges vd. (1999)'un metodu kullanılarak lipid peroksidasyonunun son ürünü olan (MDA) miktarı ile belirlenmiştir. Bu yöntemle göre; kontrol ve stres gruplarına ait bitkilerin yapraklarından 3 tekrarlı olarak alınan 0,1 g taze yaprak örneği küçük parçalara ayrıldıktan sonra 2 ml % 5 trikloroasetik asit (TCA) ile buz üzerinde homojenize edilmiştir. Bu karışım 25 °C'de 12000 rpm'de 15 dakika santrifüjlenmiş ve MDA miktarını belirlemek için üst sıvıdan kullanılmıştır. Eşit hacimde üst sıvıdan ve içinde % 0,5 tiyobarbitirik asit (TBA) bulunan % 20'lik TCA çözeltisi yeni tüplere alınmıştır. Daha sonra 95 °C'de 30 dakika su banyosunda tutulan tüpler buz banyosuna konulmuş ve böylece tüplerdeki reaksiyonlar durdurulmuştur. Bu işlemten sonra, tüpler 5 dakika 1000 rpm'de santrifüjlenmiş, spektrofotometrede 532 ve 600 nm dalga boyunda absorbansları ölçülmüştür. Kör olarak içinde % 0,5 TBA bulunan % 20'lik TCA çözeltisi kullanılmıştır. Yaprak dokularındaki MDA miktarı nmol g TA⁻¹ olarak aşağıdaki denkleme (3.2) göre hesaplanmıştır:

$$MDA \text{ içeriği} = [(A532 - A600) \times \text{ekstraksiyon hacmi}] / [155 \times \text{örnek miktarı}] \quad (3.2.)$$

3.2.5.6. Prolin Analizi

Prolin analizi Bates vd. (1973)'nün belirttiği metod izlenerek gerçekleştirilmiştir. Analiz için 0,2 g bitki yaprağının %3'lük 4 ml sülfosalisilik asit ile homojenize edilerek 6000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Cam deney tüplerine 2 ml üst fazdan alınmış ve üzerine 2 ml donar asetik asit ve 2 ml asit ninhidrin eklenmiştir. Tüplerin ağzı alüminyum folyo ile kapatılmış 100 °C'de 1 saat etüvde bekletilmiştir. Etüvden alınan örnekler 10 dakika boyunca buz banyosunda bekletilerek soğuması sağlanmıştır. Soğuyan örneklerin üzerine 4 ml tolüen eklenerek hafifçe çalkalanmış ve 5 dakika bekletilmiştir. Tüplerde iki faz oluşunca üst fazdan örnekler alınarak 520 nm'de önceden hazırlanan kalibrasyon eğrisi üzerinde derişimler saptanmıştır. Prolin miktarı µmol prolin/g olarak denklem 3.3'e göre hesaplanmıştır:

$$Prolin = [(\mu g \text{ prolin} / ml \times ml \text{ tolüen}) / 115,5 \mu g / \mu mol] / [(g \text{ örnek}) / 5] \quad (3.3.)$$

3.2.5.7. Antioksidan enzim aktivitesinin belirlenmesi

Antioksidan enzim (SOD, GR, APX ve CAT) aktivitesi analizleri Çakmak ve Marschner (1992)'ın belirttiği metoda göre yapılmıştır.

Bu amaçla öncelikle, 0,2 g bitki yaprağı 2 ml K-P tamponu (pH 7,6) içerisinde homojenize edilmiş ve 15000 g'de 20 dakika boyunca 4 °C'de santrifüj edilmiş, ardından örnek üst fazı (süpernatant) alınmış ve her bir enzim aktivitesi için aşağıda detaylı olarak belirtilen şekilde reaksiyonlar hazırlanarak enzim aktivitesinin okuması gerçekleştirilmiştir. Yapılan tüm enzim aktivitesi okumalarında aynı ekstraksiyondan elde edilen üst sıvıdan kullanılmıştır.

Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin belirlenmesi amacıyla; öncelikle cam deney tüplerine 2,9 ml K-P tamponu (pH 7,6), 0,5'er ml sodyum bikarbonat, metiyonin, nitro blue tetrazolyum klorid (NBT) ve riboflavin ile 0,1 ml üst sıvıdan konulmuş daha sonra tüpler hafifçe karıştırılarak 10-15 dakika ışık altında (renk maviye dönene kadar) bekletilmiş ve ardından 560 nm'de absorbansları spektrofotometrede saptanmış, enzim miktarı $\mu\text{mol}/\text{mg}$ protein olarak hesaplaması yapılmıştır.

Glutasyon redüktaz (GR) aktivitesinin belirlenmesi amacıyla; öncelikle 0,7 ml K-P tamponu (pH 7,6), 0,1'er ml okside glutasyon (GSSG), üst sıvı ve NADPH 340 nm'de 1 dakika boyunca spektrofotometrede absorbans okumaları gerçekleştirilerek, toplam GR enzim aktivitesi, NADPH'nin ekstinksiyon katsayısı ($6,2 \text{ mM cm}^{-1}$) kullanılarak enzimatik olmayan oksidasyon çıkarıldıktan sonra reaksiyonun başlangıç hızından $\text{nmol}/\text{mg protein}/\text{dk}$ olarak hesaplaması yapılmıştır.

Askorbat peroksidaz (APX) aktivitesinin belirlenmesi amacıyla; öncelikle 0,7 ml K-P tamponu (pH 7,6), 0,1'er ml H_2O_2 , üst sıvı ve askorbik asit eklenmiş, ardından 290 nm'de 1 dakika boyunca spektrofotometrede absorbans okumaları gerçekleştirilmiş ve enzim miktarı $\mu\text{mol}/\text{mg protein}/\text{dk}$ olarak hesaplaması yapılmıştır.

Katalaz (CAT) aktivitesinin belirlenmesi amacıyla; öncelikle 0,8 ml K-P tamponu (pH 7,6), 0,1'er ml üst sıvı ile H_2O_2 eklenerek 240 nm'de 1 dakika boyunca

spektrofotometrede absorbans okumaları gerçekleştirilmiş ve ardından 25 °C'de, 1 dakika içinde, absorbansı μmol azaltan enzim miktarı nmol/mg protein/ dk olarak hesaplaması yapılmıştır.

Enzim aktivitelerinin yukarıda anlatıldığı şekilde belirlenebilmesinden önce protein miktarları Bradford (1976) yöntemine göre belirlenmiştir. 100 μl örnek alınarak 3 ml Bradford çözeltisi (1X) ilave edilerek hazırlanan karışım hafifçe çalkalanmış ve oda sıcaklığında 10 dakika bekletilmiştir. Çözeltinin absorbans değerleri spektrofotometrede 595 nm dalga boyunda hazırlanan Bovine Serum Albumin (BSA) standartına karşı okunmuş ve hazırlanan standart eğrisine göre protein miktarı hesaplanmıştır.

3.2.5.8. Gen ekspresyonlarının belirlenmesi

Stres uygulamalarından alınan yaprak örneklerinden ve mikoriza mantarları ile infekte olmuş bitki köklerinden toplam RNA izolasyonu aşağıdaki deney basamakları izlenerek gerçekleştirilmiştir. Havan içerisinde yaklaşık 100 mg örnek sıvı azot, kuru buz ile ince toz olacak şekilde homojenize edilmiş; öğütülmüş örnek 1,5 ml'lik eppendorf içerisine alınmış; üzerine 350ul RPL Buffer eklenmiş ve vortekslenmiş; 3 dakika oda sıcaklığında bekletilen karışım sarı kapaklı EzPure kolona aktarılmış; 13000 rpm de 1 dakika santrifüj edilerek kolonu atılmış ve süpernatant hacmi kadar %70 EtOH eklenerek pipetaj yapılmıştır. Daha sonra bu karışım mavi kapaklı kolona aktarılmış, 13000 rpm de 1 dakika santrifüj edilmiş, üzerine 500 ul RBW Buffer eklenmiş ve 13000 rpm de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Kolonun tam merkezine gelecek şekilde; 70 ul Dnase 1 eklenmiş ve oda sıcaklığında 10 dakika beklenerek üzerine 500 ul RBW Buffer eklenmiş, 2 dakika beklenip 13000 rpm de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Alttaki sıvı boşaltılmış ve üzerine 500 RNW Buffer eklenmiş 13000 rpm de 1 dakika santrifüj edilmiş, 13000 rpm de 2 dakika boş santrifüj edilmiştir. Kolonlar temiz 1,5'luk tüplere alınmış ve üzerine 50 ul RNase free water eklenerek 2 dakika beklenerek 13000 rpmde 2 dakika santrifüj edilmiştir. RNA izolasyonundan sonra nanodrop cihazı (Thermo, ABD) ile RNA saflığını belirlemek amacıyla ölçüm yapılmıştır. Ölçüm sonucunda yaklaşık 2,0'lık bir 260/280 oranı veren RNA'lar cDNA sentezi için kullanılmıştır. Bu değer in altında değere sahip örneklerden tekrar total RNA izole edilerek istenilen değere ulaşana kadar bu işlem tekrar edilmiştir. Ölçülen RNA konsantrasyonları 1000 ng/ μL olacak şekilde ayarlanmış RT-PCR ile cDNA elde edilmiştir. Elde edilen cDNA

örnekleri 100 ng/ μ L'ye ayarlanarak kullanılmış, ilgilenilen gen ürünlerinin ekspresyon düzeyleri qRT-PCR (Real-Time PCR) yöntemiyle saptanmıştır. Hazırlanan RNA örneklerinden cDNA sentezlendikten sonra qRT-PCR analizi Applied Biosystems® and StepOnePlus™ Real-Time PCR cihazı kullanılarak geçirilmiştir. qRT-PCR sonuçları (comparative CT ($\Delta\Delta$ CT)) metoduna göre analiz edilmiştir. Ekspresyon analizi yapılan HSP90 (mısır bitkisi için ACCESSION: EE257979 ve mikoriza mantarı için ACCESSION XM_025323535) ve HSP70 (mısır bitkisi için ACCESSION: DY307167 ve mikoriza mantarı için ACCESSION: BE603837) proteinlerini kodlayan genler ile housekeeping (mısır bitkisi için ZmActin1 ACCESSION: J01238 ve mikoriza mantarı için β -Actin ACCESSION: BI246188) genlerinin primer dizileri Primer 3 programı kullanılarak tasarlanmış ve Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Ekspresyon analizi yapılan genlerin primer dizileri

	Gen ismi	Forward primer	Reverse primer
Mısır	ZmActin1	ATCACCATTGGGTCAGAAAGG	GTGCTGAGAGAAGCCAAAATAGAG
	ZmHSP90	ATCTGGCACTTCAGGAACAGG	AACGCCTCCATTGCTTCGTAT
	ZmHSP70	TGCTTGACGTCACCTCCTCTC	CTCGTACACCTGGATCAACACA
Mikoriza*	β Actin	GCGTGGTATCCTTACCCTCA	GCAGGCGCATTAAAAAGTTTC
	GiHSP90	TCCAGGCAAAGCTCCAGAAG	ATAATGGCGCGAATGAACGC
	GiHSP70	AACGGCCAATGCTTCATATC	TGTTGGTGTTTGGCAAAATG

*Tüm AMF türlerinin primerleri için model organizma *Glomus intraradices* genomundan seçilmiştir.

3.2.5.9. Western blot analizleri

Stres uygulanan bitkilerden alınan yaprak örneklerinde HSP'lerin ekspresyonu Western blot yöntemi ile belirlenmiştir. Bu analiz için öncelikle bitki örneklerinden Abraham-Juárez (2019)'un belirttiği yöntemle protein saflaştırması yapılmıştır. Kullanılan örneklerin protein miktar tayini Bradford yöntemi ile yapılarak protein konsantrasyonları belirlenmiş ve örnek miktarları eşitlenmiştir. Hazırlanan örnekler %12'lik poliakrilamid jele yüklenmiş ve yürütülmüştür. Jel ile aynı boyutta bir PVDF membranı kesilmiş ve 1 dakika boyunca kare bir Petri kabında 10 ml %100 metanol içinde ıslatılmıştır. Transfer işlemi için ThermoFisher Scientific IBlot 2 Dry Blotting Sytem kullanılmıştır. IBlot 2 cihazının kendine ait sandviç şeklindeki membran aktarım sistemi kullanılmış 20 voltta 7 dakika da jelden

membrana aktarım işlemi gerçekleştirilmiştir. Transfer işleminden sonra Bloking solüsyonu hazırlanmıştır. Transfer işlemi bittikten sonra transfer kâğıdındaki jel görüntüsü kesilerek atılmış, hazırlanan bloking solüsyonu içinde 5 dakika bekletilmiştir. Antikor uygulama işlemi için, bloking 2'şer ml olmak üzere kullanılacak antikor sayısı kadar 2,5 ml'lik tüplere konularak vortexlenmiştir. Çalışmada Agrisera HSP90 ve HSP70 antikorları kullanılmıştır. IBind flex kartı 10 ml bloking solüsyonu ile ıslatılmış membran silindire sabitlenmiş, 2,5 saat sonunda membran ECL solüsyonuna yatırılmıştır. Görüntüleme işleminde kemilüminesans görüntüleme sistemi kullanılmış, 1:1 hazırlanan ECL solüsyonunda karanlık ortamda 5 dakika membran inkübe edilerek görüntüleme işlemine geçilmiştir. Filmler üzerindeki ortaya çıkan bant görüntüleri bir tarayıcı yardımıyla dijital ortama aktarılmış, bantların densitometrik analizleri ise Amerikan Sağlık Enstitüsü'nün yayınladığı "Image J" adlı program (<http://rsb.info.nih.gov/nih-image/>) yardımıyla yapılmıştır (İNFO, 2023).

3.2.5.10. Köklerde mikoriza kolonizasyonun belirlenmesi

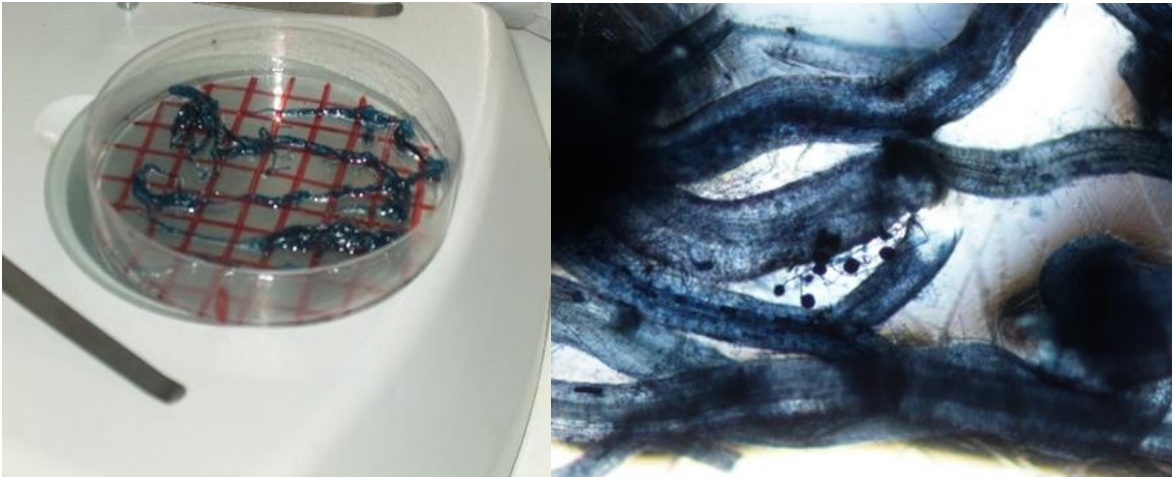
Bitkiler hasat edildikten sonra köklerin dikkatli bir şekilde topraktan ayrılması sağlanmış ve musluk suyu altında yıkanarak köklere yapışan toprak parçacıkları temizlenmiştir. Temizlenen köklerden 0,5-1 g parçalar kesilerek AFA (Alkol, Formaldehit, Asetik asit) fiksasyon sıvısına (% 70'lik 90 ml alkol + 5 ml formal + 5 ml asetik asit) konmuş ve kökler boyama işlemine kadar bu sıvı içinde +4 °C'de muhafaza edilmiştir (Phillips ve Hayman, 1970).

Mikoriza fungusun varlığını ve kolonizasyon yüzdesini saptamak amacıyla AFA sıvısı içinde muhafaza edilen kökler, trypan mavisi ile boyanmıştır (Şekil 3.2). Boya çözeltisi olarak içerisine %0,05'lik trypan mavisi eklenerek; laktik asit (40 ml) + gliserin (80 ml) + saf su (40 ml)'dan oluşan boya çözeltisi kullanılmıştır. Boyama sırasında, %10'luk KOH'da yarım gün, %10'luk HCl'de yarım saat, boya çözeltisinin içine aktararak iki saat bekletilip, 50 °C'lik sıcak su içinde 5 dakika kadar ısıtıldıktan sonra kökler saf su içinde yıkanmıştır. Saf sudan çıkarılıp laktik asit içinde bir saat bekletilmiş, laktik asit içinden çıkarılarak mikroskopik incelemeye hazır hale getirilmiştir (Phillips ve Hayman, 1970'den modifiye edilmiştir).



Şekil 3.2. AMF'yi saptamak için köklere uygulanan boyama işleminin şematik gösterimi

Grid-Line Intersect Metodu kullanılarak Trypan mavisi ile boyanmış olan köklerdeki AMF kolonizasyon %'si saptanmıştır (Giovanetti ve Mosseae, 1980). Boyanan kılcal köklerden yaklaşık 0,5 g örnek alınarak 1-1,5 cm uzunluğunda kesilen kök parçaları 1 cm²'lik alanlara ayrılmış plastik bir petri kabında eşit olarak dağıtılmış ve stereomikroskop altında incelenmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Mikroskop altında AMF'nin kolonizasyon'unun belirlenmesi a) Lactophenol blue solution ile boyanmış mısır kökleri b) Mikroskop altında AMF spor ve hif görüntüleri

Stereoskopik incelemeler esnasında petri kabındaki bölümler arası gridleri dik olarak kesen her bir kök segmenti için bir butona, eğer o vertikal kök segmenti parçasında AMF propagülü (hif, vesikel, klamidospore) varsa iki butona beraber basılarak, birinci butondaki

son rakamın 2 ile çarpımı 0,5 gr'lık kökün uzunluğunu vermiş ve aşağıdaki denklem 3.4'e göre fungal kolonizasyon yüzdesi belirlenmiştir:

$$\% \text{ AMF Kolonizasyonu} = \frac{\text{AMF ile kolonize olmuş kök sayısı} \times 100}{\text{Toplam Kök Sayısı}} \quad (3.4.)$$

3.2.6. İstatiksel analizler

Saksı denemeleri faktöriyel deneme desenine göre üç tekerrürlü olarak 5 mikoriza uygulaması (4 farklı mikoriza hattı ve kontrol), 7 sıcaklık uygulaması (3 düşük sıcaklık, 3 yüksek sıcaklık ve kontrol) ve 1 mısır çeşidini içeren deneme varyantları olarak kurulmuştur. Denemeden elde edilen bulgular faktöriyel deneme deseninde varyans analizine (ANOVA) tabi tutulmuştur. Araştırma bulguları ve ölçülen bütün değişkenler istatistiki analiz için SAS 9.13 paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ortalamalar arasındaki farklılıklar da Tukey testi ile belirlenmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Yaş ve Kuru Ağırlık

Mikoriza ile aşılanmış farklı sıcaklık uygulamaları altında mısır bitkisinin yaş ve kuru ağırlığına ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Mısır bitkisinin yaş ve kuru ağırlıklarına ait kareler ortalamaları

V.K.	S.D.	Yaş ağırlık	Kuru ağırlık
Mikoriza (M)	4	3546,2**	61,80**
Sıcaklık (S)	6	5153,9**	91,63**
M x S	24	132,3**	3,141**
Hata	70	7,3	0,274

** : %1 düzeyinde önemli.

Mikoriza, sıcaklık ve mikoriza × sıcaklık uygulamaları interaksyonu mısır bitkisinin incelenen yaş ve kuru ağırlık değeri istatistiki açıdan önemli ($P < 0.01$) bulunmuştur. Mısır bitkisinin yaş ve kuru ağırlıklarına ait mikoriza uygulamalarının ortalama değerleri incelendiğinde en yüksek değer M3 mikoriza tür karışımlarının uygulandığı mısır bitkisinden elde edilirken, en düşük değer mikoriza uygulamasının yapılmadığı (M0) grupta belirlenmiştir (Çizelge 4.2).

Sıcaklık uygulamalarının mısır bitkisinin yaş ve kuru ağırlıklarına ait ortalama değerleri incelendiğinde en yüksek değer (yaş ağırlık; 168,49 g bitki⁻¹ ve kuru ağırlık; 20,76 g bitki⁻¹) kontrol sıcaklığında belirlenirken, her iki grup için ise en düşük değer (yaş ağırlık; 118,28 ve kuru ağırlık; 13,88 g bitki⁻¹) 5 °C sıcaklık uygulamalarının yapıldığı mısır bitkisinden elde edilmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Mısır bitkisinin yaş ve kuru ağırlığına (g) ait ortalama değerleri

	Sıcaklık	M0	M1	M2	M3	M4	Ortalama
Yaş Ağırlık	5 °C	101,41 ^s	112,50 ^r	117,07 ^{qr}	136,65 ^{j-m}	123,77 ^{opq}	118,28 ^F
	10 °C	117,88 ^{pqr}	122,66 ^{opq}	126,55 ^{nop}	139,18 ^{i-l}	132,65 ^{k-n}	127,79 ^E
	15 °C	122,87 ^{opq}	130,18 ^{mno}	135,94 ^{j-m}	144,53 ^{f-j}	139,56 ^{ijk}	134,62 ^D
	25 °C	150,67 ^{e-h}	163,88 ^{cd}	168,69 ^{bc}	186,03 ^a	173,15 ^b	168,49 ^A
	35 °C	136,31 ^{j-m}	141,87 ^{hij}	151,20 ^{efg}	167,86 ^{bc}	157,91 ^{de}	151,03 ^B
	40 °C	130,70 ^{l-o}	141,33 ^{ijk}	147,60 ^{f-i}	163,53 ^{cd}	152,53 ^{ef}	147,14 ^C
	45 °C	74,87 ^t	122,05 ^{opq}	125,12 ^{o-q}	142,40 ^{g-j}	128,81 ^{mno}	118,65 ^F
	Ortalama	119,25 ^E	133,50 ^D	133,89 ^C	154,31 ^A	144,05 ^B	
Kuru Ağırlık	5 °C	11,38 ^o	12,64 ^{no}	14,32 ^{mn}	16,94 ^{g-j}	14,10 ^{mn}	13,88 ^E
	10 °C	13,99 ^{mn}	14,81 ^{lm}	16,22 ^{h-l}	17,40 ^{fgh}	15,41 ^{j-m}	15,57 ^D
	15 °C	14,45 ^m	16,68 ^{g-k}	17,87 ^{e-h}	18,21 ^{efg}	17,23 ^{f-i}	16,89 ^C
	25 °C	18,26 ^{efg}	19,35 ^{cde}	20,68 ^{bc}	23,99 ^a	21,53 ^b	20,76 ^A
	35 °C	17,20 ^{ghi}	17,76 ^{e-h}	17,96 ^{efg}	20,63 ^{bcd}	18,94 ^{def}	18,50 ^B
	40 °C	16,24 ^{h-l}	16,94 ^{g-j}	17,31 ^{fgh}	18,23 ^{efg}	17,56 ^{fgh}	17,26 ^C
	45 °C	8,30 ^p	13,94 ^{mn}	15,05 ^{klm}	17,13 ^{ghi}	15,54 ^{i-m}	13,99 ^E
	Ortalama	14,26 ^D	16,02 ^C	17,06 ^B	18,93 ^A	17,19 ^B	

Mısır bitkisinin yaş ağırlığı incelendiğinde en yüksek değer (186,03 g bitki⁻¹) M3 mikoriza tür karışımının uygulandığı kontrol sıcaklığında belirlenirken, en düşük değer (74,87 g bitki⁻¹) mikoriza uygulanmayan (M0) grupta 45 °C’de belirlenmiştir (Çizelge 4.2). Kontrol sıcaklığında bitki yaş ağırlığının en yüksek olduğu, sıcaklık değişimlerine bağlı olarak bitki yaş ağırlığının azaldığı belirlenmiştir. Mikoriza uygulamasının yapılmadığı (M0) gruba kıyasla mikoriza uygulanan mısır bitkilerinde kontrol sıcaklığında mikoriza uygulamasının yapıldığı tüm gruplarda bitkinin yaş ağırlığının arttığı belirlenmiştir. Bitki yaş ağırlığı incelendiğinde elde edilen en düşük değerlerin mikoriza uygulamasının yapılmadığı bitkilerde görüldüğü bildirilmiştir (Mahmood, 2021). *Glamus intraradices* ile aşıl原因an bitkiler, aşıl原因mayan bitkilere kıyasla yüksek taze ağırlığa sahip olduğu bildirilmiştir (Liu vd., 2004). Yapılan benzer çalışmalarda *Glomus mosseae*’nin bitki yaş ağırlığını artırdığı bildirilmiştir (Güler vd., 2021). Mikoriza ile aşıl原因mış bitkilerde sürgün yaş ağırlığının arttığı bildirilmiştir (Onoğur ve Demir, 1998; Han vd., 2011; Şen, 2008).

Düşük sıcaklık uygulamaları altında mikoriza aşıl原因mış mısır bitkileri mikoriza uygulanmayan bitkilere kıyasla incelendiğinde 5 °C, 10 °C ve 15 °C sıcaklık

uygulamalarında bitkinin yaş ağırlığının daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Yüksek sıcaklık uygulamaları altında mikoriza aşılınmış mısır bitkileri mikoriza uygulanmayan bitkilere kıyasla incelendiğinde 35 °C, 40 °C ve 45 °C sıcaklık uygulamalarında bitkinin yaş ağırlığının daha fazla olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.2).

Optimum sıcaklığa kıyasla düşük ve yüksek sıcaklıklarının sürgün taze ağırlığını azalttığı (Haghighi vd. 2015), yüksek sıcaklık stresinin sürgün taze ağırlığını azalttığı bildirilmiştir (Zhu vd., 2011). Düşük sıcaklığın mısır bitkisinin taze ağırlığını azalttığı ve mikoriza uygulanmış mısır bitkilerinde yapraklarda su kaybının azaldığı ortaya konmuştur (Zhu vd., 2010c). Yapılan bir başka çalışmada strese bağlı olarak bitki boyu ve yaş ağırlığın azaldığı, mikoriza aşılınmış bitkilerde yaş ağırlığın önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir (Sönmez vd., 2013). Stres altında bitkinin yaş ağırlığının olumsuz etkilendiği, mikorizal uygulamaya bağlı olarak bitki fizyolojik davranışının olumlu etkilendiği bildirilmiştir (Geren vd., 2011).

