

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MUTANT VE MUTANT OLMAYAN ÇELTİK BİTKİLERİNDE TUZ
STRESİNİN MORFOLOJİK, FİZYOLOJİK, BİYOKİMYASAL VE
MOLEKÜLER ETKİLERİ**

Yunus Emre ARVAS

DOKTORA TEZİ

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı

Danışman

Prof. Dr. İsmail KOCAÇALIŞKAN

Eş Danışman

Doç. Dr. Emel ORDU

Mayıs, 2022

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**MUTANT VE MUTANT OLMAYAN ÇELTİK BİTKİLERİNDE TUZ
STRESİNİN MORFOLOJİK, FİZYOLOJİK, BİYOKİMYASAL VE
MOLEKÜLER ETKİLERİ**

Yunus Emre ARVAS tarafından hazırlanan tez çalışması 25.05.2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. İsmail KOCAÇALIŞKAN
Yıldız Teknik Üniversitesi
Danışman

Doç. Dr. Emel ORDU
Yıldız Teknik Üniversitesi
Eş-Danışman

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. İsmail KOCAÇALIŞKAN, Danışman

Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Semiha ERİŞEN, Üye

Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Gül CEVAHİR ÖZ, Üye

İstanbul Üniversitesi

Prof. Dr. Barbaros NALBANTOĞLU, Üye

Yıldız Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. Emel SERDAROĞLU KAŞIKÇI, Üye

Üsküdar Üniversitesi

Danışmanım Prof. Dr. İsmail KOCAÇALIŞKAN sorumluluğunda tarafımca hazırlanan “Mutant ve Mutant Olmayan Çeltik Bitkilerinde Tuz Stresinin Morfolojik, Fizyolojik, Biyokimyasal ve Moleküler Etkileri” başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Yunus Emre ARVAS

İmza



Bu çalışmanın bir kısmı, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü' nn FBA-2020-3901 numaralı projesi ile desteklenmiştir.



Sevgili yeğenlerim;

Havva Nur,

Yusuf Asım,

Ebrahim Eren,

ve Seyid Hamza'ya

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca her konuda destek ve ilgisini esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden çokça faydalandığım danışman hocam Prof. Dr. İsmail Kocaçalışkan'a içtenlikle teşekkür ve şükranlarımı sunarım.

Doktora eş danışmanım Doç. Dr. Emel Ordu, tez izleme komitesi üyeleri Prof. Dr. Gül Cevahir Öz ve Prof. Dr. Semiha Erişen ile doktora yeterlik ve tez savunma jüri üyesi Doç. Dr. Emel Serdaroğlu Kaşıkçı hocalarıma tezimin olgunlaşmasından tamamlanana kadar tüm süreçlerdeki görüş, öneri, eleştiri ve değerli katkılarından dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans ve doktora eğitimim boyunca sürekli ilgi ve alakası ile eğitimime katkıda bulunan Dr. Öğr. Üyesi Yılmaz Kaya, doktora tez çalışmalarım esnasında teknik bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Prof. Dr. Barbaros Nalbantoğlu ve Doç. Dr. Sevgi Maraklı hocalarıma da içtenlikle teşekkür ve şükranlarımı sunarım. Tüm hayatım boyunca maddi ve manevi destekleriyle bana güç veren, yanımda olan çok sevgili AİLEME sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Doktora süresince BİDEB 2211-A kapsamında burs desteği sağlayarak eğitimime destek olan TÜBİTAK'a, doktora süresince "doktora bursu" desteği ile yanımda olan dernek, vakıf ile kamu kurum ve kuruluşlarına, doktora tezi materyal temini için katkıda bulunan Yıldız Koruma ve Yaşatma Derneği yönetim kuruluna, TÜBİTAK 1005 (Proje No:1020203) projesine bursiyer olarak kabul ettiği için Doç. Dr. Fatih Törnük'e teşekkür ederim.

