

Tuz Stresi Koşullarında Mısır (*Zea mays* L.) Bitkisinde Askorbik Asit
Uygulamalarının Dehidrin Proteinlerine Etkisi

Ezginur Şenyüz

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Haziran 2023

The Effect of Ascorbic Acid Applications on Dehydrin Proteins in Maize (*Zea mays* L.) under Salt Stress Conditions

Ezginur Şenyüz

MASTER OF SCIENCE THESIS

Department of Agricultural Biotechnology

June 2023

Tuz Stresi Koşullarında Mısır (*Zea mays* L.) Bitkisinde Askorbik Asit
Uygulamalarının Dehidrin Proteinlerine Etkisi

Ezginur Şenyüz

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

Danışman: Prof. Dr. Ece Turhan

Haziran 2023

ONAY

Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı Bitkisel Biyoteknoloji Bilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Ezginur Şenyüz'ün YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı "Tuz Stresi Koşullarında Mısır (*Zea mays* L.) Bitkisinde Askorbik Asit Uygulamalarının Dehidrin Proteinlerine Etkisi" başlıklı bu çalışma, jürimizce lisansüstü yönetmeliğin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek oybirliği ile kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Ece Turhan

İkinci Danışman : -

Yüksek Lisans Tez Savunma Jürisi:

Üye: Prof. Dr. Ece Turhan

Üye: Doç. Dr. Emre Sevindik

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Çiğdem Aydoğan

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

Prof. Dr. Hürriyet Erşahan

Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Prof. Dr. Ece Turhan danışmanlığında hazırlamış olduğum “Tuz Stresi Koşullarında Mısır (*Zea mays* L.) Bitkisinde Askorbik Asit Uygulamalarının Dehidrin Proteinlerine Etkisi” 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.

20/06/2023

Ezginur Şenyüz

İmza

ÖZET

Bu araştırmada, tuz (NaCl) stresi, askorbik asit (AsA) ve AsA+tuz uygulamalarının mısır bitkisinde fide döneminde bazı fizyolojik özellikler ve dehidrin proteinlerine etkisi araştırılmıştır. Denemede kullanılan ADA9516 çeşidine ait tohumlar, oda sıcaklığında saf su ve 50 mM AsA ile 24 saat boyunca priming uygulamalarına maruz bırakılmıştır. Daha sonra her uygulamaya ait tohumlar saf su ile yıkanıp 48 saat boyunca oda sıcaklığına ayarlanmış etüvde orijinal ağırlığına yakın oluncaya kadar kurutulmuştur. Tohumlar, kum ve toprak (1:1) içeren saksılarda 30-15 (\pm 2) °C (gündüz/gece) sıcaklıkta, ~%60 nemde, fideleri 5-6 yapraklı oluncaya kadar yetiştirilmiştir. Deneme tesadüf parselleri deneme desenine uygun olarak 3 tekerrürlü ve her tekerrürde 12 bitki içerecek şekilde kurulmuştur. Denemede kontrol grubu, 2 farklı NaCl (50 mM ve 100 mM), kontrol+50 mM AsA ve 2 farklı NaCl+AsA (50 mM NaCl+50 mM AsA, 100 mM NaCl+50 mM AsA) konsantrasyonu kullanılmıştır. Otuz gün süren deneme sonunda yapılan analiz sonuçları değerlendirildiğinde; AsA uygulaması hem kontrol hem de 50 mM NaCl uygulamasında iyon sızıntısı oranını düşürmüştür. Ayrıca 100 mM NaCl+AsA uygulamasının turgor kaybını önemli ölçüde iyileştirdiği tespit edilmiştir. Askorbik asit miktarı AsA uygulaması ile tüm uygulama gruplarında artış göstermiştir. Tuz stresi toplam klorofil (Chl) miktarında artışa neden olmuş, bu artış AsA uygulaması ile 50 mM NaCl+AsA uygulamasında 50 mM NaCl uygulaması ile kıyaslandığında önemli ölçüde azalmıştır. Mısır yaprak dokularında prolin miktarının hem NaCl uygulamaları hem de NaCl+AsA uygulamaları ile arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca NaCl+AsA uygulamaları toplam çözünebilir protein içeriğinde belirgin bir artış sağlamıştır. Protein profilleri incelendiğinde; 6-250 kDa arasında değişen yeni sentezlenen protein bantları belirlenmiştir. Tuz stresi bazı protein bantlarının kaybına sebep olmuştur. En yoğun protein bandının kontrol+AsA uygulamasında 50 kDa büyüklüğünde olduğu belirlenmiştir. İmmünblot analizi sonuçları ile tuz stresi ve AsA uygulamaları sonucunda oluşan spesifik proteinler tespit edilmiştir. ADA 9516 çeşidinde 3 farklı dehidrin proteini (58, 50 ve 35 kDa) birikimi gözlemlenmiştir. Bu proteinlerin tuza toleransta etkili olabileceği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Askorbik asit, dehidrin proteinleri, mısır, priming, tuz stresi.

SUMMARY

The effects of salt (NaCl) stress, ascorbic acid (AsA), and AsA+salt treatments on various physiological parameters and dehydrin proteins in maize seedlings were examined in this work. The seeds of the ADA9516 variety utilized in the experiment were primed for 24 hours at room temperature with distilled water and 50 mM AsA. The seeds from each application were then washed with distilled water and dried for 48 hours in a room temperature oven until they were near to their original weight. The seeds were grown in pots with sand and soil (1:1) at 30-15 (± 2) °C (day/night) and 60% humidity until the seedlings had 5-6 leaves. The experimental random plots were established according to the trial design with 3 replications, each replication consisting of 12 plants. The experiment utilized a control group, two different NaCl concentrations (50 mM and 100 mM), control+50 mM AsA and two different NaCl+AsA concentrations (50 mM NaCl+ 50 mM AsA, 100 mM NaCl+ 50 mM AsA). When the results of the thirty-day trial are considered, ascorbic acid application reduced the ion leakage rate in both control and 50 mM NaCl applications. Furthermore, it was discovered that using 100 mM NaCl+AsA greatly improved the loss of turgidity. With AsA application, the level of AsA rose in all treatment groups. Salt stress increased the total amount of total chlorophyll (Chl), whereas AsA administration considerably reduced this increase compared to 50 mM NaCl application in 50 mM NaCl+AsA application. It was found that both NaCl and NaCl+AsA treatments enhanced the quantity of proline in maize leaf tissues. Furthermore, NaCl+AsA treatments increased total soluble protein content significantly. When protein profiles were evaluated, newly produced protein bands ranging from 6-250 kDa were discovered. Some protein bands were lost as a result of salt stress. In the control+AsA application, the most intense protein band was determined to be 50 kDa. Specific proteins generated as a result of salt stress and AsA treatments were identified using immunoblot analysis. In the ADA 9516 cultivar, three distinct dehydrin proteins (58, 50, and 35 kDa) accumulated. These proteins have been shown to be useful in salt tolerance.

Keywords: Ascorbic acid, corn, dehydrin proteins, priming, salt stress.

TEŞEKKÜR

Bu çalıőmanın planlanmasından sonuçlanmasına kadar olan tüm aşamalarda bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, yoluma ışık tutan danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ece TURHAN'a teőekkürü borç bilirim.

Laboratuvar çalıőmalarım sırasında yardımını ve bilgisini esirgemeyen değerli hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi ığdem AYDOğAN'a ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Sergül ERĐİN'e teőekkürlerimi sunarım.

Tez çalıőmam boyunca beni destekleyen, öneri ve bilgileriyle karşılaőtığım sorunları özmemi kolaylaőtıran canım arkadaşlarım Tuğçe Nur DEMİR ve Merve KEKLİK'e teőekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her aşamasında sevgilerini, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, her zaman yanımda olan ve bana güvenen canım annem Gülseren BATMAZ şENYÜZ'e, canım babam Okan şENYÜZ'e sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	vi
SUMMARY	vii
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI	5
2.1. Tuz Stresi ve Tuz Zararı	5
2.2. Tuza Tolerans	7
3. MATERYAL VE YÖNTEM	13
3.1. Materyal	13
3.2. Yöntem	13
3.2.1. Priming ve Tuz Uygulamaları	13
3.2.2. Denemenin Kuruluşu	14
3.2.3. Kültürel İşlemler	15
3.2.4. Sulama Suyu Miktarının Belirlenmesi	15
3.2.5. İncelenen Parametreler	16
<u>3.2.5.1. Zararlanma Derecesi</u>	17
<u>3.2.5.2. İyon Sızıntısı</u>	17
<u>3.2.5.3. Turgor kaybının (TK) belirlenmesi</u>	18
<u>3.2.5.4. Askorbik asit (AsA) miktarının belirlenmesi</u>	18
<u>3.2.5.5. Toplam klorofil (Chl) miktarı</u>	19
<u>3.2.5.6. Prolin analizi</u>	19
<u>3.2.5.7. Toplam çözünebilir protein (TÇP) analizi</u>	20
<u>3.2.5.8. SDS-PAGE (Sodyum Dodesilsülfat- Poliakrilamid Jel Elektroforezi)</u> <u>analizi</u>	21

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
3.2.5.9. İmmünblot (Western Blot) analizi.....	23
3.3. İstatiksel Analizler	25
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	26
4.1. Zararlanma Derecesi	26
4.2. İyon Sızıntısı	28
4.3. Turgor kaybı (TK)	30
4.4. Askorbik asit (AsA) miktarı	32
4.5. Toplam Klorofil (Chl) Miktarı.....	34
4.6. Prolin miktarı	35
4.7. Toplam çözünebilir protein (TÇP) miktarı	38
4.8. SDS-PAGE	39
4.9. İmmunblot (Western Blot).....	41
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	45
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	47
EK AÇIKLAMALAR	59
Ek Açıklama-A: Zararlanma Skalası İnteraksiyon Tablosu	60
Ek Açıklama-B: İyon Sızıntısı İnteraksiyon Tablosu	60
Ek Açıklama-C: Turgor kaybı (TK) İnteraksiyon Tablosu	61
Ek Açıklama-D: Askorbik Asit (AsA) Miktarı İnteraksiyon Tablosu.....	61
Ek Açıklama-E: Toplam Klorofil (Chl) Miktarı İnteraksiyon Tablosu	62
Ek Açıklama-F: Prolin Miktarı İnteraksiyon Tablosu	62
Ek Açıklama-G: Toplam Çözünebilir Protein (TÇP) Miktarı İnteraksiyon Tablosu	63

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.1. Mısır tohumlarına AsA ile priming uygulamaları.	14
3.2. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır bitkilerinin görünümü.	16
4.1. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır bitkisinde ortaya çıkan bazı morfolojik değişiklikler.	26
4.2. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır bitkisinde zararlanma skala değerleri.	27
4.3. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır fidelerinin yaprak iyon sızıntısı oranlarındaki değişim. Dikey barlar tekerrürlerin \pm SS' larını göstermektedir.	29
4.4. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır fidelerinin yaprak TK oranlarındaki değişim. Dikey barlar tekerrürlerin \pm SS' larını göstermektedir.	30
4.5. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır fidelerinin yaprak AsA miktarındaki değişim. Dikey barlar tekerrürlerin \pm SS' larını göstermektedir.	32
4.6. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır fidelerinin Chl miktarındaki değişim. Dikey barlar tekerrürlerin \pm SS' larını göstermektedir.	34
4.7. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır fidelerinin yaprak prolin miktarındaki değişim. Dikey barlar tekerrürlerin \pm SS' larını göstermektedir.	36

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.8. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır fidelerinin yaprak TÇP miktarındaki değişim. Dikey barlar tekerrürlerin \pm SS' larını göstermektedir.	38
4.9. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır fidelerinin yapraklarındaki toplam protein profilleri (MA: Moleküler Ağırlık Standardı, kDa: Kilodalton).....	40
4.10. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır fidelerinin yapraklarında belirlenen dehidrin grubu protein bantları (58, 50, 35 kDa).	42
4.11. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır fidelerinin yapraklarındaki (a) 58 kDa DHN proteininin görünümü (b) 58 kDa DHN proteinin bant yoğunluğu.....	42
4.12. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır fidelerinin yapraklarındaki (a) 50 kDa DHN proteininin görünümü (b) 50 kDa DHN proteinin bant yoğunluğu.....	43
4.13. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır fidelerinin yapraklarındaki (a) 35 kDa DHN proteininin görünümü (b) 35 kDa DHN proteinin bant yoğunluğu.....	44

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Cizelge</u>	<u>Sayfa</u>
3.1. Denemede kullanılan uygulamalar.....	15
3.2. Ninhidrin reaktifi bileşenleri ve miktarları.....	19
3.3. Ekstraksiyon çözeltisinin bileşenleri ve miktarları.....	20
3.4. % 12,5 ayırma jeli bileşenleri ve miktarları.....	21
3.5. %4 yükleme jeli bileşenleri ve miktarları.....	22
3.6. Yürütme tamponu bileşenleri ve miktarları.....	22
3.7. Transfer tamponu bileşenleri ve miktarları (1 L).....	24
3.8. TBS çözeltisi bileşenleri ve miktarları (1 L).....	24
3.9. TBST çözeltisi bileşenleri ve miktarları (1 L).....	24
4.1. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır fidelerinde ortaya çıkan zararlanma skala değerleri.....	27
4.2. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır fidelerinin yaprak iyon sızıntısı oranlarındaki değişim.....	29
4.3. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır fidelerinin yaprak TK oranlarındaki değişim.....	31
4.4. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır fidelerinin yaprak AsA miktarındaki değişim.....	33
4.5. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır fidelerinin yaprak Chl miktarındaki değişim.....	35
4.6. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır fidelerinin yaprak prolin miktarındaki değişim.....	36
4.7. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır fidelerinin yaprak TÇP miktarındaki değişim.....	39

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**Simgeler**

µg	Mikrogram
dS/m	Desisimens/metre
L	Litre
meq	Miliekivalan
mg	Miligram
mL	Mililitre
mM	Milimolar
ppm	Milyonda bir birim
°C	Santigrat derece

Kisaltmalar**Acıklama**

AsA	Askorbik asit
ABA	Absisik asit
AOX	Alternatif oksidaz
APX	Askorbat peroksidaz
BSA	Bovine Serum Albümin
CAT	Katalaz
Chl	Toplam klorofil
DHN	Dehidrin
DTT	1,4 dithiothreitol
EC	Enzim Komisyon
EDTA	Etilen diamintetra asetik asit

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
MDA	Malondialdehit
NaCl	Sodyum klorür
PMSF	Fenilmetilsülfonil florür
POX	Peroksidaz
PVPP	Polivinilpolipirrolidon
qRT-PCR	Kantitatif Eş Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu
Real-time PCR	Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu
ROS	Reaktif oksijen türleri
Rpm	Dakikadaki dönme sayısı
SA	Salisilik asit
SDS	Sodyum dodesil sülfat
SDS-PAGE	Sodyum dodesil sülfat- poliakrilamid jel elektroforezi
SOD	Süperoksit dismutaz
SS	Standart sapma
SUC	Sukroz
TBS	Tris buffer saline
TBST	Tris buffer saline tween-20
TÇP	Toplam çözünebilir protein
TEMED	Tetrametilendiamin
TK	Turgor Kaybı

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**Kısaltmalar****Açıklama**

TÜİK

Türkiye İstatistik Kurumu

V

Volt



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Mısır bitkisi (*Zea mays* L.), Carl Linnaeus tarafından 1753 yılında tanımlanmıştır (Linnaeus, 1753). Bilimsel adı "*Zea mays*" olarak bilinen mısır bitkisi, Poaceae (buğdaygiller) familyasına ait, dünya çapında önemli C4 metabolizmasına sahip tek yıllık bir tahıl bitkisidir (Kumar ve Jhariya, 2013; Scott ve Emery, 2016).

Mısır, Türkiye'nin farklı bölgelerinde yaygın olarak yetiştirilmektedir ve ülkenin tarımsal ekonomisinde büyük bir öneme sahiptir. Özellikle Karadeniz Bölgesi, Ege Bölgesi, İç Anadolu Bölgesi ve Güneydoğu Anadolu Bölgesinde mısır yetiştiriciliği yoğunlaşmıştır. Türkiye'de, hem ticari ölçekte hem de küçük çiftçiler tarafından farklı mısır çeşitleri tercihlere bağlı olarak yetiştirilmektedir. Mısır, hem hayvan yemi olarak hem de insan beslenmesinde ve aynı zamanda endüstriyel ürünlerin üretiminde değerli bir hammadde olarak kullanılmaktadır (Tarım ve Orman Bakanlığı, 2019).

Türkiye'de mısır üretimi son dönemlerde üst üste rekor seviyelere ulaşmıştır. 2020/21 döneminde 6,5 milyon ton mısır üretilmiş ve bu veriler 2021/2022 döneminde 6,75 milyon tona yükselmiştir. Konya, Şanlıurfa ve Adana gibi iller mısır üretiminde önde gelen iller arasında yer almaktadır. Yem sanayi, Türkiye'de üretilen mısırın %81'ini kullanmaktadır. Ayrıca, mısır üretiminde Türkiye'nin kendine yeterlilik oranı 2020/21 döneminde %85'e yükselmiştir (TÜİK, 2022). Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) 2020/21 dönemindeki verilerinde ise; küresel mısır üretimi 1,1 milyar ton olarak kaydedilmektedir. Bu süre zarfında, mısır üretiminde en büyük paya sahip olan ülkeler Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ve Çin olarak belirtilmiştir. Amerika Birleşik Devletleri, en büyük üretici ve ihracatçı konumunda bulunurken, Çin ise en büyük ithalatçı ülke olarak öne çıkmaktadır. Bu durum, ABD'nin büyük ölçüde mısır üretimine odaklanmasının yanı sıra Çin'in mısır talebinin yüksek olmasıyla ilişkilendirilmektedir (FAO, 2021).

Mısır bitkisinin yetiştirilmesi için temel faktörler arasında sıcak iklim koşulları, verimli topraklar, düzenli sulama, doğru gübreleme ve hastalık/zararlı kontrolü önemli bir rol oynamaktadır. Mısır bitkisinin çimlenme döneminde ideal sıcaklık aralığının 10-11°C olduğu önerilirken, 15 °C'nin çimlenmeyi hızlandırdığı belirtilmiştir. Optimal koşullarda, mısırın ilkbahar ve yaz aylarında ekimi gerçekleştirilmeli ve 20-30 °C arasındaki sıcaklık aralığında gelişimi sağlanmalıdır (Kırtok, 1998). Bitki, iyi drene edilen ve besin açısından zengin toprakları tercih etmektedir. Sulama faaliyetleri, bitkinin su gereksinimini düzenli olarak karşılamak amacıyla düzenli bir şekilde gerçekleştirilmelidir. Gübreleme, özellikle azot gibi önemli besin maddelerini içeren uygun gübrelere gerçekleştirilmelidir. Hastalık ve zararlılarla mücadelede, önleyici tedbirler alınmalı ve müdahaleler zamanında ve etkili bir şekilde gerçekleştirilmelidir (Scott ve Emery, 2016).

Bitkiler, çevre koşullarında meydana gelen değişiklikler sonucu stres durumlarıyla karşılaşır. Stres, bitkilerin metabolik iç dengesini bozan ve büyüme süreçlerini etkileyen bir durumu ifade eder (Suzuki vd., 2014). Bitkiler, kuraklık, tuzluluk, aşırı sıcaklık, soğuk, kimyasal toksisite gibi abiyotik stres faktörlerine ve patojenler, zararlı böcekler gibi biyotik stres faktörlerine maruz kalabilirler (Wang vd., 2003). Bitkilerde stres, tarımsal üretimde büyük bir sorun oluşturur. Stres koşulları bitkilerin büyümesini, gelişmesini ve verimini olumsuz etkileyebilir. Bu nedenle, bitkilerin stresle başa çıkma yeteneklerini anlamak ve bu yetenekleri artırmaya yönelik çalışmalar önemlidir (Parida ve Das, 2005). Araştırmalar, bitki ıslahı ve moleküler yöntemlerin yaratıcı uygulamalarıyla stres toleransına sahip bitkilerin geliştirilmesine yönelik stratejiler hedeflemektedir. Böylece, bitkiler daha dirençli hale gelerek çevresel streslere daha iyi uyum sağlayabilir ve tarımsal verimlilik artırılabilir (Munns, 2005). Tuz stresi, bitkilerin yüksek tuz konsantrasyonlarına maruz kalmaları sonucu ortaya çıkar. Bitkilerde tuz toleransının indüksiyonu ekonomik açıdan büyük öneme sahiptir (Ashraf, 2002). Stres, bitkilerin normal büyüme ve gelişme süreçlerini olumsuz etkiler. Yüksek tuz seviyeleri bitkilerin su alımını engeller ve su stresine neden olur (Hasegawa vd., 2000). Ayrıca, tuz stresi bitki dokularında iyon dengesini bozar ve toksik etkilere yol açabilir. Ancak, bitkiler tuz stresine karşı adaptasyon mekanizmaları geliştirmiştir. Bu mekanizmalar, tuz salgılama, tuzun köklerde birikmesi, osmoregülasyon ve antioksidan savunma sistemlerinin aktifleşmesi gibi süreçleri içerir (Munns ve Tester, 2008).