Mısır bitkisinin kuru ağırlığı incelendiğinde, en yüksek değer (23,99 g bitki⁻¹) M3 mikoriza tür karışımının uygulandığı kontrol sıcaklığında, en düşük değer (8,30 g bitki⁻¹) mikoriza uygulanmayan (M0) grupta 45 °C'de belirlenmiştir (Çizelge 4.2). Optimum sıcaklık koşullarında bitki kuru ağırlığının en yüksek olduğu, sıcaklık değişimlerine bağlı olarak bitki kuru ağırlığının azaldığı belirlenmiştir. Mikoriza uygulamasının yapılmadığı (M0) gruba kıyasla mikoriza uygulanan mısır bitkilerinde kontrol sıcaklığında mikoriza uygulamasının yapıldığı tüm gruplarda bitkinin kuru ağırlığının arttığı belirlenmiştir. Yapılan çalışmalar, mikoriza uygulamasının bitkinin toprak üstü aksam kuru ağırlığını arttırdığı (Almaca ve İraz, 2018), farklı mikoriza türleri uygulamalarının kontrole göre daha yüksek kuru madde üretimine neden olduğu bildirilmiştir (Korkmaz, 2005; Han vd., 2011).

Düşük sıcaklık uygulamaları altında mikoriza aşılınmış mısır bitkileri mikoriza uygulanmayan bitkilere kıyasla incelendiğinde 5 °C, 10 °C ve 15 °C sıcaklık uygulamalarında mikoriza uygulamasının yapıldığı tüm gruplarda bitki kuru ağırlığı artış göstermiştir. Yüksek sıcaklık uygulamaları altında mikoriza aşılınmış mısır bitkileri mikoriza uygulanmayan (M0) bitkilere kıyasla incelendiğinde 35 °C, 40 °C ve 45 °C sıcaklık uygulamalarında mikoriza uygulamasının yapıldığı tüm gruplarda bitki kuru ağırlığı artış göstermiştir (Çizelge 4.2).

Mikoriza uygulanan bitkilerin toprak üstü kuru aksam ağırlığı mikoriza uygulanmayan bitkilere kıyasla istatistiki açıdan önemli bulunması diğer çalışmalarla da uygunluk göstermektedir (İraz, 2015). Bu durum uygulanan mikoriza tür karışımlarına bağlı olarak mısırın daha iyi beslenmesiyle açıklanabilir. Yapılan çalışmalarda mikorizanın simbiyotik ilişki içinde olduğu bitkide diğer maddeleri üretmesine bağlı olarak bitkinin kök alanı ve uzunluğu, suyun alımı, depolanması ve taşınmasına bağlı olarak kuru madde oranının yükseldiği bildirilmiştir (Marschner, 1995; Okkaoğlu, 2010). Sıcaklık stresi altında bitki büyümesinin azaldığı ancak mikoriza aşıl原因an bitkilerde sürgün kuru ağırlığının önemli oranda arttığı bildirilmiştir (Yeasmin vd., 2019). Mikoriza aşıl原因asının yapılmadığı bitkilere kıyasla mikoriza ile aşıl原因an bitkilerde, düşük ve yüksek sıcaklık stresi altında sürgün kuru ağırlığı daha yüksek bulunmuştur (Zhu vd., 2010b). Stres altında sürgün kuru ağırlığının azaldığı, mikoriza aşıl原因asıyla sürgün kuru ağırlığının artış gösterdiği bildirilmiştir (Sönmez vd., 2013; Salim ve El-Yazied, 2015).

4.2. Bitkilerin Mineral Element Konsantrasyonu

Mikoriza ile aşıl原因anmış farklı sıcaklık uygulamaları altında mısır bitkisinin makro besin elementleri (N, P, K, Ca ve Mg) konsantrasyonlarına ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.3’de verilmiştir.

Çizelge 4.3. Mısır bitkisinin makro element konsantrasyonuna ait kareler ortalamaları

V.K.	S.D.	N	P	K	Ca	Mg
Mikoriza (M)	4	0,077**	0,015*	0,116**	0,006**	0,016**
Sıcaklık (S)	6	0,988**	0,072**	1,766**	0,016**	0,056**
M x S	24	0,059**	0,005*	0,083**	0,001*	0,004**
Hata		0,013	0,003	0,021	0,0001	0,00006

*: %5, **: %1 seviyesinde önemli.

Mikoriza, sıcaklık ve mikoriza × sıcaklık uygulamaları interaksyonu mısır bitkisinin incelenen mineral besin element konsantrasyonları üzerinde istatistiki açıdan önemli ($P<0.05$ ve $P<0.01$) bulunmuştur.

Mısır bitkisinin N, P, K, Ca ve Mg konsantrasyonlarına ait ortalama değerleri Çizelge 4.4’te verilmiştir. Mısır bitkisinde mineral element konsantrasyonları uygulanan mikoriza

türlerine göre farklılık göstermiştir. M4 mikoriza türünün N, P ve K'da, M2 mikoriza türünün ise Ca ve Mg'de en yüksek konsantrasyonlara sahip olduğu belirlenmiştir.

Sıcaklık ortalamalarına göre mısır bitkisi optimum sıcaklık olan 25 °C en yüksek N, P, K, Ca ve Mg konsantrasyonun sahip olmuştur (Çizelge 4.4). Sıcaklık ortalamaları optimum sıcaklık olan 25 °C'nin üzerine çıktığı zaman veya altına düştüğü zaman besin elementi konsantrasyonlarında azalma olduğu görülmüştür. Mısır bitkisinin optimum sıcaklığın 10 °C altında ve üzerinde (15 °C ve 35 °C), mikoriza türlerinin mısır bitkisinin besin elementi konsantrasyonunda olumlu olduğu belirlenmiştir.

Mikoriza × sıcaklık interaksiyonuna göre M4 × 25 °C'de N, P, K ve Ca konsantrasyonun, M2 × 25 °C'de Mg konsantrasyonun en yüksek olduğu görülmektedir (Çizelge 4.4).

Araştırmada mısırın N konsantrasyonu %2,781-3,868 aralığında belirlenmiştir. Azot içeriği bakımından mısır bitkisi için kritik düzeylerin %3,5-5,0 (Jones vd. 1991) aralığında olduğu ve genel olarak baktığımızda mısırın N konsantrasyonunun 15 °C ve 35 °C aralığında yeterli düzeyde olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.4). Kontrol sıcaklığında (25 °C) N konsantrasyonun en yüksek olduğu, sıcaklık değişimlerine bağlı olarak N konsantrasyonunun azaldığı ortaya konmuştur. Mikoriza aşılmasının yapılmadığı (M0) gruba kıyasla mikoriza aşılınmış mısır bitkilerinde kontrol sıcaklığında M4 mikoriza tür karışımının uygulandığı mısır bitkisinde N konsantrasyonunda artış görülmüştür.

Azot, bitki büyümesi ve gelişmesi adına oldukça önemli makrobesinlerden biri olmasının (Zhu vd. 2017) yanı sıra bitki hücrelerinin bileşeni ve proteinlerin nükleik asitlerin, koenzim ve birçok ürünün de yan ürün sentezi olarak işlev görmektedir (Evelin vd., 2009). Mikoriza aşılmasıyla önemli miktarda N konukçu bitkiye aktarılmakta ve N alımı iyileştirilmektedir (Ngwene vd., 2013; Thangavel vd., 2022).

Çizelge 4.4. Mısır bitkisinin makro element konsantrasyonuna (%) ait ortalama değerleri

	Sıcaklık (°C)	M0	M1	M2	M3	M4	Ortalama
N	5 °C	3,455 ^{b-g}	3,247 ^{e-l}	2,887 ^{l-n}	3,068 ^{h-n}	3,015 ^{j-n}	3,134 ^C
	10 °C	3,407 ^{b-i}	3,420 ^{b-h}	3,344 ^{d-j}	3,306 ^{d-k}	3,475 ^{b-g}	3,390 ^B
	15 °C	3,522 ^{a-g}	3,529 ^{a-g}	3,311 ^{d-k}	3,453 ^{b-g}	3,579 ^{a-e}	3,479 ^B
	25 °C	3,735 ^{ab}	3,725 ^{abc}	3,655 ^{a-d}	3,585 ^{a-e}	3,868 ^a	3,714 ^A
	35 °C	3,429 ^{b-h}	3,554 ^{a-f}	3,353 ^{c-j}	3,454 ^{b-g}	3,600 ^{a-e}	3,478 ^B
	40 °C	3,001 ^{j-n}	3,183 ^{f-m}	3,060 ^{h-n}	3,262 ^{e-l}	3,468 ^{b-g}	3,195 ^C
	45 °C	2,946 ^{k-n}	2,817 ^{m-n}	3,043 ⁱ⁻ⁿ	3,168 ^{g-m}	2,781 ⁿ	2,951 ^D
	Ortalama	3,356 ^A	3,354 ^A	3,236 ^B	3,328 ^{AB}	3,398 ^A	
P	5 °C	0,317 ^{d-g}	0,260 ^{fg}	0,226 ^g	0,344 ^{c-g}	0,350 ^{c-g}	0,299 ^E
	10 °C	0,426 ^{a-f}	0,312 ^{efg}	0,370 ^{b-g}	0,362 ^{b-g}	0,395 ^{a-g}	0,373 ^{CD}
	15 °C	0,464 ^{a-e}	0,425 ^{a-f}	0,418 ^{a-f}	0,394 ^{a-g}	0,494 ^{a-d}	0,425 ^{AB}
	25 °C	0,471 ^{a-e}	0,542 ^{ab}	0,493 ^{a-d}	0,426 ^{a-f}	0,569 ^a	0,500 ^A
	35 °C	0,418 ^{a-f}	0,402 ^{a-g}	0,473 ^{a-e}	0,366 ^{c-g}	0,524 ^{abc}	0,435 ^{BC}
	40 °C	0,399 ^{a-g}	0,378 ^{b-g}	0,373 ^{b-g}	0,339 ^{d-g}	0,354 ^{c-g}	0,369 ^D
	45 °C	0,376 ^{b-g}	0,348 ^{c-g}	0,309 ^{efg}	0,320 ^{d-g}	0,314 ^{d-g}	0,333 ^{DE}
	Ortalama	0,410 ^{AB}	0,381 ^{ABC}	0,380 ^{BC}	0,364 ^C	0,429 ^A	
K	5 °C	3,009 ^{b-h}	2,809 ^{e-k}	2,554 ^{h-m}	2,882 ^{d-j}	2,519 ^{i-m}	2,755 ^C
	10 °C	3,069 ^{a-f}	3,025 ^{b-h}	2,888 ^{d-j}	2,710 ^{f-l}	3,093 ^{a-f}	2,957 ^B
	15 °C	3,152 ^{a-f}	3,162 ^{a-f}	2,930 ^{c-i}	3,068 ^{a-f}	3,224 ^{a-e}	3,107 ^B
	25 °C	3,418 ^{ab}	3,406 ^{abc}	3,319 ^{a-d}	3,232 ^{a-e}	3,537 ^a	3,382 ^A
	35 °C	3,036 ^{b-g}	3,193 ^{a-e}	2,942 ^{b-i}	3,066 ^{a-f}	3,273 ^{a-e}	3,102 ^B
	40 °C	2,502 ^{i-m}	2,354 ^{klm}	2,575 ^{g-m}	2,828 ^{e-k}	3,085 ^{a-f}	2,669 ^C
	45 °C	2,432 ^{i-m}	2,271 ^{lm}	2,358 ^{klm}	2,419 ^{j-m}	2,226 ^m	2,341 ^D
	Ortalama	2,945 ^A	2,889 ^{AB}	2,795 ^B	2,886 ^{AB}	2,994 ^A	
Ca	5 °C	0,198 ^{j-n}	0,203 ^{g-l}	0,205 ⁱ⁻ⁿ	0,195 ^{k-n}	0,175 ^{mn}	0,195 ^E
	10 °C	0,207 ^{g-m}	0,207 ^{h-m}	0,249 ^{c-g}	0,215 ^{g-l}	0,206 ⁱ⁻ⁿ	0,217 ^D
	15 °C	0,218 ^{f-l}	0,255 ^{c-f}	0,255 ^{c-f}	0,269 ^{b-e}	0,244 ^{d-h}	0,248 ^{BC}
	25 °C	0,238 ^{d-i}	0,260 ^{a-d}	0,303 ^{ab}	0,286 ^{abc}	0,311 ^a	0,280 ^A
	35 °C	0,200 ^{j-n}	0,233 ^{e-j}	0,300 ^{ab}	0,268 ^{b-e}	0,271 ^{b-e}	0,255 ^B
	40 °C	0,204 ⁱ⁻ⁿ	0,211 ^{h-m}	0,283 ^{abc}	0,227 ^{f-k}	0,256 ^{c-f}	0,236 ^C
	45 °C	0,183 ^{lmn}	0,208 ^{h-n}	0,177 ^{mn}	0,170 ⁿ	0,211 ^{g-l}	0,190 ^E
	Ortalama	0,207 ^D	0,225 ^C	0,253 ^A	0,233 ^{BC}	0,239 ^B	
Mg	5 °C	0,233 ^{n-q}	0,311 ^{e-h}	0,257 ^{k-n}	0,279 ^{ijk}	0,257 ^{k-n}	0,267 ^E
	10 °C	0,251 ^{l-o}	0,329 ^{c-f}	0,298 ^{ghi}	0,292 ^{hij}	0,308 ^{e-h}	0,296 ^D
	15 °C	0,294 ^{hij}	0,382 ^b	0,309 ^{e-h}	0,349 ^c	0,332 ^{cde}	0,333 ^C
	25 °C	0,349 ^c	0,397 ^b	0,538 ^a	0,391 ^b	0,350 ^c	0,405 ^A
	35 °C	0,346 ^{cd}	0,352 ^c	0,407 ^b	0,304 ^{fgh}	0,321 ^{d-g}	0,346 ^B
	40 °C	0,229 ^{opq}	0,271 ^{j-m}	0,344 ^{cd}	0,245 ^{m-p}	0,272 ^{kl}	0,272 ^E
	45 °C	0,201 ^r	0,265 ^{klm}	0,223 ^{pqr}	0,200 ^r	0,214 ^{qr}	0,220 ^F
	Ortalama	0,272 ^D	0,329 ^B	0,339 ^A	0,294 ^C	0,293 ^C	

Düşük sıcaklık uygulamaları altında mikoriza aşılınmış mısır bitkileri, mikoriza uygulanmayan bitkilere kıyasla 5 °C’de mikoriza uygulamalarının N konsantrasyonunu azalttığı, 10 °C ve 15 °C’de M1 ve M4 mikoriza tür karışımlarının uygulandığı mısır bitkilerinde N konsantrasyonlarında artış görüldüğü belirlenmiştir. Düşük sıcaklık stresi altında sürgünde N konsantrasyonunun azaldığı, mikoriza uygulamasının yapılmasıyla, mikoriza uygulanmayan bitkilere kıyasla sürgünlerin daha yüksek N konsantrasyonuna sahip olduğu belirlenmiştir (Liu vd., 2016).

Yüksek sıcaklık uygulamaları altında mısır bitkileri incelendiğinde 35 °C’de M1, M3 ve M4, 40 °C’de tüm mikoriza aşılınmış mısır bitkisi gruplarında, 45 °C’de ise M2 ve M3 mikoriza tür karışımlarının uygulandığı mısır bitkilerinde N konsantrasyonlarında artış görülmüştür. Yüksek sıcaklık stresi altında bitkide N alımının yüksek oranda etkilendiği, stres sürecinde mikoriza uygulamasının ardından, mikoriza uygulanmayan bitkilere kıyasla daha yüksek N konsantrasyonunun belirlendiği bildirilmiştir (Yeasmin vd., 2019; Al-Amri, 2021; Loo vd., 2022).

Mikoriza ve N ilişkisinin sıcaklığa, toprak pH’sına ve ortama göre değişkenlik gösterdiği bu sebeple aralarındaki ilişkinin tam olarak açıklanamadığı bildirilmiştir (Akpınar, 2011). Mikoriza uygulanmış bitkilerde N içeriğinin yüksek olduğu bu sayede bitkide klorofil içeriğinde artış görüldüğü belirtilmektedir (De Andrade vd., 2015, Jajoo ve Mathur, 2021). Mikoriza mantarlarının düşük ve yüksek sıcaklık stresine bağlı olarak N alımını iyileştirdiği daha önce yapılan çalışmalarda da bildirilmiştir (Barrett vd., 2011; Liu vd., 2013; 2016; Zhu vd., 2015; Chauhan vd., 2022). Ayrıca diğer çalışmalarda stres koşulları altında mikoriza aşılmasının N alımını artırmadığı bildirilmiştir (Raju vd., 1990; Büscher vd., 2012; Karasawa vd., 2012). Bir çalışmada, 8 °C’de *Glomus claroideum* aşılmasının, net büyüme artışları olmadan *Gnaphalium norvegicum*’un N konsantrasyonunu azalttığını göstermiştir (Wu ve Zou, 2010).

Araştırmada P konsantrasyonları %0,226-0,569 aralığında belirlenmiştir. Fosfor içeriği bakımından mısır bitkisi için kritik düzeylerin %0,3-0,5 (Jones vd. 1991) aralığında olduğu ve genel olarak baktığımızda mısırın P konsantrasyonunun yeterli düzeyde olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.4). Kontrol sıcaklığında P konsantrasyonunun en yüksek olduğu, sıcaklık değişimlerine bağlı olarak P konsantrasyonunun azaldığı belirlenmiştir. Kontrol

sıcaklığında mikoriza uygulamasının yapılmadığı mısır bitkilerine kıyasla M1, M2 ve M4 mikoriza tür karışımlarının uygulandığı bitkilerde P konsantrasyonu artış göstermiştir. Nükleik asit, enzim ve fosfolipitlerin temel yapı taşı olan P, bitki büyümesi ve gelişmesi için oldukça önemli makro besindir ve enerji metabolizmasında, sinyal iletim basamaklarında görev almaktadır (Karandashov ve Bucher, 2005). Mikorizaların bitki kökleriyle P alımını artırabileceği (Javaid, 2009) ve bu sayede bitkilere fayda sağladığı yapılan çalışmalarla bildirilmiştir (Kafkas ve Ortas, 2009).

Düşük sıcaklık uygulamaları altında mikoriza aşılansmış mısır bitkileri, mikoriza uygulanmayan bitkilere kıyasla incelendiğinde 5 °C’de M3 ve M4, 15 °C’de ise M4 mikoriza tür karışımlarının uygulandığı mısır bitkisinde P konsantrasyonunda artış görülmüştür. Düşük sıcaklık stresi altında bitkide P konsantrasyonun azaldığı (Wang vd. 2002; Gavito vd. 2003), mikoriza uygulanmasına bağlı olarak da aşılama yapılmayan bitkilere kıyasla daha yüksek P konsantrasyonun görüldüğü belirtilmiştir (Raju vd., 1990; Karasawa vd., 2012; Liu vd., 2016).

Yüksek sıcaklık uygulamaları altında mikoriza aşılansmış mısır bitkileri, mikoriza uygulanmayan bitkilere kıyasla 35 °C’de M2 ve M4 mikoriza tür karışımlarının uygulandığı mısır bitkilerinde P konsantrasyonlarında artış görülmektedir. Yüksek sıcaklık stresi altında bitkilerde P konsantrasyonun azaldığı, mikoriza uygulamasının yapılmasıyla uygulama yapılmayan bitkilere kıyasla daha yüksek P konsantrasyonunun görüldüğü bunun sebebinde hifal köklerin daha geniş alana yayılabilmesinden kaynaklı olduğu bildirilmiştir (Yeasmin vd., 2019; Jajoo ve Mathur, 2021).

Düşük ve yüksek sıcaklık stresi altında mikoriza aşılansmış bitkilerde, aşılamanın yapılmadığı bitkilere kıyasla daha yüksek P konsantrasyonuna sahip olduğu belirlenmiştir (Smith ve Roncadori, 1986; Wang vd., 2002; Büscher vd., 2012; Liu vd., 2013, 2016; Hu vd., 2015). Yapılan diğer çalışmalarda ise mikoriza aşılamanın yapıldığı bitkilerde, aşılamanın yapılmadığı bitkilere kıyasla daha düşük P konsantrasyonuna sahip olduğu belirlenmiştir (Baon vd., 1994; Matsubara vd., 2004; Kytöviita ve Ruotsalainen, 2007).

Mısır bitkisinin K konsantrasyonları %2,226-3,537 aralığında belirlenmiştir (Çizelge 4.4). Potasyum içeriği bakımından mısır bitkisi için kritik düzeylerin %2.50-4.00 aralığında

olduğu (Jones vd. 1991) ve mısırın K konsantrasyonunun yeterli düzeyde olduğu belirlenmiştir. Kontrol sıcaklığında K konsantrasyonunun en yüksek olduğu, sıcaklık değişimlerine bağlı olarak K konsantrasyonunun azaldığı belirlenmiştir. Kontrol sıcaklığında mikoriza uygulamasının yapılmadığı mısır bitkilerine kıyasla M4 mikoriza tür karışımlarının uygulandığı mısır bitkisinde K konsantrasyonunda artış görülmüştür.

Özellikle stres altında bitki metabolizmasında önemli rol oynayan K, enzimleri aktive etmesinin yanı sıra protein sentezinde de rol oynamaktadır (Gholamhoseini vd., 2013; Evelin vd., 2009). Mikoriza uygulamasıyla bitkinin mikorizoferde kesişme bölgesini artırarak besin alımını iyileştirdiği (Cavagnaro vd. 2015), toprakta bol miktarda toplam K bulunmasına karşın bitkilere yararlı olan miktarın az olduğu bu sebeple büyümeyi sınırlandırdığı (Garcia ve Zimmermann, 2014), ancak mikoriza uygulamasının K alımını artırdığı bildirilmiştir (Thangavel vd., 2022).

Düşük sıcaklık uygulamaları altında mikoriza aşılansmış mısır bitkileri, mikoriza uygulanmayan bitkilere kıyasla 5 °C’de tüm mikoriza aşılması yapılan gruplarda K konsantrasyonunda azalma görülmekteyken, 10 °C’de M4, 15 °C’de M1 ve M4 mikoriza tür karışımlarının uygulandığı mısır bitkilerinde K konsantrasyonunda artış görülmektedir. Düşük sıcaklık uygulamaları altında K konsantrasyonunda azalma görüldüğü (Wu ve Zou, 2010; Karasawa vd. 2012), mikoriza uygulamasının yapılmasıyla kontrol bitkilere kıyasla K konsantrasyonunda artış görüldüğü belirtilmiştir (Liu vd., 2016). Yapılan diğer çalışmalarda düşük sıcaklık stresi altında mikoriza uygulamasının K konsantrasyonuna bir etkisinin olmadığı da bildirmiştir (Wu ve Zou, 2010).

İncelenen çalışmada yüksek sıcaklık uygulamaları altında mikoriza aşılansmış mısır bitkileri, mikoriza uygulanmayan bitkilere kıyasla incelendiğinde 35 °C’de M1, M3 ve M4, 40 °C’de M2, M3 ve M4 mikoriza tür karışımlarının uygulandığı mısır bitkilerinde K konsantrasyonunda artış görülürken, 45 °C’de tüm mikoriza aşılansmış gruplarda K konsantrasyonunda azalma görülmektedir. Yüksek sıcaklık stresi altında mikoriza uygulamasının yapılmadığı bitkilere kıyasla *Glomus* türü mikoriza uygulanan bitkilerde daha düşük K konsantrasyonu görüldüğü bildirilmiştir (Raju vd., 1990). Yapılan bir başka çalışmada ise kuraklık stresi altında mikoriza aşılansmasının yapıldığı bitkilerde, aşılamanın

yapılmadığı bitkilere kıyasla daha yüksek K konsantrasyonun belirlendiği bildirilmiştir (Al-Amri, 2021; Loo vd., 2022).

Bitkilerin Ca konsantrasyonları %0,170-0,311 değerleri arasında belirlenmiştir (Çizelge 4.4). Kalsiyum içeriği bakımından mısır bitkisi için kritik düzeylerin %0,3-0,7 (Jones vd. 1991) aralığında olduğu ve mısırın Ca konsantrasyonunun yeterli düzeyde bulunmadığı belirlenmiştir. Kontrol sıcaklığında Ca konsantrasyonun en yüksek olduğu, sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak Ca konsantrasyonun azaldığı belirlenmiştir. Mikoriza uygulamasının yapılmadığı mısır bitkilerine kıyasla tüm mikoriza aşılansmış mısır bitkilerinin Ca konsantrasyonunda artış görülmektedir. Mikoriza uygulamasıyla kök hücrelerinde stres koşullarında bitkiye daha fazla besin sağladığı (Smith ve Read, 2008), bu birlikteliğin bitkide Ca konsantrasyonunu artırdığı bazı çalışmalarda da bildirilmiştir (Keskin, 2009; Jajoo ve mathur, 2021; Khan vd., 2022).

Düşük sıcaklık uygulamaları altında mikoriza aşılansmış mısır bitkileri mikoriza uygulanmayan bitkilere kıyasla 5 °C'de M1 ve M2, 10 °C'de M2 ve M3, 15 °C'de tüm mikoriza aşılansmış mısır bitkisi gruplarında Ca konsantrasyonunda artış görülmektedir. Düşük sıcaklık uygulamaları altında bitkide Ca konsantrasyonunun azaldığı, mikoriza uygulamasının yapıldığı bitkilere kıyasla mikoriza uygulanmayan bitkilerde daha düşük Ca konsantrasyonu görülmüştür (Liu vd., 2016). Bir başka çalışmada mikoriza uygulamasının yapıldığı bitkilerde, mikoriza uygulanmayan bitkilere kıyasla daha yüksek Ca konsantrasyonunun belirlendiği bildirilmiştir (Wu ve Zou, 2010).

Yüksek sıcaklık uygulamaları altında mikoriza aşılansmış mısır bitkileri mikoriza uygulanmayan bitkilere kıyasla incelendiğinde 35 °C ve 40 °C'de tüm mikoriza aşılansmış mısır bitkileri gruplarında, 45 °C'de M1 ve M4 mikoriza tür karışımlarının uygulandığı mısır bitkilerinde Ca konsantrasyonunda artış görülmektedir. Yüksek sıcaklık stresine maruz kalan bitkilerde Ca alımının azaldığı, mikoriza uygulamasının yapıldığı bitkilerde, mikoriza uygulanmayan bitkilere kıyasla daha yüksek Ca konsantrasyonun görüldüğünü bildirmişlerdir (Yeasmin vd., 2019; Al-Amri, 2021).