Yunus Emre ARVAS

İÇİNDEKİLER

SİMGE LİSTESİ	ix
KISALTMA LİSTESİ	xi
ŞEKİL LİSTESİ	xiv
TABLO LİSTESİ	xvi
ÖZET	xviii
ABSTRACT	xx
1 GİRİŞ	1
1.1 Literatür Özeti	1
1.2 Tezin Amacı	3
1.3 Hipotez	4
2 GENEL BİLGİLER	6
2.1 Çeltik (<i>Oryza sativa</i> L.)	6
2.2 Bitki Doku Kültürü	8
2.3 Bitkilerde Stres	9
2.4 Tuz Stresi	10
2.5 Tuz Stresinin Bitki Üzerindeki Etkileri	11
2.5.1 Tuzluluğun Çeltik Bitkileri Üzerindeki Etkisi	13
2.6 Tuz Stresine Karşı Geliştirilen Savunma Mekanizmaları	14
2.7 Antioksidan Savunma	16
2.7.1 Antioksidanlar	19
2.8 Enzimatik Antioksidanlar	21
2.9 Genetik Çeşitlilik (Varyasyon) Analizleri	23
2.10 Genetik Çeşitlilik (Varyasyon) Mekanizmaları	23
2.11 Genetik Çeşitlilik (Varyasyon) Analiz Tipleri	24

2.11.1	Morfolojik Analizler	24
2.11.2	Biyokimyasal Analizler	24
2.11.3	Moleküler Analizler.....	24
2.12	Transpozonlar	28
2.12.1	Retrotranspozon Temelli Moleküler Markırlar (IRAP ve REMAP) .	29
3	MALZEME VE YÖNTEM	33
3.1	Materyal ve Yöntem.....	34
3.2	Biyokimyasal Analizler.....	34
3.2.1	Çözünabilir Protein Miktarının Belirlenmesi	34
3.2.2	Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Belirlenmesi.....	36
3.2.3	Katalaz (CAT) Aktivitesinin Belirlenmesi	37
3.2.4	Format Dehidrogenaz Aktivitesinin Belirlenmesi	38
3.3	Moleküler Çalışmalar	39
3.3.1	Total RNA İzolasyonu	39
3.3.2	DNaz I Uygulaması ve cDNA Sentezi.....	40
3.3.3	Real Time PCR.....	43
3.3.4	Genomik DNA İzolasyonu İçin Kullanılan CTAB Yöntemi	44
3.3.5	IRAP ve REMAP Analizleri	45
3.3.6	Agaroz Jel Elektroforezi.....	48
3.3.7	Markır Sonuçlarının Hesaplanması.....	48
3.4	İstatistiksel Analizler.....	49
4	BULGULAR	50
4.1	Optimizasyon Analizleri.....	50
4.2	Morfolojik Analizler	53
4.3	Fizyolojik Analizler	62
4.3.1	Total Çözülebilir Protein Miktarı Analizi	62

4.3.2 SOD Aktivite Analizi.....	64
4.3.3 CAT Aktivite Analizi.....	66
4.3.4 FDH Aktivite Analizi	68
4.4 Moleküler Analizler	74
4.4.1 Gen Anlatım Analizleri.....	74
4.4.2 IRAP Moleküler Markır Bulgularının Hesaplanması	81
4.4.3 REMAP Moleküler Markır Verilerinin Değerlendirilmesi.....	117
5 SONUÇ VE ÖNERİLER	153
KAYNAKÇA	171
TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR	192

SİMGE LİSTESİ

%	Yüzde
$\cdot O_2^{\cdot}$	Süperoksit radikali
$\cdot OH$	Hidroksil radikali
$^{\circ}C$	Santigrat derece
1O_2	Singlet oksijen
A	Absorbans
cv	Cultivar (Kültivar)
dS	DesiSiemens
g	Gram
H_2O_2	Hidrojen peroksit
ha	Hektar
kg	Kilogram
L	Litre
lt	Litre
m	Metre
M	Molar
mg	Miligram
mM	Milimolar
MS	Murashige & Skoog
pH	Hidrojen iyonu konsantrasyonu
ppm	Parts Per Million
rpm	Dakikada döngü sayısı
sn	Saniye
Tm	Erime sıcaklığı
U	Ünite
V	Hacim
V	Volt