Stres koşullarında bitkilerin geliştirdiği mekanizmalardan olan antioksidan savunma sistemi, süperoksit dismutaz (SOD, EC 1.15.1.1), katalaz (CAT, EC 1.11.1.6), askorbat peroksidaz (APX, EC 1.11.1.11) ve peroksidaz (POX, EC 1.11.1.7) gibi enzimlerin yanı sıra askorbik asit (AsA), alfa-tokoferol, karotenoidler ve indirgenmiş glutatyon (GSH) gibi düşük moleküler ağırlığına sahip enzimatik olmayan antioksidanları da içermektedir. Enzimatik olmayan antioksidanlardan AsA, bitki biyokimyasal reaksiyonlarında önemli rol oynayan, C vitamini olarak da bilinen bir bileşiktir. Askorbik asit seviyeleri, tuz stresi gibi abiyotik streslere maruz kalan bitkilerde değişebilir (Sharma ve Dubey, 2007).

Osmotik ve oksidatif strese sebep olan tuzluluk, kuraklık ve düşük sıcaklık gibi abiyotik stresler; membran yapısının bozulmasına, proteinlerde aktivite kaybına veya denatürasyona neden olmaktadır (Krasensky ve Jonak, 2012). Bu nedenle proteinler, stres toleransını arttırmaya yönelik süreçlere doğrudan katılmaktadırlar (Maršálová vd., 2016). Dehidratasyon stresi sırasında ortaya çıkan proteinler, dehidratasyon proteinleri olarak adlandırılır. Dehidrin olarak da bilinen bu proteinler, dehidratasyon stresine cevap vererek hücrelerin sağ kalmasına ve uyum sağlamasına yardımcı olurlar (Graether ve Boddington, 2014). Bitki hücrelerinde, düşük sıcaklık, kuraklık ve tuzluluk gibi dehidratif faktörlere tepki olarak üretilen dehidrin proteinleri, gelişim süreçlerinde, tohum ve polen olgunlaşması gibi aşamalarda önemli roller üstlenirler (Svensson vd., 2002). Dehidrinler, tüm fotosentetik organizmalarda yer alarak, bitki hücrelerinin çevresel uyarıcılara adapte olmasında görev alır (Rorat vd., 2004).

Dehidrinler (DHN), LEA II veya D-11 proteinleri olarak gruplandırılmaktadır ve sitoplazmik proteinleri denatürasyondan koruyarak bitki savunma mekanizmalarında önemli rol oynayan bir protein ailesidir (Close, 1997). Dehidrinler, hücrelerin dehidrasyona maruz kalmasıyla ilişkili çeşitli faktörler tarafından uyarıldığında ortaya çıkan geç embriyogenez bağımlı proteinlerdir (Kosová vd., 2010). Bu proteinler, bitkilerin su dengesini korumak ve hücresel yapılarını sabit tutmak için özel adaptasyonlar geliştirmelerine yardımcı olur. Stres koşullarında, osmotik dengeyi korumak için su

moleküllerini çekerek hücrelerde birikirler. Bu nedenle, hücresel dehidrasyon riskini azaltırlar (Rorat, 2006).

Günümüzde, bitkiler üzerinde tuzluluk, kuraklık, yüksek ve düşük sıcaklık gibi stres faktörlerinin olumsuz etkilerini azaltmak ve bitkilerin stres koşullarına uyum yeteneğini artırmak için AsA gibi enzimatik olmayan antioksidan moleküllerin dışsal uygulaması alternatif bir yöntem olarak değerlendirilmektedir (Khan vd., 2006). Tuz stresi altında AsA uygulamasının, bitkilerde su dengesinin ve hücre yapısının korunmasına yardımcı olduğu, AsA'nın çeşitli tarımsal bitki türlerinde; tuz stresinin büyüme ve gelişme üzerindeki olumsuz etkilerini azaltmada önemli bir rol oynadığı belirtilmektedir (Hamada, 1998). Bununla birlikte, uygulanan AsA'nın konsantrasyonu, uygulama şekli ve uygulama zamanı gibi faktörlerin dikkate alınması gerekir. Ayrıca bitki türü, çevresel koşullar ve uygulama şartları gibi değişkenlerin etkileri de göz önünde bulundurulmalıdır (Irfan vd., 2019). Bu tez çalışmasının amacı; ADA 9516 mısır çeşidinde tuz stresinin neden olduğu zararları ve AsA'nın tuz toleransı ile ilişkili olabilecek belirli savunma mekanizmalarını aktive edip edemeyeceğini belirlemektir.

2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

2.1. Tuz Stresi ve Tuz Zararı

Tuzluluk, bitkilerin büyüme, gelişme ve verimlilik süreçlerine olumsuz yönde etki eden bir abiyotik stres faktörüdür (Liang vd., 2018). Tuz stresi bitkilerin normal işleyişlerini bozarak, osmotik ve iyonik strese neden olur. Bitki hücrelerinde su alımını kısıtlar. Aşırı tuz seviyeleri bitkilerin gelişiminin durmasına veya ölümüne yol açabilir (Turhan ve Eriş, 2005). Tuz stresinin etkileri, stresin kapsamı ve süresinin yanı sıra bitki özellikleriyle ilgili faktörlere bağlı olarak önemli ölçüde değişir (Acosta-Motos vd., 2017). Tuzluluğa maruz kalan bitkilerde fotosentez, enzim aktivitesi, protein sentezi gibi metabolik süreçler bozulur. Bu durum bitkilerin yaşama olasılığını düşürür. Bazı bitkiler böyle süreçlerde tuzluluğa karşı hayatta kalmayı başaran tolerans mekanizmaları geliştirirler. Bu mekanizmalar; iyonların birikmesi veya atılması, osmotik düzenleyicilerin üretilmesi, fizyolojik ve biyokimyasal yanıt olarak; sinyal iletim yolları ve çeşitli genlerin açılması veya kapanması gibi moleküler yanıtları içerir (Khan vd., 2014; Ma vd., 2022).

Farklı klorür tuzları ile priming (ön uygulama) uygulanan mısır tohumları, 8 saat boyunca saf su ve 200 meq/L sodyum klorür (NaCl), potasyum klorür (KCl) ve kalsiyum klorür dihidrat ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) içinde bekletilerek mısırın çimlenme aşamasında tuza toleransının nasıl etkilendiği incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre saf su ve diğer tuz uygulamalarının, çimlenme evresindeki tuz stresine karşı koruyucu etki gösterdiği, çimlenme aşamasında priming uygulanan tohumlarda sodyum (Na^+), potasyum (K^+) ve kalsiyum (Ca^{2+}) konsantrasyonlarının arttığı, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ uygulanan tohumlarda klor (Cl^-) birikiminin en yüksek değerlerde olduğu gözlemlenmiştir. Araştırmacılar, nihai çimlenme, çimlenme hızı, taze ve kuru ağırlık yüzdelerinin önemli ölçüde daha yüksek olmasından $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tuzunun, diğer tuzlara kıyasla mısırın tuza toleransında daha etkili olduğunu ve ekim öncesi priming uygulamalarının, çimlenme aşamasında tuz toleransını arttırmada etkili olduğunu gözlemlemiştir (Ashraf ve Rauf, 2001).

Yakit ve Tuna (2006) tuz stresine maruz kalan mısır bitkisinde (*Zea mays* L.) Ca, K ve magnezyum'un (Mg) membran geçirgenliği, prolin, bağıl su içeriği, toplam klorofil (Chl) ve karotenoid gibi parametreler üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Bu çalışmada, tuzla birlikte Ca, K ve Mg'li bileşiklerin uygulanmasının, bağıl su içeriği ve membran geçirgenliği üzerinde olumlu etki yaptığını ve tuzun olumsuz etkilerini kısmen giderdiğini rapor etmişlerdir. Tuz uygulamasının prolin seviyesini yükselttiğini fakat Chl ve karotenoid miktarlarının tuz uygulamasından olumsuz etkilendiğini, besin çözeltisine eklenen Ca, K ve Mg bileşiklerinin tuzun bu olumsuz etkisini kısmen hafifletip, iyileştirici bir etki gösterdiğini bildirmişlerdir.

Tuzluluk, fizyolojik kuraklık oluşturarak bitkiler üzerinde iyonik ve osmotik stres etkilerini artırır. Bu durum, bitkilerde süperoksit radikalleri (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikalleride (OH^-) dahil olmak üzere reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimine neden olur. Bu bileşikler, hücre bütünlüğüne zarar verir ve proteinlerin bozulmasına, DNA'nın parçalanmasına, membran lipidlerinin peroksidasyonuna ve sonunda hücre ölümüne neden olarak farklı hücrel bileşenlere oksidatif hasar verir (Parida ve Das, 2005; Farooq vd., 2008; Gémes vd., 2011; Groß vd., 2013). Tuzluluğun bitkilerde, hücrel düzeyde oksidatif strese neden olduğu bilinmektedir. Bu durumda, tuz stresine maruz kalan bitkilerdeki mitokondri ve kloroplastlar, ROS'un önemli kaynakları olarak görev yaparlar (Acosta-Motos vd., 2017).

Mısır bitkisinde, 3167, 32K61 ve Bora genotiplerine tuz stresi (100, 200 ve 300 mM) uygulamaları sonucunda yapraklardaki su miktarının azaldığı ve kök-gövde büyümesinin olumsuz etkilendiği saptanmıştır. Tuz uygulaması 3167 genotipinde H_2O_2 oluşumunu artırırken, diğer genotiplerde AsA içeriğini arttırmıştır. Sonuç olarak Bora genotipi tuz stresine daha dayanıklı bulunmuştur. Tuz stresinin, klorofil metabolizmasında bozulmaya sebep olup oksidatif hasara yol açtığını ve antioksidan enzim aktivitelerinin genotipler arası farklılık gösterdiği tespit edilmiştir (Doğru, 2014).

Abdelgawad vd. (2016) yaptıkları çalışmada, mısır bitkisi üzerindeki yüksek tuzluluğun köklerde Na^+ birikimine, oksidatif stresin artmasına ve büyümenin azalmasına neden olurken, genç ve olgun yapraklarda daha az etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Elde edilen sonuçlarda, köklerin tuz detoksifikasyonunda ana rol oynadığı öne sürülmüştür.

Tuz stresine dirençli (*Zea mays* cv. Simon) ve hassas (*Zea mays* cv. 71MAY69) iki mısır çeşidinde, tuz stresine (100 mM NaCl) karşı antioksidan sistem, alternatif solunum ve östrojen etkileri incelenmiştir. Tuz stresi, antioksidan enzim aktivitelerini etkilerken, östrojenin tüm enzim aktivitelerini arttırdığı tespit edilmiştir. Tuzla ilave verilen östrojen, ROS ve malondialdehit (MDA) düzeylerini azaltmıştır. Ayrıca hücre solunum tuz stresi altında olumsuz etkilenirken, östrojen alternatif solunumu da arttırmıştır. Real-time PCR verilerine göre, tuz stresinin AOX1 ve AOX2 gen ifadelerini arttırdığı, tuzla ilave verilen östrojenin ise bu genlerin aktivitesini daha fazla arttırdığı gözlemlenmiştir. Sonuç olarak, östrojenin bitkilerin tuz stresine karşı dayanıklılığı arttırmada kullanılabileceği bildirilmiştir (Khataei Khosroushahi, 2014).

Tuz stresi altındaki mısır bitkisinde *Bacillus anthracis* PM21'in etkilerinin araştırıldığı çalışmada, PM21 aşılamanın ardından qRT-PCR analizi kullanılarak gen ifadeleri incelenmiştir. PM21 aşılamanın antioksidan enzimlerin gen ifadelerini arttırdığı ve bu enzimlerin tuz stresine karşı toleransta rol oynayabileceği belirtilmiştir. Sonuç olarak, PM21'in bitkilerde tuz stresine karşı dayanımı artırma mekanizmalarını aydınlatmada yardımcı olabileceği bildirilmiştir (Azeem vd., 2023).

2.2. Tuza Tolerans

Bitkiler, tuz stresine karşı verdikleri tepkilere bağlı olarak halofitler ve glikofitler olmak üzere iki ana grupta sınıflandırılırlar. Halofitler, yüksek tuz koşullarına uyum sağlamış ve bu ortamlarda hayatta kalan bitkilerdir. Glikofitler ise tuz hassasiyeti gösteren bitkilerdir ve yüksek tuz konsantrasyonlarında yaşayamazlar (Flowers ve Colmer, 2015). Tuz toleransı, bitkilerin tuzlu ortamlarda büyüebilme yeteneklerini ifade eder (Parida ve Das, 2005). Yüksek tuzluluk seviyeleri, bitkilerin su alımını zorlaştırabilir, kök gelişimini

engelleyebilir, fotosentezi bozabilir ve zararlı tuz birikimine yol açabilir. Ancak tuzlu ortamlarda yetişen bitkiler, özelleşmiş adaptasyon mekanizmaları sayesinde tuz toleransını sağlarlar (Azevedo Neto vd., 2006). Bitkilerin tuz toleransı, özgül gen ifadeleri ve anatomik adaptasyonlarıyla desteklenir ve bilim insanları bu özelliği genetik ve moleküler düzeyde inceleyerek anlamaya çalışmaktadır. Bu tür araştırmalar, tuzlu alanların sürdürülebilir şekilde kullanımı ve tarım verimliliği için büyük önem taşımaktadır (Hao vd., 2021). Bitkiler, tuzlu bölgelerde hayatta kalabilmek için tuz regülasyonu mekanizmalarını kullanırlar. Bu mekanizmalar, iki ana hedefe odaklanır: aşırı tuzun zararlı etkilerinden korunmak ve yüksek iyon konsantrasyonlarına uyum sağlamak. Bu mekanizmalar sayesinde bitkiler, tuzlu ortamlarda büyüyebilir, üreyebilir ve yaşam döngülerini tamamlayabilirler. Tuz toleransı, bitkilerin karmaşık biyokimyasal ve fizyolojik cevaplarının sonucunda ortaya çıkan önemli bir özelliktir ve bu adaptasyonlar bitkilerin çeşitli çevresel koşullara uyum sağlama yeteneklerini de yansıtır (Afzal vd., 2023).

Toprak tuzluluğu, küresel ölçekte tarımsal verim kayıplarına yol açan önemli bir abiyotik stres faktörüdür (Grewal, 2010). Farklı bitki türleri, tuzluluğa karşı tolerans yeteneklerinde önemli farklılıklar gösterir. Buğday, çeltik ve mısır gibi yaygın tahıl ürünleri arasında tuzluluğa tepki açısından belirgin farklar bulunmaktadır. Buğday, 150 mM NaCl (15 dS/m) tuzluluğa kadar başarılı bir şekilde yetiştirilebilirken, çeltik tuzluluğa karşı oldukça hassastır. Mısır ise bu iki tür arasında orta düzeyde bir tuz duyarlılığına sahiptir. Öte yandan, yonca gibi önemli yem bitkileri tuzluluğa karşı en yüksek toleransı sergileyen türler arasında yer alır (Munns, 2007).

Bastam vd., (2013) yaptıkları çalışmada, tuz stresi altında fıstık fidelerinde yapraktan püskürtülen AsA'nın, tuz stresine bağlı hasarı azaltarak fidelerin büyümesini ve fizyolojik özelliklerini iyileştirdiğini, fıstık fidelerinde tuz stresine karşı toleransı artırdığını bildirmişlerdir.

Yapılan bir çalışmada, yerfıstığı (*Arachis hypogea* L.) bitkisinin çeşitlerinin tuz stresine tepkisi araştırılmış, kök yaş ve kuru ağırlığı ile gövde uzunluğu üzerinde tuzun etkisi önemsiz bulunmuştur. Ancak, tuz konsantrasyonunun artmasıyla yaprak dokusunda iyon sızıntısı, yaprak sıcaklığı ve lipid peroksidasyon düzeyi artmış, diğer fizyolojik ve büyüme parametreleri ise azalmıştır. Gazipaşa çeşidinin, Arıoğlu-2003 çeşidine göre tuz stresine daha dirençli olduğu belirlenmiştir (Yolci vd., 2021).

Son yıllarda, bitki stres fizyolojisi alanında en fazla araştırılan bileşiklerden biri olan prolin amino asidi, özellikle tuz ve su stresi altındaki bitkilerde belirgin bir şekilde artış gösterdiği, bu artışın ise bitkilerin savunma mekanizmalarını harekete geçirerek stresle başa çıkma yeteneklerini desteklediği düşünülmektedir (Shannon, 1997). Çeşitli araştırmalarla, bitkilerin stresle karşılaştığında prolin biriktirdiği ve bu birikimin bitkinin stresten kurtulması için önem taşıdığı bilinmektedir (Szabados ve Saviouré, 2010). Dokularda yüksek miktarda prolin birikiminin stresle başa çıkma mekanizması olarak tanımlandığı birçok çalışmada belirtilmiştir (Ashraf ve Foolad, 2007; Shahbaz vd., 2011).

Bitki stresi altında uyumlu osmolitlerin birikimi, su potansiyelini korumak için kullanılan bir stratejidir. Glisin betain ve prolin, bu uyumlu osmolitler arasında önemli olanlardır. Prolin, stres sırasında osmolit olarak işlev görürken aynı zamanda metal bağlayıcı, antioksidatif savunma molekülü ve sinyal molekülü olarak da rol oynar. Bu nedenle, prolinin sentezi ve stres altındaki işlevi üzerine yapılan çalışmalar önemlidir (Rana vd., 2017). Arefian vd. (2014) tuz stresi koşullarında nohutta yaptıkları çalışmada, yapraktaki prolin miktarının önemli derecede arttığını, prolinin tuz stresine karşı bitkilerde adaptasyon mekanizmalarında kritik bir rol oynadığını bildirmişlerdir.

Tuzlu ve tuzsuz koşullarda buğday bitkisine absisik asit (ABA) , salisilik asit (SA) ve AsA ile hormonal priming uygulanarak çimlenme ve fidan büyümesine etkileri araştırılmıştır. Çimlenme testlerinde, 50 ppm AsA ve 50 ppm SA ile yapılan priming uygulamalarının tuzlu koşullarda çimlenme ve fidan gelişimini arttırdığı bildirilmiştir. En iyi sonuçlar 50 ppm SA ve AsA ile elde edilmiştir. Araştırmacılar, bu uygulamaların tuzun

olumsuz etkilerini azaltarak tuz toleransı sağladığını ancak ABA'nın bu konuda etkili olmadığını rapor etmişler (Afzal vd., 2006).

Ghoohestani vd. (2012) tuz stresinin domates tohumlarının büyüme ve çimlenmesini olumsuz etkilediğini fakat SA ve AsA ile priming uygulamalarının bu olumsuz etkiyi azalttığını bildirmişlerdir. Özellikle 150 ppm SA ve AsA konsantrasyonlarının tohumlarda daha iyi sonuçlar verdiği, H₂O₂ ile priming uygulamasının ise zararlı olduğu saptanmıştır. 150 mg/L AsA uygulamasının tuz stresinin olumsuz etkilerine karşı en iyi korumayı sağladığı bildirilmiştir.

Buğdayın kuraklığa dayanımında AsA ile tohum çimlendirme işleminin etkisi yapılan bir araştırmada incelenmiştir. Mairaj-2008 ve Lasani-2008 çeşitleri, iki ayrı deneyden oluşan ön uygulama yöntemleri (Hidropriming ve AsA ile Osmopriming) kullanılarak iyi sulanmış ve kurak stresli koşullarda yetiştirilmiştir. Hidropriming işlemi, hem kuraklık hem de iyi sulanmış koşullarda çıkışı ve erken gelişmeyi önemli ölçüde iyileştirmiştir. Bununla birlikte, AsA ile osmopriming işleminin, prolin birikimini artırarak bitki su durumunu iyileştirdiği ve oksidatif hasarları azaltarak hidroprimingden daha etkili bir iyileştirme sağladığı belirtilmiştir. AsA ile işlenen tohumlar, daha iyi çıkış oranı, yüksek klorofil içeriği, yaprak gelişimi ve kök uzunluğu göstermiştir. Sonuç olarak, araştırmacılar AsA ile tohum çimlendirme işleminin, bitki büyümesini ve kuraklığa dayanıklılığı önemli ölçüde artıracak etkili bir yöntem olduğunu gözlemlemişlerdir (Farooq vd., 2012).