Bu araştırmada Mg konsantrasyonları %0,200-0,538 aralığında belirlenmiştir. Mg içeriği bakımından mısır bitkisi için kritik düzeylerin %0,15-0,45 (Jones vd. 1991) aralığında

olduğu ve mısırın Mg konsantrasyonunun yeterli düzeyde bulunduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.4). Kontrol sıcaklığında Mg konsantrasyonun en yüksek olduğu, sıcaklık değişimlerine bağlı olarak Mg konsantrasyonunun azaldığı belirlenmiştir. Kontrol sıcaklığında mikoriza uygulamasının yapılmadığı mısır bitkilerine kıyasla tüm mikoriza aşılansmış mısır bitkisi gruplarında Mg konsantrasyonunda artış görülmektedir. Mikoriza aşılmasıyla bitkide Mg içeriğinin arttığı daha önce yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Smith ve Read, 2008; Keskin, 2009). Mg eksikliğinde mikoriza uygulanmasıyla bitkinin fizyolojik özelliklerinin iyileştiği belirlenmiştir (Zhang vd., 2015).

Düşük sıcaklık uygulamaları altında mikoriza aşılansmış mısır bitkileri mikoriza uygulanmayan bitkilere kıyasla incelendiğinde 5 °C, 10 °C ve 15 °C’de mikoriza uygulamasının yapıldığı tüm gruplarda Mg konsantrasyonu artış göstermiştir. Düşük sıcaklık stresine maruz kalan bitkilerde Mg konsantrasyonun azaldığı, mikoriza aşılansmış bitkilere kıyasla mikoriza aşılansmasının yapılmadığı bitkilerde daha düşük Mg konsantrasyonu belirlenmiştir (Liu vd., 2016; Wu ve Zou, 2010).

Yüksek sıcaklık uygulamaları altında mikoriza aşılansmış mısır bitkileri mikoriza uygulanmayan bitkilere kıyasla incelendiğinde 35 °C’de M1 ve M2, 40 °C’de mikoriza uygulamasının yapıldığı tüm mısır bitkileri gruplarında, 45 °C’de M1, M2 ve M4 mikoriza tür karışımlarının uygulandığı mısır bitkileri gruplarında Mg konsantrasyonunda artış görülmektedir. Yüksek sıcaklık stresine maruz kalan bitkilerde Mg konsantrasyonunun azaldığı, mikoriza ile aşılansmış bitkilerde aşılansmayan bitkilere kıyasla daha yüksek Mg konsantrasyonunun belirlendiği bildirilmiştir (Yeasmin vd., 2019; Al-Amri, 2021). Klorofilin önemli bir bileşeni olan Mg, kuraklık stresi altında azalırken, mikoriza uygulanmasıyla Mg konsantrasyonunu artırmasının yanı sıra klorofil sentezi içinde erişilebilir hale getirildiği bildirilmiştir (Jajoo ve Mathur, 2021).

Mikoriza ile aşılansmış farklı sıcaklık uygulamaları altında mısır bitkisinin mikro besin elementleri (Cu, Zn, Fe ve Mn) konsantrasyonlarına ait varyans analiz sonuçları çizelge 4.5’te verilmiştir. Mikoriza, sıcaklık ve mikoriza × sıcaklık uygulamaları interaksiyonu mısır bitkisinin incelenen mineral besin element konsantrasyonları üzerinde istatistiki açıdan önemli ($P<0,01$) bulunmuştur.

Çizelge 4.5. Mısır bitkisinin mikro element konsantrasyonuna ait kareler ortalamaları

V.K.	S.D.	Cu	Zn	Fe	Mn
Mikoriza (M)	4	9,931**	70,88**	3749,2**	4388,6**
Sıcaklık (S)	6	46,012**	458,72**	16353,9**	5312,4**
M x S	24	3,850**	50,51**	959,8**	755,3**
Hata	70	0,960	0,93	1,0	0,6

** : %1 seviyesinde önemli.

Mısır bitkisinin Cu, Zn, Fe ve Mn konsantrasyonlarına (mg kg^{-1}) ait ortalama değerleri Çizelge 4.6’da verilmiştir. Mısır bitkisinde mineral element konsantrasyonları uygulanan mikoriza türlerine göre farklılık göstermiştir. M3 mikoriza türü Cu ve Mn, M2 mikoriza türü ise Fe ve Zn’de en yüksek konsantrasyonlara sahip olduğu belirlenmiştir.

Sıcaklık ortalamalarına göre mısır bitkisi en yüksek 25 °C’de Cu, Fe, Mn ve Zn konsantrasyonuna sahip olmuştur. Sıcaklık ortalamaları optimum sıcaklık olan 25 °C’nin üzerine çıktığı zaman veya altına düştüğü zaman azalma olduğu belirlenmiştir.

Mikoriza $\times$ sıcaklık interaksiyonuna göre M2 $\times$ 25 °C’de Zn, M3 $\times$ 25 °C’de Cu ve Mn’de, M4 $\times$ 25 °C’de Fe konsantrasyonunda en yüksek besin elementi aldığı belirlenmiştir.

Mısırın Cu konsantrasyonları 4,86-13,57 mg kg^{-1} aralığında belirlenmiştir. Cu içeriği bakımından mısır bitkisi için kritik düzeylerin 5-20 mg kg^{-1} (Jones vd. 1991) aralığında olduğu ve genel olarak baktığımızda mısırın Cu konsantrasyonunun yeterli düzeyde bulunduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.6). Kontrol sıcaklığında bitkilerin Cu konsantrasyonlarının en yüksek olduğu, sıcaklık değişimlerine bağlı olarak Cu konsantrasyonunun azaldığı belirlenmiştir. Kontrol sıcaklığında mikoriza uygulamasının yapılmadığı mısır bitkilerine kıyasla M3 mikoriza tür karışımlarının uygulandığı mısır bitkisinde Cu konsantrasyonunun artış gösterdiği belirlenmiştir. Mikoriza uygulamasıyla bitkilerde Cu içeriğinin artış gösterdiği (Smith ve Read, 2008), mikoriza uygulamasıyla bitkiye %60’a kadar Cu sağlanabileceği yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Hodge ve Storer, 2015).

Çizelge 4.6. Mısır bitkisinin mikro element konsantrasyona (mg kg⁻¹) ait ortalama değerleri

	Sıcaklık	M0	M1	M2	M3	M4	Ortalama
Cu	5 °C	8,840 ^{c-l}	6,240 ^{klm}	6,730 ^{j-m}	7,610 ^{e-m}	4,860 ^m	6,856 ^C
	10 °C	10,480 ^{a-g}	7,100 ^{h-m}	7,360 ^{g-m}	9,610 ^{b-j}	8,380 ^{d-l}	8,586 ^B
	15 °C	10,740 ^{a-e}	8,980 ^{b-l}	9,380 ^{b-k}	10,100 ^{b-h}	9,110 ^{b-l}	9,662 ^B
	25 °C	12,130 ^{ab}	9,730 ^{b-j}	12,000 ^{abc}	13,570 ^a	10,600 ^{a-f}	11,606 ^A
	35 °C	7,470 ^{f-m}	7,870 ^{e-m}	9,980 ^{b-i}	11,230 ^{a-d}	10,250 ^{b-h}	9,360 ^B
	40 °C	6,870 ^{i-m}	6,730 ^{j-m}	7,960 ^{e-m}	7,360 ^{g-m}	8,110 ^{d-l}	7,406 ^C
	45 °C	6,100 ^{lm}	6,100 ^{lm}	7,860 ^{e-m}	6,120 ^{lm}	7,880 ^{e-m}	6,812 ^C
	Ortalama	8,947 ^{AB}	7,536 ^C	8,753 ^{AB}	9,371 ^A	8,456 ^B	
Zn	5 °C	22,650 ^{h-l}	29,190 ^{de}	22,830 ^{h-l}	12,980 ⁿ	14,000 ⁿ	20,330 ^F
	10 °C	24,650 ^{g-j}	30,130 ^d	25,060 ^{gh}	25,770 ^{fgh}	25,590 ^{fgh}	26,240 ^C
	15 °C	25,630 ^{fgh}	33,630 ^c	30,000 ^d	30,200 ^d	26,180 ^{efg}	29,128 ^B
	25 °C	29,970 ^d	37,300 ^b	46,530 ^a	39,050 ^b	28,380 ^{def}	36,246 ^A
	35 °C	24,290 ^{g-k}	22,210 ^{i-l}	24,700 ^{g-j}	26,340 ^{efg}	25,000 ^{gh}	24,508 ^D
	40 °C	23,460 ^{g-l}	22,190 ^{i-l}	24,880 ^{g-j}	20,950 ⁱ	24,450 ^{g-k}	23,186 ^E
	45 °C	21,360 ^{kl}	17,610 ^m	21,780 ^{ijkl}	20,490 ^{lm}	22,920 ^{h-l}	20,832 ^F
	Ortalama	24,573 ^{BC}	27,466 ^A	27,969 ^A	25,111 ^B	23,789 ^C	
Fe	5 °C	132,900 ^{pqr}	130,490 ^{qr}	148,250 ⁱ	149,530 ⁱ	141,000 ^{kl}	140,434 ^F
	10 °C	144,660 ^j	133,720 ^{opq}	149,450 ⁱ	155,250 ^h	146,530 ^j	145,922 ^E
	15 °C	175,140 ^g	156,200 ^h	189,250 ^f	192,240 ^f	199,880 ^e	182,542 ^B
	25 °C	211,130 ^d	239,650 ^b	238,270 ^b	212,560 ^d	250,880 ^a	230,498 ^A
	35 °C	156,090 ^h	143,390 ^{jk}	232,630 ^c	139,780 ^{lm}	158,320 ^h	166,042 ^C
	40 °C	155,920 ^h	138,990 ^{lmn}	199,480 ^e	136,000 ^{nop}	131,240 ^{qr}	152,326 ^D
	45 °C	140,310 ^{kl}	136,850 ^{mno}	156,300 ^h	118,820 ^s	130,000 ^r	136,456 ^G
	Ortalama	159,450 ^C	154,184 ^E	187,661 ^A	157,740 ^D	165,407 ^B	
Mn	5 °C	72,770 ^{rs}	83,170 ^p	97,430 ⁱ	94,690 ^m	63,030 ^t	82,218 ^F
	10 °C	108,890 ^j	90,190 ⁿ	98,250 ⁱ	111,330 ^j	89,870 ⁿ	99,706 ^D
	15 °C	126,750 ^e	97,550 ⁱ	110,600 ^j	115,450 ⁱ	121,070 ^{gh}	114,284 ^B
	25 °C	134,880 ^d	103,400 ^k	118,890 ^h	167,700 ^a	124,250 ^{ef}	129,824 ^A
	35 °C	94,170 ^m	75,470 ^q	116,270 ⁱ	158,260 ^b	122,630 ^{fg}	113,360 ^C
	40 °C	70,970 ^s	75,190 ^{qr}	98,560 ⁱ	139,400 ^c	102,130 ^k	97,250 ^E
	45 °C	64,840 ^t	59,170 ^u	96,500 ^{lm}	75,210 ^{qr}	86,630 ^o	76,470 ^G
	Ortalama	96,181 ^D	83,449 ^E	105,214 ^B	123,149 ^A	101,373 ^C	

Düşük sıcaklık uygulamaları altında mikoriza ile aşılanmış mısır bitkileri mikoriza uygulanmayan bitkilere kıyasla incelendiğinde 5 °C, 10 °C ve 15 °C’de mikoriza uygulamasının yapıldığı tüm mısır bitkilerinde Cu konsantrasyonunda azalma görülmektedir. Çalışmamızın aksine düşük sıcaklık stresi altında mikoriza uygulanmış bitkilerde, mikoriza uygulanmayan bitkilere kıyasla daha yüksek Cu konsantrasyonu belirlendiği diğer bir çalışmada bildirilmiştir (Liu vd., 2016).

Yüksek sıcaklık uygulamaları altında mikoriza aşılanmış mısır bitkileri mikoriza uygulanmayan bitkilere kıyasla incelendiğinde 35 °C’de mikoriza uygulamasının yapıldığı tüm mısır bitkilerinde, 40 °C ve 45 °C’de M2, M3 ve M4 mikoriza tür karışımlarının uygulandığı mısır bitkilerinde Cu konsantrasyonunda artış görülmektedir. Yüksek sıcaklık stresi altında mikoriza aşılmasının yapıldığı bitkilerde, mikoriza aşılanmayan bitkiler kıyasla Cu konsantrasyonunun arttığı bildirilmiştir (Smith ve Roncadori, 1986). Bir başka çalışmada ise yüksek sıcaklık stresi altında mikorizal olmayan bitkilere kıyasla, *Glomus* türü mikoriza aşılmasının yapıldığı bitkilerde daha düşük Cu içeriğine sahip olduğu bildirilmiştir (Raju vd., 1990).

Bu araştırmada Zn konsantrasyonları 12,98-46,53 mg kg⁻¹ aralığında belirlenmiştir. Zn içeriği bakımından mısır bitkisinde 20-60 mg kg⁻¹ (Jones vd. 1991) aralığında bulunmasının kritik düzeylerin olduğu dikkate alındığında, M3 ve M4 mikoriza türleri ile inoküle olmuş bitkilerin 5 °C altındaki koşullarda, mısırın Zn konsantrasyonunun yeterli düzey sınırının (20 mg kg⁻¹) altında bulunduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.6). Kontrol sıcaklığında Zn konsantrasyonunun en yüksek olduğu, sıcaklık değişimlerine bağlı olarak azaldığı belirlenmiştir. Kontrol sıcaklığında M1, M2 ve M3 mikoriza tür karışımlarının uygulandığı mısır bitkilerinin Zn konsantrasyonunda kontrole göre artış olduğu görülmüştür. Mikoriza uygulanmasıyla bitkide Zn içeriğinin artış gösterdiği (Jajoo ve Mathur, 2021), mikorizanın bitkiye %25’e kadar Zn sağlayabileceği yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Hodge ve Storer, 2015).

Düşük sıcaklık uygulamaları altında mikoriza aşılanmış mısır bitkileri mikoriza uygulanmayan bitkilere kıyasla incelendiğinde 5 °C’de M1 ve M2, 10 °C ve 15 °C’de mikoriza uygulamasının yapıldığı tüm mısır bitkilerinde Zn konsantrasyonunda artış görülmektedir. Düşük sıcaklık stresi altında bitkilerde Zn konsantrasyonunun azaldığı,

mikoriza ile aşılanmış bitkilerde aşılanmayan bitkilere kıyasla ortam sıcaklığında daha yüksek Zn konsantrasyonuna sahip olduğu bildirilmiştir (Liu vd., 2016).

Yüksek sıcaklık uygulamaları altında mikoriza aşılanmış mısır bitkileri mikoriza uygulanmayan bitkilere kıyasla incelendiğinde 35 °C’de M2, M3 ve M4, 40 °C ve 45 °C’de M2 ve M4 mikoriza tür karışımlarının uygulandığı mısır bitkilerinde Zn konsantrasyonunda artış görülmektedir. Kuraklık stresi altında mikoriza uygulamasının bitki Zn konsantrasyonunu artırdığı bildirilmiştir (Loo vd., 2022).

Araştırmada Fe konsantrasyonları 118,82-250,88 mg kg⁻¹ aralığında belirlenmiştir. Demir içeriği bakımından mısır bitkisi için kritik düzeylerin 50-250 mg kg⁻¹ (Jones vd. 1991) aralığında olduğu ve Fe konsantrasyonunun bitkilerde yeterli düzeyde bulunduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.6). Kontrol sıcaklığında Fe konsantrasyonlarının en yüksek olduğu, sıcaklık değişimlerine bağlı olarak Fe konsantrasyonunun azaldığı belirlenmiştir. Kontrol sıcaklığında mikoriza uygulamasının yapılmadığı mısır bitkilerine kıyasla mikoriza aşılmasının yapıldığı tüm mısır bitkileri gruplarında Fe konsantrasyonunda artış görülmektedir. Mikoriza aşılmasıyla bitkide Fe alımında artış görüldüğü daha önce yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Pellegrino ve Bedini, 2014; Khan vd., 2022).

Öte yandan, alkali toprakta yetiştirilen mikoriza enfekte bitkilerin, asidik toprakta yetiştirilenlere göre Fe kazanımı için daha büyük farklılıklar sergilediği ve bazı mikoriza izolatlarının, Fe alımını artırmada daha etkili oldukları yürütülen çalışmalarda belirtilmiştir. Mikoriza izolatları ayrıca şiddetli Fe noksanlığı klorozuna neden olan kireçli topraklarda yetişen mikorizal mısırın yapraklarındaki klorofil arttırmak için de çeşitlilik göstermiştir (Clark ve Zeto, 1996). Demir kazanımı, fitosideroforlar (Strateji II gramine bitkileri) (Marschner ve Dell, 1994) gibi maddelerin ve sitrik, oksalik ve fenolikler (Strateji I-dikotiledon bitkiler) gibi organik asitlerin kök salgılaması ile ilişkilendirilmiştir (Marschner, 1995). *Glomus mosseae*, yer fıstığı (Strateji I bitkisi), Fe eksikliği olan kireçli toprakta büyüdüğünde Fe alımını artırmadığı, ancak *Glomus mosseae* sorgumda (Strateji II bitkisi) ise artırdığı bildirilmiştir (Caris vd., 1998). Hem *Glomus mosseae* hem de *Glomus monosporum* buğdayın, su stresi altında yetiştirilmesinde, su stresinin olmadığı duruma kıyasla Fe kazanımını arttırdığı da gösterilmiştir (Al-Karaki ve Clark, 1998; Al-Karaki vd., 1998).

Düşük sıcaklık uygulamaları altında mikoriza aşılınmış mısır bitkileri mikoriza uygulanmayan bitkilere kıyasla incelendiğinde 5 °C, 10 °C ve 15 °C’de M2, M3 ve M4 mikoriza tür karışımlarının uygulandığı mısır bitkilerinde Fe konsantrasyonunda artış görülmektedir. Yapılan bir başka çalışmada ise düşük sıcaklık stresi altında mikoriza aşılınmış bitkilerde Fe konsantrasyonunu etkilemediği bildirilmiştir (Wu ve Zou, 2010).

Yüksek sıcaklık uygulamaları altında mikoriza aşılınmış mısır bitkileri mikoriza uygulanmayan bitkilere kıyasla incelendiğinde 35 °C’de M2 ve M4, 40 °C ve 45 °C’de M2 mikoriza tür karışımlarının uygulandığı mısır bitkilerinde Fe konsantrasyonlarında artış görülmektedir. Mikoriza ile aşılınmış bitkilerde stres koşullarında, mikoriza aşılınmayan bitkilere kıyasla daha yüksek Fe konsantrasyonu gösterdiği bildirilmiştir (Yeasmin vd., 2019; Jajoo ve Mathur, 2021).

Bu araştırmada Mn konsantrasyonları 59,17-167,70 mg kg⁻¹ aralığında belirlenmiş ve mısır bitkisinde için kritik Mn düzeylerinin 20-300 mg kg⁻¹ (Jones vd. 1991) aralığında olduğu belirtilmiştir. Belirlenen Mn konsantrasyon değerlerinin bitkiler için yeterli düzeyde bulunduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.6). Kontrol sıcaklığında Mn konsantrasyonlarının en yüksek olduğu, sıcaklık değişimlerine bağlı olarak Mn konsantrasyonun azaldığı belirlenmiştir. Kontrol sıcaklığında mikoriza uygulamasının yapılmadığı mısır bitkilerine kıyasla M3 mikoriza tür karışımlarının uygulandığı mısır bitkisinde Mn konsantrasyonu artış göstermiştir. Mikorizanın bitki büyümesi için gerekli olan Mn konsantrasyonunda artış sağladığı bildirilmiştir (Hajiboland vd., 2015; Khan vd., 2022).

Düşük sıcaklık uygulamaları altında mikoriza aşılınmış mısır bitkileri mikoriza uygulanmayan bitkilere kıyasla incelendiğinde 5 °C’de M1, M2 ve M3, 10 °C’de M3 mikoriza tür karışımlarının uygulandığı mısır bitkilerinde Mn konsantrasyonu artış gösterirken, 15 °C’de mikoriza aşılmasının yapıldığı tüm mısır bitkilerinde Mn konsantrasyonunda azalma görülmektedir. Yapılan bir başka çalışmada düşük sıcaklık stresi altında, bitki Mn içeriğine mikoriza aşılmasının bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir (Zhu vd., 2017).

Yüksek sıcaklık uygulamaları altında mikoriza aşılınmış mısır bitkileri mikoriza uygulanmayan bitkilere kıyasla incelendiğinde 35 °C ve 45 °C’de M2, M3 ve M4, 40 °C’de

mikoriza aşılannmış tüm mısıır bitkilerinde Mn konsantrasyonunda artış görölmektedir. Kuraklık stresi altında mikoriza aşılannmış mısıır bitkileri, mikoriza aşılannmayan bitkilere kıyasla daha yüksek Mn konsantrasyonu sergilemiştir (Subramanian ve Charest, 1997; Salim ve El-Yazied, 2015).

4.3. Bitkilerin Fizyolojik Parametreleri

Mikoriza ile aşılannmış farklı sıcaklık uygulamaları altında mısıır bitkisinin fizyolojik parametrelerine (klorofil içeriği, membran dayanıklılık indeksi (MDİ), lipit peroksidasyonu (MDA), prolin içeriği) ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.7’de verilmiştir.

Mikoriza, sıcaklık ve mikoriza $\times$ sıcaklık uygulamalarının interaksyonu mısıır bitkisinin klorofil içeriği, lipit peroksidasyonu ve prolin içeriği üzerinde istatistiki açıdan önemli ($P<0,01$) iken, membran dayanıklılık indeksine mikoriza uygulamaları ve interaksyonun etkisi önemsizdir.

Çizelge 4.7. Mısıır bitkisinin fizyolojik parametrelerine ait kareler ortalamaları

V.K.	S.D.	Klorofil	MDİ	MDA	Prolin
Mikoriza(M)	4	9127,1**	4,02 ^{öd}	88,06**	4963,8**
Sıcaklık (S)	6	32166,3**	75,74**	3087,24**	19049,6**
M $\times$ S	24	590,4**	1,80 ^{öd}	198,45**	1754,5**
Hata	70	61,6	2,28	0,98	13,4

** : %1 seviyesinde önemli.

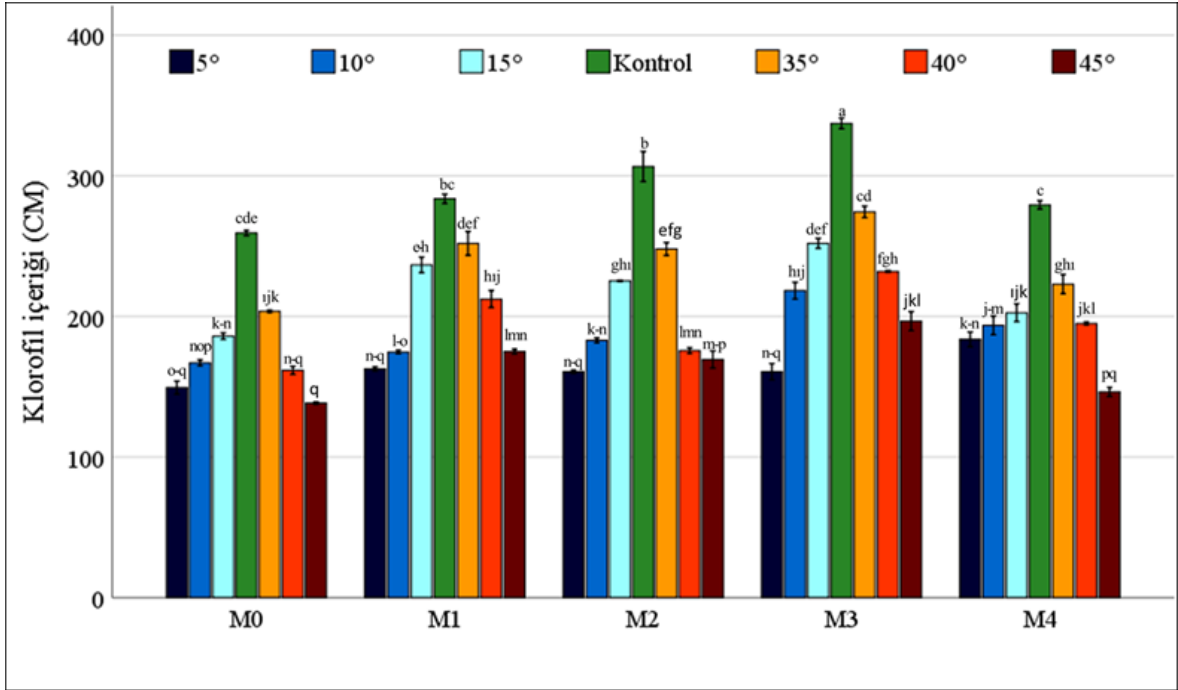
Mısıır bitkisinin fizyolojik parametrelerine ait mikoriza uygulamasının ortalama değeri incelendiğinde klorofil içeriği, MDA ve prolin içeriği en yüksek M3 mikoriza tür karışımının uygulandığı mısıır bitkisinden elde edilmiştir. Klorofil ve prolin içeriğinde en düşük değeri mikoriza uygulamasının yapılmadığı (M0) grupta, MDA’da ise en düşük değeri M2 mikoriza tür karışımının uygulandığı mısıır bitkisinden elde edilmiştir (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. Mısır bitkisinin fizyolojik parametrelerine ait ortalama değerler

Uygulama	Klorofil	MDİ	MDA	Prolin
M0	180,76 ^d	93,81	40,03 ^b	50,13 ^e
M1	213,86 ^b	93,44	37,96 ^d	57,63 ^d
M2	209,81 ^{bc}	92,88	36,95 ^e	65,64 ^c
M3	238,76 ^a	93,99	42,28 ^a	90,52 ^a
M4	203,38 ^c	93,30	39,12 ^c	71,25 ^b
5 °C	163,40 ^e	90,32 ^f	43,56 ^c	58,49 ^e
10 °C	187,33 ^d	92,56 ^{de}	34,03 ^d	63,63 ^d
15 °C	220,53 ^c	93,67 ^{cd}	30,22 ^e	34,11 ^f
25 °C	293,27 ^a	96,56 ^a	20,97 ^f	23,87 ^g
35 °C	240,20 ^b	96,45 ^{ab}	33,51 ^d	67,82 ^c
40 °C	195,33 ^d	94,58 ^{bc}	47,38 ^b	90,86 ^b
45 °C	165,13 ^e	91,23 ^{ef}	65,21 ^a	130,44 ^a

Mısır bitkisinin fizyolojik parametrelerine ait sıcaklık uygulamasının ortalama değerleri incelendiğinde klorofil içeriği ve MDİ en yüksek kontrol sıcaklığında, MDA ve prolin içeriği ise en yüksek 45 °C’de belirlenmiştir. En düşük değer klorofil içeriği ve MDİ’de 5 °C, MDA ve prolin içeriğinde ise en düşük değer kontrol sıcaklığında belirlenmiştir (Çizelge 4.8).