W	Ağırlık
μ l	Mikrolitre
μ M	Mikromolar
Δ	Delta
μ A	Mikroamper
μ g	Mikrogram



KISALTMA LİSTESİ

2,4-D	2,4-Dichlorophenoxyacetic acid, 2-4 Diklorofenoksi Asetik Asit
AFLP	Çoğaltılmış Parça Uzunluklarında Farklılıklar (Amplified Fragment Length Polymorphism)
BAP	6-Benzylaminopurine, 6-Benzyladenine, 6-benzil amino pürin
bp	Baz çifti
BSA	Bovine Serum Albumin
CAT	Katalaz (Catalase)
cDNA	Komplementer DNA
CTAB	Setiltrimetilamonyum bromide
ddH ₂ O	İki kez distile edilmiş su
dH ₂ O	Distile su
dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	Deoksinükleotid Trifosfat
dsDNA	Double stranded DNA (Çift zincir DNA)
EC	Enzim sınıflandırma
EDTA	Etilen Diamin Tetraasetik Asit
EFSA	European Food Safety Authority (Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi)
EtOH	Etanol
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Organizasyonu (Food and Agriculture Organization of the United Nations- Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Organizasyonu)

FDH	Format dehidrogenaz (Formate dehydrogenases)
gDNA	Genomik DNA
GP	Glutathione peroxidase
GR	Glutathione reductase
HCl	Hidroklorik asit
IAA	Indol-3-asetik asit
IRAP	Inter-retrotransposon amplified polymorphism (çoğaltılmış retrotranspozonlar arası polimorfizm)
IRRI	Uluslararası Çeltik Araştırma Enstitüsü (International Rice Research)
ISSR	Basit Sekans Arası Tekrarları (Inter Simple Sequence Repeats)
Kb	Kilobaz
LINEs	Long Interspersed Nuclear Elements (Uzun serpiştirilmiş nükleer elementler)
LTR	Long Terminal Repeats (Uzun uç tekrarları)
MgCl ₂	Magnezyum Klorür
M _w	Molekül ağırlığı
NAA	Naftalin Asetik Asit (1-Naphthylacetic acid)
NBT	Nitroblue tetrazolium
nm	Nanometre
OD	Optik Yoğunluk
PCD	Programlı hücre ölümü (Programmed Cell Death)
PCR	Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
RAPD	Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (Randomly Amplified Polymorphic)
rDNA	Rekombinant RNA

REMAP	Retrotransposon-microsatellite amplified polymorphism (Çoğaltılmış retrotranspozon-mikro uydu polimorfizmi)
RFLP	Kesilmiş Parça Uzunluklarında Farklılıklar (Restriction Fragment Length)
RNA	Ribonükleik asit
ROS	Reaktif oksijen türevi (Reactive Oxygen Species)
SD	Standard Deviation, Standart sapma
SDS- PAGE	Poliakrilamid jel elektroforezi
SOD	Süperoksit dismutaz (Superoxide dismutase)