Farooq vd. (2020) su stresi altında dört aspir çeşidinde dışarıdan uygulanan AsA'nın bitki büyümesi, osmoprotektanlar ve oksidatif savunma sistemi üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Su stresi bu dört aspir çeşidinde bitkilerin büyüme ve klorofil içeriğini azaltırken, yapraklardaki serbest prolin, toplam fenolik bileşikler, toplam çözüner proteinler, H₂O₂ ve antioksidan enzim aktivitelerini arttırdığını bildirmişlerdir. Yapraktan uygulanan (100 mg L⁻¹ ve 150 mg L⁻¹) AsA'nın, özellikle su stresi altında bitki büyümesini, klorofil ile AsA içeriğini ve POX enziminin aktivitesini arttırdığını rapor etmişlerdir. Ayrıca, AsA uygulaması prolin, fenolik bileşikler, çözüner proteinler ve glisin

betain birikimini arttırıp MDA ve H₂O₂ içeriğini düşürmüştür. Araştırmacılar AsA'nın su stresi koşullarında aspir bitkilerinin büyümesinde olumlu bir etkiye sahip olduğunu ve osmoproteksiyonu artırarak antioksidan savunma sistemini düzenlediğini bildirmişlerdir.

Mısır (*Zea mays* L.) bitkisinin Ada 9510 çeşidinin, tuz stresine maruz kalan yapraklarına püskürtülen AsA'nın etkisinin incelendiği bir çalışmada tuz stresi, mısır yapraklarındaki antioksidan enzim aktivitelerini ve redükte AsA içeriğini azaltırken, H₂O₂ içeriğini ve MDA miktarını arttırmıştır. Tuz stresine maruz kalan mısır yapraklarında fotosentetik pigment (klorofil a, klorofil b, Chl ve toplam karotenoid) içeriğinin de düştüğü bildirilmiştir. Ancak, yapraktan uygulanan AsA'nın antioksidan enzim aktivitelerini ve redükte AsA içeriğini artırıp, H₂O₂ ve MDA içeriğini azaltarak fotosentetik pigment içeriğinin yükselmesine katkıda bulunduğu gözlemlenmiştir. Yapraktan uygulanan AsA'nın mısır bitkilerinde tuz stresinin olumsuz etkilerini azalttığı ve tuza tolerans geliştirdiği bildirilmiştir (Doğru ve Torlak, 2020).

Kanola (*Brassica napus* L.) tohumlarına tuz stresi altında, AsA ve SA ile yapılan priming uygulamalarının çimlenme üzerindeki etkisi incelenmiştir. Sonuçlar, düşük konsantrasyonlarda (0,5 mM) yapılan SA ve AsA uygulamalarının tuz stresinin olumsuz etkilerini azalttığını ve çimlenme performansını arttırdığını göstermiştir. Bu bulgular ışığında, tuzlu ortamlarda SA ve AsA ile priming uygulamalarının kanola bitkisinin daha sağlıklı büyümesini sağlayabileceği sonucuna varılmıştır (Tanur ve Yorgancılar, 2020).

Tuzluluk stresine maruz kalan üç farklı buğday çeşidinde AsA ile priming uygulamalarının etkisi incelenmiştir. Punjab-2011, Faisalabad-2008 ve Ujala-2016 çeşitleri hem homojen hem de heterojen ortamlarda değerlendirilmiştir. Farklı tuz seviyelerinin (100, 150, 200 mM NaCl) büyüme parametrelerini olumsuz etkilediği, ancak AsA ile priming uygulamalarının bu olumsuz etkileri iyileştirdiği ve çimlenme performansını arttırdığı tespit edilmiştir. Özellikle 100 ve 150 mg/L AsA konsantrasyonlarında en etkili sonuçlar elde edilmiştir. Araştırmacılar, AsA'nın buğday çeşitlerinde tuz stresine karşı tolerans sağlayarak büyüme ve gelişimi destekleyici rol oynayabileceğini rapor etmişlerdir (Baig vd., 2021).

Tuz stresine maruz kalan iki fasulye genotipine (hassas “Yerel Genotip” ve toleranslı “Şeker Fasulye”) yapraktan uygulanan AsA etkileri incelenmiştir. Sonuçlar, AsA'nın tuz stresinin olumsuz etkilerini azalttığını, antioksidan aktiviteyi arttırdığını ve hücre zarları stabilize ettiğini, bu bağlamda tuza hassas genotiplerde tuz stresine karşı etkili bir koruyucu olduğunu ortaya koymuştur (Aydoğan vd., 2023).

Bezelye bitkisinin büyüme ve gelişimi üzerine farklı tuz konsantrasyonlarının (0, 25, 50 ve 100 mM NaCl) etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, tuz konsantrasyonlarının bitkinin farklı özellikleri üzerinde istatistiksel olarak önemli etkileri olduğunu, 100 mM NaCl uygulamasının ise genellikle olumsuz etkileri görülmüştür. Özellikle 25 mM NaCl konsantrasyonunun bitki büyümesi ve klorofil birikimi açısından kontrol grubuna göre daha olumlu sonuçlar verdiği rapor edilmiştir (Acar vd., 2011).

Tuz stresine maruz kalan nohut bitkilerinde dışsal AsA uygulamasının etkisi incelenmiştir. Farklı tuz konsantrasyonları (20 mM ve 40 mM NaCl) ve AsA (4 mM) uygulamalarından sonra AsA'nın bitki büyümesini ve metabolik durumu iyileştirdiğini, klorofil içeriğini arttırdığını ve SDS-PAGE analizi sonuçlarında 40 mM NaCl stresinde kaybolan bantları yeniden ortaya çıkarmasıyla protein yapısını koruduğunu bildirmişlerdir (Beltagi, 2008).

Hücre içinde suyun dengeli bir şekilde dağılımının sağlanması ve hücre homeostazın sürdürülmesi gibi kritik görevleri yerine getiren proteinlerden biri de dehidrinlerdir. Dehidrinler, çevresel stres faktörleri, özellikle tuz stresi gibi durumlarla karşılaşıldığında genetik düzeyde etkinleşirler ve hücre içindeki su dengesini korumak adına çeşitli mekanizmaları harekete geçirirler. Bu mekanizmalar, osmotik dengeyi düzenleme ve oksidatif stresin etkilerini azaltma gibi süreçleri içerir (Riley vd., 2019). Aydoğan (2020) tarafından patatesten NaCl ve *Rhizoctonia solani* koşullarında yapılan çalışmada, 3 farklı büyüklüğe sahip dehidrin proteininin (yaklaşık 73, 45 ve 35 kDa) varlığı tespit edilmiştir. Bu bağlamda, NaCl, *R. solani* ve NaCl+*R. solani* stresleri durumunda, bu dehidrin proteinlerinin bitkilerin stres toleransında etkili olduğu rapor edilmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışmada tuz stresi koşullarında mısır (*Zea mays* L.) bitkisinde AsA uygulamalarının bazı fiziksel ve biyokimyasal özelliklere ve dehidrin proteinlerine etkisi araştırılmıştır. Bu araştırma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümüne ait kontrollü serada ve laboratuvarlarda yürütülmüştür.

3.1. Materyal

Çalışmada, Sakarya Mısır Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nden temin edilen ADA 9516 mısır (*Zea mays* L.) çeşidi kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Priming ve Tuz Uygulamaları

Tohumların AsA ile priming uygulamasında, her uygulamada 20 tohum olacak şekilde toplam 120 tohum kullanılmıştır. 50 mM AsA çözeltisi hazırlanıp, ön uygulama için ayrılan mısır tohumları oda sıcaklığında 24 saat boyunca ilgili çözeltilerde bekletilmiştir. Daha sonra tohumlar saf suyla yıkanıp 48 saat boyunca oda sıcaklığına ayarlanmış etüvde orijinal ağırlığına yakın bir ağırlığa gelecek şekilde kurutulup uygulamalarına göre ayrılıp saksılara ekilmiştir (Şekil 3.1). Denemede tuz NaCl formunda kullanılmıştır. Tesadüf parselleri deneme desenine göre kontrol grubu, 2 farklı NaCl (50 mM ve 100 mM), kontrol+50 mM AsA ve 2 farklı NaCl+AsA (50 mM NaCl+50 mM AsA, 100 mM NaCl+50 mM AsA) konsantrasyonu kullanılmıştır (Hamama ve Murniati, 2010).



Şekil 3.1. Mısır tohumlarına AsA ile priming uygulamaları.

3.2.2. Denemenin Kuruluşu

Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre planlanmış olup 3 tekerrürlü ve her tekerrürde 6 saksı olacak şekilde düzenlenmiştir. Denemede eşit oranlarda kum ve toprak (1:1) karışımı kullanılarak yetiştirme ortamı hazırlanmıştır. Tohumlar her saksıda 2 bitki olacak şekilde, 14x12 cm ebatlarındaki saksılara ekim derinliği 3 cm olacak şekilde ekilmiştir. Denemede kullanılan uygulamalar Çizelge 3.1’de gösterilmiştir. Fideler 5-6 yapraklı döneme gelinceye kadar ~%60 oransal nemde, 30-15 (± 2) °C (gündüz/gece) sıcaklıkta kontrollü serada yetiştirilmiştir.

Çizelge 3.1. Denemede kullanılan uygulamalar.

Uygulamalar
• Kontrol
• 50 mM NaCl
• 100 mM NaCl
• Kontrol + 50 mM AsA
• 50 mM NaCl + 50 mM AsA
• 100 mM NaCl + 50 mM AsA

3.2.3. Kültürel İşlemler

Saksılardaki nem tarla kapasitesinin %60'ına düştüğünde, tarla kapasitesinin %80'i olacak şekilde sulama yapılmıştır (Braunworth ve Mack, 1989). Kontrol bitkilerinin sulanması çeşme suyu ile sağlanmıştır. Her sulamada uygulanacak sulama suyu miktarları gravimetrik yöntem kullanılarak hesaplanmıştır. Gübreleme, mısır bitkileri 3-5 yapraklı olduğu dönemde sulama suyu ile birlikte, toplamda 2 kez, NPK (7-7-7) gübre çözeltisi kullanılarak yapılmıştır.

3.2.4. Sulama Suyu Miktarının Belirlenmesi

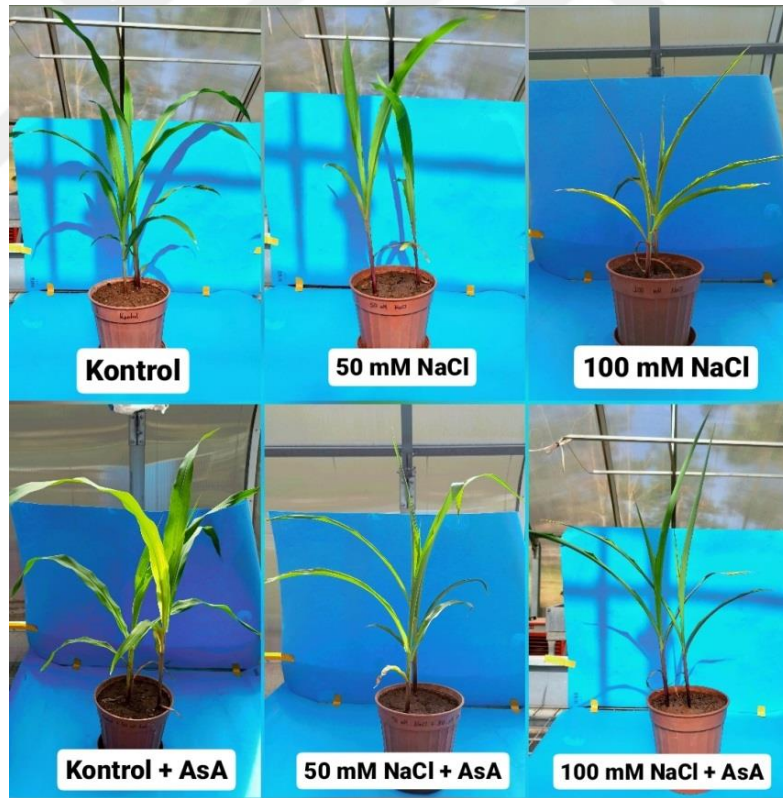
Sulama suyu miktarlarının belirlenmesinde, her sulama öncesi tartım yapılarak, eksilen nem seviyesinin, tarla kapasitesinin %80'ine getirilmesi esas alınmıştır. Bu amaçla, her sulama işleminde saksılara verilecek sulama suyu miktarları Ünlükara vd. (2008) tarafından önerilen aşağıdaki denklem yardımıyla hesaplanmıştır.

$$I = [(WTK - Wa) / Pw] / 1 - LF \quad (3.1)$$

Denklemden her sulamada uygulanan sulama suyu miktarı (I); saksıların tarla kapasitesi ağırlıkları (WTK), sulama öncesi saksı ağırlığı (Wa), suyun yoğunluğu (Pw) ve yıkama oranı (LF) olarak belirtilmektedir.

3.2.5. İncelenen Parametreler

Deneme tohum ekiminden itibaren 30 gün sürmüştür. Ekimden 5 gün sonra tuz uygulamalarına başlanmıştır. 30 günün sonunda bitkilerin genel görünümü Şekil 3.2’de gösterilmiştir. Sökülen bitkiler kullanılıncaya kadar -80 °C’lik bir derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Taze yaprak örnekleri kullanılarak belirlenen zararlanma derecesi, iyon sızıntısı, turgor kaybı (TK) ve derin dondurucuda muhafaza ettiğimiz örneklerle AsA miktarı, Chl ve prolin miktarındaki değişimler 6 uygulamada incelenerek belirlenmiştir. Ayrıca, uygulamalara bağlı olarak yine dondurulmuş yaprak örneklerinden toplam çözünebilir protein (TÇP) miktarı, toplam protein profilindeki değişimler SDS-PAGE analiziyle ve DHN proteinlerindeki değişimler ise immunblotlama (Western Blot) analizi kullanılarak belirlenmiştir.



Şekil 3.2. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır bitkilerinin görünümü.

3.2.5.1. Zararlanma Derecesi

Tuz zararının görülebilir semptomları ayrı bir parametre olarak değerlendirilmiştir. Bu amaçla; mısır bitkileri 1-5 arası bir skala kullanılarak yaprak hasarı semptomlarının şiddetine göre tuz toleransları açısından değerlendirilmiştir (Kuşvuran, 2010; Kusvuran vd. 2015). Puanlamada yaprak semptomlarının şiddeti aşağıdaki gibi sıralanmıştır:

(1) belirti yok veya çok hafif, (2) yapraklarda hafif lokal sararma ve/veya bazı yapraklarda kıvrılma, (3) orta derecede sararma ve/veya solma, belirgin yaprak kıvrılması, (4) çoğunlukla (%50-80) solma ve kuruma, (5) Çok şiddetli zararlanma ve/veya bitkinin tamamen ölmesi

Denemenin son günü her uygulama grubundan dört saksı gözlemlenmiş ve bu skalaya göre değerlendirilmiştir.

3.2.5.2. İyon Sızıntısı

İyon sızıntısının tespiti için Arora vd.nin (1998) yöntemi kullanılmıştır. İyon sızıntısı oranının belirlenmesi için yapılan çalışmada; mısır genotipinin tüm uygulamalarından 1 cm'lik yaprak diskleri, 5'er tekerrür olacak şekilde alınmıştır. Taze yaprak dokularından çıkarılan 1 cm çaplı diskler önce saf su ile yıkanıp ardından, zarar vermeden havlu peçete yardımıyla kurularak 15 mL distile su içeren cam tüplere aktarılmıştır (her tüpe 1 yaprak disk konulmuştur). Tüpler 24 saat boyunca orbital çalkalayıcıda (Thermo Scientific MaxQ 4450) inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra tüplerdeki çözeltilerin elektriksel iletkenliği EC metre (Mettler-Toledo, SevenCompact Conductivity S230, Switzerland) yardımıyla ölçülmüştür (OD1). Ardından otoklavda 121 °C'de 20 dk tutularak tüplerdeki dokuların ölmesi sağlanmıştır. Tüpler otoklavdan çıkarıldıktan sonra, 4 saat boyunca orbital çalkayıcıda inkübasyona bırakılmıştır ve sonra çözeltilerin elektriksel iletkenlikleri EC metre yardımıyla tekrar ölçülmüştür (OD2). Aşağıdaki formül yardımıyla membranlarda meydana gelen iyon sızıntısı oranı yüzde (%) olarak hesaplanmıştır.

$$(\%) \text{ İyon sızıntısı} = (O.D1/O.D2) \times 100 \quad (3.2)$$

Formülde O.D1, 1. Okuma değerini; O.D2, 2. Okuma değerini belirtmektedir.

$$\% \text{ Zararlanma} = [(\text{İyon sz. (U)} - \text{İyon sz. (K)}) / (100 - \text{İyon sz. (K)})] \times 100 \quad (3.3)$$

Formülde (U), stres faktörüne maruz bırakılmış bitkilerden alınmış örneklerin (%) iyon sızıntısı değerlerini; (K), kontrol grubu bitkilerinden alınan örneklerin (%) iyon sızıntısı değerlerini temsil etmektedir.

3.2.5.3. Turgor kaybının (TK) belirlenmesi

Uygulamalardan sonra mısırdaki TK değerlerini belirlemek için alınan, her biri 1 cm çapında yaprak örneklerinden 3'er disk çıkartılmıştır. Önce disklerin taze ağırlıkları kaydedilmiş, ardından 4 saat boyunca saf suda bekletilerek turgor ağırlıkları ve 70 °C'de 24 saat tutulduktan sonra kuru ağırlıkları kaydedilmiş ve elde edilen verilere bağlı olarak TK değerleri hesaplanmıştır. Değerler % olarak ifade edilmiştir (Arefian ve Shafaroudi, 2015).

$$TK = (TA - YA) / TA \times 100 \quad (3.4)$$

Eşitlikte, yaş ağırlık; YA, kuru ağırlık; KA, turgor ağırlığı; TA ile ifade edilmektedir.

3.2.5.4. Askorbik asit (AsA) miktarının belirlenmesi

Yaprak dokularında AsA miktarı Schöner ve Krause'nin (1990) yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir. Bu amaçla; -80 °C'de muhafaza edilen örneklerden ~500 mg alınarak saf su ve %10 metafosforik asit ile karıştırılmış ve 4,000 g'de 4 °C'de 10 dk santrifüjlenmiştir (Beckman Coulter™). Santrifüjleme işleminin ardından elde edilen süpernatant test tüpleri, ışık görmeyen bir ortamda soğumaya bırakılmıştır. Analizde bir

numune içeriği 1 mL metafosforik asit, 1 mL sitrik asit, pH 2,6 tampon çözelti ve 1 mL 2,6-diklorofenol-indofenol (DCPIP) içerecek şekilde ayarlanmıştır. 30 saniyelik okumadan sonra, spektrofotometrede (Genesys 10S UV-Vis) çözeltinin optik yoğunluğu 524 nm'de belirlenmiştir. Askorbik asit miktarının hesaplanmasında 0, 50, 100, 200, 300, 400, 500 µg AsA içeren standartlar kullanılmıştır.

3.2.5.5. Toplam klorofil (Chl) miktarı

Toplam klorofil (Chl) miktarı Moran ve Porath (1980) tarafından önerilen yöntemle belirlenmiştir. Taze yaprak dokularından çıkarılan 1 cm çaplı 5 disk tartıldıktan sonra kapaklı cam şişelere konulmuştur. Daha sonra cam şişeler alüminyum folyo ile kaplanarak her birine 5 mL dimetilformamid (DMF) çözeltisi konularak 72 saat süreyle 4 °C'de bekletilmiştir. 72 saat sonunda oda sıcaklığına çıkarılan örneklerin, cam küvet kullanılarak 652 nm'de bir spektrofometre (Genesys 10S UV-Vis) yardımıyla ölçümleri yapılmıştır. Kör örnek olarak DMF kullanılmıştır.

3.2.5.6. Prolin analizi

Yaprak dokularındaki prolin miktarı, Bates vd. (1973) tarafından geliştirilen yöntem kullanılarak belirlenmiştir. Bu reaksiyon, prolin amino asidinin ninhidrinle etkileşerek pembe (menekşe mor) renkte bir bileşik oluşturması prensibine dayanır. Prolin miktarının belirlenmesi için gereken ninhidrin reaktifi ile örneklerin ekstraksiyonu için kullanılan %3'lük sülfosalisilik asit önceden hazırlanarak, +4 °C'de dinlenmeye bırakılmıştır. Ninhidrin reaktifi, aşağıdaki kimyasalların hot plate üzerinde çözdürülmesi ile hazırlanmıştır;

Çizelge 3.2. Ninhidrin reaktifi bileşenleri ve miktarları.