Fotosentez düşük sıcaklığa duyarlı olduğu için düşük sıcaklıkta fotosentezde azalma görülür (Hajihashemi vd., 2018). Benzer şekilde, yüksek sıcaklığın da fotosentez oranını azalttığı bilinmektedir (Ben-Asher vd., 2008; Ghani vd., 2023). Çalışmamızda, mısır bitkisinin klorofil içeriği incelendiğinde en yüksek değer (337,33 CM) M3 mikoriza tür karışımının uygulandığı kontrol sıcaklığında, en düşük değer (138,33 CM) mikoriza uygulanmayan (M0) grupta 45 °C’de belirlenmiştir (Şekil 4.1). Optimum sıcaklık koşullarında klorofil içeriğinin en yüksek olduğu, sıcaklık değişimlerine bağlı olarak klorofil içeriğinde azalma olduğu gözlenmiştir. Mısır bitkisinde yüksek ve düşük sıcaklık koşullarında sıcaklık değişimlerine bağlı olarak klorofil içeriğinin azaldığı önceki çalışmalarda da bildirilmiştir (Yavaş ve İlker, 2020; Kumar vd., 2012; Zhu vd., 2010b; Takac 2004).



Şekil 4.1. Mısır bitkisinin klorofil içeriği değişimi

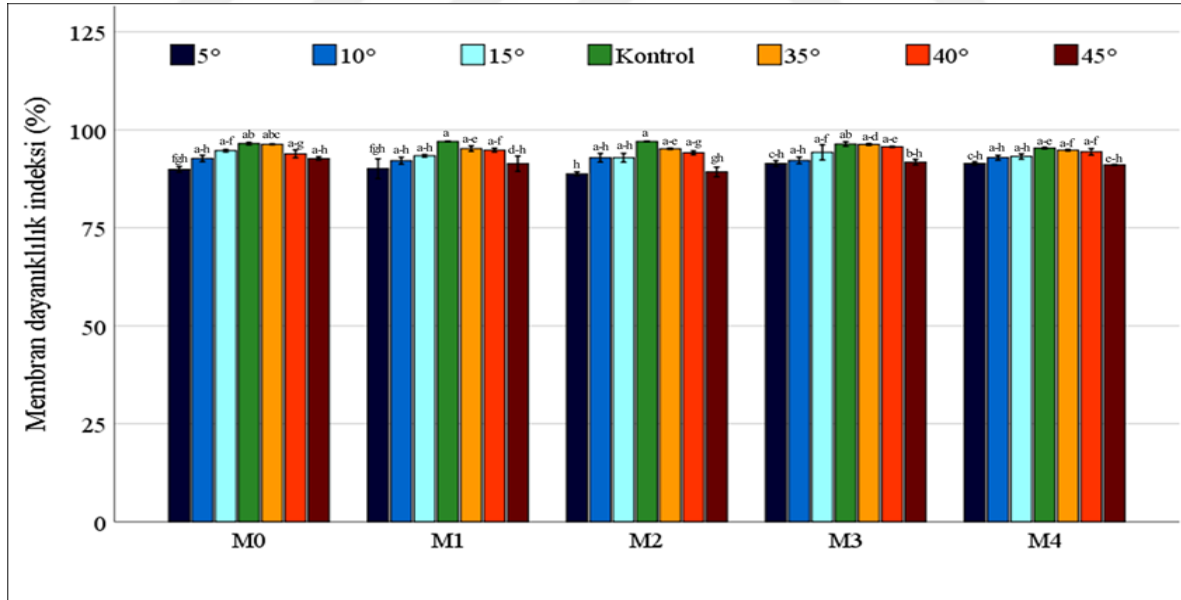
Tüm sıcaklık değerlerinde mikoriza aşılamaının yapılmadığı (M0) grubuna göre mikoriza aşılması yapılan mısır bitkilerinde klorofil içeriklerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Mikorizaların hiflerinin Mg alımını artırmasıyla toplam klorofil içeriğini artırdığı ve fotosentezin de buna bağlı olarak arttığı ortaya konulmuştur (Mathur vd., 2018). Mikorizalar düşük sıcaklık stresi altında ve stres olmayan koşullarda gelişmiş büyüme ve fotosentez sonucu antioksidanların ve sinyal hormonlarının salgılanması sayesinde strese karşı tolerans gösterir (Begum vd., 2019 ; Shirani ve Mohammad, 2020).

Düşük sıcaklıkta mikoriza ile aşılanmış bitkilerde, aşılanmayanlara kıyasla yapraklarda klorofil konsantrasyonunun arttığı bildirilmiştir (Abdel Latef vd., 2011; Paradis vd., 1995; Zhu vd., 2011). Çalışmamızla uyumlu olarak Mathur vd. (2018), yüksek sıcaklıkta mikoriza aşılması yapılan mısır bitkilerinde aşılanmayanlara kıyasla daha yüksek klorofil içeriğine sahip olduğunu, Zhu vd. (2010b); Du vd. (2022) ise hem optimum hem de stres sıcaklıklarında mikoriza simbiyozunun klorofil konsantrasyonunu artırdığını bildirmişlerdir.

Yüksek sıcaklık stresine bağlı olarak fotosentezde görülen azalmaların klorofil ve tilakoid zarın yapısındaki bozulmalarından kaynaklandığı bilinmektedir (Karim vd., 1999; Tas, 2022). Mikoriza aşılanmamış bitkide mikoriza aşılması yapılan bitkiye oranla klorofil içeriğine bağlı olarak yaprak zararlanmasının daha şiddetli olduğu bildirilmiştir (Zhu vd.,

2010b). Stres koşullarında mikoriza aşılmasıyla bitkide fotosentez oranındaki artışın klorofil yapısının korunması, mısır bitkisinin besin elementlerinden daha iyi yararlanması sayesinde yaprak alanını artmasının sonucu olduğu düşünülmektedir. Mikoriza ile aşılanmış bitkilerde sıcaklık stresinin etkisinin daha az olduğu ve mikorizal ortak yaşamın daha az hasara sebep olmasıyla fotosentetik etkinliği de geliştirdiği bulunmuştur (Evelin vd., 2009; Zhu vd., 2017).

Bitkilerde stres sonucu görülen geri dönüşümsüz zararlanmaların ilk belirtisi hücre zarlarında oluşmakta ve iyon sızıntısında görülen değişikliklerle belirlenmektedir (Gülen ve Eriş, 2003; 2004, Kumar vd., 2011). Mısır bitkisinin iyon sızıntısı oranına bağlı olarak hesaplanan MDİ değerleri incelendiğinde, en yüksek değer (%97,03) M1 mikoriza tür karışımının uygulandığı kontrol sıcaklığında, en düşük değer (%88,79) M2 mikoriza tür karışımının uygulandığı 5 °C’de belirlenmiştir (Şekil 4.2). Optimum sıcaklık koşullarında MDİ değerinin en yüksek olduğu, sıcaklık değişimlerine bağlı olarak MDİ değerinin azaldığı gözlenmiştir.



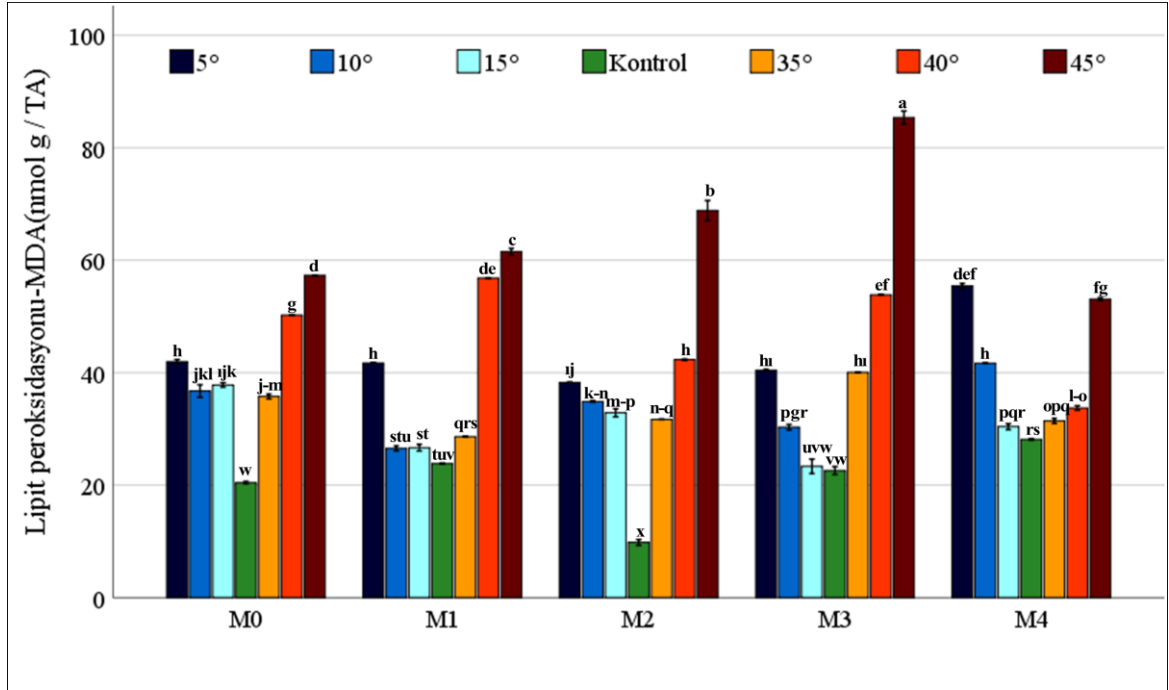
Şekil 4.2. Mısır bitkisinin membran dayanıklılık indeksine ait değişimi

Sıcaklık stresi, zarda bulunan sensörleri etkileyerek hücre zarında önemli değişikliklere sebep olur. Strese maruz kalmayan bitkiler en yüksek hücre zarı stabilitesine sahipken, sıcaklık stresine maruz kalan bitkilerde ilk olarak zar geçirgenliği etkilenir (Zhu vd., 2010b; Kumar vd., 2012). Önceki çalışmalarda düşük sıcaklıkta (Shirani ve Mohammad, 2020),

yüksek sıcaklıkta (Ergin, 2012) iyon sızıntısının arttığı ve hücre zararlanmasının yüksek olduğu ancak mikoriza simbiyozunda hücre zarı stabilitesinin korunduğu, stres altında mikoriza ile aşılanmanın iyon sızıntısını azalttığı bildirilmiştir (Malhi vd., 2021). Çalışmamızda ise, mikoriza aşılanmasının MDİ değerlerine etkisi ihmal edilebilir düzeydedir. Düşük sıcaklık stresi altında mikoriza aşılanmış ve aşılanmamış bitkide iyon sızıntısında önemli bir fark olmadığı bildirilmiştir (EI-Tohamy vd., 1999). Sıcaklık stresiyle bitki yapraklarında meydana gelen iyon sızıntısı miktarındaki artışın düşük düzeyde olması MDİ değişimlerinin dar bir aralıkta değişmesine sebep olmuştur. Bu durum aynı zamanda kullanılan çeşidin sıcaklık değişimlerine toleranslı olduğunun bir göstergesi olarak kabul edilebilir.

Lipit peroksidasyonun son ürünü olan MDA içerikleri Şekil 4.3’de gösterilmiştir. Sıcaklık stresinin şiddeti arttıkça mısır bitkisinin MDA içerikleri de artış göstermiştir. Optimum sıcaklık koşullarında tüm gruplarda MDA değerinin en düşük olduğu, sıcaklık değişimlerine bağlı olarak MDA değerinin arttığı görülmektedir. En yüksek MDA değeri (85,36 nmol g/TA) M3 mikoriza tür karışımının uygulandığı 45 °C’de, en düşük değer ise (9,82 nmol g/TA) M2 mikoriza tür karışımının uygulandığı kontrol sıcaklığında belirlenmiştir. Önceki çalışmalarda mısır bitkisinde yüksek ve düşük sıcaklarda MDA değerinin artış gösterdiği belirlenmiştir (Yüzbaşıoğlu vd., 2017; Wu vd., 2020; Mutlu vd., 2016).

Mikoriza uygulamalarının MDA içeriğine etkisi, kontrol sıcaklığında M2 grubunda mikoriza uygulanmayan (M0) grubuna göre azalmayla sonuçlanmıştır. Mikoriza grupları düşük sıcaklık değerinde kıyaslanacak olursa 5 °C’de M2 ve M3, 10 °C’de M1, M2 ve M3, 15 °C’de tüm mikoriza tür karışımlarının uygulandığı mısır bitkisinde MDA içeriğinin mikoriza uygulanmayan (M0) gruba kıyasla azaldığı belirlenmiştir. Düşük sıcaklık stresi altında mikoriza aşılanmasının yapraklarda MDA değerini azalttığı bildirilmiştir (Liu vd., 2017; Shirani ve Mohammad, 2020).



Şekil 4.3. Mısır bitkisinin lipid peroksidasyonuna ait değişimi

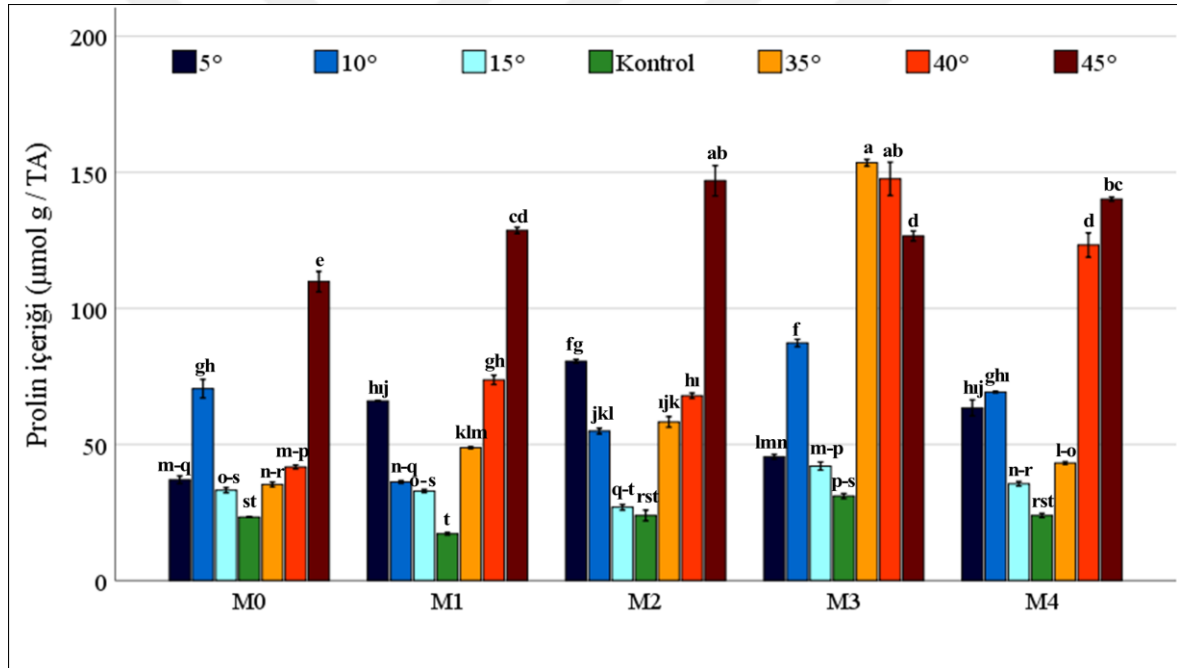
Mikoriza grupları yüksek sıcaklık değerinde kıyaslandığında ise 35 °C’de M1, M2 ve M4, 40 °C’de M2 ve M4, 45 °C’de ise M4 mikoriza tür karışımlarının uygulandığı mısır bitkisinde MDA içeriğinin mikoriza uygulanmayan (M0) gruba kıyasla azaldığı belirlenmiştir. Yüksek sıcaklık stresi altında mikoriza ile aşılansmış mısır bitkilerinde MDA değerinin aşılansmayanlara kıyasla daha düşük olduğu bildirilmiştir (Mathur vd., 2021). Yapılan bir başka çalışmada düşük ve yüksek sıcaklık stresi altında MDA değerinin mikoriza aşılması yapılmayan gruba göre mikoriza ile aşılansmış mısır bitkisinde daha düşük olduğu belirlenmiştir (Zhu vd., 2010b).

Genel olarak bakıldığında 10 °C-35 °C aralığında MDA değerinin mikoriza uygulanmayan (M0) kontrol grubuna göre, mikoriza uygulanan mısır bitkilerinde azaldığı görülmektedir. Membran lipid peroksidasyonun ürünü ve derecesinin bir yansıması olarak kabul edilen MDA’nın (Ali vd. 2005), mikoriza aşılması yapıldığında aşılansmayan bitkilere kıyasla daha düşük olmasının nedeni, mikorizaların membran lipidlerinin peroksidasyonunu azalttığı ve zarın akışını kolaylaştırmasından kaynaklı olduğu bildirilmiştir (Zhu vd., 2010b; 2017).

Mısır bitkisinin strese bağlı prolin içeriğindeki artış en fazla (153,33 nmol g / TA) M3 mikoriza tür karışımının uygulandığı 35 °C’de, en az ise (17,17 nmol g / TA) M1

mikoriza tür karışımının uygulandığı kontrol sıcaklığında belirlenmiştir (Şekil 4.4). Optimum sıcaklık koşullarında prolin içeriğinin düşük olduğu, sıcaklık değişimlerine bağlı olarak da prolin içeriğinin arttığı görülmektedir.

Kontrol sıcaklığında mikoriza uygulamasının yapılmadığı (M0) grubuna kıyasla mikoriza aşılması yapılan mısır bitkisinde M1 mikoriza tür karışımının uygulandığı mısır bitkisi hariç prolin içeriğinde artış görülmüştür. Ortam sıcaklığına kıyasla düşük sıcaklıklarda yaprak prolin içeriğinde artış görüldüğü belirlenmiştir. Strese bağlı olarak prolin miktarında görülen artışın ozmotik ayarlamayı iyileştirdiği ve mikoriza simbiyozunda bu mekanizmanın korunduğu bildirilmiştir (Zhang vd., 2018; Huang vd., 2020; Mitra vd., 2021).



Şekil 4.4. Mısır bitkisinin prolin içeriğine ait değişimi

Düşük sıcaklıklarda M3 grubundaki bitkilerin prolin içeriğindeki değişimler, M0 grubuna benzer şekilde gerçekleşmiştir. 10 °C'ye göre 5 °C'de azalma görülmesi koruma mekanizmasının gerilediğini göstermektedir. Mısır bitkilerine 5 °C'de sıcaklık uygulandığında, mikoriza uygulanmayan (M0) grubuna göre prolin miktarında artış görüldüğü, mikoriza ile aşılanmış mısır bitkilerinde 15 °C'de (M2 hariç) prolin içeriğinin mikoriza uygulanmayan (M0) gruba göre yüksek olduğu belirlenmiştir. Düşük sıcaklıkta özellikle mikoriza uygulanmasıyla prolin içeriğinin arttığı ortaya konmuştur (Yan vd.,

2021). Düşük sıcaklıkta bu artışın sebebinin ise bitkilerin ozmotik ayarlama için yapraklarda prolin biriktirmesinden kaynaklı olduğu bildirilmiştir (Chen vd., 2014). M1 ve M2 mikoriza tür karışımının uygulandığı mısır bitkisinde mikoriza uygulamayan (M0) gruba göre 10 °C ve 15 °C’de prolin içeriğinde azalma olduğu görülmektedir. Yapılan bir çalışmada düşük sıcaklık stresleri altında mikoriza ile aşılansmış mısır yapraklarındaki prolin içeriğinin mikoriza uygulanmayan gruba göre düşük olduğu bildirilmiştir (Zhu vd., 2010b).

Mikoriza uygulanmayan (M0) gruba göre mikoriza uygulanmasının yapıldığı bitkilerde daha yüksek koruma sağlandığı ve mikoriza aşılansmış mısır bitkilerinin yüksek sıcaklıklarda düşük sıcaklığa kıyasla daha çok prolin birikiminin olduğu belirlenmiştir. Mısır bitkisinde yüksek sıcaklıklarda prolin gibi enzimatik olmayan antioksidanları, daha yüksek seviyelerde belirleyen Kumar vd. (2012)’nın bulguları ile mikoriza uygulanmış bitkilerde yüksek sıcaklıklarda prolin birikiminin olduğu bildiren Shahsavandi vd. (2016)’nın bulguları çalışmamızla uyumludur. M3 mikoriza tür karışımının uygulandığı mısır bitkisinde 35 °C’de prolin içeriğinin ani artışı, mikoriza türünün bu sıcaklık değerlerinde bitkiyi daha iyi desteklediğini düşündürmektedir. Böylece simbiyotik ilişkinin olumlu etkilenmesiyle bitkideki ani stres tepkisi olarak yüksek oranda prolin birikimi gerçekleşmiş olabilir.

4.4. Antioksidan Enzim Aktiviteleri

Mikoriza ile aşılansmış farklı sıcaklık uygulamaları altında mısır bitkisinin antioksidan enzim aktivitesine ait varyans analiz sonuçları çizelge 4.9’da verilmiştir.

Çizelge 4.9. Mısır bitkisinin antioksidan enzim aktivitelerine ait kareler ortalamaları

V.K.	S.D.	SOD	GR	APX	CAT
Mikoriza (M)	4	38739**	17435**	557,10**	218,02**
Sıcaklık (S)	6	52402**	24044**	2075,33**	985,47**
M x S	24	21434**	8806**	641,47**	306,79**
Hata	70	126	132	10,56	2,03

** : %1 seviyesinde önemli.

Mikoriza, sıcaklık ve mikoriza × sıcaklık uygulamaları interaksyonu mısır bitkisinin incelenen antioksidan enzim aktiviteleri istatistiki açıdan önemli ($P<0,01$) bulunmuştur.

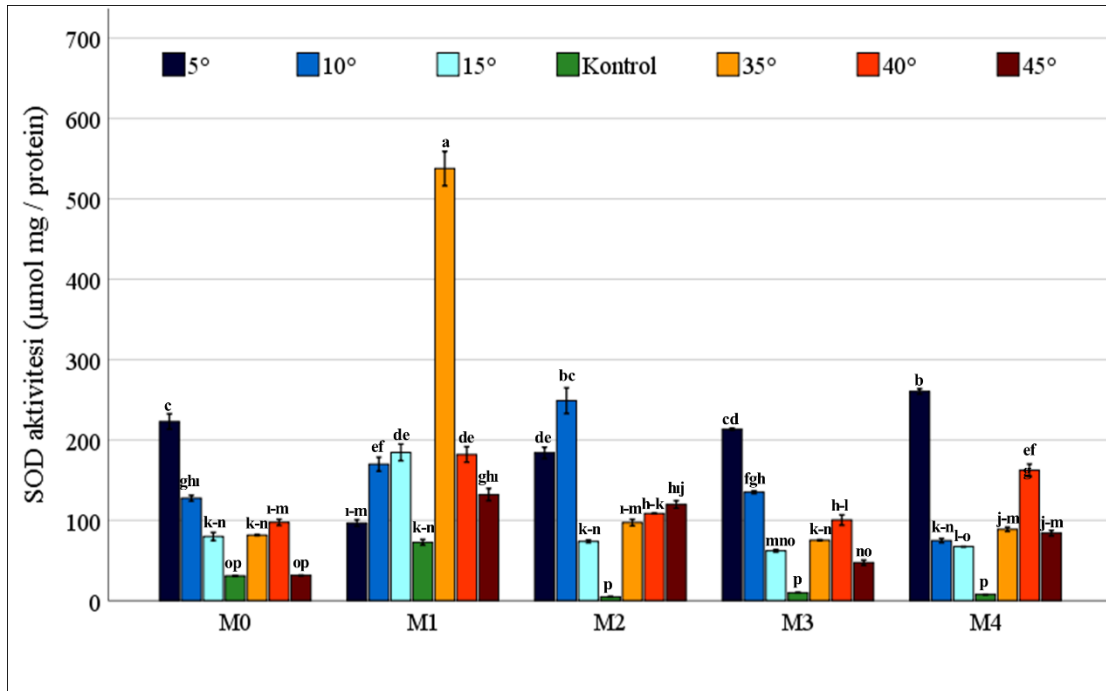
Mısır bitkisinin antioksidan enzim aktivitelerine ait mikoriza uygulamasının ortalama değerleri incelendiğinde SOD, GR ve APX’de en yüksek değer M1 mikoriza tür karışımının uygulandığı mısır bitkisinden, CAT aktivitesine ait en yüksek değer M3 mikoriza tür karışımının uygulandığı mısır bitkisinden elde edilmiştir (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10. Mısır bitkisinin antioksidan enzim aktivitelerine ait ortalama değerler

Uygulama	SOD	GR	APX	CAT
M0	95,93 ^d	90,16 ^c	37,60 ^b	23,58 ^d
M1	196,46 ^a	167,85 ^a	48,78 ^a	26,38 ^b
M2	119,50 ^b	109,83 ^b	40,38 ^b	25,12 ^c
M3	91,88 ^d	115,84 ^b	47,32 ^a	28,04 ^a
M4	106,45 ^c	115,48 ^b	38,63 ^b	19,58 ^e
5 °C	195,44 ^a	117,19 ^c	46,32 ^{bc}	31,73 ^a
10 °C	151,18 ^c	142,60 ^b	59,89 ^a	31,66 ^a
15 °C	93,45 ^e	90,57 ^d	35,07 ^d	15,84 ^c
25 °C	25,15 ^f	45,42 ^e	23,40 ^e	11,89 ^d
35 °C	176,09 ^b	163,42 ^a	37,32 ^d	23,89 ^b
40 °C	130,11 ^d	140,01 ^b	49,90 ^b	32,00 ^a
45 °C	82,89 ^e	139,62 ^b	45,90 ^c	24,78 ^b

Mısır bitkisinin antioksidan enzim aktivitelerine ait sıcaklık uygulamasının ortalama değerleri incelendiğinde SOD aktivitesi en yüksek 5 °C’de, GR aktivitesi 35 °C’de, APX aktivitesi en yüksek 10 °C’de belirlenirken, CAT aktivitesi 40 °C’de belirlenmiştir (Çizelge 4.10).