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2. 1 Çeltik tohumunun anatomik yapısı.....	7
Şekil 2. 2 Bitkilerde yaygın abiyotik stres faktörleri.....	9
Şekil 2. 3 Çeltik bitkilerinde tuzluluğa bağlı ana tepkiler.....	12
Şekil 2. 4 Bitkilerde reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretim yerleri.....	13
Şekil 2. 5 Tuzluluk altında çeltik bitkisi savunma tepkileri.....	14
Şekil 2. 6 ROS sinyalinin özelleşmesinde farklı modeller.....	15
Şekil 2. 7 Serbest radikallerin özet biyolojik hedefleri.....	18
Şekil 2. 8 ROS oluşumuna yol açan reaksiyonlara ve etkileri	18
Şekil 2. 9 Antioksidanların sınıflandırılması	21
Şekil 2. 10 Genetik çeşitliliğe yol açan olaylar	24
Şekil 2. 11 Geçmişten günümüze markırların gelişim tarihleri	25
Şekil 2. 12 Ökaryotlarda transpozonların sınıflandırılması.....	28
Şekil 4. 1 Farklı tuz konsantrasyonlarının çeltik çeşitlerinde fide büyümesi üzerine etkileri.....	52
Şekil 4. 2 Maraş sarı çeltik genotiplerinin SOD, FDH ve CAT aktiviteleri.....	70
Şekil 4. 3 Kızıltan çeltik genotiplerinin SOD, FDH ve CAT aktiviteleri	71
Şekil 4. 4 K. mutant çeltik genotiplerinin SOD, FDH ve CAT aktiviteleri	72
Şekil 4. 5 dhan 47 çeltik genotiplerinin SOD, FDH ve CAT aktiviteleri.....	73
Şekil 4. 6 Maraş sarı çeltik varyetesinin gen anlatım analiz sonuçları.....	75
Şekil 4. 7 Kızıltan varyetesinin gen anlatım analiz sonuçları.....	76
Şekil 4. 8 Kızıltan mutant varyetesinin gen anlatım analiz sonuçları.....	77
Şekil 4. 9 dhan 47 varyetesinin gen anlatım analiz sonuçları.....	78
Şekil 4. 10 Deney gruplarında anlatımı analiz edilen üç genin renk haritası	79
Şekil 4. 11 <i>Hopi</i> IRAP-PCR 15 günlük yaprak sonuçları.....	82
Şekil 4. 12 <i>Hopi</i> IRAP-PCR 15 günlük kök sonuçları	84
Şekil 4. 13 <i>Hopi</i> IRAP-PCR 30 günlük yaprak sonuçları.....	86
Şekil 4. 14 <i>Hopi</i> IRAP-PCR 30 günlük kök sonuçları	88
Şekil 4. 15 <i>Osr</i> IRAP-PCR 15 günlük yaprak sonuçları	91
Şekil 4. 16 <i>Osr</i> IRAP-PCR 15 günlük kök sonuçları	93
Şekil 4. 17 <i>Osr</i> IRAP-PCR 30 günlük yaprak sonuçları	95
Şekil 4. 18 <i>Osr</i> IRAP-PCR 30 günlük kök sonuçları	97
Şekil 4. 19 <i>Houba</i> IRAP-PCR 15 günlük yaprak sonuçları	100
Şekil 4. 20 <i>Houba</i> IRAP-PCR 15 günlük kök sonuçları.....	102
Şekil 4. 21 <i>Houba</i> IRAP-PCR 30 günlük yaprak sonuçları	104
Şekil 4. 22 <i>Houba</i> IRAP-PCR 30 günlük kök sonuçları.....	106
Şekil 4. 23 <i>Tos17</i> IRAP-PCR 15 günlük yaprak sonuçları	109
Şekil 4. 24 <i>Tos17</i> IRAP-PCR 15 günlük kök sonuçları.....	111
Şekil 4. 25 <i>Tos17</i> IRAP-PCR 30 günlük yaprak sonuçları	113
Şekil 4. 26 <i>Tos17</i> IRAP-PCR 30 günlük kök sonuçları.....	115
Şekil 4. 27 <i>Houba</i> REMAP-PCR 15 günlük yaprak sonuçları	118
Şekil 4. 28 <i>Houba</i> REMAP-PCR 15 günlük kök sonuçları.....	120
Şekil 4. 29 <i>Houba</i> REMAP-PCR 30 günlük yaprak sonuçları.....	122

Şekil 4. 30 <i>Houba</i> REMAP-PCR 30 günlük kök sonuçları.....	124
Şekil 4. 31 <i>Osr</i> REMAP-PCR 15 günlük yaprak sonuçları	127
Şekil 4. 32 <i>Osr</i> REMAP-PCR 15 günlük kök sonuçları	129
Şekil 4. 33 <i>Osr</i> REMAP-PCR 30 günlük yaprak sonuçları	131
Şekil 4. 34 <i>Osr</i> REMAP-PCR 30 günlük kök sonuçları	133
Şekil 4. 35 <i>Rire</i> REMAP-PCR 15 günlük yaprak sonuçları.....	136
Şekil 4. 36 <i>Rire</i> REMAP-PCR 15 günlük kök sonuçları.....	138
Şekil 4. 37 <i>Rire</i> REMAP-PCR 30 günlük yaprak sonuçları.....	140
Şekil 4. 38 <i>Rire</i> REMAP-PCR 30 günlük kök sonuçları.....	142
Şekil 4. 39 <i>Tos17</i> REMAP-PCR 15 günlük yaprak sonuçları	145
Şekil 4. 40 <i>Tos17</i> REMAP-PCR 15 günlük kök sonuçları.....	147
Şekil 4. 41 <i>Tos17</i> REMAP-PCR 30 günlük yaprak sonuçları	149
Şekil 4. 42 <i>Tos17</i> REMAP-PCR 30 günlük kök sonuçları.....	151