Bileşenler	Miktar
Ninhidrin	1,25 gr
Asetik Asit	30 mL
Fosforik Asit	20 mL 6M

Prolin analizi için, -80 °C’de saklanan örneklerden 200 mg alınarak, 1,5 mL %3’lük sülfosalisilik asit ile homojenize edilmiştir. Daha sonra homojenize edilmiş örnekler, 2 mL’lik tüplere aktarılarak 5000 g ve 4 °C’ de 15 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüj sonrası oluşan 200 µL süpernatant, 2 mL’lik test tüplerine aktarılmıştır. 200 µL süpernatant, 400 µL ninhidrin reaktifi, 400 µL asetik asit ve 200 µL sülfosalisilik asit cam tüplere eklenip vorteks yardımıyla iyice karıştırılmıştır. Hazırlanan karışım, su banyosunda 100 °C’de 1 saat tutulmuştur.

Daha sonra, soğuyan örneklerin üzerine 2 mL toluen eklenerek vorteksde 20 saniye karıştırılmıştır. Cam tüplerdeki üst faz, cam küvete aktarıldıktan sonra 520 nm dalga boyunda spektrofotometrede (Perkin Elmer Lambda 25, USA) prolin miktarı ölçümü yapılmıştır. Prolin miktarının hesaplanmasında 0, 25, 50, 100, 200, 400, 800 ve 1000 µg prolin içeren standartlar kullanılmıştır.

3.2.5.7. Toplam çözünebilir protein (TCP) analizi

Shen vd. (2003) tarafından geliştirilen TCP analizi yöntemi, bazı modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirilmiştir. Toplam çözünebilir protein analizi için, ilk olarak 50 mL ekstraksiyon çözeltisi hazırlanmış ve pH değeri 2-Morfolinoetansülfonik asit monohidrat (MES) yardımıyla 7,8’e ayarlanmıştır. Ekstraksiyon çözeltisinin bileşenleri Çizelge 3.3’de belirtilmiştir.

Çizelge 3.3. Ekstraksiyon çözeltisinin bileşenleri ve miktarları.

Bileşenler	Miktar
25 mM Tris bazı	0,151 gr
275 mM Sukroz	4,705 gr
2 mM Etilen Diamin Tetra Asetik Asit (EDTA)	1 mL (0,1 M stok EDTA çözeltisinden)
10 mM 1,4 dithiothreitol (DTT)	0,0771 gr
0,5 mM Fenilmetilsülfonil florür (PMSF)	0,25 mL (0,1 M stok PMSF çözeltisinden)
%1 Polivinilprolidon (PVPP)	0,5 gr

~250 mg bitki materyali, 2 mL ekstraksiyon çözeltisiyle birlikte bir havana alınarak homojenize edilmiştir. Homojenize edilen örnekler, 10 dakika boyunca 4 °C’de 10.000 rpm’de santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra, üstte oluşan sıvı fazdan 5-10 µL alınarak TÇP miktarı, 595 nm dalga boyunda spektrofotometrede (Perkin Elmer Lambda 25, USA) Bradford’un (1976) önerdiği yöntemle göre belirlenmiştir. Standart olarak 0, 10, 20, 40 ve 80 µg/µL’lik Bovine Serum Albumin (BSA) çözeltileri kullanılmıştır.

3.2.5.8. SDS-PAGE (Sodyum Dodesilsülfat- Poliakrilamid Jel Elektroforezi) analizi

Yaprak dokularındaki protein profilleri SDS-PAGE yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Analizde her bir örnek 15 µg protein içerecek şekilde hesaplamalar yapılmıştır. Daha sonra örneklerin üzerine, 6X örnek yükleme tamponu (toplam hacmin 1/6’sı kadar) ilave edilmiştir. Kalan hacim her örnek için, ultra saf su ile tamamlanmıştır. Örnekler, 100°C’de 3 dk kaynatılarak proteinlerin denatüre olması sağlanmıştır. Hemen sonra, 5 dk boyunca buzda bekletilmiştir (Shen vd., 2003). SDS-PAGE analizinde, mini PROTEAN Tetra (Bio-Rad, Hercules, ABD) elektroforez sistemi kullanılmıştır. Yükleme kesikli jelde yapılmıştır. Bunun için %12,5’luk ayırma jeli (Çizelge 3.4) ve %4’lük yükleme jeli (Çizelge 3.5) kullanılmıştır. 0,75 mm olan jel kasetleri sayesinde istenilen jel kalınlığı elde edilmiştir.

Çizelge 3.4. % 12,5 ayırma jeli bileşenleri ve miktarları.

Bileşenler	Miktar
Saf su	1000 µL
1 M Tris-HCl pH 8,8	2200 µL
% 1 SDS	600 µL
%36 Akrlamid/Bis (29:1)	2100 µL
%3Amonyum persülfat	100 µL
TEMED	4 µL

Yukarıda verilen ayırma jeli bileşenleri karıştırıldıktan sonra her kasetin içerisine 3,5 mL mikro pipet aracılığıyla dökülmüştür. Jelde herhangi bir sızıntı olup olmadığı kontrol edilip, jelin havayla temasının kesilmesi için üzerine 200 µL saf su eklenerek jelin 40-45 dakika boyunca polimerleşmesi sağlanmıştır.

Çizelge 3.5. %4 yükleme jeli bileşenleri ve miktarları.

Bileşenler	Miktar
Saf su	1662 µL
1 M Tris-HCl pH 6,8	310 µL
%36 Akrilamid/Bis (29:1)	250 µL
% 3 Amonyum persülfat	25 µL
TEMED	4 µL

Polimerleşmiş ayırma jeli üzerindeki ultra saf su kaba filtre kâğıdı yardımıyla alındıktan sonra, yükleme jeli 1 mL olacak şekilde mikro pipet yardımıyla kasete dökülmüştür. Tarakların yerleştirilmesinin ardından 40-45 dk jelin polimerizasyonu için beklenmiştir. Daha sonra jel kasetler tank içerisine yerleştirilerek, elektroforez için hazır hale getirilmiştir. Hazırlanan Tris-Glisin-SDS çözeltisi (1L, 10X) kullanım esnasında 1X'e seyreltilmiştir. Elektroforezde kullanılacak olan yürütme tamponunun (Çizelge 3.6) hazırlanması için aşağıdaki kimyasallar kullanılmıştır;

Çizelge 3.6. Yürütme tamponu bileşenleri ve miktarları.

Bileşenler	Miktar
250 mM Tris bazı	30 gr
1,92 M Glisin	144 gr
% 0.5 SDS	5 gr

Oda sıcaklığında 250 V ve 40 mA'lık elektrik akımıyla örneklerin Bio-Rad PowerPac™ Basic güç kaynağı ile jelde yürütülmesi yaklaşık 1 saatin sonunda tamamlanmıştır. Jeldeki toplam protein bantlarının görüntülenmesi "Coomassie Brilliant Blue G-250" (1:4, metanol: boya solüsyonu) çözeltisi kullanılarak sağlanmıştır. Gece boyunca çalkalayıcı üzerinde 50 rpm devirde bırakılan jellerin boyanması sağlanmıştır. Koyu mavi renkle boyanmış jellerdeki fazla boyanın uzaklaştırılması için, jel örnekleri 3 kez saf su ile yıkanmış daha sonra %25'lik methanolde 5 dk bekletilmiştir. Ardından tekrar 3 kez saf su ile yıkama işlemi yapılmıştır. Daha sonra jel, protein bantları görüntüleme sistemine (Vilber, Quantum ST4 Gel Imaging System, Fransa) alınarak incelenmiştir. Elektroforez sırasında örneklerin molekül ağırlıklarını belirlemek için SDS-PAGE moleküler ağırlık standardı (BioRad, Precision Plus Protein Unstained Standart) kullanılmış ve bu sayede molekül ağırlıkları bilinen bantlar baz alınarak örneklere ait protein bantlarının molekül ağırlıkları hesaplanmıştır.

3.2.5.9. İmmünblot (Western Blot) analizi

Dehidrin proteinlerin western blot tekniği ile belirlenmesinde Arora ve Wisniewski (1994) tarafından geliştirilen yöntem, Ergin'in (2012) modifikasyonlarıyla kullanılmıştır. Toplam protein ekstraksiyonundan elde edilen örnekler SDS-PAGE'de yürütülmüştür. Elektroforez işlemi tamamlandıktan sonra, jeller kasetlerden çıkarılıp, blotlama aşamasına geçilmiştir. Bu aşamada, Bio-Rad Trans Blot® Turbo™ Transfer System blotlama ünitesi kullanılmıştır. Sandviç sistemini oluşturmak için membran ve filtre kâğıtları 4 °C'de 15 dk boyunca blotlama tamponu içerisinde bekletilerek ıslatılmışlardır (Çizelge 3.7). Ardından filtre kâğıdı- jel -membran- filtre kâğıdı şeklinde sandviç hazırlanıp, hava boşluğunun kalmaması için üzerinden bir silindirle hafif basınç uygulanarak geçilir ve kaset kapatılır. Blotlama ünitesine yerleştirilen kasetlere 25 V, 2,5 A'lık akım 30 dk boyunca uygulanarak proteinlerin nitroselüloz membranlara geçişi sağlanmıştır.

Çizelge 3.7. Transfer tamponu bileşenleri ve miktarları (1 L).

Bileşenler	Miktar
25 mM Tris baz	3,03 gr
192 mM Glisin	14,4 gr
%20 Metanol	200 mL

Membranlar, tris buffer saline (TBS) çözeltisinde (Çizelge 3.8) çözülen %5'lik yağsız süt tozu içerisinde gece boyunca yavaşça çalkalanmıştır, bu sayede membran ile antikor arasındaki non-spesifik etkileşimler engellenmiştir. Bu işlemin ardından membranlar, süt tozunun fazlasını gidermek için tris buffer saline tween-20 (TBST) çözeltisinde (Çizelge 3.9) 2'şer kez 2'şer dk çalkalanarak yıkanmıştır.

Çizelge 3.8. TBS çözeltisi bileşenleri ve miktarları (1 L).

Bileşenler	Miktar
Tris baz	6,05 gr
Sodyum klorür	8,76 g
pH	7,5

Çizelge 3.9. TBST çözeltisi bileşenleri ve miktarları (1 L).

Bileşenler	Miktar
Tris baz	6,05 gr
Sodyum klorür	8,76 g
% 0,1 Tween-20	100 µL
pH	7,5

Primer antikor için dehidrin antikor (rabbit), 1:1000 oranında seyreltilerek, %1 BSA içeren TBST’de çözünerek hazırlanmıştır. Daha sonra, oda sıcaklığında membranlar 1 saat inkübasyona bırakılmış ve çalkalayıcıda TBST ile 2 kez 10’ar dakikada yıkama işlemi yapılmıştır. Yıkama aşamasından sonra membranlar, sekonder antikor için Anti-dehidrin antikor (rabbit), 1:5000 oranında seyreltilerek, %1 BSA içeren TBST’de çözülürülerek oda sıcaklığında 1 saat inkübasyona bırakılmıştır. Membranlar, inkübasyon sürecinin tamamlanmasının ardından çalkalayıcı üzerinde TBST çözeltisinde 4 kez 10’ar dakika yıkanmıştır. Yıkama işleminden sonra membranlar, bantlar görünür hale gelinceye kadar (yaklaşık 15 dakika) membran substrat (alkalin fosfataz enzimi) içerisinde tutulmuştur. Daha sonra substrattan alınan membranlar saf su ile yıkanıp, kurutulmuştur. Membranlar değerlendirme aşamasına kadar saklanmıştır. Membranlar üzerinde ortaya çıkan bant görüntüleri (Vilber, Quantum ST4 Gel Imaging System, Fransa) yardımıyla dijital ortama aktarılmıştır. Uygulamalara göre farklılık gösteren protein bantlarının yoğunluğu (Image J) programı kullanılarak tespit edilmiştir.

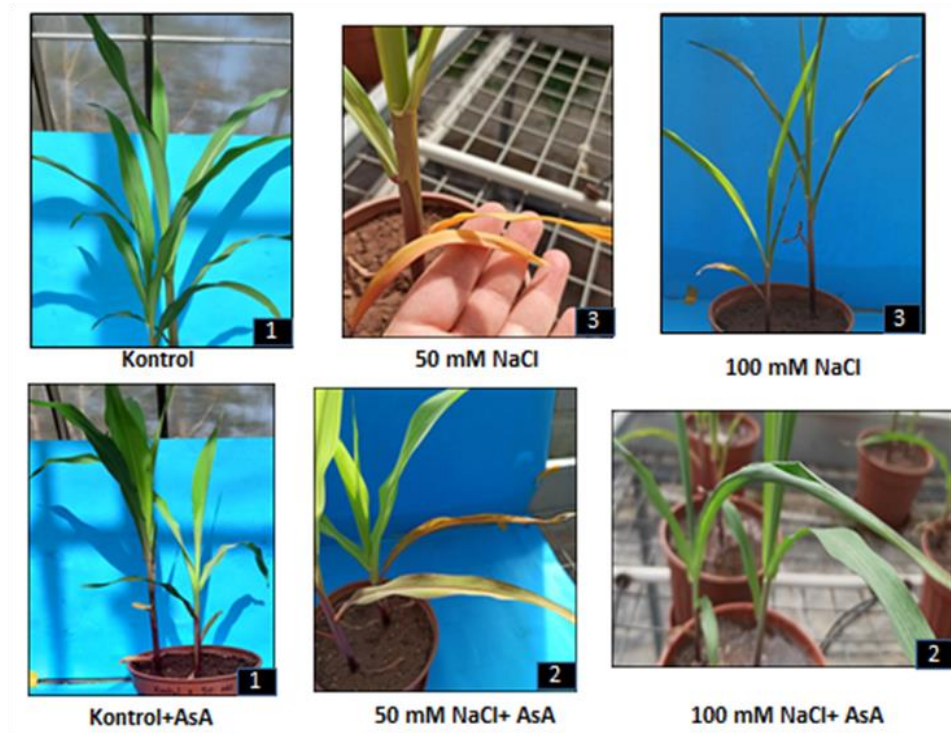
3.3. İstatiksel Analizler

Analiz sonuçları “SPSS Statistics 29.0.0” istatistik programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Uygulamalar arasındaki farklılık “Duncan” testi ile ifade edilmiştir.

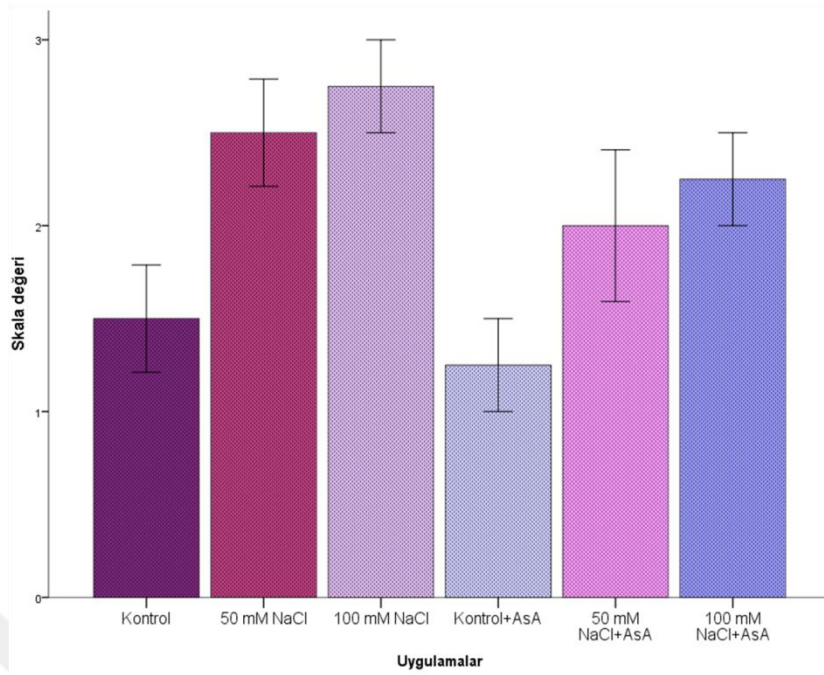
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Zararlanma Derecesi

ADA 9516 mısır çeşidinde 25 gün süreli tuz uygulaması sonunda AsA ile priming yapılan ve yapılmayan bitkilerde görülen morfolojik değişiklikler ve yapraklardaki zararlanmaların görseli Şekil 4.1'de, zararlanma skala değerleri ile ilgili veriler ise Şekil 4.2 ve Çizelge 4.1'de sunulmuştur. Kum ve toprak (1:1) ortamında yetiştirilen, tuz stresine maruz kalan bitkilerde en fazla zararlanma ortalama 2,75 skala değeri ile 100 mM NaCl uygulamasında görülmüştür. Bu uygulamayı 2,5 skala değeri ile aynı istatistiki grupta yer alan 50 mM NaCl uygulaması takip etmiştir. 100 mM NaCl+AsA ve 50 mM NaCl+AsA uygulamalarında ise skala değerleri sırasıyla 2,25 ve 2 olarak belirlenmiştir. En düşük skala değeri 1,25 ile kontrol+AsA uygulamasında tespit edilirken kontrol uygulamasında ise bu değer 1,5 olmuştur. Buna göre uygulamalar arasındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur (Ek Açıklama-A).



Şekil 4.1. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır bitkisinde ortaya çıkan bazı morfolojik değişiklikler.



Şekil 4.2. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır bitkisinde zararlanma skala değerleri.

Çizelge 4.1. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır fidelerinde ortaya çıkan zararlanma skala değerleri.

Uygulama	Skala Değeri (1-5)*
Kontrol	1,50 ^{bc}
50 mM NaCl	2,50 ^a
100 mM NaCl	2,75 ^a
Kontrol+AsA	1,25 ^c
50 mM NaCl+AsA	2,00 ^{abc}
100 mM NaCl+AsA	2,25 ^{ab}

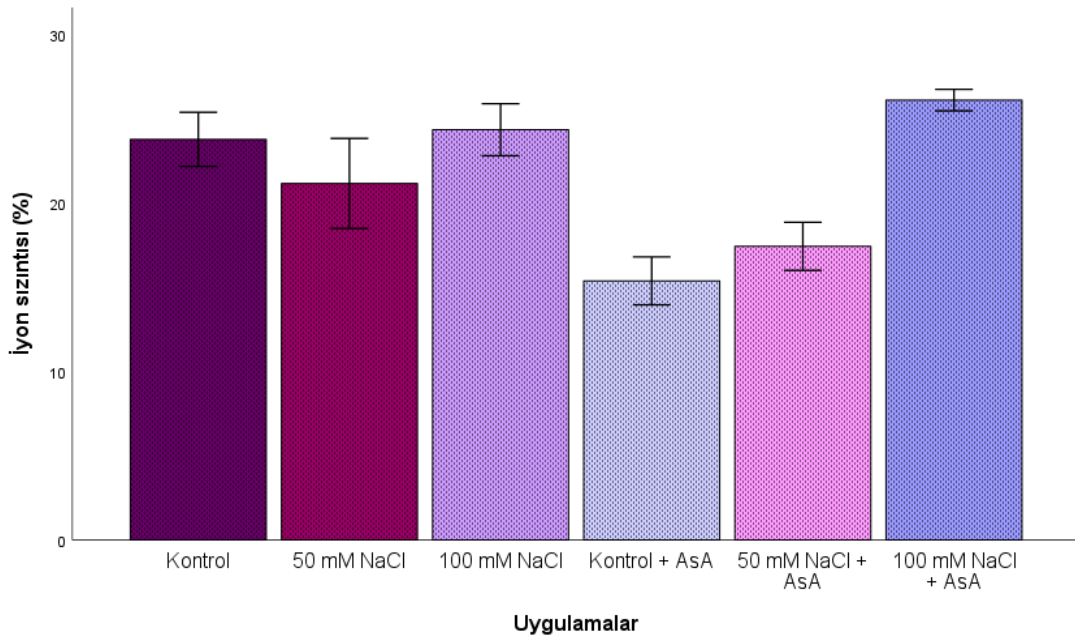
* 0,05 seviyesinde uygulamalar bakımından ortaya çıkan farklılıkları göstermektedir.