Hücre içinde ROT’ a karşı ilk savunma hattını SOD oluşturmaktadır (Alscher vd., 2002). Mısır bitkisinin SOD aktivitesi incelendiğinde en yüksek değer (537,75 $\mu\text{mol protein mg}^{-1}$) M1 mikoriza tür karışımının uygulandığı 35 °C’de, en düşük değer (4,75 $\mu\text{mol protein mg}^{-1}$) M2 mikoriza tür karışımının uygulandığı kontrol sıcaklığında belirlenmiştir (Şekil 4.5). Optimum sıcaklık koşullarında mısır bitkilerinde SOD aktivitesinin en düşük olduğu, sıcaklık değişimlerine bağlı olarak SOD aktivitesinin artış gösterdiği belirlenmiştir.



Şekil 4.5. Mısır bitkisinin SOD aktivitesine ait değişimi

Kontrol sıcaklığında mikoriza aşılmasının yapıldığı mısır bitkilerinde mikoriza aşılmasının yapılmadığı (M0) gruba göre M1 mikoriza tür karışımının uygulandığı mısır bitkisi hariç SOD aktivitesinde azalma görülmektedir. SOD aktivitesinin mikoriza aşılmasının yapıldığı bitkilere kıyasla, kontrol koşulları altında mikoriza aşılmasının yapılmadığı bitkilerden daha düşük olduğu belirlenmiştir (Pedranzani vd., 2015).

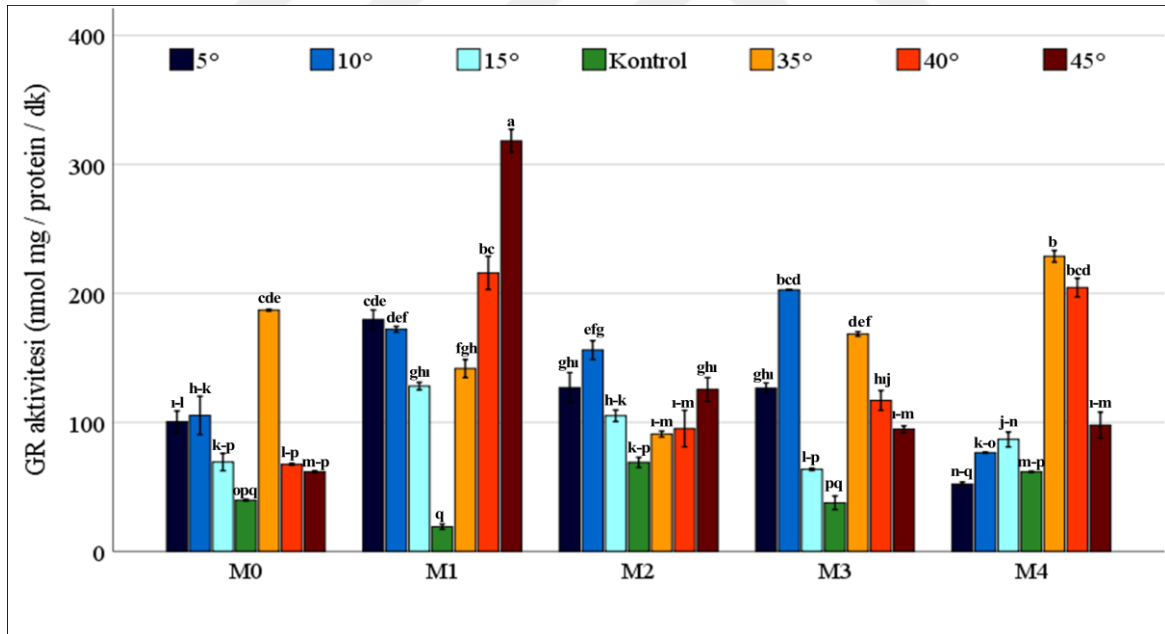
Düşük sıcaklığa maruz kalan bitkilerde en düşük SOD değeri kontrol sıcaklığında belirlenmiştir. Farklı iki mısır çeşidinde düşük sıcaklık stresi uygulandığında en düşük SOD değerinin 25 °C’de olduğu bildirilmiştir (Ramazan vd., 2021). 5 °C’de M4, 10 °C’de M1, M2 ve M3, 15 °C’de M1 mikoriza tür karışımının uygulandığı mısır bitkilerinde mikoriza uygulamasının yapılmadığı (M0) gruba kıyasla SOD aktivitesinde artış görülmüştür. Düşük sıcaklığa maruz kalan mikoriza aşılınmış bitkilerde, aşılınmamış bitkilere kıyasla daha yüksek SOD aktivitesi belirlenmiştir (Yan vd., 2021).

Yüksek sıcaklıklarda kontrol sıcaklığına kıyasla SOD aktivitesinde artış görüldüğü belirlenmiş, Rivero vd. (2004) ‘nin yaptığı çalışmayla uygunluk göstermektedir. Mikoriza aşılması yapılan mısır bitkilerinde, aşılama yapılmayan (M0) gruba kıyasla 35 °C, 40 °C ve 45 °C sıcaklık değerlerinde SOD aktivitesi artış göstermiştir. Yüksek sıcaklık stresi

altında mikoriza aşılamaının yapılmadığı bitkilere kıyasla aşılanaan bitkilerde daha yüksek SOD aktivitesi görüldüğü bildirilmiştir (Maya ve Matsubara, 2013; Alam vd., 2023).

M1 mikoriza tür karışımının uygulandığı mısır bitkisinde hafif sıcaklık stresinde SOD aktivitesinde artış görüldüğü, sıcaklık değeriindeki artışa bağlı olarak SOD aktivitesinin azaldığı görülmektedir. Düşük ve yüksek sıcaklık stresi altında mikoriza ile aşılanamış mısır bitkilerinde yüksek SOD aktivitesi belirlenmiş, sıcaklık stresindeki artışla SOD aktivitesinin azaldığı gözlenmiştir (Zhu vd., 2010b).

Glutasyon Redüktaz H_2O_2 'in temizlenmesinde sınırlayıcı enzim olarak görev yapmakta olan (GR) (Sudhakar vd. 2001) incelendiğinde en yüksek değer (318,27 nmol mg/protein/dk) M1 mikoriza tür karışımının uygulandığı 45 °C'de, en düşük değer (19,09 nmol mg/protein/dk) M1 mikoriza tür karışımının uygulandığı kontrol sıcaklığında belirlenmiştir (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Mısır bitkisinin GR aktivitesine ait değişimi

Optimum sıcaklık koşullarında GR aktivitesinin en düşük olduğu, sıcaklık değişimlerine bağlı olarak GR aktivitesinin artış gösterdiği belirlenmiştir. Kontrol sıcaklığında mikoriza aşılamaının yapıldığı mısır bitkilerinde mikoriza aşılamaının yapılmadığı (M0) gruba göre M2 ve M4 mikoriza tür karışımının uygulandığı mısır

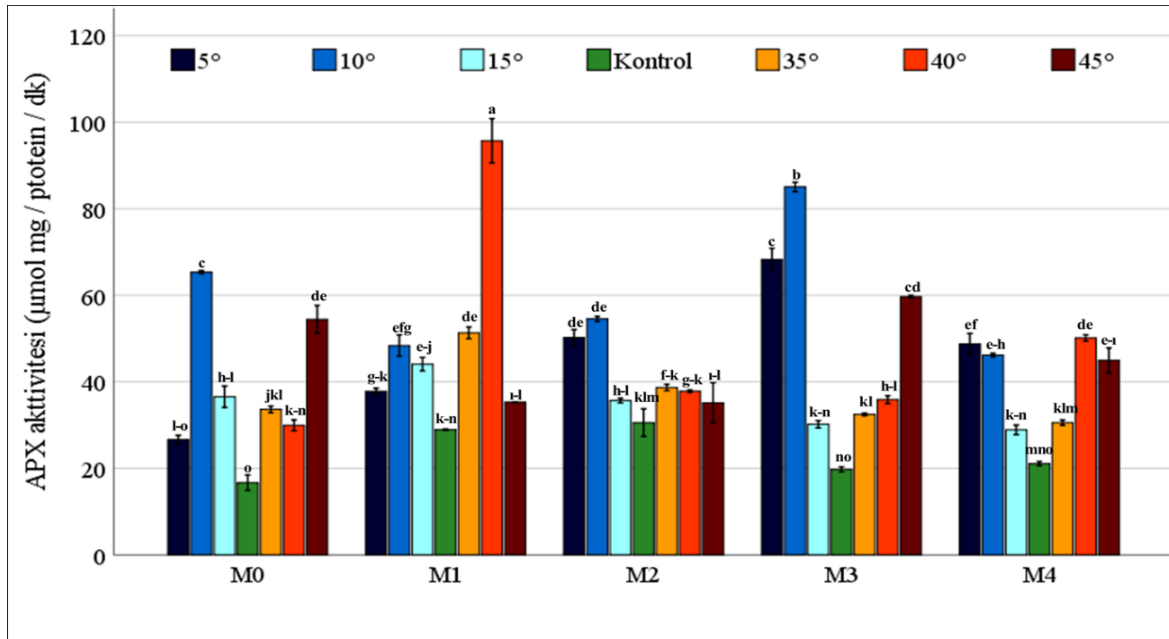
bitkisinde GR aktivitesinde artış belirlenmiştir. Kontrol koşulları altında mikoriza uygulanmasıyla GR aktivitesinde artış gösterdiği önceki çalışmalarla da bildirilmiştir (Pedranzani vd., 2015).

Düşük sıcaklıklarda M1, M2 ve M3 (15 °C hariç) mikoriza tür karışımının uygulandığı mısır bitkilerinde GR aktivitesinde artış görülmektedir. Mikoriza uygulanmış bitkilerde 10 °C düşük sıcaklıkta GR aktivitesinde artış görüldüğü (Liu vd. 2017), mikoriza uygulanmış farklı bitki türünde 5 °C’de GR aktivitesinde artış görüldüğü bildirilmiştir (Chu vd., 2016). 5 °C ve 10 °C’de M4 mikoriza tür karışımının uygulandığı mısır bitkisinde GR aktivitesinde ise azalış görülmektedir. GR aktivitesinin düşük sıcaklıkta mikoriza aşılması yapılan bitkide azaldığı da belirlenmiştir (Pedranzani vd., 2015).

Yüksek sıcaklıklarda 35 °C’de M4, 40 °C ve 45 °C’de tüm mikoriza uygulaması yapılmış mısır bitkisi gruplarında GR aktivitesinde artış görülmektedir. 40 °C ve 45 °C yüksek sıcaklıklarda GR aktivitesinin artış gösterdiği (Yavaş ve İlker, 2020; Kumar vd. 2012) bu artışın M1 mikoriza tür karışımının uygulandığı mısır bitkisinde en yüksek olduğu belirlenmiştir.

Mısır bitkisinin APX aktivitesi incelendiğinde en yüksek değer (95,70 nmol mg/ protein/dk) M1 mikoriza tür karışımının uygulandığı 40 °C’de, en düşük değer (16,67 nmol mg/ protein/ dk) mikoriza uygulamasının yapılmadığı (M0) grupta kontrol sıcaklığında belirlenmiştir (Şekil 4.7). APX, H₂O₂’yi detoksifiye ederek fotosentetik organizmalarda toksik düzeyde birikmesini engelleme işlevi görmektedir (Shigeoka vd., 2002). Optimum sıcaklık koşullarında APX aktivitesinin en düşük olduğu sıcaklık değişimlerine bağlı olarak APX aktivitesinin artış gösterdiği belirlenmiştir. Sıcaklık stresine bağlı olarak mikoriza aşılması yapılan bitkilerde APX seviyesinde artış gözlendiği bildirilmiştir (Maya ve Matsubara, 2013).

Kontrol sıcaklığında mikoriza aşılmasının yapıldığı mısır bitkilerinde mikoriza aşılmasının yapılmadığı (M0) gruba kıyasla APX aktivitesinde artış görülmektedir. Çalışmamızın aksine mikoriza uygulanmış bitkide kontrol koşulları altında APX aktivitesi daha düşük bulunmuştur (Pedranzani vd., 2015).



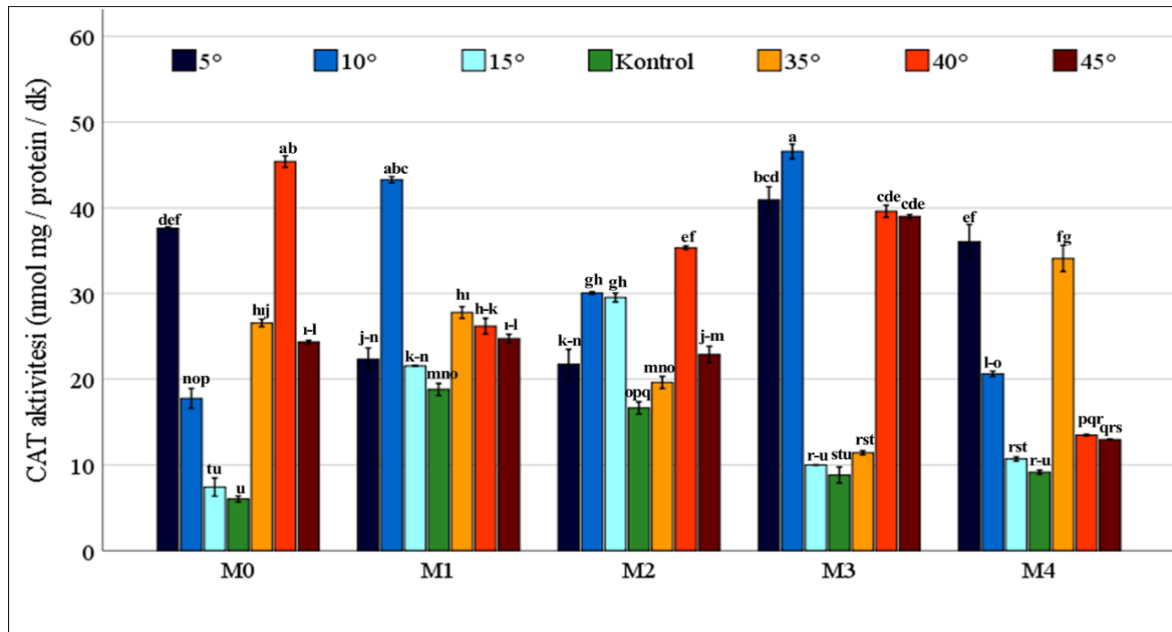
Şekil 4.7. Mısır bitkisinin APX aktivitesine ait değişimi

Düşük sıcaklık uygulamaları altında mikoriza uygulamasının yapılmadığı (M0) gruba kıyasla inceleme yapıldığında 5 °C’de tüm mikoriza uygulaması yapılan bitkilerde, 10 °C’de M3, 15 °C’de ise M1 mikoriza tür karışımlarının uygulandığı mısır bitkisinde APX aktivitesinde artış görülmüştür. Düşük sıcaklık stresi altında mikoriza aşılması yapılan bitkilerde, mikoriza aşılmasının yapılmadığı bitkilere kıyasla APX aktivitesinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Zhou vd., 2012; Abdel Latef ve Chaoxing, 2011).

Mikoriza uygulamasının yapıldığı yüksek sıcaklık uygulanan mısır bitkilerinde mikoriza uygulanmayan (M0) gruba kıyasla 35 °C’de M1 ve M2, 40 °C’de tüm mikoriza uygulamasının yapıldığı mısır bitkilerinde, 45 °C’de M3 mikoriza tür karışımının uygulandığı mısır bitkisinde APX aktivitesinde artış görülmektedir. Yüksek sıcaklık altında mikoriza uygulaması yapılan bitkilerde APX aktivitesinin artış gösterdiği bildirilmiştir (Miyawaki vd., 2006).

Katalaz (CAT), stres koşullarında H₂O₂’nin su ve moleküler oksijene dönüşmesinde rol almaktadır (Jaleel vd., 2009). Mısır bitkisinin CAT aktivitesi incelendiğinde en yüksek değer (46,57 nmol mg/protein/dk) M3 mikoriza tür karışımının uygulandığı 40 °C’de, en düşük değer (6,02 nmol mg/protein/dk) mikoriza uygulanmasının yapılmadığı (M0) grupta kontrol sıcaklığında belirlenmiştir (Şekil 4.8). Optimum sıcaklık koşullarında CAT

aktivitesinin en düşük olduğu sıcaklık değişimlerine bağlı olarak CAT aktivitesinin artış gösterdiği belirlenmiştir. 25 °C’de bitki çeşitlerinde CAT aktivitesinin en düşük olduğu bildirilmiştir (Ramazan vd., 2021). Kontrol sıcaklığında mikoriza aşılmasının yapıldığı mısır bitkilerinde mikoriza aşılmasının yapılmadığı (M0) gruba kıyasla CAT aktivitesi artış göstermektedir.



Şekil 4.8. Mısır bitkisinin CAT aktivitesine ait değişimi

Düşük sıcaklık stresi altında mikoriza uygulamasının yapıldığı mısır bitkilerinde, mikoriza uygulanmayan (M0) gruba kıyasla 5 °C’de M3, 10 °C ve 15 °C’de mikoriza uygulamasının yapıldığı tüm gruplarda CAT aktivitesi artış göstermiştir. Düşük sıcaklığa maruz kalan mısır bitkilerinde CAT aktivitesinin yüksek olduğu (Pedranzani vd. 2015), mikoriza ile aşlanmış bitkilerde düşük sıcaklıklarda yüksek CAT aktivitesi belirlendiği bildirilmiştir (Abdel Latef ve Chaoxing, 2011).

Yüksek sıcaklık stresi altında mikoriza uygulamasının yapıldığı mısır bitkilerinde, mikoriza uygulanmayan (M0) gruba kıyasla 35 °C’de M1 ve M4, 45 °C’de M3 mikoriza tür karışımlarının uygulandığı mısır bitkilerinde yüksek CAT aktivitesi belirlenmiştir. Mikoriza ile aşlanmış bitkilerde 35 °C (Wu, 2011) ile 45 °C’de mikoriza uygulanmış mısır bitkisinde CAT aktivitesinde artış görüldüğü bildirilmiştir (Yavaş ve İlker, 2020).

Sıcaklık stresi gibi abiyotik faktörler, hücre zararlanması ve membran lipid peroksidasyonu gibi olumsuz oksidatif durumlara sebep olan ROT üretiminin hızlanmasına neden olabilir (Demiral ve Türkan, 2005). ROT proteinlere, lipitler ve nükleik asitlere saldırır, oluşan hasarın derecesi ise ROT oluşumu ve bu oluşumun antioksidanlar tarafından uzaklaştırılması arasındaki dengeye bağlıdır (Scheibe ve Beck, 2011). Bitkileri oksidatif hasara karşı savunmak amacıyla antioksidan savunma genlerinin ekspresyonunun tetiklendiği bilinmekte (Menezes-Benavente vd. 2004; Jaleel vd. 2009) olup SOD, APX, CAT ve GR gibi antioksidan enzimler, ROT'tan kaynaklanan zararı önlemektedir (Abdel Latif ve Chaoxing, 2011). Mikorizaların düşük ve yüksek sıcaklık stresi altında bitkilerin su ve besin alımını artırmasına yardımcı olduğu, bu sayede bitkileri oksidatif hasara karşı koruduğu ve osmolit birikimini de artırmasıyla bitkinin stres kaynaklı etkilerini önlemek adına performansını artırdığı daha önce yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Zhu vd., 2017). Bitkilerin sıcaklık stresine maruz kalmasıyla görülen H_2O_2 'deki azalmanın, mikorizaların bitkileri strese karşı koruduğu mekanizmalardan olduğu (Zhang vd. 2013), mikorizalar tarafından düşük seviyede ki H_2O_2 'nin indüklenmesi, savunma ve uyum tepkilerinde önemli sinyal molekülü işlevi görmekte olduğu belirtilmiştir (Chen vd., 2013). Yani stresli koşullar altında mikoriza ve bitki ortak yaşamında, mikorizaların bitki fizyolojisinin değiştirdiği, antioksidan enzim aktivitelerinin kapasitesini artırdığı ve bu sayede bitkileri oksidatif hasara karşı koruduğu bildirilmiştir (Alguacil vd., 2003; Porcel vd., 2003; Nahiyan ve Matsubara, 2012).

4.5. Isı Şoku Proteinlerinin Gen İfadesi

Isı şoku proteinleri (HSP) stres ile indüklenen bir şaperon protein kompleksidir. Isı şoku proteinlerinin boyutları, 20 kDa'dan 100 kDa'ya kadar değişir ve şaperon işlevlerini yerine getirmek için diğer proteinlerle düzenli olarak etkileşime girer (Miller ve Fort, 2018). Isı şoku proteinlerinin koruyucu bir mekanizma oluşturması ve onarma yeteneği bitkinin stres sırasında metabolizmayı sürdürmesini sağlar (Bita ve Gerats, 2013).

Mısır bitkilerinde ve köklerde gelişen mikorizalarda HSP70 ve HSP90 gen ekspresyonlarını belirlemek için RT-PCR analizleri yapılmış ve mısır bitkisinin gen ekspresyonu değişimlerinde mikoriza türü, sıcaklık uygulaması ve bu ikisinin interaksyonu istatistiki olarak %1 düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.11). Mikoriza türlerinin

HSP70 gen ekspresyonlarında türler arasındaki farklılık önemli değilken, HSP90 gen ekspresyonu %1 düzeyinde önemli farklılık göstermiştir. Sıcaklık uygulamaları ve mikoriza × sıcaklık interaksyonu hem HSP70 hem de HSP90 gen ekspresyonları açısından önemli farklılık oluşturmuştur.

Çizelge 4.11. Mısır bitkisinin ve mikoriza türlerinin HSP70 ve HSP90 gen ekspresyonlarına ait kareler ortalamaları

V.K.	S.D.	Mısır bitkisi		S.D.	Mikoriza türü	
		HSP70	HSP90		HSP 70	HSP 90
Mikoriza (M)	4	16,271**	51002**	3	9,306 ^{öd}	88,05**
Sıcaklık (S)	6	24,473**	36714**	6	6,990*	73,38**
M x S	24	16,385**	33889**	18	5,270*	105,38**
Hata	70	1,722	1495	56	1,943	10,99

*: %5, **: %1 seviyesinde önemli.

Mısır bitkisinde ve mikoriza türleri arasında HSP70 ve HSP90 genlerinin ekspresyonu M2 mikoriza türünde en yüksek değerini alırken, sıcaklığa bağlı değişimlerde mısır bitkisinin HSP70 gen ekspresyonu 45 °C’de en yüksek değerine ulaşmıştır (Çizelge 4.12).

Mısır bitkisinin HSP90 gen ekspresyonu 10 °C’de 108 kat artarak en yüksek değerine ulaşmıştır, bunu takip eden en yüksek ekspresyon değeri ise 67,5 kat artışla 45 °C’de olmuştur (Çizelge 4.12).

Mikoriza türlerinin HSP70 ve HSP90 gen ekspresyonunun değişimi mikoriza türlerine göre en yüksek M2’de gözlemlenmiştir. Sıcaklığa bağlı değişimleri incelendiğinde, HSP70’in ekspresyonu en yüksek değerine 10 °C’de ulaşırken, HSP90’ın ekspresyonunun 40 °C’de en yüksek değerine ulaştığı görülmüştür.

Çizelge 4.12. Mısır bitkisinin ve mikoriza türlerinin HSP70 ve HSP90 gen ekspresyonlarına ait ortalama değerler

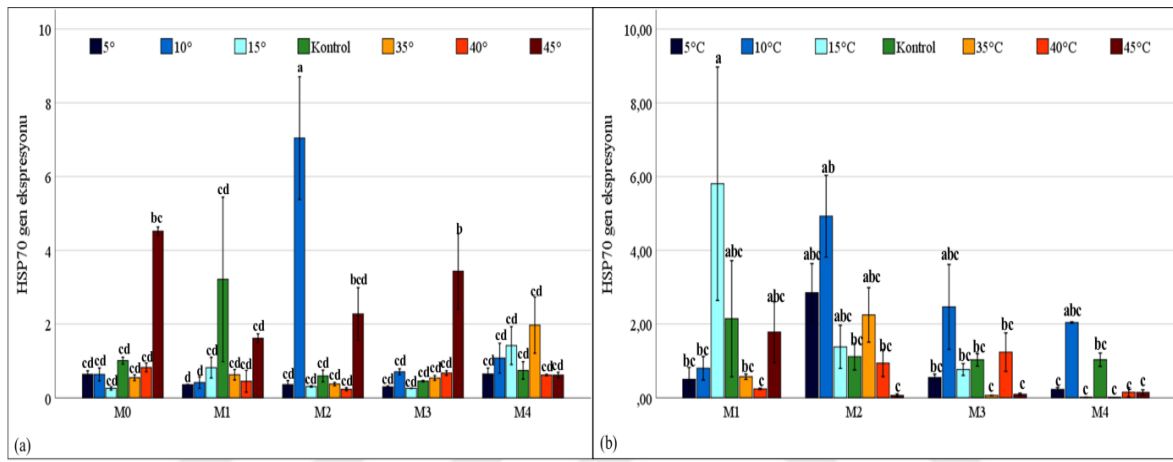
Uygulama	Mısır bitkisi		Mikoriza türü	
	HSP70	HSP90	HSP70	HSP90
M0	1,20 ^{bc}	6,40 ^b	-	-
M1	0,56 ^c	28,23 ^b	1,69	3,67 ^a
M2	2,91 ^a	120,44 ^a	1,93	4,28 ^a
M3	2,01 ^{ab}	14,57 ^b	0,89	0,52 ^b
M4	1,52 ^{bc}	1,29 ^b	0,52	0,39 ^b
5 °C	0,62 ^b	1,48 ^c	1,03 ^{ab}	0,34 ^c
10 °C	3,37 ^a	126,56 ^a	2,56 ^a	1,09 ^{bc}
15 °C	0,79 ^b	0,89 ^c	1,99 ^{ab}	5,13 ^{ab}
25 °C	1,18 ^b	1,17 ^c	1,33 ^{ab}	1,15 ^{bc}
35 °C	1,14 ^b	6,60 ^c	0,72 ^b	0,72 ^c
40 °C	0,78 ^b	23,57 ^c	0,64 ^b	6,41 ^a
45 °C	3,60 ^a	79,02 ^b	0,52 ^b	0,66 ^c

HSP70 proteinleri, bir N-terminal ATPase alanı ve bir C-terminali peptit bağlanma alanı ile ATP tarafından yönlendirilen moleküler şaperonlardır. HSP70, protein biyogenez, stres anında organizmayı koruma, protein yığınlarının oluşumunun önlenmesi, proteinlerin translokasyonuna yardım ve çoklu hücrel işlevleri yerine getiren evrimsel olarak korunmuş bir protein ailesidir. Başlıca hücreyi koruyan moleküler şaperon olan HSP70, birçok stres faktörüne karşı korumada ve hücrel homeostazın yeniden kurulmasında çok önemli bir rol oynar (Asea vd., 2016).