TABLO LİSTESİ

Tablo 2. 1 Tuz yoğunluğuna göre sulama sularının sınıflandırılması.....	11
Tablo 2. 2 Reaktif oksijen (ROS) ve reaktif nitrojen türleri	17
Tablo 2. 3 Bazı antioksidanlar	20
Tablo 2. 4 Geliştirilen markır sistemleri ve çalışma prensipleri.....	26
Tablo 2. 5 Farklı transpozon sistemlerinin karşılaştırılması	29
Tablo 2. 6 3000 çeltik genomunun TRACKPOSON sonuçları	32
Tablo 3. 1 Bradford yönteminde kullanılan belirtecin içeriği (5X).....	35
Tablo 3. 2 SOD aktivitesinin belirlenmesinde kullanılacak substratın içeriği	37
Tablo 3. 3 CAT aktivitesinin belirlenmesinde kullanılacak substratın içeriği	38
Tablo 3. 4 DNaz I reaksiyonu bileşenleri ve miktarları	40
Tablo 3. 5 Real Time PCR analizinde kullanılacak genlerin primer dizileri	41
Tablo 3. 6 Aktin ve diğer genler için yapılacak PCR' ların bileşenleri ve miktarları	41
Tablo 3. 7 Aktin ve diğer genlerin çoğaltılmasında kullanılacak PCR döngüleri	42
Tablo 3. 8 cDNA sentezinin ilk aşamasında kullanılan bileşenler	42
Tablo 3. 9 cDNA sentezinin ikinci aşamasında kullanılan bileşenler	42
Tablo 3. 10 Real Time PCR bileşenleri ve miktarları	43
Tablo 3. 11 Real Time PCR koşulları	43
Tablo 3. 12 gDNA izolasyonunda kullanılan çözeltiler	45
Tablo 3. 13 IRAP-PCR çalışmasında kullanılacak primer dizileri	46
Tablo 3. 14 IRAP-PCR bileşenleri IRAP-PCR bileşenleri	46
Tablo 3. 15 IRAP-PCR şartları.....	46
Tablo 3. 16 REMAP-PCR çalışmasında kullanılacak primer dizileri.....	47
Tablo 3. 17 REMAP-PCR bileşenleri.....	47
Tablo 3. 18 REMAP-PCR şartları.....	47
Tablo 3. 19 Agaroz jel elektroforezinde kullanılacak çözeltiler	48
Tablo 4. 1 Farklı tuz konsantrasyonlarının çeltik çeşitlerinde kök ağırlığı (mg/bitki) üzerine etkileri.....	55
Tablo 4. 2 Farklı tuz konsantrasyonlarının çeltik çeşitlerinde kök uzunluğu (cm/bitki) üzerine etkileri	56
Tablo 4. 3 Farklı tuz konsantrasyonlarının çeltik çeşitlerinde bitki ağırlığı (g/bitki) üzerine etkileri.....	58
Tablo 4. 4 Farklı tuz konsantrasyonlarının çeltik çeşitlerinde gövde uzunluğu (cm/bitki) üzerine etkileri	59
Tablo 4. 5 Farklı tuz konsantrasyonlarının çeltik çeşitlerinde kök sayısı üzerine etkileri	60
Tablo 4. 6 Farklı tuz konsantrasyonlarının çeltik çeşitlerinde yaprak sayısı üzerine etkileri	61
Tablo 4. 7 Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen çeltik çeşitlerinin 15 ve 30 günlük Protein miktarları	63
Tablo 4. 8 Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen çeltik çeşitlerinin 15 ve 30 günlük SOD enzim aktivitesi sonuçları.....	65