Turhan ve Eriş (2005) tarafından yapılan bir çalışma, çilek bitkilerinde tuz stresinin yaprak ve sürgünlerde nekroz (ölü doku) oluşumuna neden olduğunu ortaya koymuştur. Chunthaburee vd. (2016) tarafından yapılan bir çalışmada ise, tuz stresinin bitkilerin yapraklarında zararlanmaya neden olduğu ve toleranslı çeltik bitkileri de dahil olmak üzere çeşitlere bağlı olarak büyümenin azaldığı, yaprakların kuruduğu ve bazı bitkilerin öldüğü gözlemlenmiştir. Kusvuran vd. (2015) tarafından mısır çeşitlerinin stres tepkilerinin erken bitki gelişim aşamasında değerlendirildiği bir çalışmada; çeşitler tuz stresine karşı

toleransları bakımından büyük bir çeşitlilik göstermiştir. Yaprak semptomlarına dayalı görsel skala değerlendirildiğinde; taranan 20 çeşit arasında en toleranslı çeşitlerin yaprak hasar skorları 1,0 ila 1,67 arasında, tuz uygulamasından orta derecede etkilenmiş çeşitlerde bu skor 2,33 ile 3,67 arasında, hassas çeşitlerde ise 4 ile 5 arasında değişmiştir. Araştırmacılar yaprak hasar skoru 1 ve 2 olan çeşitlerin, yaprak belirti skoru 3, 4 ve 5 olan çeşitlere göre daha iyi çalışan Na dışlama mekanizmalarına sahip olabileceğine dikkat çekmişlerdir. Bu tez çalışmasında, 50 mM NaCl ve 100 mM NaCl uygulamalarının büyümeyi yavaşlattığı ve bitkilerin ilk yapraklarında hafif ve orta düzeyde sararmaya sebep olup bazı yapraklarda kıvrımlara rastlandığı, diğer uygulamalarda bu duruma rastlanmadığı tespit edilmiştir. Diğer taraftan 50 mM NaCl+AsA ve 100 mM NaCl+AsA uygulamalarının yapıldığı bitkilerin yapraklarında kıvrımlar meydana gelmiştir. Kısa süreli tuz uygulamalarında, bitkilerin tuz stresine karşı belirli bir tolerans geliştirdiği, bitkilerde şiddetli ve ölümcül zararlanmalara neden olmadığı, tuz+AsA uygulamalarının ortaya çıkan hafif ve orta dereceli zararlanmalara karşı sınırlı bir koruma sağlayabildiği gözlemlenmiştir.

4.2. İyon Sızıntısı

Tuz stresi ve AsA uygulamalarına bağlı olarak mısır fidelerinin yapraklarında iyon sızıntısı oranlarındaki değişimler Şekil 4.3 ve Çizelge 4.2’de gösterilmiştir. Sonuçlar en düşük iyon sızıntısı değerinin % 15,37 ile kontrol + AsA uygulamasında olduğunu bu uygulamayı ise % 17,41 ile 50 mM NaCl+AsA ve % 21,14 ile 50 mM NaCl uygulamasının takip ettiğini göstermiştir. İyon sızıntısı oranlarının, aynı istatistiki grupta yer alan 100 mM NaCl + AsA, 100 mM NaCl ve kontrol uygulamalarında ise sırasıyla % 26,09, % 24,33 ve % 23,76 ile en yüksek değerlerde olduğu tespit edilmiştir. Buna göre uygulamalar arasındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur (Ek Açıklama-B).



Şekil 4.3. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır fidelerinin yaprak iyon sızıntısı oranlarındaki değişim. Dikey barlar tekerrürlerin \pm SS' larını göstermektedir.

Çizelge 4.2. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır fidelerinin yaprak iyon sızıntısı oranlarındaki değişim.

Uygulama	İyon Sızıntısı (%)*
Kontrol	23,76 ^a
50 mM NaCl	21,14 ^{ab}
100 mM NaCl	24,33 ^a
Kontrol+AsA	15,37 ^c
50 mM NaCl+AsA	17,41 ^{bc}
100 mM NaCl+AsA	26,09 ^a

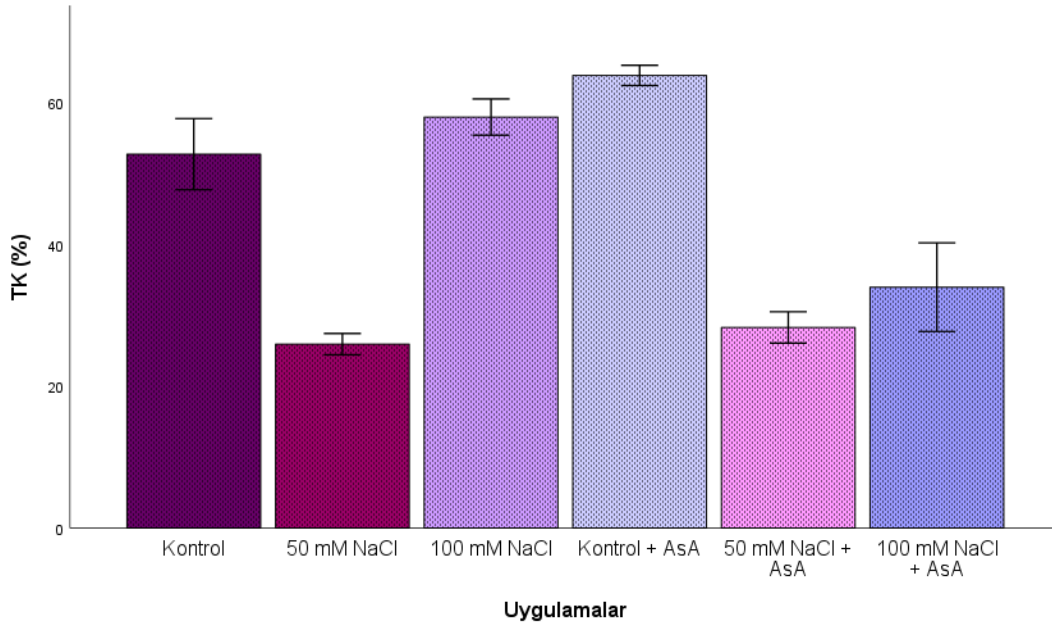
* 0,05 seviyesinde uygulamalar bakımından ortaya çıkan farklılıkları göstermektedir.

İyon sızıntısı, çeşitli türler, hücre tipleri ve dokular arasında sıkça gözlemlenen bir olgudur ve patojen saldırıları da dahil olmak üzere çeşitli stres faktörlerinden etkilenebilmektedir (Demidchik vd., 2014). Aydoğan vd. (2023) tarafından yapılan çalışmada, tuz stresi altında iyon sızıntısı değerlerinin arttığı, ancak yapraktan uygulanan AsA'nın bu zararlı etkileri hafiflettiği belirtilmiştir. Bu tez çalışmasında elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde; tuz stresi ve AsA uygulamalarına bağlı olarak en düşük iyon

sızıntısı değerinin kontrol+AsA uygulamasında gözlenmesi, 50 mM NaCl uygulamasında % 21,14 olan iyon sızıntısı değerinin 50 mM NaCl +AsA uygulamasında % 17,41'e düşmesi, AsA'nın tuzun zararlı etkisini giderici bir rolü olduğunu göstermiştir. 100 mM NaCl uygulamasında %24,33 olan iyon sızıntısı oranının 100 mM NaCl+AsA uygulamasında daha da arttığı belirlenmiştir. Bu durum AsA'nın 100 mM NaCl uygulamasında tuzun iyon sızıntısını düşürmede etkili olmadığını ortaya çıkarmıştır.

4.3. Turgor kaybı (TK)

Tuz stresi ve AsA uygulamalarına bağlı olarak mısır fidelerinin yapraklarındaki TK değerlerindeki değişimleri Şekil 4.4 ve Çizelge 4.3'de verilmiştir. Sonuçlar TK (%) değerlerinin, aynı istatistiki grupta yer alan 50 mM NaCl, 50 mM NaCl+AsA ve 100 mM NaCl+AsA uygulamalarında sırasıyla % 25,93, % 28,28 ve % 33,96 ile en düşük değerlerde olduğunu göstermiştir. Turgor kaybı oranlarının, yine aynı istatistiki grupta yer alan kontrol, 100 mM NaCl ve kontrol+AsA uygulamalarında sırasıyla % 52,71, % 57,93 ve % 63,82 ile en yüksek değerlerde olduğu tespit edilmiştir. Buna göre uygulamalar arasındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmamıştır (Ek Açıklama-C).



Şekil 4.4. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır fidelerinin yaprak TK oranlarındaki değişim. Dikey barlar tekerrürlerin \pm SS' larını göstermektedir.

Çizelge 4.3. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır fidelerinin yaprak TK oranlarındaki değişim.

Uygulama	TK (%)*
Kontrol	52,71 ^a
50 mM NaCl	25,93 ^b
100 mM NaCl	57,93 ^a
Kontrol+AsA	63,82 ^a
50 mM NaCl+AsA	28,28 ^b
100 mM NaCl+AsA	33,96 ^b

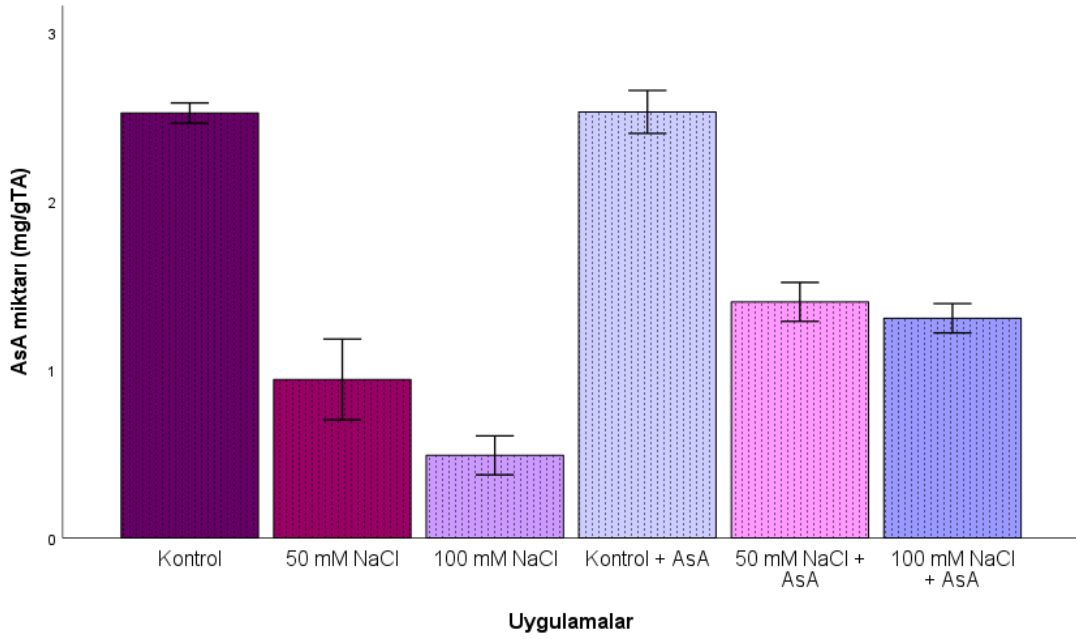
* 0,05 seviyesinde uygulamalar bakımından ortaya çıkan farklılıkları göstermektedir.

Hücrenin, düşük su potansiyeli koşullarında turgor basıncını sürdürebilme kabiliyeti, stres durumlarına yanıt olarak osmotik potansiyeli azaltan osmolit birikimi ile artar (Freitas vd., 2019). Tuzluluk, bitkiler için bir osmotik stres kaynağıdır ve hücrelerin turgorunu azaltarak bitki büyümesini engeller (Shabala ve Shabala, 2011).

Priming yoluyla AsA uygulamasının stres koşulları altında, transpirasyonu azalttığı ve turgoru koruduğu bildirilmiştir (Hasan vd., 2018). Kapoor vd. (2020) yaptıkları çalışmada, kuraklık koşulları altında turgor kaybının, kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Bu tez çalışmasının sonuçları incelendiğinde; en düşük TK değerleri, 50 mM NaCl, 50 mM NaCl+AsA ve 100 mM NaCl+AsA uygulamalarında elde edilmiştir. Kontrol, 100 mM NaCl ve kontrol+AsA uygulamalarının en yüksek TK değerine sahip olduğu gözlemlenmiştir. Buna göre, AsA uygulamaları, mısır bitkilerinin yapraklarında su tutma kapasitesini artırarak tuz stresine tolerans sağlamada etkili olabilir.

4.4. Askorbik asit (AsA) miktarı

Tuz stresi ve AsA uygulamalarına bağılı olarak mısır fidelerinin yapraklarındaki AsA miktarlarındaki değişimler Şekil 4.5 ve Çizelge 4.4'de verilmiştir. Sonuçlar en düşük AsA (mg/gTA) miktarının 0,49 mg/gTA ile 100 mM NaCl uygulamasında olduğunu, bu uygulamayı 0,94 mg/gTA ile 50 mM NaCl uygulamasının takip ettiğini göstermiştir. Askorbik asit miktarının, 100 mM NaCl+AsA ve 50 mM NaCl+AsA uygulamalarında sırasıyla 1,30 mg/gTA ve 1,40 mg/gTA olduğu ve aynı istatistiki grupta yer alan kontrol ve kontrol+AsA uygulamalarında ise sırasıyla 2,52 mg/gTA ve 2,53 mg/gTA ile en yüksek değerlerde olduğu tespit edilmiştir. Buna göre uygulamalar arasındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur (Ek Açıklama-D).



Şekil 4.5. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır fidelerinin yaprak AsA miktarındaki değişim. Dikey barlar tekerrürlerin \pm SS' larını göstermektedir.

Çizelge 4.4. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır fidelerinin yaprak AsA miktarındaki değişim.

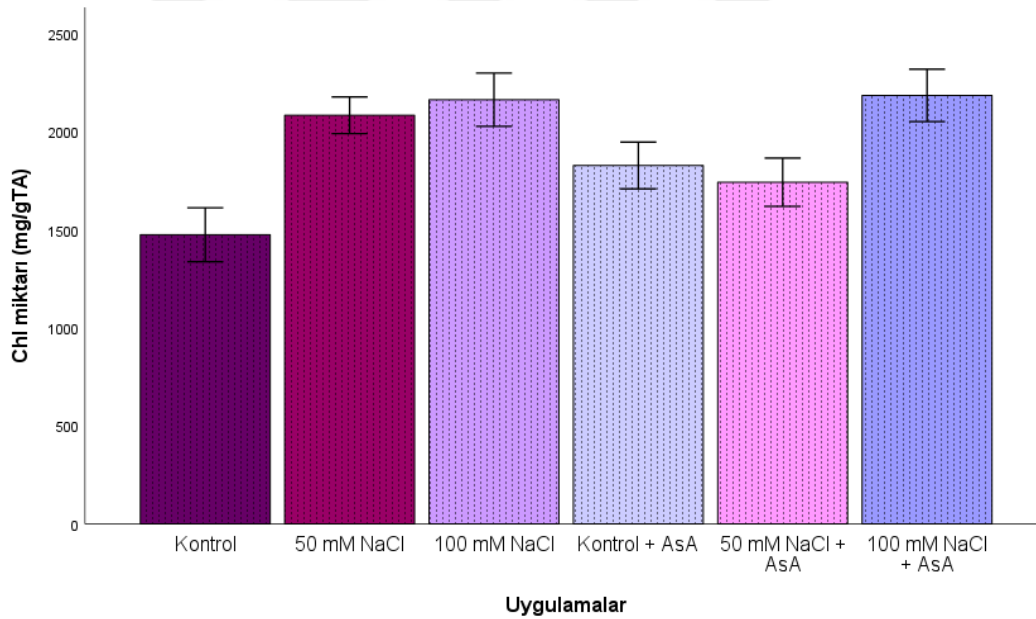
Uygulama	AsA miktarı (mg/gTA)*
Kontrol	2,52 ^a
50 mM NaCl	0,94 ^c
100 mM NaCl	0,49 ^d
Kontrol+AsA	2,53 ^a
50 mM NaCl+AsA	1,40 ^b
100 mM NaCl+AsA	1,30 ^{bc}

* 0,05 seviyesinde uygulamalar bakımından ortaya çıkan farklılıkları göstermektedir.

Tuz stresi koşullarında bazı bitki türlerinin yaprak dokularında AsA birikiminin meydana geldiği ve bu bileşiğin tuz toleransının sağlanmasında önemli bir role sahip olduğu bildirilmiştir (Irfan vd., 2019). Baig vd. (2021), tuz stresi altında Punjab-2011 buğday çeşidinin tuzluluğa daha az toleranslı olduğunu fakat 150 mg/L AsA'nın priming yoluyla uygulanmasıyla tuz stresini önemli ölçüde azalttığını bildirmişlerdir. Ghoohestani vd. (2012) domates tohumlarında tuz stresinin olumsuz etkilerine karşı 150 mg/L AsA uygulamasının en etkili korumayı sağladığını rapor etmişlerdir. Bu tez çalışmasında, en yüksek AsA miktarları kontrol ve kontrol+AsA uygulamalarında görülmüştür. Buna karşılık en düşük AsA miktarının 100 mM NaCl uygulamasında tespit edilmesi yüksek tuz konsantrasyonlarında bitkilerin AsA üretimini olumsuz etkilediğini göstermektedir. Ayrıca, 100 mM NaCl+AsA ve 50 mM NaCl+AsA uygulamalarında AsA miktarının arttığı gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar, sadece tuz stresi uygulanan bitkilerle karşılaştırıldığında; 50 mM AsA'nın tuz stresi koşullarında iyileştirici bir etki yaptığı gözlemlenmiştir.

4.5. Toplam Klorofil (Chl) Miktarı

Tuz stresi ve AsA uygulamalarına bağı olarak mısır fidelerinin yapraklarındaki Chl miktarlarındaki değişimler Şekil 4.6 ve Çizelge 4.5’de verilmiştir. Sonuçlar en düşük klorofil (mg/gTA) miktarının 1473 mg/gTA ile kontrol uygulamasında olduğunu bu uygulamayı ise 1740 mg/gTA ile 50 mM NaCl+AsA, 1826 mg/gTA ile kontrol + AsA ve 2082 mg/gTA ile 50 mM NaCl uygulamasının takip ettiğini göstermiştir. Klorofil miktarının, aynı istatistiki grupta yer alan 100 mM NaCl ve 100 mM NaCl+AsA uygulamalarında ise sırasıyla 2161 mg/gTA ve 2183 mg/gTA ile en yüksek değerlerde olduğu tespit edilmiştir. Buna göre uygulamalar arasındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur (Ek Açıklama-E).



Şekil 4.6. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır fidelerinin Chl miktarındaki değişim. Dikey barlar tekerrürlerin \pm SS’ larını göstermektedir.

Çizelge 4.5. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır fidelerinin yaprak Chl miktarındaki değişim.

Uygulama	Chl miktarı (mg/gTA)*
Kontrol	1473 ^c
50 mM NaCl	2082 ^{ab}
100 mM NaCl	2161 ^a
Kontrol+AsA	1826 ^{abc}
50 mM NaCl+AsA	1740 ^{bc}
100 mM NaCl+AsA	2183 ^a

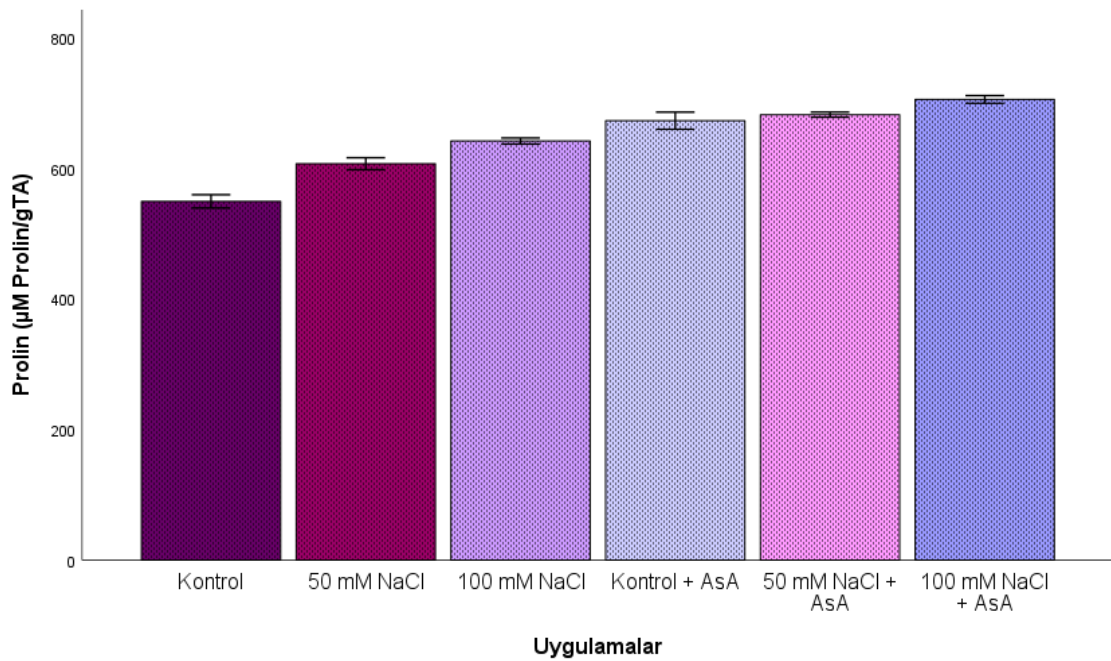
* 0,05 seviyesinde uygulamalar bakımından ortaya çıkan farklılıkları göstermektedir.