Mikoriza uygulanan, yüksek ve düşük sıcaklık stresine ve bunların kombinasyonuna göre mısır bitkilerinde HSP70 ekspresyonunun değiştiği görülmüştür (Şekil 4.9). Düşük veya yüksek sıcaklıklardaki mısır bitkisinin HSP70 gen ekspresyonu değişimleri mikoriza türlerine göre de değişmiştir. Düşük ve yüksek sıcaklığa mısır bitkisiyle birlikte maruz kalan mikoriza türlerinin HSP70 gen ekspresyonunun farklı değişimleri türlerin sıcaklığa olan tepkilerinin farklılığına dikkati çekmiştir.

Mikorizanın uygulanmadığı (M0) grubunda, mısır bitkisinin HSP70 geninin ekspresyonu düşük sıcaklıklarda kontrole göre azalırken, yüksek sıcaklıklarda önce azalmış, 45 °C’de ise kontrole göre yaklaşık 2,5 kat artış göstermiştir. M1 grubunda, mikoriza

uygulanması da HSP70 geninin ekspresyonunun mikoriza uygulanmayan (M0) gruba göre kontrol sıcaklığında (25 °C) artışına neden olmuştur. M1 mikoriza türünün uygulandığı düşük ve yüksek sıcaklıklarda ise mısır bitkisinin gen ekspresyonlarının kontrol sıcaklığına (25 °C) göre azaldığı görülmektedir (Şekil 4.9a). M1 mikoriza türünün HSP70 gen ekspresyonu düşük sıcaklıklarda 15 °C’de kontrole göre yaklaşık 2 kat artmış fakat sonra azalmıştır. Yüksek sıcaklıklardaki gen ekspresyonu ise, mısır bitkisinin HSP70 gen ekspresyonuyla benzer bir değişime sahiptir (Şekil 4.9b).



Şekil 4.9. Düşük ve yüksek sıcaklık uygulamaları ile mısır bitkisinin (a) ve mikoriza türlerinin (b) HSP70 gen ekspresyonlarının değişimi

M2 mikoriza grubunda düşük sıcaklıklarda mısır bitkilerinin HSP70 gen ekspresyonu 15 °C ve 5 °C’de kontrole göre az da olsa azalış gösterirken 10 °C’de yaklaşık 7 kat artış göstermiştir. Yüksek sıcaklıklarda mısır bitkilerinde 35 °C ve 40 °C’lerde az miktarda azalan gen ekspresyon seviyesi 45 °C’de yükselmiştir (Şekil 4.9a). M2 mikoriza türünün HSP70 gen ekspresyonu mısır bitkisinde olduğu gibi 10 °C’de en yüksektir. M2 mikoriza türünde yüksek sıcaklıklarda durum mısır bitkilerinden farklıdır. 35 °C’de kontrole göre artan ekspresyon düzeyi, sıcaklık yükseldikçe azalmıştır (Şekil 4.9b).

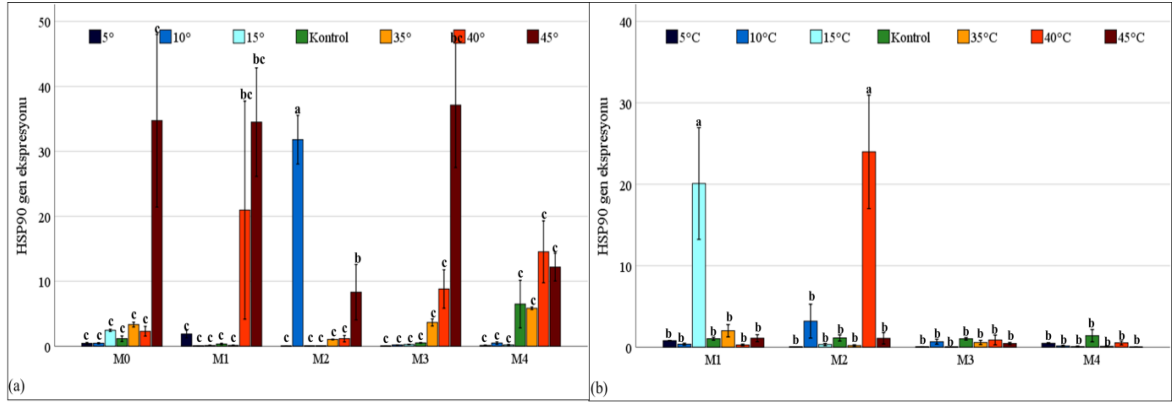
M3 mikoriza grubunda mısır bitkisinin HSP70 gen ekspresyonu en yüksek 45 °C’de gözlemlenmiştir. Diğer sıcaklık derecelerindeki değişimler düşük düzeydedir (Şekil 4.9a). M3 mikoriza türünün HSP70 gen ekspresyonu bakımından sıcaklığa tepkileri değişkendir. 15 °C’de azalan ekspresyon seviyesi 10 °C’de yaklaşık 3 kat artmış 5 °C’de yeniden azalmıştır. Yüksek sıcaklıklarda 40 °C’de kontrole göre daha yüksek olan ekspresyon seviyesi, 35 °C ve 45 °C’de neredeyse kaybolmuştur (Şekil 4.9b).

M4 mikoriza grubunda mısır bitkisinin HSP70 gen ekspresyonu 15 °C’de kontrole göre artmasına rağmen, sıcaklık azalmasına paralel olarak azalış göstermiştir. Yüksek sıcaklıklarda benzer şekilde 35 °C’de artmış olan ekspresyon seviyesi sıcaklığın artışıyla birlikte azalış göstermiştir (Şekil 4.9a). M4 mikoriza türünde ise, HSP70 gen ekspresyonu en yüksek seviyesine 10 °C’de ulaşmıştır. Diğer sıcaklık derecelerindeki ekspresyon seviyesi kontrole göre azalmıştır (Şekil 4.9b).

HSP90 proteinleri organizmaların çoğunda bulunur ve proteinlerin yapımında, stabilizasyonunda, olgunlaşmasında ve aktivasyonunda rol alarak hücre homeostazına büyük katkı sağlar (Asea vd., 2016). HSP90 proteinleri sitozol içerisinde en bol bulunan ve çeşitli stres faktörlerine karşı kalmodulin, aktin, tübülün, kinazlar, reseptör proteinleri ve şaperon grupları ile etkileşime girerek hücrenin savunma mekanizmasında rol alan proteinlerdir (Park ve Seo, 2015).

Mikoriza uygulanan, yüksek ve düşük sıcaklık stresine ve bunların kombinasyonuna göre mısır bitkilerinde HSP90 ekspresyonunun değiştiği ve özellikle yüksek sıcaklıklarda aşırı ekspresyon görülmüştür (Şekil 4.10). Düşük veya yüksek sıcaklıklardaki mısır bitkisinin HSP90 gen ekspresyonu değişimleri mikoriza uygulamalarına göre de değişmiştir. Düşük ve yüksek sıcaklığa mısır bitkisiyle birlikte maruz kalan mikoriza türlerinin HSP90 gen ekspresyonunun farklı değişimleri türlerin sıcaklığa olan tepkilerinin farklılığına dikkati çekmiştir.

Mikorizanın uygulanmadığı (M0) grubunda, mısır bitkisinin HSP90 geninin ekspresyonu düşük sıcaklıklarda kontrole 15 °C’de artmış, ancak 5 °C ve 10 °C’de çok düşük düzeylere gerilemiştir. Yüksek sıcaklıklarda kontrole göre artmaya başlayan ekspresyon seviyesi 45 °C’de ise kontrole göre yaklaşık 35 kat artarak aşırı ekspresyon göstermiştir. M1 grubunda, mısır bitkisinin HSP90 gen ekspresyonlarının 40 °C ve 45 °C’de aşırı ekspresyonu dikkat çekmektedir (Şekil 4.10a). M1 mikoriza türünün HSP90 gen ekspresyonu düşük sıcaklıklarda 15 °C’de kontrole göre yaklaşık 20 kat artmış, sıcaklığın azalmasıyla birlikte kontrol sıcaklığındaki ekspresyon seviyesinin altında düşmüştür. Yüksek sıcaklıklardaki gen ekspresyonu ise, kontrol sıcaklığındaki seviyesinden yüksek olmasına rağmen 40 °C’de kaybolmuştur (Şekil 4.10b).



Şekil 4.10. Düşük ve yüksek sıcaklık uygulamaları ile mısır bitkisinin (a) ve mikoriza türlerinin (b) HSP90 gen ekspresyonlarının değişimi

M2 mikoriza grubunda düşük sıcaklıklarda mısır bitkilerinin HSP90 gen ekspresyonu 15 °C ve 5 °C’de kontrole yakın düzeyde iken 10 °C’de yaklaşık 35 kat artış göstermiştir. Yüksek sıcaklıklarda mısır bitkilerinde 35 °C ve 40 °C’lerde artmaya başlayan HSP90 gen ekspresyon seviyesi 45 °C’de yaklaşık 9 kat artış göstermiştir (Şekil 4.10a). M2 mikoriza türünün HSP90 gen ekspresyonu 10 °C’de yüksektir, ancak 5 °C ve 15 °C’de neredeyse kaybolmuştur. 35 °C’de azalan HSP90 gen ekspresyonu 40 °C’de kontrole göre 20 kat artış göstermiş ve 45 °C’de kontrol ile aynı seviyeye gerilemiştir (Şekil 4.10b).

M3 mikoriza grubunda mısır bitkisinin HSP90 gen ekspresyonu en yüksek 45 °C’de gözlemlenmiştir. Diğer yüksek sıcaklık derecelerindeki artışlar daha düşük düzeydedir (Şekil 4.10a). Düşük sıcaklık derecelerinde HSP90 gen ekspresyonu 0’a yakındır. M3 mikoriza türünün HSP90 gen ekspresyonunun değişkenliği düşük düzeydedir (Şekil 4.10b).

M4 mikoriza grubunda mısır bitkisinin HSP90 gen ekspresyonu düşük sıcaklıklarda 0 seviyesine azalış göstermiştir. Yüksek sıcaklıklarda 35 °C’de kontrole yakın olan ekspresyon seviyesi 40 °C’de artış göstermiş, 45 °C’de ise yeniden azalmıştır (Şekil 4.10a). M4 mikoriza türünde ise, HSP90 gen ekspresyonu kontrole göre 0’a kadar azalmıştır (Şekil 4.10b).

Yüksek ve düşük sıcaklıklarda erken uyarı için kullanılabilecek oldukça hassas ve önemli belirteçler olarak kabul edilen HSP70 ve HSP90 proteinlerinin birikiminin mikorizalar ile simbiyoz koşullarında artış göstermesi, bitkideki savunma mekanizmasının aktif olduğunu göstermektedir. Özellikle aşırı ekspresyonunun görüldüğü sıcaklık

derecelerinde mikorizalar ile simbiyotik yaşayan bitkilerin strese karşı protein metabolizmasını daha iyi kullanabildiğini ve savunma mekanizmasının daha güçlü olduğunu söylemek mümkündür. Yapılan bir çalışmada, potansiyel mikroorganizmalar tarafından HSP indüksiyonunun, bitkisel üretim sırasında sıcaklık stresi toleransını belirlemek için fonksiyonel genomik bir yaklaşım olduğu bildirilmiştir (Mitra vd. 2021). *Pseudomonas sp.* AMK-P6'nın, sorgum bitkisindeki sıcaklık stresinin üstesinden gelmek için HSP indüklediği belgelenmiştir (Ali vd., 2009). HSP 90'ın *Paraphaeosphaeria quadrisepata* tarafından uyarılmasının Arabidopsis'te sıcaklık stresini en aza indirdiği rapor edilmiştir (McLellan vd., 2007).

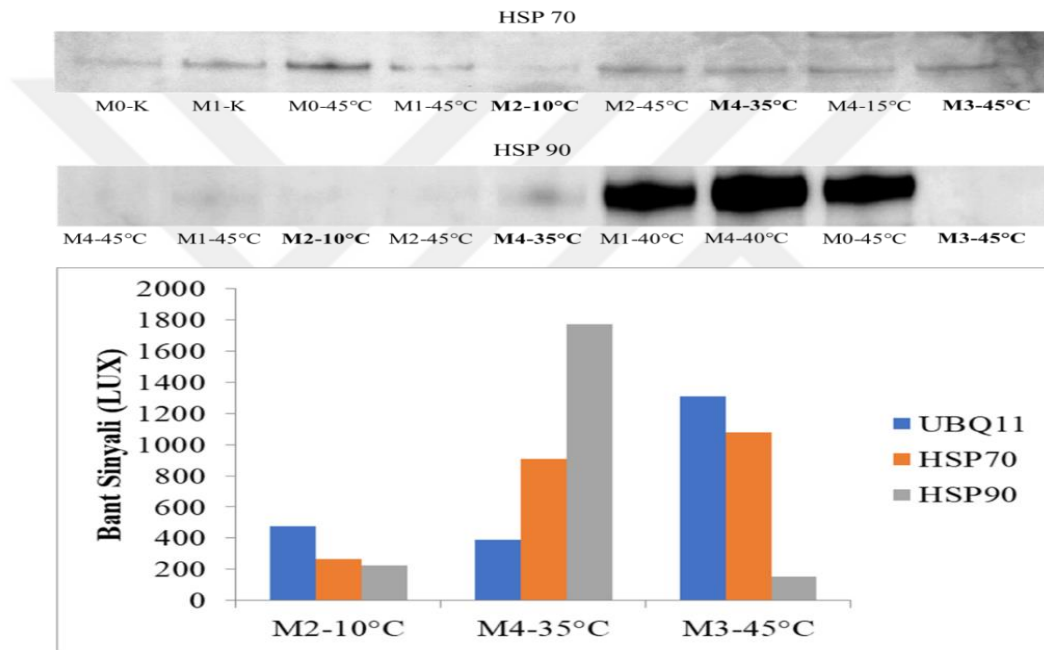
4.6. Western Blot Analizleri

Mısır yapraklarında HSP70 ve HSP90 protein ekspresyonu Western blot analizleri, ekspresyon düzeyinin yüksek olduğu uygulamalar için yapılmıştır. HSP70 gen ekspresyonunun yüksek olduğu uygulamalarda HSP70 protein ekspresyonunun da olduğu görülmektedir. Bant yoğunlukları göz önüne alındığında mikoriza ve sıcaklık uygulanmayan bitkilerde beklenildiği gibi, protein ekspresyonu düşüktür. M2 mikoriza türünün uygulandığı 10 °C sıcaklık uygulamasında aşırı gen ekspresyonu saptanmasına rağmen, protein ekspresyonu gerçekleşmemiştir (Şekil 4.11). Bazı durumlarda aşırı ekspre olan genler proteine dönüşmeyerek, miRNA vb. gibi farklı post translasyonel faktörlere dönüşebilmektedir (Chinnusamy vd., 2007; Sunkar, 2010; Guerra vd., 2015; Ramakrishnan vd., 2022).

Yapılan Western blot analizi, mikoriza uygulanan, sıcaklık stresine ve bunların kombinasyonuna maruz kalan mısır bitkisinin yapraklarında HSP90 ekspresyonunun da özellikle mikoriza uygulanmayan 45 °C sıcaklıkta, M1 ve M4 mikoriza türlerinin uygulandığı 40 °C sıcaklıkta aşırı arttığını göstermiştir (Şekil 4.11).

Hem HSP70 hem de HSP90 gen ekspresyonlarının yüksek olduğu M2-10 °C ve M3-45 °C uygulamalarında bant sinyalinin azaldığı, M4-35 °C uygulamasında ise düşük düzeyde arttığı görülmüştür. Bu uygulamalar için tespit edilen aşırı gen ekspresyonları için post transkripsiyonel ve translasyonel faktörler araştırılmalıdır. Mikoriza uygulamalarında tespit edilen HSP70 ve HSP90 protein birikiminin yüksek sıcaklığa tolerans sağlamada etkili

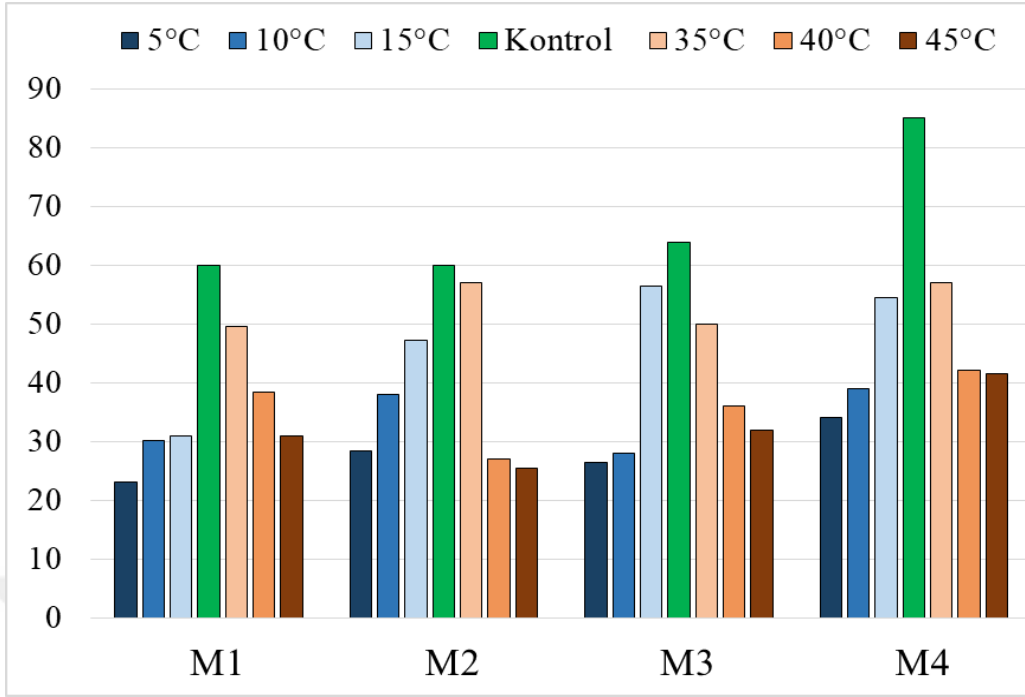
iken düşük sıcaklığa tolerans sağlamadaki ilişkisi için daha ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç vardır. Bitkilerde, membranın korunması ve protein agregasyonunun önlenmesi fonksiyonlarından dolayı HSP'lerin soğuk stresi karşısında indüklendiğini belirten çalışmalar mevcuttur (Jenny vd., 2006; Timperio vd., 2008). Cin darı bitkisinde yapılmış bir çalışmada, araştırmacılar SiHsp genlerinin bir kısmının düşük sıcaklık stresi karşısında ifadelerinin yüksek miktarda arttığını göstermişlerdir. Dallı darı bitkisinde yapılmış bir başka çalışmada da PvHsp20 genlerinin bir kısmının düşük sıcaklık karşısında ifadelerinde büyük bir artış olduğu araştırmacılar tarafından belirlenmiştir (Yan vd., 2017).



Şekil 4.11. HSP70 ve HSP90 protein ekspresyonlarının değişimi

4.7. Mikoriza Kolonizasyonu

Deneme sonunda mikoriza uygulamaları yapılmış olan mısır bitkilerinin kök enfeksiyonu belirlenmiştir. Köklerde bulunan enfeksiyon boyama metodu ile belirlenmiş olup, kök enfeksiyonu oranlarına ait değerler Şekil 4.14'te verilmiştir.



Şekil 4.12. Mısır bitkisinin köklerindeki mikoriza kolonizasyonunun değişimi

Mısır bitkisinde kök bölgesinde yapılan sayımlarda kök enfeksiyonu bakımından en yüksek kolonizasyonun kontrol sıcaklığındaki M4 mikoriza uygulamasında (%85) olduğu belirlenmiştir. Mikorizal kolonizasyonun sıcaklığın azalışı veya artışına bağlı olarak azaldığı görülmüştür. Zhu vd. (2016) sıcaklığın 25 °C'den 15 °C'ye düşmesiyle mikoriza kolonizasyonunun %49'dan %42'ye düştüğünü bulmuştur. M4 mikoriza türünün tüm sıcaklık derecelerindeki kolonizasyon yüzdesi diğerlerine göre daha yüksektir. Kolonizasyondaki azalış miktarları göz önüne alındığında, M2 mikoriza türünün düşük sıcaklıklara, M1 mikoriza türünün ise yüksek sıcaklıklara daha toleranslı olduğunu söyleyebiliriz.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu araştırmada arbüsküler mikorizal spor uygulanan mısır bitkilerinin düşük ve yüksek sıcaklık koşulları altında besin elementi alımları, fizyolojik parametlerinde ki değişimleri ile HSP gen ve protein ekspresyonlarına olası etkileri incelenmiştir.

Mısırın toprak üstü yaş ve kuru ağırlıkları mikoriza uygulaması ile kontrol bitkilerine göre artış göstermiş ve biyokütle artışına en çok M3 mikoriza türlerinin etkili olduğu ve kontrol sıcaklığı olan 25 °C sıcaklıkta belirlenmiştir. Ekstrem sıcaklıklar olan 5 °C ve 45 °C’lerde bitki yaş ve kuru ağırlığında azalma olduğu belirlenmiştir. Ancak uygulanan mikoriza tür karışımları ise mikoriza uygulanmayan kontrol bitkilerinden daha yüksek biomasa sahip olduğu bulunmuştur.

En yüksek N, P ve K konsantrasyonları, çok fazla mikoriza tür karışımını içeren M4 uygulamasından elde edilmiştir. M4 karışımında bulunan mikoriza türlerinin mısır bitkileri ile kolonize edilmesinde, mikorizal olmayan bitkilerden önemli ölçüde daha yüksek sürgün mineral besin konsantrasyonlarına sahip olduğu belirlenmiştir. Bu muhtemelen, M4 ile kolonize edilmiş mısır bitkilerinin geniş mantar hifleri tarafından sunulan daha büyük bir absorpsiyon yüzey alanına ve gelişmiş kök büyümesine sahip olmasından kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte, M4 mikoriza tür karışımlarının (*Glomus aggregatum*, *Glomus clarium*, *Glomus monosporus*, *Glomus deserticola*, *Glomus brasilianum*, *Glomus etunicatum*, *Gigaspora margarita*) bu elementlerin konsantrasyonlarının yüksek olması üzerine bitki gelişimini ve kök uzunluğunu artırmasına, buna bağlı olarak kuru maddedeki artışla da açıklanabilmektedir.

En yüksek Ca, Mg, Zn ve Fe konsantrasyonları M2, Cu ve Mn konsantrasyonları ise M3 mikoriza tür karışımlarının uygulandığı mısır bitkilerinde belirlenmiştir. M2 mikoriza türlerinin içerdiği *Glomus intraradices*, *Glomus constrictum*, *Glomus microcarpum* mantarlarının mısır bitkileri ile kolonizasyonunda Ca, Mg, Zn ve Fe besinlerinin alımında; M3 mikoriza türlerinin içerdiği *Gigaspora sp*, *Glomus constrictum*, *Glomus fasciculatum*

mantarlarının mısır bitkileri ile kolonizasyonunda Cu ve Mn besinlerinin alımında daha iyi çalıştığı söylenebilir.

Azot, P, K, Ca ve Fe mineral besin elementlerinin en yüksek konsantrasyonları, 25 °C sıcaklığında $\times$ M4 mikoriza türlerinin karışımında belirlenirken, Cu ve Mn konsantrasyonları 25 °C $\times$ M3 mikoriza tür karışımında, Mg ve Zn konsantrasyonu ise 25 °C $\times$ M2 mikoriza tür karışımında belirlenmiştir.

Varyans analiz sonuçlarına göre mikoriza ve sıcaklığın mısır bitkisinin büyümesi ve beslenmesi üzerinde önemli etkiye sahip olduğu, 25 °C sıcaklıkta besin içeriklerinin yüksek olması, mevcut bulunan veya taşımaya bağlı olarak mantar hiflerindeki artışlardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Mikoriza aşılansmış mısır bitkisinin düşük ve yüksek sıcaklık stresi altında verdiği tepkilerin türe özgü ve tür karışımlarının birlikte etkileşiminden kaynaklandığı düşünülmektedir. Mikoriza kolonizasyonun ortam sıcaklığının 15 °C ve azalan sıcaklıklarda (10 °C veya 5 °C'de) hemen hemen tamamının inhibe olduğu ve mineral element alımının azaldığı belirlenmiştir. Mikoriza aşılansmış mısır bitkisinin kök kolonizasyonunda 35 °C ve 40 °C'de önemli bir değişiklik olmadığı sonucuna varılmıştır. Ayrıca çalışmada, yüksek sıcaklığın mikorizal kolonizasyonun etkilendiği ve mineral alımının azaldığı da belirlenmiştir.

Fizyolojik ve moleküler bulgular bağlantılı olarak değerlendirildiğinde, HSP70 ve HSP90 sentezinin tüm mikoriza uygulamalarında 10 °C, 40 °C ve 45 °C'de maksimuma ulaşması, enzim aktivitelerinin de özellikle bu sıcaklıklara kadar artış göstermesi daha sonra azalmaya başlaması, prolin birikiminin artması, mısır bitkisinin mikoriza simbiyozunda sıcaklık değişimlerinin oluşturacağı strese karşı kendisini koruyabildiğini göstermektedir. Ancak, bahsedilen bu mekanizmalar mikoriza türlerinin sıcaklık değişimlerine verdiği tepkiler arasındaki farklılıklara göre değişiklik göstermektedir. Antioksidan enzim aktivitelerinin M3 mikoriza türünün uygulandığı bitkilerde düşük sıcaklıklarda yüksek bulunmasına karşın artan sıcaklıklarda bu durumu devam ettirememesi; ancak M1 mikoriza türünün uygulandığı bitkilerde artan sıcaklıklarda aktivitenin devam etmesi bu türlerin farklı sıcaklık koşullarına daha tolerant olduğuna işaret etmektedir. Ayrıca, mikoriza uygulanan bitkilerde prolin miktarının yüksek sıcaklıklarda daha yüksek olması uygulamaların bitkileri yüksek sıcaklıklara daha tolerant hale getirdiğine işaret etmektedir. GR aktivitesi M1 ve M2,

APX aktivitesi M3 ve M4 mikoriza uygulamalarında tolerans sağlamada önemli iken CAT ve SOD aktivitesi etkisi belirsizdir.