Tablo 4. 9	Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen çeltik çeşitlerinin 15 ve 30 günlük CAT enzim aktivitesi sonuçları	67
Tablo 4. 10	Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen çeltik çeşitlerinin 15 ve 30 günlük FDH enzim aktivitesi sonuçları.....	69
Tablo 4. 11	<i>Hopi</i> 15 günlük yaprak IRAP polimorfizm oranları.....	83
Tablo 4. 12	<i>Hopi</i> 15 günlük kök IRAP polimorfizm oranları	85
Tablo 4. 13	<i>Hopi</i> 30 günlük yaprak IRAP polimorfizm oranları.....	87
Tablo 4. 14	<i>Hopi</i> 30 günlük kök IRAP polimorfizm oranları	89
Tablo 4. 15	<i>Osr</i> 15 günlük yaprak IRAP polimorfizm oranları	92
Tablo 4. 16	<i>Osr</i> 15 günlük kök IRAP polimorfizm oranları	94
Tablo 4. 17	<i>Osr</i> 30 günlük yaprak IRAP polimorfizm oranları	96
Tablo 4. 18	<i>Osr</i> 30 günlük kök IRAP polimorfizm oranları	98
Tablo 4. 19	<i>Houba</i> 15 günlük yaprak IRAP polimorfizm oranları.....	101
Tablo 4. 20	<i>Houba</i> 15 günlük kök IRAP polimorfizm oranları.....	103
Tablo 4. 21	<i>Houba</i> 30 günlük yaprak IRAP polimorfizm oranları.....	105
Tablo 4. 22	<i>Houba</i> 30 günlük kök IRAP polimorfizm oranları.....	107
Tablo 4. 23	<i>Tos17</i> 15 günlük yaprak IRAP polimorfizm oranları	110
Tablo 4. 24	<i>Tos17</i> 15 günlük kök IRAP polimorfizm oranları.....	112
Tablo 4. 25	<i>Tos17</i> 30 günlük yaprak IRAP polimorfizm oranları	114
Tablo 4. 26	<i>Tos17</i> 30 günlük kök IRAP polimorfizm oranları.....	116
Tablo 4. 27	<i>Houba</i> 15 günlük yaprak REMAP polimorfizm oranları.....	119
Tablo 4. 28	<i>Houba</i> 15 günlük kök REMAP polimorfizm oranları.....	121
Tablo 4. 29	<i>Houba</i> 30 günlük yaprak REMAP polimorfizm oranları.....	123
Tablo 4. 30	<i>Houba</i> 30 günlük kök REMAP polimorfizm oranları.....	125
Tablo 4. 31	<i>Osr</i> 15 günlük yaprak REMAP polimorfizm oranları	128
Tablo 4. 32	<i>Osr</i> 15 günlük kök REMAP polimorfizm oranları	130
Tablo 4. 33	<i>Osr</i> 30 günlük yaprak REMAP polimorfizm oranları	132
Tablo 4. 34	<i>Osr</i> 30 günlük kök REMAP polimorfizm oranları	134
Tablo 4. 35	<i>Rire</i> 15 günlük yaprak REMAP polimorfizm oranları.....	137
Tablo 4. 36	<i>Rire</i> 15 günlük kök REMAP polimorfizm oranları.....	139
Tablo 4. 37	<i>Rire</i> 30 günlük yaprak REMAP polimorfizm oranları.....	141
Tablo 4. 38	<i>Rire</i> 30 günlük kök REMAP polimorfizm oranları.....	143
Tablo 4. 39	<i>Tos17</i> 15 günlük yaprak REMAP polimorfizm oranları	146
Tablo 4. 40	<i>Tos17</i> 15 günlük kök REMAP polimorfizm oranları.....	148
Tablo 4. 41	<i>Tos17</i> 30 günlük yaprak REMAP polimorfizm oranları	150
Tablo 4. 42	<i>Tos17</i> 30 günlük kök REMAP polimorfizm oranları.....	152

Mutant ve Mutant Olmayan Çeltik Bitkilerinde Tuz Stresinin Morfolojik, Fizyolojik, Biyokimyasal ve Moleküler Etkileri