Düşük tuz seviyeleri klorofil içeriğini artırırken, yüksek tuz düzeyleri klorofillerin moleküler yapısını bozmaktadır (Ashraf, 2004). Siddiqui vd. (2018), AsA uygulamalarının bitkilerde klorofil sentezini artırabileceğini belirtmişlerdir. Bezelyede farklı tuz uygulamalarının özellikle 25 mM NaCl konsantrasyonunda klorofil birikimi açısından kontrol grubuna göre daha olumlu sonuçlar verdiği rapor edilmiştir (Acar vd., 2011).

Yapılan bu çalışmada, en düşük Chl miktarı kontrol uygulamasında görülmüştür. En yüksek Chl miktarı ise 100 mM NaCl ve 100 mM NaCl+AsA uygulamalarında tespit edilmiştir. Diğer uygulamalarda da (50 mM NaCl, 50 mM NaCl+AsA ve kontrol+AsA) görülen Chl miktarındaki artış, hem yüksek tuz konsantrasyonlarının hem de AsA ile priming uygulamalarının, Chl üretiminde artışlara neden olduğunu göstermektedir.

4.6. Prolin miktarı

Tuz stresi ve AsA uygulamalarına bağlı olarak mısır fidelerinin yapraklarındaki prolin miktarlarındaki değişimler Şekil 4.7 ve Çizelge 4.6'da verilmiştir. Sonuçlar en düşük prolin miktarının 549 $\mu\text{M/gTA}$ ile kontrol uygulamasında olduğunu göstermiştir. Bu uygulamayı ise 607 $\mu\text{M/gTA}$ ile 50 mM NaCl, 641 $\mu\text{M/gTA}$ ile 100 mM NaCl, 672 $\mu\text{M/gTA}$ ile kontrol+AsA ve 681 $\mu\text{M/gTA}$ ile 50 mM NaCl+AsA uygulaması takip etmiştir. Prolin miktarının, 100 mM NaCl+AsA uygulamasında ise 705 $\mu\text{M/gTA}$ ile en yüksek değerde olduğu tespit edilmiştir. Buna göre uygulamalar arasındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur (Ek Açıklama-F).



Şekil 4.7. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır fidelerinin yaprak prolin miktarındaki değişim. Dikey barlar tekerrürlerin \pm SS' larını göstermektedir.

Çizelge 4.6. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır fidelerinin yaprak prolin miktarındaki değişim.

Uygulama	Prolin miktarı (µM prolin/gTA)*
Kontrol	549 ^e
50 mM NaCl	607 ^d
100 mM NaCl	641 ^c
Kontrol+AsA	672 ^b
50 mM NaCl+AsA	681 ^{ab}
100 mM NaCl+AsA	705 ^a

* 0,05 seviyesinde uygulamalar bakımından ortaya çıkan farklılıkları göstermektedir.

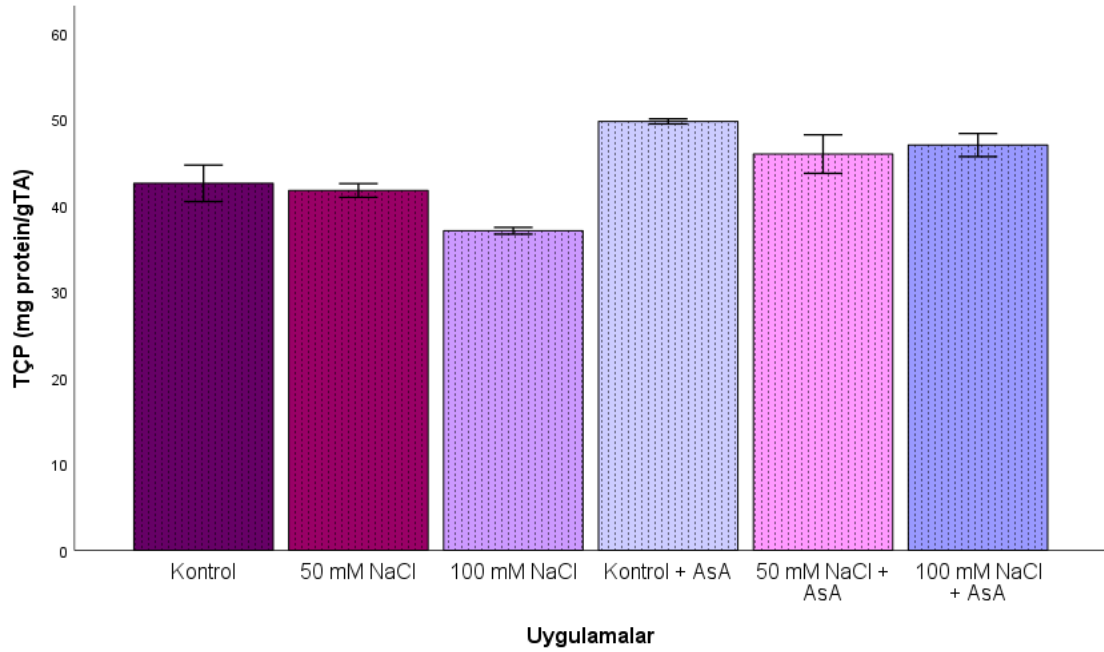
Tuzlu koşullarda, prolin içeriği artar. Bu artış, tuzluluk stresinin olumsuz etkilerini gidermede ve bitki büyümesini iyileştirmede önemli bir yol oynar (Nathalie ve Christian, 2008). Prolin, çeşitli önemli işlevlere sahip olan bir bileşiktir. Bu işlevler arasında ozmotik basıncın düzenlenmesi, zar bütünlüğünün korunması, enzim/protein dengesinin sağlanması, NADP⁺/NADPH oranının korunması ve serbest radikallerin temizlenmesi yer

alır (Misra ve Saxena, 2009). Dar vd. (2016), bitki stres toleransı ile prolin birikimi arasında pozitif bir ilişki olduğunu ifade etmektedirler. Ayrıca, strese toleranslı birçok bitki çeşidinde, hassas çeşitlere kıyasla daha yüksek seviyelerde prolin birikimi gözlemlendiği bildirilmektedir (Kılıç, 2020).

Molazem ve Bashirzadeh (2015) yaptıkları çalışmada, farklı mısır çeşitlerinin tuz stresi altında farklı şekillerde prolin birikimi gösterdiğini gözlemlemişlerdir. K3615.1 çeşidi, 50 ve 100 mM NaCl konsantrasyonlarında önemli derecede prolin biriktirmeyenken, K3653.2 çeşidinin yüksek tuz konsantrasyonlarında prolin birikiminde azalma gösterdiğini ve diğer çeşitlerin ise tuz uygulamalarıyla yüksek miktarda prolin birikimi gösterdiklerini bildirmişlerdir. Das vd. (2015) tuz stresi altında farklı buğday genotiplerinde, prolin miktarının arttığını rapor etmişlerdir. Turhan (2002) ise çilek bitkisinde tuz uygulamaları sonucu tespit edilen prolin akümüülasyonunun tuza toleransın bir göstergesi olduğuna dikkat çekmekle birlikte, yüksek tuz konsantrasyonlarında ki zararlanma ile paralel olarak ortaya çıkan prolin artışının bitkideki tuz zararı ile bir ilişkisinin olabileceğini bildirmiştir. Bu tez çalışmasında, en yüksek prolin miktarı, 100 mM NaCl+AsA ve 50 mM NaCl+AsA uygulamalarında tespit edilmiştir. Bu sonuç, AsA uygulamasının tuz stresine karşı bir koruma sağladığını, prolin birikimini artırarak bitkilerin stres tepkisini olumlu yönde etkileyebileceğini düşündürmektedir. Hem yüksek tuz konsantrasyonunun hem de AsA'nın bitkilerin prolin birikimini artırdığı belirlenmiştir. Bu durum, bitkilerin en yoğun stres koşullarında bile adaptasyon mekanizmalarını devreye sokarak prolin üretebildiğini ve AsA ile priming uygulamalarının tuz stresinin negatif etkilerini hafifletmeye yardımcı olabileceğini düşündürmekle birlikte bu konuda daha ayrıntılı çalışmaların yapılması gerekmektedir.

4.7. Toplam çözünebilir protein (TÇP) miktarı

Tuz stresi ve AsA uygulamalarına bağlı olarak mısır fidelerinin yapraklarındaki TÇP miktarındaki değişimler Şekil 4.8 ve Çizelge 4.7’de verilmiştir. Sonuçlar en düşük TÇP (mg protein/gTA) miktarının 37,06 mg protein/gTA ile 100 mM NaCl uygulamasında olduğunu, bu uygulamayı ise 41,73 mg protein/gTA ile 50 mM NaCl, 42,56 mg protein/gTA ile kontrol, 45,95 mg protein/gTA ile 50 mM NaCl+AsA ve 47,00 mg protein/gTA ile 100 mM NaCl+AsA uygulamasının takip ettiğini göstermiştir. Toplam çözünebilir protein miktarının, kontrol+AsA uygulamasında ise 49,74 mg protein/gTA ile en yüksek değerde olduğu tespit edilmiştir. Buna göre uygulamalar arasındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur (Ek Açıklama-G).



Şekil 4.8. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır fidelerinin yaprak TÇP miktarındaki değişim. Dikey barlar tekerrürlerin \pm SS’ larını göstermektedir.

Çizelge 4.7. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır fidelerinin yaprak TÇP miktarındaki değişim.

Uygulama	TÇP miktarı (mg protein/gTA)*
Kontrol	42,56 ^{bc}
50 mM NaCl	41,73 ^c
100 mM NaCl	37,06 ^d
Kontrol+AsA	49,74 ^a
50 mM NaCl+AsA	45,95 ^{abc}
100 mM NaCl+AsA	47,00 ^{ab}

* 0,05 seviyesinde uygulamalar bakımından ortaya çıkan farklılıkları göstermektedir.

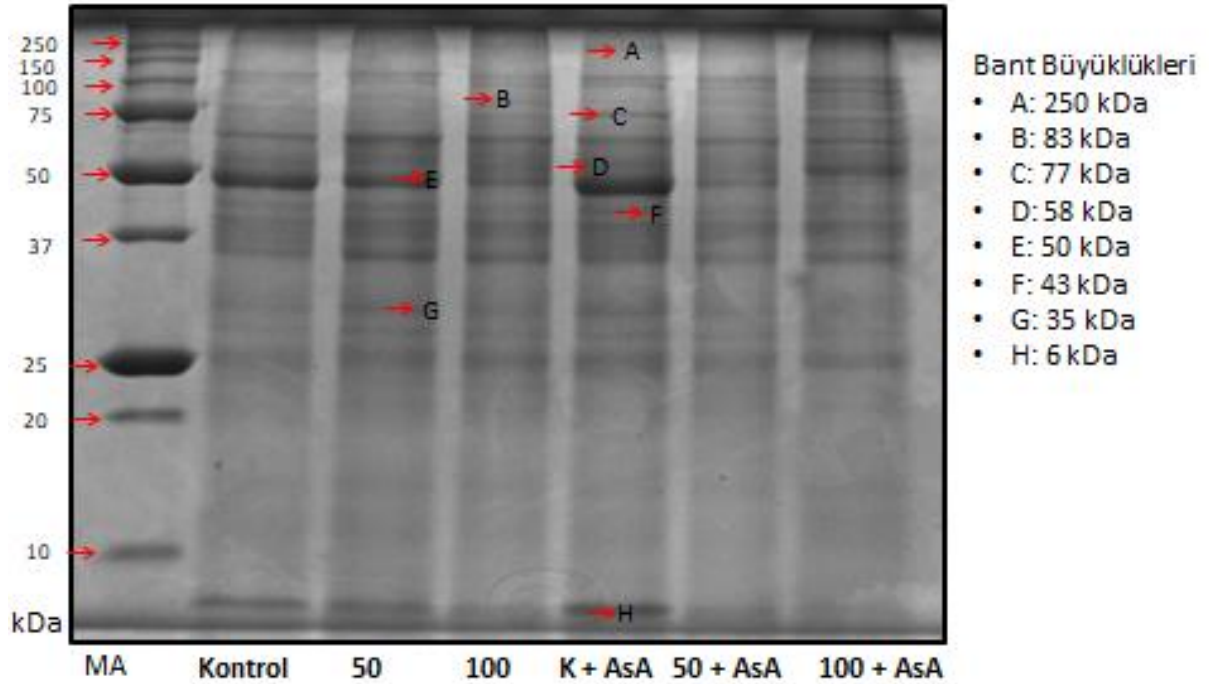
Tuzluluk bitkilerde protein modeli üzerinde çift yönlü bir etkiye sahiptir. Tuzlu ortamlarda, toplam protein miktarı azalırken (Delgado vd., 1993), tuzluluğun etkisini tolere etmek için gerekli olan özel proteinlerinde sentezi artar (Chen ve Plant, 1999). Yapılan çalışmalarda arpa, çeltik ve ayçiçeği gibi bitkilerin tuza toleranslı genotiplerinde, çözünebilir protein içeriğinin daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir (Parvaiz ve Satyawati, 2008).

Arefian vd. (2014) nohutta yaptıkları çalışmada, yapraktaki TÇP miktarının tuza toleranslı türlerde önemli artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada ise, en düşük TÇP miktarı, 100 mM NaCl uygulamasında gözlemlenmiştir. Bu durum, yüksek tuz konsantrasyonlarının bitkilerde protein üretimini olumsuz etkilediğini göstermektedir. En yüksek TÇP miktarı ise kontrol+AsA uygulamasında tespit edilmiştir. AsA uygulaması ile TÇP miktarının artması, AsA ile priming uygulamalarının bitkilerde stresle mücadelede katkı sağlayabileceğini göstermiştir.

4.8. SDS-PAGE

Tuz stresi ve AsA uygulamalarına bağlı olarak mısır fidelerinin yapraklarındaki toplam protein profillerinde 250 kDa ile 6 kDa arası değişen birçok bant Şekil 4.9'da gösterilmiştir. Bu bantlardan 250 kDa büyüklüğündeki bant, sadece kontrol+AsA uygulamasında gözlemlenmiştir. 83 kDa büyüklüğündeki diğer bir bant, tuz stresi koşullarında tüm uygulamalarda ortaya çıkarken, sadece kontrol ve kontrol+AsA

uygulamalarında kaybolmuştur. Bantlardan 77 kDa büyüklüğündeki protein bandı, sadece kontrol+AsA uygulamasında görülürken, 58 kDa büyüklüğündeki bant ise yalnızca kontrol+AsA ve 100 mM NaCl+AsA uygulamalarında ortaya çıkmıştır. 50 kDa büyüklüğünde başka bir protein bandı, 100 mM NaCl+AsA uygulaması dışındaki tüm uygulamalarda görülmüştür. Büyüklüğü 43 kDa olan bir diğer protein bandı 50 mM NaCl+AsA uygulamasında ortadan kaybolurken diğer tüm uygulamalarda görülmüştür. 35 kDa büyüklüğündeki bant, 50 mM NaCl, 100 mM NaCl ve kontrol+AsA uygulamalarında daha yoğun gözlemlenirken, kontrol ve 50 mM NaCl+AsA uygulamalarında bu bandın yoğunluğu azalmıştır. Aynı bant 100 mM NaCl+AsA uygulamasında ise görülmemiştir. Kontrol+AsA uygulamasında yoğun olarak tespit edilen 6 kDa büyüklüğündeki protein bandının diğer uygulamalarda yoğunluğunun azaldığı tespit edilmiştir.



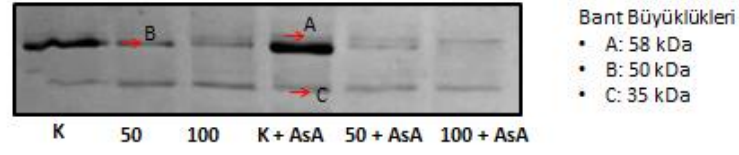
Şekil 4.9. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır fidelerinin yapraklarındaki toplam protein profilleri (MA: Moleküler Ağırlık Standardı, kDa: Kilodalton)

SDS PAGE yöntemi, bitki koleksiyonlarının genetik yapısını tanımlamada yaygın bir şekilde kullanılan bir biyokimyasal tekniktir (Babaoğlu vd., 2004). SDS-PAGE, proteinlerin boyut ve miktarlarını analiz etmek için kolay uygulanabilir olması ve geçerli sonuçlar elde etmesi sebebiyle sıkça kullanılan bir laboratuvar yöntemidir (Laemmli, 1970). Bitkilerde tuz ile indüklenen birçok protein tanımlanmıştır (Mansour, 2000). Tamas vd. (2001) tarafından yapılan bir çalışmada, tuz stresine maruz bırakılan mısır köklerinde 29, 39, 51 ve 61 kDa büyüklüğünde 4 farklı protein bandı tespit edilmiştir. Rodolph (2022) yaptığı çalışmada, kuraklık stresine maruz kalan mısır bitkilerinde, SDS-PAGE analizi sonuçlarına göre, 22 kDa ila 227 kDa arasında değişen protein bantlarının olduğunu belirtmiştir. Ayrıca, AsA, sukroz (Suc) ve AsA+Suc kombinasyonunun, AKM4 (kuraklığa toleranslı) bitkilerinde kuraklık stresi altında ve normal koşullarda önceden gözlemlenmeyen 73 kDa ve 82 kDa büyüklüğündeki bantların ortaya çıkmasına neden olduğunu belirlemiştir. Bununla birlikte, AsA uygulamasının AKM4 bitkilerinde bazı protein bantlarında artışa yol açtığını, ancak AsA, Suc veya AsA+Suc uygulamalarının AKM83 (kuraklığa hassas) bitkilerinde böyle bir artışa neden olmadığını rapor etmiştir.

Yapılan bu çalışmada, 58 kDa büyüklüğündeki protein bandının sadece kontrol+AsA ve 100 mM NaCl+AsA uygulamalarında gözlemlenmesi, hem tuz stresi hem de AsA'nın etkisiyle bu bandın ortaya çıktığını düşündürmektedir. Tuz stresi ve AsA ile priming uygulamaları bazı proteinlerin varlığının ortaya çıkmasını tetiklerken, bazı proteinlerde de kayıplara neden olmuştur. Bu uygulamaların farklı büyüklüklerdeki protein bantlarının varlığı ve yoğunluğu üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir.

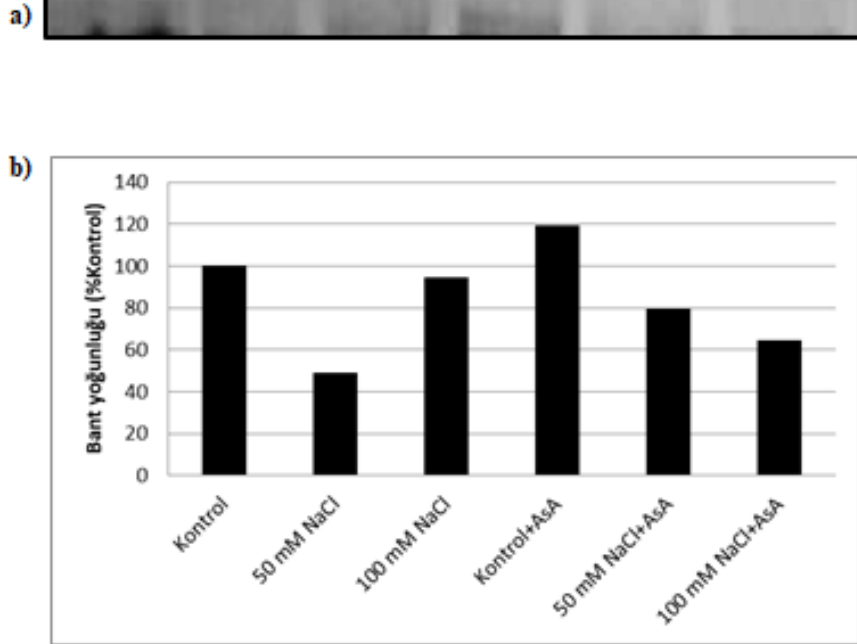
4.9. İmmunblot (Western Blot)

İmmunblot analizleri sonucunda, kullanılan dehidrin antikoru ile mısır fidelerinin yaprak dokularında tuz stresi uygulamalarına bağlı olarak belirlenen 58, 50 ve 35 kDa büyüklüğündeki üç DHN'nin durumu Şekil 4.10'da gösterilmiştir.