Sonuç olarak, mısır bitkisinde düşük ve yüksek sıcaklık uygulamalarının, mikoriza simbiyozunda, incelenen parametreler bazında ciddi değişimlere neden olduğu, bu değişimlerin sıcaklık değişimlerine ve mikoriza türleri arasındaki farklılıklara bağlı olarak farklı seviyelerde meydana geldiği belirlenmiştir. Maddeler halinde özetlenecek olursa;

-Yüksek ve düşük sıcaklıklara toleransın artmasında mikoriza türlerinin de sıcaklığa verdiği tepkilerin etkili olduğu,

-GR aktivitesinin M1 ve M2 türleriyle olan simbiyozda, APX ve CAT enzim aktivitelerinin ise M3 ve M4 türleriyle olan simbiyozda sıcaklık değişimlerine tolerans sağlamada daha önemli etkilerinin olduğu, SOD aktivitesinin ise etkisiz olduğu,

-Prolinin koruyucu etkisinin yüksek sıcaklıklarda düşük sıcaklıklara göre daha belirgin olduğu,

-HSP70 gen ekspresyonunun M2 türünün ve bu türle simbiyotik yaşayan mısır bitkisinin 10 °C sıcaklıkta düşük sıcaklığa toleransın sağlanmasında etkili olduğu, HSP90 gen ekspresyonunun ise M3 ve M4 ile simbiyotik yaşayan mısır bitkisinde toleransı arttırabileceği,

-Western blot analizinde HSP90'ın yüksek yoğunlukta bulunduğu sıcaklık derecelerinde strese koruma mekanizmasının çalıştığına işaret edebileceği, buna karşılık yüksek gen ekspresyonu tespit edilen uygulamalarda protein ekspresyonunun bulunmamasının post transkripsiyonel faktörlerden kaynaklanmış olabileceği sonucuna varılmıştır.

Bu çalışmanın sonuçları, mikoriza uygulanan mısır bitkisinde düşük ve yüksek sıcaklık stresinin metabolik etkilerini ortaya koymasının yanı sıra, bitkilerde ve mikoriza türlerinde düşük ve yüksek sıcaklığın moleküler mekanizmasının anlaşılmasına da katkıda bulunmuştur. Böylece bu konuda ileriki aşamada yapılabilecek farklı transkriptomik

alıřmalara da temel oluřturarak, dūřuk veya yūksek sıcaklık stresine tolerant mikoriza tūrlерinin geliřtirilmesine yūnelik çalıřmalara yardımcı olacaktır.



KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abdel Latef, A. A. H., & Chaoxing, H. (2011). Arbuscular mycorrhizal influence on growth, photosynthetic pigments, osmotic adjustment and oxidative stress in tomato plants subjected to low temperature stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33, 1217-1225.
- Abdelrahman, M., El-Sayed, M., Jogaiah, S., Burritt, D. J., & Tran, L. S. P. (2017). The “STAY-GREEN” trait and phytohormone signaling networks in plants under heat stress. *Plant Cell Reports*, 36, 1009-1025.
- Abou-Deif, M. H., Rashed, M. A. S., Khalil, K. M., & Mahmoud, F. E. S. (2019). Proteomic analysis of heat shock proteins in maize (*Zea mays* L.). *Bulletin of the National Research Centre*, 43(1), 1-9.
- Abraham-Juárez, M. J. 2019. “Maize protein extraction for different downstream applications”. Bio-101: e3241.
- Akpınar, Ç. (2011). *Kanola Sonrası Yetiştirilen II. Ürün Mısır Bitkisine Mikoriza Aşılmasının Verim ve Besin Elementleri Alımına Etkisi* [Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü].
- Alam, M. Z., Choudhury, T. R., & Mridha, M. A. U. (2023). Arbuscular Mycorrhizal Fungi Enhance Biomass Growth, Mineral Content, and Antioxidant Activity in Tomato Plants under Drought Stress. *Journal of Food Quality*, 2023.
- Al-Amri, S. M. (2021). Application of bio-fertilizers for enhancing growth and yield of common bean plants grown under water stress conditions. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(7), 3901-3908.
- Alguacil, M. M., Hernandez, J. A., Caravaca, F., Portillo, B., & Roldan, A. (2003). Antioxidant enzyme activities in shoots from three mycorrhizal shrub species afforested in a degraded semi-arid soil. *Physiologia Plantarum*, 118(4), 562-570.
- Ali, M. B., Hahn, E. J., & Paek, K. Y. (2005). Effects of temperature on oxidative stress defense systems, lipid peroxidation and lipoxygenase activity in *Phalaenopsis*. *Plant physiology and Biochemistry*, 43(3), 213-223.
- Ali, S. Z., Sandhya, V., Grover, M., Kishore, N., Rao, L. V., & Venkateswarlu, B. (2009). *Pseudomonas* sp. strain AKM-P6 enhances tolerance of sorghum seedlings to elevated temperatures. *Biology and Fertility of Soils*, 46, 45-55.
- Al-Karaki, G. N. (2000). Growth of mycorrhizal tomato and mineral acquisition under salt stress. *Mycorrhiza*, 10, 51-54.
- Al-Karaki, G. N., & Clark, R. B. (1998). Growth, mineral acquisition, and water use by mycorrhizal wheat grown under water stress. *Journal of plant nutrition*, 21(2), 263-276.
- Al-Karaki, G. N., Al-Raddad, A., & Clark, R. B. (1998). Water stress and mycorrhizal isolate effects on growth and nutrient acquisition of wheat. *Journal of Plant nutrition*, 21(5), 891-902.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Allen, M. F., Smith, W. K., Jr MOORE, T. S., & Christensen, M. (1981). Comparative water relations and photosynthesis of mycorrhizal and non-mycorrhizal *bouteloua gracilis* hbk lag ex steud. *New Phytologist*, 88(4), 683-693.
- Almaca, A., & İraz (2018), K. S. Volkanik ve Alüvyal Kökenli Topraklarda Mikoriza ve Fosfor Dozu Uygulamalarının Mısır Bitkisinin Gelişimine Etkisi. *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 477-483.
- Alscher, R. G., Erturk, N., & Heath, L. S. (2002). Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *Journal of experimental botany*, 53(372), 1331-1341.
- Appenzerler, T., & Dimick, R. D. (2004). Dünya alarm veriyor. *National Geographic*. Eylül.
- Asea, A. A., Kaur, P., & Calderwood, S. K. (Eds.). (2016). *Heat shock proteins and plants*. Cham: Springer International Publishing.
- Avila, L. M., Obeidat, W., Earl, H., Niu, X., Hargreaves, W., & Lukens, L. (2018). Shared and genetically distinct *Zea mays* transcriptome responses to ongoing and past low temperature exposure. *BMC genomics*, 19(1), 1-18.
- Bagyaraj, D. J. (1991). Ecology of vesicular-arbuscular mycorrhizae. In. Handbook of Applied Mycology, Soil and Plants, vol. 1, (Eds.) by D.K. Arora., B. R., K.G. Mukerji., and G. R. Knudsen. Marcel Dekker. USA.
- Baon, J. B., Smith, S. E., & Alston, A. M. (1994). Phosphorus uptake and growth of barley as affected by soil temperature and mycorrhizal infection. *Journal of Plant Nutrition*, 17(2-3), 479-492.
- Barrett, G., Campbell, C. D., Fitter, A. H., & Hodge, A. (2011). The arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus hoi* can capture and transfer nitrogen from organic patches to its associated host plant at low temperature. *Applied Soil Ecology*, 48(1), 102-105.
- Barrs, H.D., Weatherley, P. E. 1962. "A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficit in leaves". *Aust. J. Biol. Sci.* 15, 413-428.
- Bates, L.S., Waldren, R.P., Teare, I.D. 1973. "Rapid determination of free proline for water-stress studies". *Plant and Soil*, 39,205-207.
- Begum, N., Qin, C., Ahanger, M. A., Raza, S., Khan, M. I., Ashraf, M., ... & Zhang, L. (2019). Role of arbuscular mycorrhizal fungi in plant growth regulation: implications in abiotic stress tolerance. *Frontiers in plant science*, 10, 1068.
- Ben-Asher, J., Garcia y Garcia, A., & Hoogenboom, G. (2008). Effect of high temperature on photosynthesis and transpiration of sweet corn (*Zea mays* L. var. rugosa). *Photosynthetica*, 46, 595-603.
- Bilska-Kos, A., Solecka, D., Dziewulska, A., Ochodzki, P., Jończyk, M., Bilski, H., & Sowiński, P. (2017). Low temperature caused modifications in the arrangement of cell wall pectins due to changes of osmotic potential of cells of maize leaves (*Zea mays* L.). *Protoplasma*, 254, 713-724.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Birleşmiş Milletler Nüfus Fonunun (UNFPA) 2022, <https://www.aa.com.tr/tr/dunya/bm-dunya-nufusunun-8-milyara-ulasigini-acikladi/2738077>. Erişim Tarihi:12.04.2023
- Bitar, C. E., & Gerats, T. (2013). Plant tolerance to high temperature in a changing environment: scientific fundamentals and production of heat stress-tolerant crops. *Frontiers in plant science*, 4, 273.
- Bouyoucos, G. J. 1952. "A recalibration of hydrometer for making mechanical analysis of soils". *Agron. J.*, 43, 434-438
- 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, 248–254.
- Büscher, M., Zavalloni, C., de Boulois, H. D., Vicca, S., Van den Berge, J., Declerck, S., ... & Nijs, I. (2012). Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on grassland productivity are altered by future climate and below-ground resource availability. *Environmental and Experimental Botany*, 81, 62-71.
- Cairns, J. E., Crossa, J., Zaidi, P. H., Grudloyma, P., Sanchez, C., Araus, J. L., ... & Atlin, G. N. (2013). Identification of drought, heat, and combined drought and heat tolerant donors in maize. *Crop Science*, 53(4), 1335-1346.
- Cakmak, I., Marschner, H. 1992. "Magnesium deficiency and highlight intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and glutathione reductase in bean leaves". *Plant Physiology*, 98, 1222-1226.
- Camoglu, G. 2013. "The effects of water stress on evapotranspiration and leaf temperatures of two olive cultivars". *Zemdirbyste*, 100 (1), 91-98.
- Caris, C., Hördt, W., Hawkins, H. J., Römheld, V., & George, E. (1998). Studies of iron transport by arbuscular mycorrhizal hyphae from soil to peanut and sorghum plants. *Mycorrhiza*, 8, 35-39.
- Cavagnaro, T. R., Bender, S. F., Asghari, H. R., & van der Heijden, M. G. (2015). The role of arbuscular mycorrhizas in reducing soil nutrient loss. *Trends in Plant Science*, 20(5), 283-290.
- Chauhan, S., Mahawar, S., Jain, D., Udpadhyay, S. K., Mohanty, S. R., Singh, A., & Maharjan, E. (2022). Boosting Sustainable Agriculture by Arbuscular Mycorrhiza under Stress Condition: Mechanism and Future Prospective. *BioMed Research International*, 2022.
- Cheikh, N., & Jones, R. J. (1994). Disruption of maize kernel growth and development by heat stress (role of cytokinin/abscisic acid balance). *Plant physiology*, 106(1), 45-51.
- Chen, S., Jin, W., Liu, A., Zhang, S., Liu, D., Wang, F., ... & He, C. (2013). Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) increase growth and secondary metabolism in cucumber subjected to low temperature stress. *Scientia Horticulturae*, 160, 222-229.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Chen, X., Song, F., Liu, F., Tian, C., Liu, S., Xu, H., & Zhu, X. (2014). Effect of different arbuscular mycorrhizal fungi on growth and physiology of maize at ambient and low temperature regimes. *The Scientific World Journal*, 2014.
- Chinnusamy, V., Zhu, J., & Zhu, J. K. (2007). Cold stress regulation of gene expression in plants. *Trends in plant science*, 12(10), 444-451.
- Chu, X. T., Fu, J. J., Sun, Y. F., Xu, Y. M., Miao, Y. J., Xu, Y. F., & Hu, T. M. (2016). Effect of arbuscular mycorrhizal fungi inoculation on cold stress-induced oxidative damage in leaves of *Elymus nutans* Griseb. *South African Journal of Botany*, 104, 21-29.
- Clark, R. B., & Zeto, S. K. (1996). Iron acquisition by mycorrhizal maize grown on alkaline soil. *Journal of plant nutrition*, 19(2), 247-264.
- Çakmak, B., & Gökcalp, Z. (2011). İklim değişikliği ve etkin su kullanımı. *Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi*, (1), 87-95.
- Dale, V. H., & Rauscher, H. M. (1994). Assessing impacts of climate change on forests: the state of biological modeling. *Climatic Change*, 28(1-2), 65-90.
- de Andrade, S. A. L., Domingues Jr, A. P., & Mazzafera, P. (2015). Photosynthesis is induced in rice plants that associate with arbuscular mycorrhizal fungi and are grown under arsenate and arsenite stress. *Chemosphere*, 134, 141-149.
- Demiral, T., & 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.
- Demirdöğen, A. (2020). Türkiye'de Sıcaklık ve Tarım Alanlarındaki Değişim. *Turkish Journal of Agricultural Economics*, 26(2).
- Demirözer, O., & Özgönen, H. (2013). Tarımsal Üretimde Arbusküler Mikorizal Funguslar. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, (2), 9-15.
- Du, N., Yang, Q., Xue, L., Guo, H., Lv, J., Zhang, T., ... & Piao, F. (2022). *Paenibacillus polymyxa* NSY50 improves defense against *Fusarium oxysporum* by increasing photosynthetic efficiency, sucrose metabolism, and antioxidant capacity in cucumber. *Journal of Plant Growth Regulation*, 1-12.
- Duhamel, M., & Vandenkoornhuyse, P. (2013). Sustainable agriculture: possible trajectories from mutualistic symbiosis and plant neodomestication. *Trends in plant science*, 18(11), 597-600.
- Duran, Y. (2019). Kuraklık Stresi Altındaki Mısır (*Zea Mays* L.) Fidelerine Dışarıdan Uygulanan Sodyum Nitroprussid' İn (Snp) Kloroplastik Antioksidan Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi [Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü].
- El-Sappah, A. H., Rather, S. A., Wani, S. H., Elrys, A. S., Bilal, M., Huang, Q., ... & Abbas, M. (2022). Heat stress-mediated constraints in maize (*Zea mays*) production: challenges and solutions. *Frontiers in plant science*, 13, 1187.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- El-Tohamy, W., Schnitzler, W. H., El-Behairy, U., & El-Beltagy, M. S. (1999). Effect of VA mycorrhiza on improving drought and chilling tolerance of bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). *Angewandte Botanik*, 73(5-6), 178-183.
- Erdal, S., Genisel, M., Türk, H., Dumlupınar, R., & Demir, Y. (2015). Kimyasal işlemlerle nohutun soğuk stresine karşı toleransı arttırmak için alternatif oksidazın modülasyonu. *Bitki fizyolojisi dergisi*, 175, 95-101.
- Ergin, S. (2012). *Yüksek sıcaklık stresinin çilek bitkisinde enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar ile protein metabolizmasına etkileri* [Doktora Tezi, Bursa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü].
- Evelin, H., Kapoor, R., & Giri, B. (2009). Arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of salt stress: a review. *Annals of botany*, 104(7), 1263-1280.
- Faber, B. A., Zasoski, R. J., Munns, D. N., & Shackel, K. (1991). A method for measuring hyphal nutrient and water uptake in mycorrhizal plants. *Canadian Journal of Botany*, 69(1), 87-94.
- Feder, M. E., & Hofmann, G. E. (1999). Heat-shock proteins, molecular chaperones, and the stress response: evolutionary and ecological physiology. *Annual review of physiology*, 61(1), 243-282.
- Fitter, A. H., & Hay, R. K. (2012). *Environmental physiology of plants*. Academic press.
- Garcia, K., & Zimmermann, S. D. (2014). The role of mycorrhizal associations in plant potassium nutrition. *Frontiers in Plant Science*, 5, 337.
- Gavito, M. E., Olsson, P. A., Rouhier, H., Medina-Peñañiel, A., Jakobsen, I., Bago, A., & Azcón-Aguilar, C. (2005). Temperature constraints on the growth and functioning of root organ cultures with arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 168(1), 179-188.
- Gavito, M. E., Schweiger, P., & Jakobsen, I. (2003). P uptake by arbuscular mycorrhizal hyphae: effect of soil temperature and atmospheric CO₂ enrichment. *Global Change Biology*, 9(1), 106-116.
- Geren, H., Okkaoğlu, H., & Avcıoğlu, R. (2011). Effect of mycorrhiza treatment on the yield and some physiological characteristics of Cyprus vetch (*Lathyrus ochrus*) under different salt (NaCl) concentrations. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 48(1), 31-37.
- Ghani, A., YOUSAF, M., Hussain, K., Hussain, S., Razaq, A., Akhtar, N., ... & HASSAN, R. (2023). Relationship between high-temperature stress and key physio-chemical, reactive oxygen species and antioxidants in spring maize hybrids under semi-arid conditions. *Biological and Clinical Sciences Research Journal*, 2023(1), 199-199.
- Gholamhoseini, M., Ghalavand, A., Dolatabadian, A., Jamshidi, E., & Khodaei-Joghan, A. (2013). Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on growth, yield, nutrient uptake and irrigation water productivity of sunflowers grown under drought stress. *Agricultural Water Management*, 117, 106-114.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Gianinazzi, S., Golotte, A., Binet, M. N., van Tuinen, D., Redecker, D., & Wipf, D. (2010). Agroecology: the key role of arbuscular mycorrhizas in ecosystem services. *Mycorrhiza*, 20(8), 519-530.
- Giovanetti M., Mosse B., (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots, *New Phytol*, 84, 489 – 500,
- Grewelling, T. and Peach, M. 1960. Chemical Soil Tests. Cornell. Univ. Agr. Exp. Sta. Bull. 960.
- Griffith, M., Ala P., Yang D.S.C., Hon W.C., Moffatt B.A. 1992. “Antifreeze protein produced endogenously in winter rye leaves”. *Plant Physiology*, 100, 593–596.
- Guerra, D., Crosatti, C., Khoshro, H. H., Mastrangelo, A. M., Mica, E., & Mazzucotelli, E. (2015). Post-transcriptional and post-translational regulations of drought and heat response in plants: a spider’s web of mechanisms. *Frontiers in plant science*, 6, 57.
- Gülen, H., & Eris, A. (2004). Effect of heat stress on peroxidase activity and total protein content in strawberry plants. *Plant Science*, 166(3), 739-744.
- Gülen, H., & Eriş, A. (2003). Some physiological changes in strawberry (*Fragaria X ananassa*'Camarosa') plants under heat stress.
- Güler, G., Şimşek, M., & Gübbük, H. (2021). Farklı Arbüsküler Mikorizal Fungus Türlerinin Guava (*Psidium Guajava* L.) Çöğürlerinin Büyüme ve Gelişmesi Üzerine Etkileri. *Bahçe*, 50(2), 87-93.
- Haghighi, M., Mozafariyan, M., & Abdolahi-pour, B. (2015). Effect of cucumber mycorrhiza inoculation under low and high root temperature grown on hydroponic conditions. *Journal of crop science and biotechnology*, 18, 89-96.
- Hajiboland, R., Dashtebani, F., & Aliasgharzad, N. (2015). Physiological responses of halophytic C 4 grass *Aeluropus littoralis* to salinity and arbuscular mycorrhizal fungi colonization. *Photosynthetica*, 53, 572-584.
- Hajihashemi, S., Noedoost, F., Geuns, J. M., Djalovic, I., & Siddique, K. H. (2018). Effect of cold stress on photosynthetic traits, carbohydrates, morphology, and anatomy in nine cultivars of *Stevia rebaudiana*. *Frontiers in plant science*, 9, 1430.
- Han, B., He, C., Yan, Y., Guo, S., & Yu, X. (2011). Effects of arbuscular mycorrhiza fungi on seedlings growth and antioxidant systems of leaves in cucumber under low temperature stress. *Scientia Agricultura Sinica*, 44(8), 1646-1653.
- Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Alam, M. M., Roychowdhury, R., & Fujita, M. (2013). Physiological, biochemical, and molecular mechanisms of heat stress tolerance in plants. *International journal of molecular sciences*, 14(5), 9643-9684.
- Hatfield, J. L., & Prueger, J. H. (2015). Temperature extremes: Effect on plant growth and development. *Weather and climate extremes*, 10, 4-10.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Heinemeyer, A., & Fitter, A. H. (2004). Impact of temperature on the arbuscular mycorrhizal (AM) symbiosis: growth responses of the host plant and its AM fungal partner. *Journal of Experimental Botany*, 55(396), 525-534.
- Hodge, A., & Storer, K. (2015). Arbuscular mycorrhiza and nitrogen: implications for individual plants through to ecosystems. *Plant and soil*, 386, 1-19.
- Hodges, D. M., DeLong, J.M., Forney, C. F., Prange, R.K. 1999. "Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds", *Planta*, 207, 604-611.
- Hu, Y., Wu, S., Sun, Y., Li, T., Zhang, X., Chen, C., ... & Chen, B. (2015). Arbuscular mycorrhizal symbiosis can mitigate the negative effects of night warming on physiological traits of *Medicago truncatula* L. *Mycorrhiza*, 25, 131-142.
- Huang, D., Ma, M., Wang, Q., Zhang, M., Jing, G., Li, C., & Ma, F. (2020). Arbuscular mycorrhizal fungi enhanced drought resistance in apple by regulating genes in the MAPK pathway. *Plant Physiology and Biochemistry*, 149, 245-255.
- Info, (2023). Erişim: "Image J" Erişim: <http://rsb.info.nih.gov/nih-image/> Erişim Tarihi: 10.01.2023
- İraz, K. S. (2015). *Volkanik ve alüvyal kökenli topraklarda mikoriza ve fosfor doz uygulamalarının mısır bitkisinin gelişimi ve besin elementleri alımına etkisi/The effects of mycorrhiza and phosphorus dose application on the growth and nutrition uptake of maize in volcanic and alluvial soils* [Doktora Tezi, Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü].
- Jajoo, A., & Mathur, S. (2021). Role of arbuscular mycorrhizal fungi as an underground saviuor for protecting plants from abiotic stresses. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 1-15.
- Jaleel, C. A., Riadh, K., Gopi, R., Manivannan, P., Ines, J., Al-Juburi, H. J., ... & Panneerselvam, R. (2009). Antioxidant defense responses: physiological plasticity in higher plants under abiotic constraints. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31, 427-436.
- Jaspers, P., & Kangasjärvi, J. (2010). Reactive oxygen species in abiotic stress signaling. *Physiologia Plantarum*, 138(4), 405-413.
- Javaid, A. (2009). Arbuscular mycorrhizal mediated nutrition in plants. *Journal of Plant Nutrition*, 32(10), 1595-1618.
- Jones Jr, J. B., Wolf, B., & Mills, H. A. (1991). *Plant analysis handbook. A practical sampling, preparation, analysis, and interpretation guide*. Micro-Macro Publishing, Inc..
- Kacar, B., & İnal, A. (2008). Bitki Analizleri. Nobel Yayın No: 1241. *Fen Bilimleri*, 63(1).
- Kadota, Y., & Shirasu, K. (2012). The HSP90 complex of plants. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1823(3), 689-697.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Kafkas, S., & Ortas, I. (2009). Various mycorrhizal fungi enhance dry weights, P and Zn uptake of four Pistacia species. *Journal of Plant Nutrition*, 32(1), 146-159.
- Karandashov, V., & Bucher, M. (2005). Symbiotic phosphate transport in arbuscular mycorrhizas. *Trends in plant science*, 10(1), 22-29.
- Karasawa, T., Hodge, A., & Fitter, A. H. (2012). Growth, respiration and nutrient acquisition by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* and its host plant *Plantago lanceolata* in cooled soil. *Plant, Cell & Environment*, 35(4), 819-828.
- Karim, M. A., Fracheboud, Y., & Stamp, P. (1999). Photosynthetic activity of developing leaves of *Zea mays* is less affected by heat stress than that of developed leaves. *Physiologia Plantarum*, 105(4), 685-693.
- Keskin, L. (2009). *Bazı patlıcan genotiplerinde fide gelişimi ve besin elementi içeriklerine arbuscular mikoriza fungus Uygulamalarının etkileri* [Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü].
- Khan, Y., Shah, S., & Tian, H. (2022). The roles of arbuscular mycorrhizal fungi in influencing plant nutrients, photosynthesis, and metabolites of cereal crops—A review. *Agronomy*, 12(9), 2191.
- Kilinç, S. (2016). *Mısırdada (Zea mays L.) Bazı fizyolojik parametreler ile verim ve verim unsurları arasındaki ilişkilerin araştırılması* [Yüksek Lisans Tezi, Siirt Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü].
- Korkmaz, A. A. (2005). *Farklı konukçu bitki ve yetiştirme ortamlarının mikoriza üretimi ve kalitesi üzerine etkileri* [Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü].
- Korkmaz, K. (2007). Küresel Isınma ve Tarımsal Uygulamalara Etkisi. *Alatırım dergisi*, 6(2), 43-49.
- Kotak, S., Larkindale, J., Lee, U., von Koskull-Döring, P., Vierling, E., & Scharf, KD (2007). Bitkilerde ısı stresi tepkisinin karmaşıklığı. *Bitki biyolojisinde güncel görüş*, 10 (3), 310-316.
- Kothari, S. K., Marschner, H., & Römheld, V. (1991). Contribution of the VA mycorrhizal hyphae in acquisition of phosphorus and zinc by maize grown in a calcareous soil. *Plant and soil*, 131, 177-185.
- Kumar, K., Singh, I., Aggarwal, C., Tewari, I., Jha, A. K., Yadava, P., & Rakshit, S. (2019). Expression profiling of heat shock protein genes in two contrasting maize inbred lines.
- Kumar, R. R., Goswami, S., Kumar, N., Pandey, S. K., Pandey, V. C., Sharma, S. K., ... & Rai, R. D. (2011). Expression of novel ascorbate peroxidase isoenzymes of wheat (*Triticum aestivum* L.) in response to heat stress. *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry*, 3(11), 188-194.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Kumar, R. R., Goswami, S., Sharma, S. K., Singh, K., Gadpayle, K. A., Kumar, N., ... & Rai, R. D. (2012). Protection against heat stress in wheat involves change in cell membrane stability, antioxidant enzymes, osmolyte, H₂O₂ and transcript of heat shock protein. *Int J Plant Physiol Biochem*, 4(4), 83-91.
- Küçükyumuk, Z., Gültekin, M., & Erdal, İ. (2014). Vermikompost ve mikorizanın biber bitkisinin gelişimi ile mineral beslenmesi üzerine etkisi. *Ziraat Fakültesi Dergisi*, 9(1), 51-58.
- Kytöviita, M. M., & Ruotsalainen, A. L. (2007). Mycorrhizal benefit in two low arctic herbs increases with increasing temperature. *American Journal of Botany*, 94(8), 1309-1315.
- Leipner, J., & Stamp, P. (2009). Chilling stress in maize seedlings. *Handbook of maize: its biology*, 291-310.
- Li, S., Yang, W., Guo, J., Li, X., Lin, J., & Zhu, X. (2020a). Changes in photosynthesis and respiratory metabolism of maize seedlings growing under low temperature stress may be regulated by arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Physiology and Biochemistry*, 154, 1-10.
- Li, W., Chen, Y., Ye, M., Wang, D., & Chen, Q. (2020b). Evolutionary history of the heat shock protein 90 (Hsp90) family of 43 plants and characterization of Hsp90s in *Solanum tuberosum*. *Molecular Biology Reports*, 47, 6679-6691.
- Linderman, R. G. (1994). Role of VAM fungi in biocontrol. *Mycorrhizae and plant health*.
- Lindsay, W. L. 1979. "Chemical Equilibria in Soils". Wiley and Sons, N.Y., 449 p.
- Liu, A., Wang, B., & Hamel, C. (2004). Arbuscular mycorrhiza colonization and development at suboptimal root zone temperature. *Mycorrhiza*, 14, 93-101.
- Liu, N., Chen, X., Song, F., Liu, F., Liu, S., & Zhu, X. (2016). Effects of arbuscular mycorrhiza on growth and nutrition of maize plants under low temperature stress. *Philippine Agricultural Scientist*, 99(3), 246-252.
- Liu, X. M., Xu, Q. L., Li, Q. Q., Zhang, H., & Xiao, J. X. (2017). Physiological responses of the two blueberry cultivars to inoculation with an arbuscular mycorrhizal fungus under low-temperature stress. *Journal of Plant Nutrition*, 40(18), 2562-2570.
- Liu, Z. L., Li, Y. J., Hou, H. Y., Zhu, X. C., Rai, V., He, X. Y., & Tian, C. J. (2013). Differences in the arbuscular mycorrhizal fungi-improved rice resistance to low temperature at two N levels: aspects of N and C metabolism on the plant side. *Plant Physiology and Biochemistry*, 71, 87-95.
- Loo, W. T., Chua, K. O., Mazumdar, P., Cheng, A., Osman, N., & Harikrishna, J. A. (2022). Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis: A Strategy for Mitigating the Impacts of Climate Change on Tropical Legume Crops. *Plants*, 11(21), 2875.
- Mahajan, S., & Tuteja, N. (2005). Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Archives of biochemistry and biophysics*, 444(2), 139-158.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Mahmood, M. H. M. (2021). *Saf Hat ve Hibrit Mısırların Mikorizal Etkinliklerinin Belirlenmesi Ve Bu Etkinliklerin Fosfor Alımına Etkisi* [Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü].
- Malhi, G. S., Kaur, M., Kaushik, P., Alyemeni, M. N., Alsahli, A. A., & Ahmad, P. (2021). Arbuscular mycorrhiza in combating abiotic stresses in vegetables: An eco-friendly approach. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(2), 1465-1476.
- Marschner, H. (1995). Mineral nutrition of higher plants 2nd edn. *Institute of Plant Nutrition University of Hohenheim: Germany*.
- Marschner, H. (1995). Mineral nutrition of higher plants. 2nd (eds) Academic Press. *New York*, 15-22.
- Marschner, H., & Dell, B. (1994). Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant and soil*, 159, 89-102.
- Martin, C. A., & Stutz, J. C. (2004). Interactive effects of temperature and arbuscular mycorrhizal fungi on growth, P uptake and root respiration of *Capsicum annuum* L. *Mycorrhiza*, 14, 241-244.
- Masand, S., & Yadav, S. K. (2016). Overexpression of MuHSP70 gene from *Macrotyloma uniflorum* confers multiple abiotic stress tolerance in transgenic *Arabidopsis thaliana*. *Molecular biology reports*, 43, 53-64.
- Maslin, M. (2008). *Global warming: a very short introduction*. OUP Oxford.
- Mathur, S., & Jajoo, A. (2020). Arbuscular mycorrhizal fungi protects maize plants from high temperature stress by regulating photosystem II heterogeneity. *Industrial Crops and Products*, 143, 111934.
- Mathur, S., Agnihotri, R., Sharma, M. P., Reddy, V. R., & Jajoo, A. (2021). Effect of high-temperature stress on plant physiological traits and mycorrhizal symbiosis in maize plants. *Journal of Fungi*, 7(10), 867.
- Mathur, S., Sharma, M. P., & Jajoo, A. (2018). Improved photosynthetic efficacy of maize (*Zea mays*) plants with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) under high temperature stress. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 180, 149-154.
- Matsubara, Y. I., Hirano, I., Sassa, D., & Koshikawa, K. (2004). Alleviation of high temperature stress in strawberry plants infected with arbuscular mycorrhizal fungi. *Environment Control in Biology*, 42(2), 105-111.
- Maya, M. A., & Matsubara, Y. I. (2013). Influence of arbuscular mycorrhiza on the growth and antioxidative activity in cyclamen under heat stress. *Mycorrhiza*, 23, 381-390.
- McLellan, C. A., Turbyville, T. J., Wijeratne, E. K., Kerschen, A., Vierling, E., Queitsch, C., ... & Gunatilaka, A. L. (2007). A rhizosphere fungus enhances *Arabidopsis* thermotolerance through production of an HSP90 inhibitor. *Plant Physiology*, 145(1), 174-182.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Menezes-Benavente, L., Teixeira, F. K., Kamei, C. L. A., & Margis-Pinheiro, M. (2004). Salt stress induces altered expression of genes encoding antioxidant enzymes in seedlings of a Brazilian indica rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Science*, 166(2), 323-331.
- Miller, D. J., & Fort, P. E. (2018). Heat shock proteins regulatory role in neurodevelopment. *Frontiers in neuroscience*, 12, 821.
- Mitra, D., Djebaili, R., Pellegrini, M., Mahakur, B., Sarker, A., Chaudhary, P., ... & Mohapatra, P. K. D. (2021). Arbuscular mycorrhizal symbiosis: Plant growth improvement and induction of resistance under stressful conditions. *Journal of Plant Nutrition*, 44(13), 1993-2028.
- Miyawaki, C., Liu, Y., Koshikawa, K., Li, Y., & Matsubara, Y. (2006, August). Temperature stress tolerance and increase in antioxidative enzyme activities in mycorrhizal strawberry plants. In *XXVII International Horticultural Congress-IHC2006: International Symposium on Endogenous and Exogenous Plant Bioregulators* 774 (pp. 391-395).
- Morales, F., Ancín, M., Fakhret, D., González-Torralba, J., Gámez, A. L., Seminario, A., ... & Aranjuelo, I. (2020). Photosynthetic metabolism under stressful growth conditions as a bases for crop breeding and yield improvement. *Plants*, 9(1), 88.
- Mutlu, S., Atıcı, Ö., Nalbantoğlu, B., & Mete, E. (2016). Exogenous salicylic acid alleviates cold damage by regulating antioxidative system in two barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars. *Frontiers in Life Science*, 9(2), 99-109.
- Nahiyen, A. S. M., & Matsubara, Y. I. (2012). Tolerance to Fusarium root rot and changes in antioxidative ability in mycorrhizal asparagus plants. *HortScience*, 47(3), 356-360.
- NASA, (2023). Erişim: <https://www.bloomberght.com/nasa-iklim-degisikligi-misir-verimini-2030-a-kadar-yuzde-25-azaltacak-2291161> Erişim Tarihi: 15.03.2023
- Ngwene, B., Gabriel, E., & George, E. (2013). Influence of different mineral nitrogen sources (NO₃⁻-N vs. NH₄⁺-N) on arbuscular mycorrhiza development and N transfer in a *Glomus intraradices*-cowpea symbiosis. *Mycorrhiza*, 23, 107-117.
- Okkaoğlu, H. (2010). *Mikoriza Ve Tuz Stresi İnteraksiyonunun Mısır (Zea Mays L.) Bitkisinin Erken Gelişme Döneminde Büyüme Ve Diğer Bazı Fizyolojik Özelliklerine Etkisi* [Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü].
- OMU, (2022). Erişim: <https://avys.omu.edu.tr/storage/app/public/isezer/126041/8.%20MISIR%20TARIM%20L.pdf> Erişim Tarihi: (22.09.2022).
- Onoğur, E., Demir, S. 1988. Bazı kültür bitkilerinde Vesiküler-Arbusküler Mikorhiza (VAM) oluşumu ve bunun bitki gelişimi ve dayanıklılıktaki rolü üzerinde araştırmalar. TUBİTAK. Tarım ve Ormancılık Grubu. Proje No: TOGTAG-1506.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Ortas, I. (1997). Determination of the extent of rhizosphere soil. *Communications in soil science and plant analysis*, 28(19-20), 1767-1776.
- Ortas, I., & Akpınar, Ç. (2011). Response of maize genotypes to several mycorrhizal inoculums in terms of plant growth, nutrient uptake and spore production. *Journal of plant nutrition*, 34(7), 970-987.
- Ortaş, I., & Varma, A. (2007). Field trials of bioinoculants. *Advanced Techniques in Soil Microbiology*, 397-413.
- Ortaş, İ. (1997). Mikoriza nedir. *TÜBİTAK Bilim ve Teknik Dergisi*, 351, 92-95.
- Ortaş, İ., Ergün, B., Ortakçı, D., Ercan, S., & Köse, Ö. (1999). Mikoriza sporlarının üretim tekniği ve tarımda kullanım olanakları. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 23(supp4), 959-968.
- Palta, Ş., Demir, S., Şengönül, K., Ömer, K. A. R. A., & Şensoy, H. (2010). Arbüsküler Mikorizal Funguslar (Amf), Bitki Ve Toprakla İlişkileri, Mera Islahındaki Önemleri. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 12(18), 87-98.
- Panda, R. K., Behera, S. K., & Kashyap, P. S. (2004). Effective management of irrigation water for maize under stressed conditions. *Agricultural Water Management*, 66(3), 181-203.
- Paradis, R., Dalpé, Y., & Charest, C. (1995). The combined effect of arbuscular mycorrhizas and short-term cold exposure on wheat. *New phytologist*, 129(4), 637-642.
- Park, C. J., & Seo, Y. S. (2015). Heat shock proteins: a review of the molecular chaperones for plant immunity. *The plant pathology journal*, 31(4), 323.
- Pedranzani, H., Tavecchio, N., Gutiérrez, M., Garbero, M., Porcel, R., & Ruiz-Lozano, J. M. (2015). Differential effects of cold stress on the antioxidant response of mycorrhizal and non-mycorrhizal *Jatropha curcas* (L.) plants. *Journal of Agricultural Science*, 7(8), 35.
- Pellegrino, E., & Bedini, S. (2014). Enhancing ecosystem services in sustainable agriculture: biofertilization and biofortification of chickpea (*Cicer arietinum* L.) by arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biology and biochemistry*, 68, 429-439.
- Pfetter, C. M., & Bloss, H. E. (1988). Growth and nutrition of guayule (*Parthenium argentatum*) in a saline soil as influenced by vesicular-arbuscular mycorrhiza and phosphorus fertilization. *New Phytologist*, 108(3), 315-321.
- Phillips J.M., Hayman D.S., (1970). Improved procedure for cleaning roots and staining parasitic and vesicular - arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assesment of infection, *Trans. Br. Mycol. Soc*, 55, 158 –161,
- Polen Tohumculuk, (2023). Erişim: <https://www.polenseed.com/product/pl-472/> Erişim Tarihi: 12.02.2023