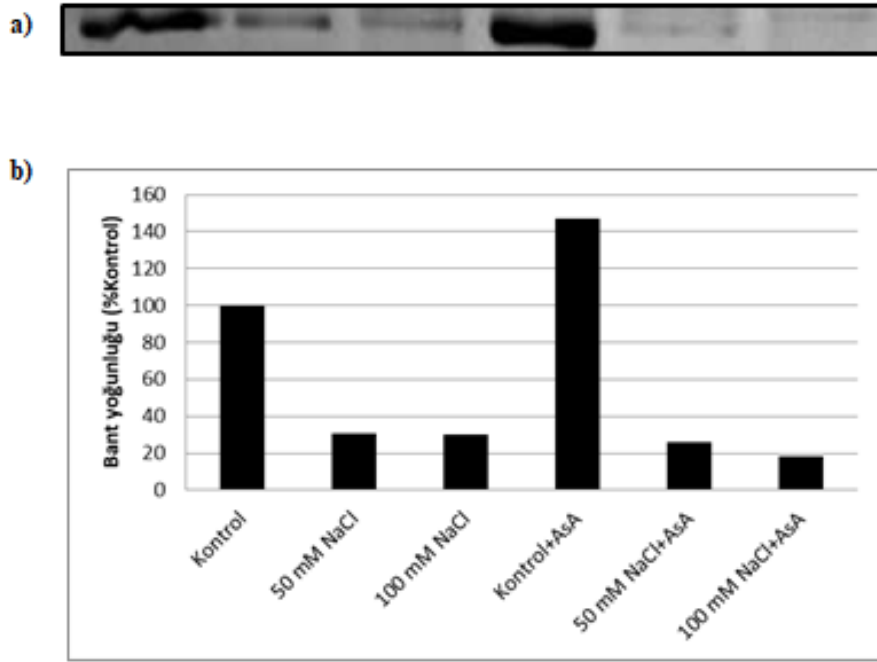
Şekil 4.10. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır fidelerinin yapraklarında belirlenen dehidrin grubu protein bantları (58, 50, 35 kDa).

Ortaya çıkan bantlar yoğunluklarına göre değerlendirildiğinde, 58 kDa büyüklüğündeki dehidrin proteininin birikimi Şekil 4.11’de gösterilmiştir. Buna göre, 58 kDa’luk dehidrin proteininin kontrole göre kontrol+AsA uygulamasında en yüksek seviyeye ulaştığı, 100 mM NaCl, 50 mM NaCl+AsA ve 100 mM NaCl+AsA uygulamalarının ise kontrole oranla daha düşük yoğunlukta olduğu gözlenmiştir. En düşük yoğunluğun 50 mM NaCl uygulamasında olduğu tespit edilmiştir.



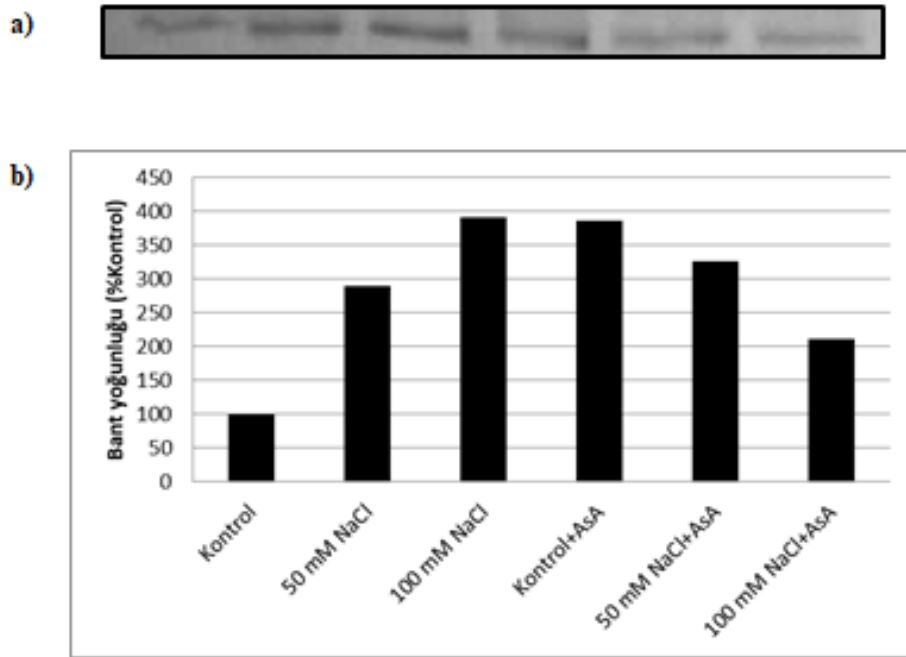
Şekil 4.11. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır fidelerinin yapraklarındaki (a) 58 kDa DHN proteininin görünümü (b) 58 kDa DHN proteinin bant yoğunluğu.

Tuz stresi ve AsA uygulamalarına bağı olarak yoğunlukları değişen, 50 kDa büyüklüğündeki dehidrin proteininin birikimi Şekil 4.12’de gösterilmiştir. Bu bağlamda, 50 kDa’luk dehidrin proteini kontrol uygulamasına göre kontrol+AsA uygulamasında çok yoğun bir şekilde gözlemlenirken, 50 mM NaCl ve 100 mM NaCl uygulamalarında kontrolden daha düşük yoğunlukta olduğu gözlemlenmiştir. En düşük yoğunluğun ise 50 mM NaCl+AsA ve 100 mM NaCl+AsA uygulamalarında olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.12. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır fidelerinin yapraklarındaki (a) 50 kDa DHN proteininin görünümü (b) 50 kDa DHN proteininin bant yoğunluğu.

Tuz stresi ve AsA uygulamalarına bağı olarak yoğunlukları değişen, 35 kDa büyüklüğündeki dehidrin proteininin birikimi Şekil 4.13’de gösterilmiştir. Bu bağlamda, 35 kDa’luk dehidrin proteini kontrol uygulamasına göre 100 mM NaCl uygulamasında çok yoğun bir şekilde gözlemlenirken, 50 mM NaCl uygulamasında daha düşük yoğunlukta, diğer uygulamalarda ise dereceli bir şekilde azalma ile daha düşük yoğunlukta bantlar olduğu gözlemlenmiştir. En düşük yoğunluğun ise kontrol uygulamasında olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.13. Askorbik asit ile tohum priming uygulaması yapılarak 25 gün NaCl uygulamasına maruz bırakılan mısır fidelerinin yapraklarındaki (a) 35 kDa DHN proteininin görünümü (b) 35 kDa DHN proteinin bant yoğunluğu.

Proteinlerin immünolojik olarak tespiti için yaygın olarak kullanılan Western blot tekniği, büyük ölçüde tercih edilen bir yöntemdir (Kim, 2017). Dehidrinlerin molekül ağırlıkları büyük ölçüde değişkenlik gösterir, en küçüğü Labhilili vd. (1995) çalışmasında 9,6 kDa olarak rapor edilirken, en büyüğü Kim vd. (2012) araştırmasında 70 kDa olarak belirtilmiştir. *Chenopodium quinoa* cv. Hualhuas bitkileri altı hafta boyunca farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilmiştir (0, 100, 300, 500 mM NaCl). İmmunblot analizlerinden sonra, bu bitkilerden elde edilen tohumlarda 55, 50, 34 ve 30 kDa boyutlarında dört yeni DHN bandı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, farklı tuz konsantrasyonlarının dehidrin üretimini etkilediğini göstermektedir (Burrieza vd., 2012). Aydoğan (2020) tarafından yapılan çalışmada, 3 farklı büyüklüğe sahip dehidrin proteininin (yaklaşık 73, 45 ve 35 kDa) varlığı tespit edilmiş ve bu dehidrin proteinlerinin bitkilerin stres toleransında etkili olduğu rapor edilmiştir. Bu tez çalışmasında, DHN proteininin kontrole göre diğer uygulamalarda yoğunluğunun artıp/azalması strese karşı savunmada etkinliğinin çok fazla ön plana çıkamadığı gözlemlenmiştir. 58 ve 50 kDa'luk proteinlerde kontrol+AsA uygulamasının en yüksek yoğunlukta olması AsA'nın tuz stresi altında dehidrin proteinlerine olumlu etkilerinin olabileceğini düşündürmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tuz stresi, bitkilerin büyümesini ve verimini olumsuz etkileyen önemli bir faktördür. Özellikle mısır bitkisi, tuz stresine karşı orta düzeyde hassas bir bitki türüdür. Mısır bitkisi, tuz stresine karşı bazı savunma mekanizmaları geliştirir, ancak aşırı tuz stresi durumunda bu mekanizmalar yetersiz kalabilir. Bu çalışmada araştırılan mısır çeşidinde (ADA 9516) tuz stresinin sebep olduğu zararlanma ve fizyolojik değişimler zararlanma derecesi, iyon sızıntısı, TK, AsA miktarı, Chl miktarı ve prolin miktarı parametreleri ile tespit edilmiştir. Ayrıca tuz stresi ve AsA uygulamalarına bağlı olarak TÇP, SDS-PAGE ve DHN antikoru kullanılarak dehidrin proteinlerindeki değişim belirlenmiştir.

Mısır bitkisinde tuz stresine toleransta AsA uygulamalarının etkisi aşağıda özet olarak belirtilmiştir:

- Zararlanma skalası değerlerine göre, en fazla hasar 50 mM ve 100 mM NaCl uygulamalarında görülmüştür. Askorbik asit uygulamasının her iki tuz konsantrasyonunda da yaprak kıvrılması dışındaki hasarları iyileştirdiği tespit edilmiştir.
- Mısır yaprak dokularındaki iyon sızıntısı oranının hem kontrol hem de 50 mM NaCl uygulamasında azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca 100 mM NaCl+AsA uygulamasının TK'yı önemli ölçüde azalttığı tespit edilmiştir.
- Askorbik asit miktarının AsA uygulaması ile tüm uygulama grubu için artış gösterdiği saptanmıştır. Tuz stresinin Chl miktarında artışa neden olduğu bu artışın AsA uygulaması ile 50 mM NaCl+AsA uygulamasında 50 mM NaCl uygulaması ile kıyaslandığında önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir.
- Mısır yaprak dokularında prolin miktarının hem tuz stresi uygulamaları hem de NaCl+AsA uygulamaları ile arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca tuz stresiyile birlikte verilen AsA uygulamaları TÇP içeriğinde belirgin bir artış sağlamıştır. Protein profilleri incelendiğinde; 6-250 kDa arasında değişen yeni sentezlenen protein

bantlarının varlığı, tuz stresinin bazı protein bantlarının kaybına sebep olduğu saptanmıştır. En yoğun protein bandının kontrol+AsA uygulamasında 50 kDa büyüklüğünde olduğu belirlenmiştir.

- İmmunblot analizi sonuçları ile tuz stresi ve AsA uygulamaları sonucunda oluşan spesifik proteinler tespit edilmiştir. ADA 9516 çeşidinde 3 farklı DHN proteini (58, 50 ve 35 kDa) birikimi gözlemlenmiştir. Bu proteinlerin tuza toleransta etkili olabileceği belirlenmiştir.

Sonuç olarak, tuz stresi koşullarında AsA ile priming uygulamasının bu çalışmada kullanılan ADA 9516 mısır çeşidinde, AsA, TK, iyon sızıntısı, Chl, prolin ve TÇP parametrelerine bakıldığında 50 mM NaCl+AsA ve 100 mM NaCl+AsA (iyon sızıntısı hariç) uygulamalarında tuz toleransı sağladığı belirlenmiştir. Tuz stresi mısır bitkisi için önemli bir stres faktörüdür. Bu stresle başa çıkabilmek için bitkilerin çeşitli adaptasyon mekanizmaları geliştirdiği görülmektedir. Bu nedenle, tuz stresiyle mücadele eden bitkiler için uygun yönetim stratejileri benimsenmesi büyük önem taşımaktadır. Bu bağlamda, AsA uygulamasının mısır bitkilerinde priming yoluyla uygulanmasının tuz stresi koşullarında stresin zararlı etkilerini gidermede etkili olabileceği söylenebilir. Bundan sonraki çalışmalarda farklı konsantrasyon, daha fazla çeşit ve farklı vejetasyon dönemlerinde daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır. Bu bilgiler, mısır üreticilerinin tuzlu toprak koşullarında başarılı bir şekilde yetiştirilebilecek uygun mısır çeşitlerini seçmelerine yardımcı olup, ıslah programlarına katkı sağlayabilir. Ayrıca, gelecekte AsA'nın koruyucu mekanizmalarının gen düzeyinde araştırılacağı çalışmalarda yapılmalıdır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abdelgawad, H., Zinta, G., Hegab, M. M., Pandey, R., Asard, H., & Abuelsoud, W. (2016). *High Salinity Induces Different Oxidative Stress and Antioxidant Responses in Maize Seedlings Organs*. *Frontiers in plant science*, 7, 276.
- Acar, R., Yorgancılar, M., Atalay, E., & Yaman, C. (2011). *Farklı tuz uygulamalarının bezelyede (Pisum sativum L.) bağıl su içeriği, klorofil ve bitki gelişimine etkisi*. *Selçuk Tarım Bilimleri Dergisi*, 25 (3), 42-46.
- Acosta-Motos, J. R., Ortuño, M. F., Bernal-Vicente, A., Diaz-Vivancos, P., Sanchez-Blanco, M. J., & Hernandez, J. A. (2017). *Plant responses to salt stress: Adaptive mechanisms*. *Agronomy*, 7(1), 18.
- Afzal, I., Basra, S. M., Farooq, M., & Nawaz, A. (2006). *Alleviation of salinity stress in spring wheat by hormonal priming with ABA, salicylic acid and ascorbic acid*. *International Journal of Agricultural Biology*, 8(1), 23-28.
- Afzal, M., Hindawi, S. E. S., Alghamdi, S. S., Migdadi, H. H., Khan, M. A., Hasnain, M. U., Arslan, M., Rahman, M. H., Sohaib, M. (2023). *Potential Breeding Strategies for Improving Salt Tolerance in Crop Plants*. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42(3), 3365-3387.
- Arefian, M., Vessal, S. & Bagheri, A. (2014). *Biochemical Changes and SDS-PAGE Analyses of Chickpea (Cicer arietinum L.) Genotypes in Response to Salinity During the Early Stages of Seedling Growth*. *Journal of Biological and Environmental Sciences*, 8 (23), 0-0.
- Arefian, M., & Shafaroudi, S. M. (2015). *Physiological and gene expression analysis of extreme chickpea (Cicer arietinum L.) genotypes in response to salinity stress*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 37, 193.
- Arora, R., Pitchay, D. S., & Bearce, B. C. (1998). *Water-stress-induced heat tolerance in geranium leaf tissues: A possible linkage through stress proteins?* *Physiologia Plantarum*, 103(1), 24–34.
- Arora, R., & Wisniewski, M. E. (1994). *Cold acclimation in genetically related (sibling) deciduous and evergreen peach (Prunus persica [L.] Batsch) (II. A 60-kilodalton bark protein in cold-acclimated tissues of peach is heat stable and related to the dehydrin family of proteins)*. *Plant Physiology*, 105(1), 95-101.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Ashraf, M. (2002). *Salt tolerance of cotton: some new advances*. Critical Rev. in Plant Sci. 21, 1-30.
- Ashraf, M. (2004). *Some important physiological selection criteria for salt tolerance in plants*. Flora, 199, 361-376.
- Ashraf, M., & Foolad, M. A. (2007). *Improving plant abiotic-stress resistance by exogenous application of osmoprotectants glycine betaine and proline*. Environmental and Experimental Botany, 59, 206–216.
- Ashraf, M., & Rauf, H. (2001). *Inducing salt tolerance in maize (Zea mays L.) through seed priming with chloride salts: Growth and ion transport at early growth stages*. Acta Physiologiae Plantarum, 23(4), 407–414.
- Aydoğan, Ç. (2020). *Patates (Solanumtuberosum L.) Çeşitlerinde Tuz Stresi ve Rhizoctonia solani Kühn İnteraksiyonunun Moleküler Düzeyde İncelenmesi*. Doktora Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, 270 s.
- Aydoğan, Ç., Girici, Z., & Turhan, E. (2023). *Exogenous application of ascorbic acid to induce tolerance against salt stress in common bean plants*. Romanian Agricultural Research, 40, 1-14.
- Azeem, M. A., Ali, F., Ullah, A., Iqbal, M., Ali, K., Al Farraj, D. A., Elshikh, M. S., Naz, Q., Munis, M. F. H., & Chaudhary, H. J. (2023). *Exploration of plant growth promoting traits and regulatory mechanisms of Bacillus anthracis PM21 in enhancing salt stress tolerance in maize*. Environmental Science and Pollution Research International, 30(31), 77499-77516.
- Azevedo Neto, A.D., Prisco, J.T., Enéas-Filho, J., de Abreu, C.E.B., & Gomes-Filho, E. (2006). *Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes*. Environmental and Experimental Botany, 56(1), 87-94.
- Babaoğlu, S., Açıık, L., Çelebi, A., & Adıgüzel, N. (2004). *Molecular analysis of Turkish Alyssum L. (Brassicaceae) species by RAPD-PCR and SDS-PAGE methods*. Gazi University Journal of Science, 17(3), 25-33.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Baig, Z., Khan, N., Sahar, S., Sattar, S., & Zehra, R. (2021). *Effects of seed priming with ascorbic acid to mitigate salinity stress on three wheat (Triticum aestivum L.) cultivars*. *Acta Ecologica Sinica*, 41(5), 491–498.
- Bastam, N., Baninasab, B., & Ghobadi, C. (2013). *Interactive effects of ascorbic acid and salinity stress on the growth and photosynthetic capacity of pistachio (Pistacia veraL.) seedlings*. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 88(5), 610–616.
- 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.
- Beltagi, S.B. (2008). *Exogenous ascorbic acid (vitamin C) induced anabolic changes for salt tolerance in chickpea (Cicer arietinum L.) plants*. *African Journal of Plant Science*, 2, 118-123.
- Bradford, M. M. (1976). *A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding*. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
- Braunworth, J. R. W. S., & Mack, H. J. (1989). *Crop-Water Production for Sweet Corn*. *Journal of American Society of Horticultural Science*, 114(2), 210-215.
- Burrieza, H. P., Koyro, H. W., Tosar, L. M., Kobayashi, K., & Maldonado, S. (2012). *High salinity induces dehydrin accumulation in Chenopodium quinoa Willd. cv. Hualhuas embryos*. *Plant and Soil*, 354(1-2), 69-79.
- Chen, C. C., & Plant, A. L. (1999). *Salt-induced protein synthesis in tomato roots: the role of ABA*. *Journal of Experimental Botany*, 50, 677-687.
- Chunthaburee, S., Dongsansuk, A., Sanitchon, J., Pattanagul, W., & Theerakulpisut, P. (2016). *Physiological and biochemical parameters for evaluation and clustering of rice cultivars differing in salt tolerance at seedling stage*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 23(4), 467-477.
- Close, T.J. (1997). *Dehydrins: A commonalty in the response of plants to dehydration and low temperature*. *Physiologia Plantarum*, 100(2), 291-296.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Dar, M. I., Naikoo, M. I., Rehman, F., Naushin, F., & Khan, F. A. (2016). *Proline accumulation in plants: roles in stress tolerance and plant development*. In *Osmolytes and plants acclimation to changing environment: emerging omics technologies* Springer, New Delhi, India. 155–166.
- Das, T., Mandavia, M. K., & Mandavia, C. K. (2015). *Alterations in biochemical responses and antioxidant enzymes in wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes under NaCl salinity stress*. *Indian Journal of Agricultural Biochemistry*, 28(1), 57-60.
- Delgado, M., Garrido, J., Ligeró, F., & Lluch, C. (1993). *Nitrogen fixation and carbon metabolism by nodules and bacteroids of pea plants under sodium chloride stress*. *Physiologia Plantarum*, 89, 824-829.
- Demidchik, V., Straltsova, D., Medvedev, S. S., Pozhvanov, G. A., Sokolik, A., & Yurin, V. (2014). *Stress-induced electrolyte leakage: the role of K⁺-permeable channels and involvement in programmed cell death and metabolic adjustment*. *Journal of Experimental Botany*, 65(5), 1259-1270.
- Doğru, A. & Torlak, E. (2020). *Tuz Stresi Altındaki Mısır Bitkilerinde Eksojen Askorbik Asit Uygulamasının Etkileri*. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, Cilt:30 Sayı: Ek sayı, 919-927.
- Doğru, A. (2014). *Farklı mısır genotiplerinde tuz stresinin antioksidant sistem üzerindeki etkileri*. 22. Ulusal Biyoloji Kongresi 2014, Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir, 430.
- Ergin, S. (2012). *Yüksek sıcaklık stresinin çilek bitkisinde enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar ile protein metabolizmasına etkileri*. Doktora Tezi, Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa, 92 s.
- FAO. (2021). Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics Division. Access: <https://www.fao.org/statistics/en/> (Accessed: April 2023).
- Farooq, Bukhari, Akram, Ashraf, Wijaya, Alyemeni, & Ahmad. (2020). *Exogenously Applied Ascorbic Acid-Mediated Changes in Osmoprotection and Oxidative Defense System Enhanced Water Stress Tolerance in Different Cultivars of Safflower (*Carthamus tinctorious* L.)*. *Plants*, 9(1), 104.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Farooq, M., Aziz, T., Hussain, M., Rehman, H., Jabran, K., & Khan, M. B. (2008). *Glycinebetaine improves chilling tolerance in hybrid maize*. Journal of Agronomy and Crop Science, 194, 152–160.
- Farooq, M., Irfan, M., Aziz, T., Ahmad, I., & Cheema, S. A. (2012). *Seed Priming with Ascorbic Acid Improves Drought Resistance of Wheat*. Journal of Agronomy and Crop Science, 199(1), 12–22.
- Flowers, T. J., & Colmer, T. D. (2015). *Plant salt tolerance: adaptations in halophytes*. Annals of Botany, 115, 327–331.
- Freitas, P. A. F., de Carvalho, H. H., Costa, J. H., de Souza Miranda, R., da Cruz Saraiva, K. D., de Oliveira, F. D. B., Coelho, D. G., Prisco, J. T., & Gomes-Filho, E. (2019). *Salt acclimation in sorghum plants by exogenous proline: physiological and biochemical changes and regulation of proline metabolism*. Plant Cell Rep, 38, 403–416.
- Gémes, K., Poór, P., Horváth, E., Kolbert, Z., Szopkó, D., Szepesi, Á., & Tari, I. (2011). *Cross-talk between salicylic acid and NaCl-generated reactive oxygen species and nitric oxide in tomato during acclimation to high salinity*. Physiologia Plantarum, 142(2), 179–192.
- Ghoohestani, A., Gheisary, H., Zahedi, S. and Dolatkhahi, A. (2012) *Effect of seed priming of tomato with salicylic acid, ascorbic acid and hydrogen peroxide on germination and plantlet growth in saline conditions*. International Journal of Agronomy Plant Production. 3,700-704.
- Graether, S. P., & Boddington, K. F. (2014). *Disorder and function: A review of the dehydrin protein family*. Frontiers in Plant Science, 5, 576, 1-12.
- Grewal, H. S. (2010). *Water uptake, water use efficiency, plant growth and ionic balance of wheat, barley, canola and chickpea plants on a sodic vertosol with variable subsoil NaCl salinity*. Agricultural Water Management, 97, 148–156.
- Groß, F., Durner, J., & Gaupels, F. (2013). *Nitric oxide, antioxidants and prooxidants in plant defence responses*. Frontiers in Plant Science, 4, 419.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Hamada, A. M. (1998). *Effect of exogenously added ascorbic acid, thiamine or aspirin on photosynthesis and some related activities of drought-stressed wheat plants*. In: Proceedings of XIth International Photosynthesis Conference. Budapest, Hungary, August, pp. 17-22.
- Hamama, H., & Murniati, E. (2010). *The Effect of Ascorbic Acid Treatment on Viability and Vigor Maize (Zea mays L.) Seedling under Drought Stress*. Hayati Journal of Biosciences, 17(3), 105–109.
- Hao, S., Wang, Y., Yan, Y., Liu, Y., Wang, J., & Chen, S. (2021). *A review on plant responses to salt stress and their mechanisms of salt resistance*. Horticulturae, 7(6), 132.
- Hasan, M.A., Al-Taweel, S.K., Alamrani, H.A., Al-Naqeeb, M.A., Al-Baldawwi, M.H.K., & Hamza, J.H. (2018). *Anatomical and Physiological Traits of Broad Bean (Vicia faba L.) Seedling Affected by Salicylic Acid and Salt Stress*. Indian Journal of Agricultural Research, 52(3), 368–373.
- Hasegawa, P. M., Bressan, R. A., Zhu, J. K., & Bohnert, H. J. (2000). *Plant cellular and molecular responses to high salinity*. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 51(1), 463-499.
- Irfan, M., Nabeela, Ilyas, M., & Rahman, K. U. (2019). *Effects of ascorbic acid against salt stress on the morphological and physiological parameters of Solanum melongana (L.)*. Pure Applied Biology, 8, 1425-1443.
- Kapoor, D., Bhardwaj, S., Landi, M., Sharma, A., Ramakrishnan, M., & Sharma, A. (2020). *The Impact of Drought in Plant Metabolism: How to Exploit Tolerance Mechanisms to Increase Crop Production*. Applied Sciences, 10(16), 5692.
- Khan, A., Ahmad, M. S. A., Athar, R. E., & Ashraf, M. (2006). *Interactive effect of foliarly applied ascorbic acid and salt stress on wheat (Triticum aestivum L.) at the seedling state*. Pakistan Journal of Botany, 38, 1407-1414.
- Khan, M. I. R., Asgher, M., & Khan, N. A. (2014). *Alleviation of salt-induced photosynthesis and growth inhibition by salicylic acid involves glycinebetaine and ethylene in mungbean (Vigna radiata L.)*. Plant Physiology and Biochemistry, 80, 67-74.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Khataei Khosroushahi, F. (2014). *Mısırın (Zea mays L.) Tuza Hassas ve Dirençli Varyetelerinde Östrojen Uygulaması ile Alternatif Solunum Yolunun Uyarılması ve Tuz Stresine Toleransının Artırılması*. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 115 s.
- Kılıç, B. (2020). *Prolin ön uygulamasının kuraklık stresi koşullarındaki karaçam tohumlarının çimlenmesi üzerine etkilerinin araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Artvin Çoruh Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, 72 s.
- Kırtok, Y. (1998). *Mısır Üretimi ve Kullanımı*. Kocaelik Basım ve Yayınevi.
- Kim, B. (2017). *Western blot techniques*. In *Molecular Profiling*. Humana Press, New York, 133-139.
- Kim, E. C., Lee, H. S., & Choi, D. W. (2012). *Sequence variability and expression pattern of the dehydrin gene family in Populus alba × P. tremula var. Glandulosa*. *Plant Omics Journal*, 2, 122-127.
- Kosová, K., Prášil, I. T., & Vítámvás, P. (2010). *Role of Dehydrins in Plant Stress Response*. In M. Pessarakli (Ed.), *Handbook of Plant and Crop Stress* (pp. 239-285). Boca Raton, FL, USA: CRC Press, Taylor and Francis.
- Krasensky, J., & Jonak, C. (2012). *Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks*. *Journal of Experimental Botany*, 63(4), 1593-1608.
- Kumar, D., & Jhariya, N. A. (2013). *Nutritional, medicinal and economical importance of corn: A mini review*. *Research Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2, 7-8.
- Kusvuran, A., Kiran, S. U., Nazli, R. I., & Kusvuran, S. (2015). *Morphological response and ion regulation in maize (Zea mays L.) varieties under salt stress*. *Fresenius Environmental Bulletin*, 24(1), 124-131.
- Kuşvuran, S. (2010). *Kavunlarda Kuraklık ve Tuzluluğa Toleransın Fizyolojik Mekanizmaları Arasındaki Bağlantılar*. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Adana.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Labhilili, M., Joudrier, P., & Gautier, M. F. (1995). *Characterization of cDNAs encoding Triticum durum dehydrins and their expression patterns in cultivars that differ in drought tolerance*. *Plant Science*, 112, 219–230.
- Laemmli, U.K. (1970) *Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4*. *Nature*, 227, 680-685.
- Liang, W., Ma, X., Wan, P., & Liu, L. (2018). *Plant salt-tolerance mechanism: A review*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 495(1), 286-291.
- Linnaeus, C. (1753). *Species Plantarum* (Vol. 1). London: pp. 392.
- Ma, L., Liu, X., Lv, W., & Yang, Y. (2022). *Molecular Mechanisms of Plant Responses to Salt Stress*. *Frontiers in Plant Science*, 13, 934877.
- Mansour, M. M. F. (2000). *Nitrogen containing compounds and adaptation of plants to salinity stress*. *Biologia Plantarum*, 43, 491–500.
- Maršálová, L., Vítámvás, P., Hynek, R., Prášil, I. T., & Kosová, K. (2016). *Proteomic response of Hordeum vulgare cv. Tadmor and Hordeum marinum to salinity stress: Similarities and differences between a glycophyte and a halophyte*. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1154.
- Misra, N., & Saxena, P. (2009). *Effect of salicylic acid on proline metabolism in lentil grown under salinity stress*. *Plant Science*, 177(3), 181–189.
- Molazem, D., and Bashirzadeh, A. (2015). *Impact of salinity stress on proline reaction, peroxide activity, and antioxidant enzymes in maize (Zea mays L.)*. *Polish J. Environ. Stud.* 24, 597–603.
- Moran, R., & Porath, D. (1980). *Chlorophyll determination in intact tissues using N,N-dimethylformamide*. *Plant Physiology*, 65(3), 478–479.
- Munns, R. (2005). *Genes and salt tolerance: Bringing them together*. *New Phytologist*, 167(3), 645-663.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Munns, R. (2007). *Utilising genetic resources to enhance productivity of salt-prone land*. CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources, 2(9).
- Munns, R., & Tester, M. (2008). *Mechanisms of salinity tolerance*. Annual Review of Plant Biology, 59, 651-681.
- Nathalie, V. ve Christian, H. (2008). *Proline Accumulation in Plants: A Review*. Amino Acids, 35(4), 753–759.
- Parida, A. K., & Das, A. B. (2005). *Salt tolerance and salinity effects on plants: A review*. Ecotoxicology and Environmental Safety, 60, 324-349.
- Parvaiz, A., & Satyawati, S. (2008). *Salt stress and phyto-biochemical responses of plants- A review*. Plant Soil Environment, 54(3), 89-99.
- Rana, V., Ram, S., & Nehra, K. (2017). *Review proline biosynthesis and its role in abiotic stress*. International Journal of Agricultural Innovation Research, 6, 2319-2473.
- Riley, A. C., Ashlock, D. A., & Graether, S. P. (2019). *Evolution of the modular, disordered stress proteins known as dehydrins*. PLOS ONE, 14(2), e0211813.
- Rodolph, T. T. (2022). *Investigation of Changes in Metabolism of Maize (Zea mays L.) Plant with Ascorbic Acid and Sucrose Treatments at Molecular Level under Drought Stress*. Master's thesis, Eskişehir Osmangazi University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Eskişehir, 63 p.
- Rorat, T. (2006). *Plant dehydrins tissue location, structure and function*. Cell and Molecular Biology Letters, 11:536-556.
- Rorat, T., Grygorowicz, W., & Irzykowski, P. R. (2004). *Expression of KS-type Dehydrins is primarily regulated by factors related to organ type and leaf development stage during vegetative growth*. Planta, 218, 878-885.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Schöner, S., & Krause, G. H. (1990). *Protective systems against active oxygen species in spinach: Response to cold acclimations in excess light*. *Planta*, 180, 383-389.
- Scott, M. P., & Emery, M. (2016). *Maize: Overview*. Reference Module in Food Science. Elsevier.
- Shabala, S., & Shabala, L. (2011). *Ion transport and osmotic adjustment in plants and bacteria*. *BioMolecular Concepts*, 2, 407-419.
- Shahbaz, M., Ashraf, M., Akram, N. A., Hanif, A., Hameed, S., Joham, S., & Rehman, R. (2011). *Salt-induced modulation in growth, photosynthetic capacity, proline content and ion accumulation in sunflower (Helianthus annuus L.)*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33, 1113-1122.
- Shannon, M. C. (1997). *Adaptation of Plants to Salinity*. *Advances in Agronomy*, 60, 75-120.
- Sharma, P., & Dubey, R. S. (2007). *Involvement of oxidative stress and role of antioxidative defense system in growing rice seedlings exposed to toxic concentrations of aluminum*. *Plant Cell Reports*, 26, 2027–2038.
- Shen, S., Jing, Y., Kuang, T., (2003). *Proteomics approach to identify wound-response related proteins from rice leaf sheath*, *Proteomics*, 3(4):527-535.
- Siddiqui, M. H., Alamri, S. A., Al-Khaishany, Y. Y., Al-Qutami, M. A., & Ali, H. M. (2018). *Ascorbic acid application improves salinity stress tolerance in wheat*. *Chiang Mai Journal of Science*, 45, 1-11.
- Smith, B. D. (1995). *The Emergence of Agriculture*. *Scientific American*, 273(2), 52-59.
- Suzuki, N., Rivero, R. M., Shulaev, V., Blumwald, E., & Mittler, R. (2014). *Abiotic and biotic stress combinations*. *New Phytologist*, 203(1), 32-43.
- Svensson, J., İsmail, A. M., Palva, E. T., & Close, T. J. (2002). *Dehydrins: Sensing, Signalling and Cell Adaptation*. In Storey, K. B., & Storey, J. M. (Eds.), *Comparative Physiology: A Functional Perspective* (pp. 155-171).

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Szabados, L., & Savouré, A. (2010). *Proline: A multifunctional amino acid*. Trends in Plant Science, 15, 89–97.
- Tamas, L., Huttova, J., & Mistrik, I. (2001). *Impact of aluminium, NaCl and growth retardant tetcyclacis on growth and protein composition of maize roots*. Biologia, 56, 441-448.
- Tanur, M. & Yorgancılar, M. (2020). *Tuz Stresine Maruz Bırakılan Kanola (Brassica napus L.)’da Priming Uygulamalarının (Salisilik Asit ve Askorbik Asit) Çimlenme Üzerine Etkisi*. Journal of the Institute of Science and Technology, 10 (4) , 3109-3121.
- Tarım ve Orman Bakanlığı. (2019). *Mısır Üretim ve Pazarlama Bilgi Bülteni*. Erişim tarihi: 15 Nisan 2023.
- Turhan, E. (2002). *Farklı ortamlarda yetiştirilen çileklerin tuza dayanıklılık fizyolojileri üzerine araştırmalar*. Yayınlanmamış doktora tezi. Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 195s.
- Turhan, E., & Eris, A. (2005). *Effects of sodium chloride applications and different growth media on ionic composition in strawberry plant*. Journal of Plant Nutrition, 27(9), 1653-1665.
- TÜİK. (2022). Türkiye İstatistik Kurumu. Erişim: <http://www.tuik.gov.tr> (Erişim tarihi: Nisan 2023).
- Ünlükara, A., Kurunç, A., Kesmez, G.D., Yurtseven, E. (2008). *Growth and evapotranspiration of okra (Abelmoschus esculentus L.) as influenced by salinity of irrigation water*. Journal of Irrigation and Drainage Engineering-ASCE, 134 (2), 160-166.
- Wang, W. X., Vinocur, B., & Altman, A. (2003). *Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance*. Planta, 218, 1–14.

KAYNAKLAR DİZİNİ

Yakıt, S. & Tuna, A. L. (2006). *Tuz Stresi Altındaki Mısır Bitkisinde (Zea mays L.) Stres Parametreleri Üzerine Ca, Mg ve K'nın Etkileri*. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 19 (1) , 59-67.

Yolci, M. S. , Tunçtürk, R. & Tunçtürk, M. (2021). *Yerfıstığı (Arachis hypogea L.) Çeşitlerinin Bazı Büyüme ve Fizyolojik Parametreleri Üzerine Tuz Stresinin Etkisi*. Yuzuncu Yıl University Journal of Agricultural Sciences, 31 (1) , 228-236.



EK AÇIKLAMALAR

- Ek Açıklama-A: Zararlanma Skalası İnteraksiyon Tablosu
- Ek Açıklama-B: İyon Sızıntısı İnteraksiyon Tablosu
- Ek Açıklama-C: Turgor Kaybı (TK) İnteraksiyon Tablosu
- Ek Açıklama-D: Askorbik Asit (AsA) Miktarı İnteraksiyon Tablosu
- Ek Açıklama-E: Toplam Klorofil (Chl) Miktarı İnteraksiyon Tablosu
- Ek Açıklama-F: Prolin Miktarı İnteraksiyon Tablosu
- Ek Açıklama-G: Toplam Çözünebilir Protein (TÇP) Miktarı İnteraksiyon Tablosu



Ek Açıklama-A: Zararlanma Skalası İnteraksiyon Tablosu

Bağımlı Değişken: Skala Değeri (1-5)

Kaynak	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Kareler Toplamı	F	Ö.D.
Düzeltilmiş Model	6,708 ^a	5	1,342	3,864	,015
Kesişme	100,042	1	100,042	288,120	,000
Uygulama	6,708	5	1,342	3,864	,015
Hata	6,250	18	,347		
Toplam	113,000	24			
Düzeltilmiş Toplam	12,958	23			

Ö.D: Önem Derecesi (%5)

Ek Açıklama-B: İyon Sızıntısı İnteraksiyon Tablosu

Bağımlı Değişken: %Zararlanma

Kaynak	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Kareler Toplamı	F	Ö.D.
Düzeltilmiş Model	361,083 ^a	5	72,217	4,911	,004
Kesişme	11862,413	1	11862,413	806,612	<,001
Uygulama	361,083	5	72,217	4,911	,004
Hata	308,836	21	14,706		
Toplam	12828,468	27			
Düzeltilmiş Toplam	669,919	26			

Ö.D: Önem Derecesi (%5)

Ek Açıklama-C: Turgor kaybı (TK) İnteraksiyon Tablosu

Bağımlı Değişken: % TK

Kaynak	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Kareler Toplamı	F	Ö.D.
Düzeltilmiş Model	2858,605 ^a	5	571,721	21,528	<,001
Kesişme	24343,261	1	24343,261	916,642	<,001
Uygulama	2858,605	5	571,721	21,528	<,001
Hata	185,899	7	26,557		
Toplam	29206,543	13			
Düzeltilmiş Toplam	3044,504	12			

Ö.D: Önem Derecesi (%5)

Ek Açıklama-D: Askorbik Asit (AsA) Miktarı İnteraksiyon Tablosu

Bağımlı Değişken: mg/gTA

Kaynak	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Kareler Toplamı	F	Ö.D.
Düzeltilmiş Model	10,046 ^a	5	2,009	50,305	<,001
Kesişme	38,895	1	38,895	973,849	<,001
Uygulama	10,046	5	2,009	50,305	<,001
Hata	,439	11	,040		
Toplam	52,106	17			
Düzeltilmiş Toplam	10,485	16			

Ö.D: Önem Derecesi (%5)

Ek Açıklama-E: Toplam Klorofil (Chl) Miktarı İnteraksiyon Tablosu

Bağımlı Değişken: mg/gTA

Kaynak	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Kareler Toplamı	F	Ö.D.
Düzeltilmiş Model	1733641,524 ^a	5	346728,305	4,799	,004
Kesişme	101108223,10	1	101108223,10	1399,319	<,001
Uygulama	1733641,524	5	346728,305	4,799	,004
Hata	1589616,653	22	72255,302		
Toplam	107891708,51	28			
Düzeltilmiş Toplam	3323258,177	27			

Ö.D: Önem Derecesi (%5)

Ek Açıklama-F: Prolin Miktarı İnteraksiyon Tablosu

Bağımlı Değişken: µM prolin/gTA

Kaynak	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Kareler Toplamı	F	Ö.D.
Düzeltilmiş Model	49045,401 ^a	5	9809,080	45,670	<,001
Kesişme	7431400,202	1	7431400,202	34599,976	<,001
Uygulama	49045,401	5	9809,080	45,670	<,001
Hata	2577,366	12	214,781		
Toplam	7483022,969	18			
Düzeltilmiş Toplam	51622,767	17			

Ö.D: Önem Derecesi (%5)

Ek Açıklama-G: Toplam Çözünabilir Protein (TÇP) Miktarı İnteraksiyon Tablosu
Bağımlı Değişken: mg protein/gTA

Kaynak	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Kareler Toplamı	F	Ö.D.
Düzeltilmiş Model	303,448 ^a	5	60,690	10,013	<,001
Kesişme	34855,205	1	34855,205	5750,609	<,001
Uygulama	303,448	5	60,690	10,013	<,001
Hata	72,734	12	6,061		
Toplam	35231,387	18			
Düzeltilmiş Toplam	376,182	17			

Ö.D: Önem Derecesi (%5)