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Porcel, R., Barea, J. M., & Ruiz-Lozano, J. M. (2003). Antioxidant activities in mycorrhizal soybean plants under drought stress and their possible relationship to the process of nodule senescence. *New Phytologist*, 157(1), 135-143.
- Raihan, A. (2023). The dynamic nexus between economic growth, renewable energy use, urbanization, industrialization, tourism, agricultural productivity, forest area, and carbon dioxide emissions in the Philippines. *Energy Nexus*, 9, 100180.
- Raju, P. S., Clark, R. B., Ellis, J. R., & Maranville, J. W. (1990). Effects of species of VA-mycorrhizal fungi on growth and mineral uptake of sorghum at different temperatures. *Plant and soil*, 121, 165-170.
- Ramakrishnan, M., Papolu, P. K., Satish, L., Vinod, K. K., Wei, Q., Sharma, A., ... & Zhou, M. (2022). Redox status of the plant cell determines epigenetic modifications under abiotic stress conditions and during developmental processes. *Journal of Advanced Research*, 42, 99-116.
- Ramazan, S., Qazi, H. A., Dar, Z. A., & John, R. (2021). Low temperature elicits differential biochemical and antioxidant responses in maize (*Zea mays*) genotypes with different susceptibility to low temperature stress. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 27(6), 1395-1412.
- Reich, P. B., Hobbie, S. E., Lee, T., Ellsworth, D. S., West, J. B., Tilman, D., ... & Trost, J. (2006). Nitrogen limitation constrains sustainability of ecosystem response to CO₂. *Nature*, 440(7086), 922-925.
- Renaut, J., Hausman, J. F., & Wisniewski, M. E. (2006). Proteomics and low-temperature studies: bridging the gap between gene expression and metabolism. *Physiologia Plantarum*, 126(1), 97-109.
- Richards, L.A., 1954, Diagnosis and Improvement of Saline and Alkaline Soils. U.S.A: U.S. Department of Agriculture, Handbook 60.
- Ritossa, F. (1962). A new puffing pattern induced by temperature shock and DNP in *Drosophila*. *Experientia*, 18(12), 571-573.
- Rivero, R. M., Ruiz, J. M., & Romero, L. (2004). Oxidative metabolism in tomato plants subjected to heat stress. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 79(4), 560-564.
- Rizhsky, L., Liang, H., & Mittler, R. (2002). The combined effect of drought stress and heat shock on gene expression in tobacco. *Plant physiology*, 130(3), 1143-1151.
- Ruiz-Lozano, J. M. (2003). Arbuscular mycorrhizal symbiosis and alleviation of osmotic stress. New perspectives for molecular studies. *Mycorrhiza*, 13, 309-317.
- Salim, B. B. M., & Abou El-Yazied, A. (2015). Effect of mycorrhiza on growth, biochemical constituents and yield of snap bean plants under water deficit conditions. *J Hort Sci Ornament Plants*, 7(3), 131-140.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Scheibe, R., & Beck, E. (2011). Drought, desiccation, and oxidative stress. *Plant desiccation tolerance*, 209-231.
- Schenck, N. C., & Schroder, V. N. (1974). Temperature response of Endogone mycorrhiza on soybean roots. *Mycologia*, 66(4), 600-605.
- Sehgal, A., Sita, K., & Nayyar, H. (2016). Heat stress in plants: sensing and defense mechanisms. *The Journal of Plant Science Research*, 32(2), 195.
- Shahsavandi, F., Eshghi, S., & Gharaghani, A. (2016, May). Physiological responses of two grapevine cultivars to combined drought and high temperature stresses in the presence of arbuscular mycorrhiza. In *International Symposium on the Role of Plant Genetic Resources in Reclaiming Lands and Environment Deteriorated by Human and 1190* (pp. 45-52).
- Shigeoka, S., Ishikawa, T., Tamoi, M., Miyagawa, Y., Takeda, T., Yabuta, Y., & Yoshimura, K. (2002). Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. *Journal of experimental botany*, 53(372), 1305-1319.
- Shirani, B. S., & Mohammad, M. (2020). Arbuscular mycorrhizal fungi inoculation to enhance chilling stress tolerance of watermelon. *Gesunde Pflanzen*, 72(2), 171-179.
- Siddiqui, Z. A., & Futai, K. (Eds.). (2008). *Mycorrhizae: sustainable agriculture and forestry* (p. 359). Dordrecht: Springer.
- Sillanpaa, M., 1990. Micronutrients assessment at the country level: An international study. FAO Soils Bulletin 63. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Smith, F. A., & Smith, S. E. (1981). Mycorrhizal infection and growth of *Trifolium subterraneum*: use of sterilized soil as a control treatment. *New Phytologist*, 88(2), 299-309.
- Smith, G. S., & Roncadori, R. W. (1986). Responses of three vesicular–arbuscular mycorrhizal fungi at four soil temperatures and their effects on cotton growth. *New phytologist*, 104(1), 89-95.
- Smith, S. E., & Read, D. J. (2008). *Mycorrhizal Symbiosis*, 3rd edn Academic Press. San Diego, CA.
- Smith, S. E., Jakobsen, I., Grønlund, M., & Smith, F. A. (2011). Roles of arbuscular mycorrhizas in plant phosphorus nutrition: interactions between pathways of phosphorus uptake in arbuscular mycorrhizal roots have important implications for understanding and manipulating plant phosphorus acquisition. *Plant physiology*, 156(3), 1050-1057.
- Snellgrove, R. C., Splittstoesser, W. E., Stribley, D. P., & Tinker, P. B. (1982). The distribution of carbon and the demand of the fungal symbiont in leek plants with vesicular-arbuscular mycorrhizas. *New Phytologist*, 92(1), 75-87.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Soil Survey Laboratory Methods Manuel, 2004. "Soil Survey Investigation Report". United States Department of Agriculture Natural Resources Conservation Service No:42, Version 4.0 November.
- Song, F. B., & Wang, X. B. (2005). Ecophysiology of maize by abiotic stress. *Science, Beijing*.
- Sönmez, F., Çığ, F., Erman, M., & Tüfenkçi, Ş. (2013). Effects of zinc, salt and mycorrhiza applications on the development and the phosphorus and zinc uptake of maize. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Journal of Agricultural Sciences*, 23(1), 1-9.
- Subramanian, K. S., & Charest, C. (1997). Nutritional, growth, and reproductive responses of maize (*Zea mays* L.) to arbuscular mycorrhizal inoculation during and after drought stress at tasselling. *Mycorrhiza*, 7, 25-32.
- Sudhakar, C., Lakshmi, A., & Giridarakumar, S. (2001). Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. *Plant Science*, 161(3), 613-619.
- Sunkar, R. (2010, October). MicroRNAs with macro-effects on plant stress responses. In *Seminars in cell & developmental biology* (Vol. 21, No. 8, pp. 805-811). Academic Press.
- Şen, Ö. (2008). *Tuz stresi altında yetiştirilen patlıcan fidelerinin gelişimi ve besin elementi içerikleri üzerine arbuscular mikorizal fungus uygulamalarının etkisi* [Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü].
- Takac, T. (2004). The relationship of antioxidant enzymes and some physiological parameters in maize during chilling. *Plant Soil and Environment*, 50(1), 27-32.
- Tas, T. (2022). Physiological and biochemical responses of hybrid maize (*Zea mays* L.) varieties grown under heat stress conditions. *PeerJ*, 10, e14141.
- Thangavel, P., Anjum, N. A., Muthukumar, T., Sridevi, G., Vasudhevan, P., & Maruthupandian, A. (2022). Arbuscular mycorrhizae: natural modulators of plant–nutrient relation and growth in stressful environments. *Archives of Microbiology*, 204(5), 264.
- Timperio, A. M., Egidio, M. G., & Zolla, L. (2008). Proteomics applied on plant abiotic stresses: role of heat shock proteins (HSP). *Journal of proteomics*, 71(4), 391-411.
- Tisdall, J. M. (1994). Possible role of soil microorganisms in aggregation in soils. *Plant and soil*, 159, 115-121.
- TMO, (2021). Erişim: "2020 Yılı Hububat Sektör Raporu". Toprak Mahsulleri Ofisi Genel Müdürlüğü, Ankara, sayfa 11. <https://www.tmo.gov.tr/Upload/Document/sektorraporlari/hububat2020.pdf> Erişim Tarihi: 23.12.2021

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Turk, H., Erdal, S., Genisel, M., Atici, O., Demir, Y., & Yanmis, D. (2014). The regulatory effect of melatonin on physiological, biochemical and molecular parameters in cold-stressed wheat seedlings. *Plant growth regulation*, 74, 139-152.
- Vestberg, M., Saari, K., Kukkonen, S., & Hurme, T. (2005). Mycotrophy of crops in rotation and soil amendment with peat influence the abundance and effectiveness of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi in field soil. *Mycorrhiza*, 15, 447-458.
- Wahid, A., Gelani, S., Ashraf, M., & Foolad, M. R. (2007). Heat tolerance in plants: an overview. *Environmental and experimental botany*, 61(3), 199-223.
- Wang, B., Funakoshi, D., Dalpé, Y., & Hamel, C. (2002). Phosphorus-32 absorption and translocation to host plants by arbuscular mycorrhizal fungi at low root-zone temperature. *Mycorrhiza*, 12, 93-96.
- Wang, Q. L., Chen, J. H., He, N. Y., & Guo, F. Q. (2018). Metabolic reprogramming in chloroplasts under heat stress in plants. *International journal of molecular sciences*, 19(3), 849.
- Wenkel, K. O., Brozio, S., Gebbers, R., Mirschel, W. 2003. "Approaches to site-specific Nitrogen fertilization". *Archives of Agronomy and Soil Science*, 49(2), 149-162.
- Wu, D. C., Zhu, J. F., Shu, Z. Z., Wang, W., Yan, C., Xu, S. B., ... & Sun, G. (2020). Physiological and transcriptional response to heat stress in heat-resistant and heat-sensitive maize (*Zea mays* L.) inbred lines at seedling stage. *Protoplasma*, 257, 1615-1637.
- Wu, Q. S. (2011). Mycorrhizal efficacy of trifoliate orange seedlings on alleviating temperature stress. *Plant, Soil and Environment*, 57(10), 459-464.
- Wu, Q. S., & Zou, Y. N. (2010). Beneficial roles of arbuscular mycorrhizas in citrus seedlings at temperature stress. *Scientia Horticulturae*, 125(3), 289-293.
- Yadav, S. K. (2010). Cold stress tolerance mechanisms in plants. A review. *Agronomy for sustainable development*, 30(3), 515-527.
- Yan, H., Zhang, A., Chen, J., He, X., Xu, B., Xie, G., ... & Huang, L. (2017). Genome-wide analysis of the PvHsp20 family in switchgrass: Motif, genomic organization, and identification of stress or developmental-related Hsp20s. *Frontiers in plant science*, 8, 1024.
- Yan, P., Li, G., Sun, H., Zhang, Z., Yang, R., & Sun, J. (2021). Can arbuscular mycorrhizal fungi and biochar enhance plant resistance to low-temperature stress?. *Agronomy Journal*, 113(2), 1457-1466.
- Yavaş, İ., & İlker, E. (2020). Çevresel Stres Koşullarına Maruz Kalan Bitkilerde Fotosentez ve Fitohormon Seviyelerindeki Değişiklikler. *Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi*, 9(2), 295-311.
- Yeasmin, R., Bonser, S. P., Motoki, S., & Nishihara, E. (2019). Arbuscular mycorrhiza influences growth and nutrient uptake of asparagus (*Asparagus officinalis* L.) under heat stress. *HortScience*, 54(5), 846-850.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Yuan, J. I. A. N., & Flores, R. A. (1996). Laboratory dry-milling performance of white corn: Effect of physical and chemical corn characteristics. *Cereal chemistry*, 73(5), 574-578.
- Yüzbaşıoğlu, E., Dalyan, E., & Akpınar, I. (2017). Changes in photosynthetic pigments, anthocyanin content and antioxidant enzyme activities of maize (*Zea mays* L.) seedlings under high temperature stress conditions. *Trakya University Journal of Natural Sciences*, 18(2), 97-104.
- Zhang, F., Du, P., Song, C. X., & Wu, Q. S. (2015). Alleviation of mycorrhiza to magnesium deficiency in trifoliate orange: changes in physiological activity. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 763-769.
- Zhang, H., Li, G., Hu, D., Zhang, Y., Zhang, Y., Shao, H., ... & Guo, X. (2020). Functional characterization of maize heat shock transcription factor gene ZmHsf01 in thermotolerance. *PeerJ*, 8, e8926.
- Zhang, R. Q., Zhu, H. H., Zhao, H. Q., & Yao, Q. (2013). Arbuscular mycorrhizal fungal inoculation increases phenolic synthesis in clover roots via hydrogen peroxide, salicylic acid and nitric oxide signaling pathways. *Journal of Plant Physiology*, 170(1), 74-79.
- Zhang, T., Hu, Y., Zhang, K., Tian, C., & Guo, J. (2018). Arbuscular mycorrhizal fungi improve plant growth of *Ricinus communis* by altering photosynthetic properties and increasing pigments under drought and salt stress. *Industrial Crops and Products*, 117, 13-19.
- Zhou, Z., Ma, H., Liang, K., Huang, G., & Pinyopusarerk, K. (2012). Improved tolerance of teak (*Tectona grandis* Lf) seedlings to low-temperature stress by the combined effect of arbuscular mycorrhiza and paclobutrazol. *Journal of Plant Growth Regulation*, 31, 427-435.
- Zhu, X. C., Song, F. B., & Xu, H. W. (2010a). Arbuscular mycorrhizae improves low temperature stress in maize via alterations in host water status and photosynthesis. *Plant and Soil*, 331, 129-137.
- Zhu, X. C., Song, F. B., Liu, F. L., Liu, S. Q., & Tian, C. J. (2015). Carbon and nitrogen metabolism in arbuscular mycorrhizal maize plants under low-temperature stress. *Crop and Pasture Science*, 66(1), 62-70.
- Zhu, X. C., Song, F. B., Liu, S. Q., & Liu, T. D. (2011). Effects of arbuscular mycorrhizal fungus on photosynthesis and water status of maize under high temperature stress. *Plant and soil*, 346, 189-199.
- Zhu, X. C., Song, F. B., Liu, T. D., & Liu, S. Q. (2010c). Arbuscular mycorrhizae reducing water loss in maize plants under low temperature stress. *Plant signaling & behavior*, 5(5), 591-593.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Zhu, X., Song, F., & Liu, F. (2016). Altered amino acid profile of arbuscular mycorrhizal maize plants under low temperature stress. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 179(2), 186-189.
- Zhu, X., Song, F., & Liu, F. (2017). Arbuscular mycorrhizal fungi and tolerance of temperature stress in plants. *Arbuscular mycorrhizas and stress tolerance of plants*, 163-194.
- Zhu, X., Song, F., & Xu, H. (2010b). Influence of arbuscular mycorrhiza on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activity of maize plants under temperature stress. *Mycorrhiza*, 20, 325-332.