Yunus Emre ARVAS

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. İsmail KOCAÇALIŞKAN

Eş-Danışman: Doç. Dr. Emel ORDU

Bu çalışma, *in vitro* ortamda Murashige ve Skoog (MS) besiyerinde on beş ve otuz günlük iki farklı zaman diliminde, 50 mM, 100 mM ve 200 mM NaCl konsantrasyonlarında mutant bir varyete (*Oryza sativa* L. cv. Kızıltan mutant) ve mutant olmayan üç varyete (*Oryza sativa* L. cv. Maraş sarı çeltik, Kızıltan ve dhan 47) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmada altı farklı morfolojik parametre (kök ağırlığı, kök uzunluğu, bitki ağırlığı, gövde uzunluğu, kök sayısı ve yaprak sayısı), çözünebilir protein miktarı, antioksidan enzim aktiviteleri, gen anlatımları ve retrotranspozon polimorfizmleri analiz edilmiştir. Varyeteler arasında 30 günlük gövde uzunluğu sonuçlarında en fazla uzunluk Maraş varyetesinde, en az uzunluk dhan 47 bitkisinde gözlenmiştir. Kök uzunlukları üzerinde 100 mM'a kadarki tuz konsantrasyonlarında olumsuz etkisi gözlenmezken, 200 mM ortamda olumsuz etki ettiği gözlenmiştir. Kızıltan varyetesinde yapraklardaki SOD aktivitesinin kontrole göre azaldığı gözlenirken köklerde 100 mM tuz konsantrasyonuna kadar artan aktivite gösterdiği gözlenmiştir. Dhan 47 varyetesinde yapraklardaki en fazla CAT

aktivitesinin 50 mM konsantrasyonda olduğu gözlenirken, köklerde azalan aktivite gösterdiği gözlenmiştir. Otuz günlük sonuçlarda yaprak ve köklerde tüm çeltik varyetelerinde kontrole göre FDH aktivitesinin arttığı gözlenmiştir. Gen anlatımı analizlerinde, köklerde en yüksek (7 kat) gen anlatımı Kızıltan 100 mM tuz konsantrasyonda gözlenmiştir. Yapraklarda ise en yüksek (14 kat) anlatım 200 mM tuz konsantrasyonunda, Kızıltan mutant yaprağında olmuştur. Elde edilen sonuçlar ile tuz stresine duyarlı ve dirençli farklı çeltik varyetelerinin tuzluluğun giderek arttığı tarım arazilerinde kullanılabilirliğine katkı sağlaması beklenmektedir. Retrotranspozon çalışmaları ise, aynı varyetenin ve farklı çeltik varyetelerinin farklı tuz konsantrasyonlarında farklı bant profilleri ve polimorfizm oranlarının elde edilmesi ile sonuçlanmıştır. Mutant örneklerde Jaccard benzerlik indeksi ile yapılan hesaplamada IRAP ve REMAP analizlerinde polimorfizm oranlarının *Houba* için %0-98 arasında değiştiği ve mutant varyetelerin mutant olmayan varyetelere kıyaslandığında IRAP ve REMAP sonuçlarında değerli sonuçlar verdiği gözlenmiştir. Bu çalışma, uygun retrotranspozonlarla çeltik bitkisinde farklı tuz konsantrasyonlarında retrotranspozonlar hakkında değerli veriler göstermiştir. Bu sonuçlar, test edilen tüm retrotranspozonların hala aktif olduğunu ve çeltik bitkileri arasında genomik polimorfizme neden olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, çeltik, bitki stres enzim aktivitesi, bitki stres gen anlatımı, mutant, polimorfizm, retrotranspozon, tuz stresi

Effect of Salt Stress on Mutant and Non-Mutant Rice Plants at Morphological, Physiological, Biochemical and Molecular Level

Yunus Emre ARVAS

Department of Molecular Biology and Genetics

Doctor of Philosophy Thesis

Supervisor: Prof. Dr. İsmail KOCAÇALIŞKAN

Co-supervisor: Assoc. Prof. Dr. Emel ORDU

This study was carried out in tissue culture medium using one mutant variety (*Oryza sativa* L. cv. Kızıltan mutant) and two stress resistance varieties (*Oryza sativa* L. cv. Maraş yellow rice, Kızıltan and dhan 47) at 50 mM, 100 mM and 200 mM NaCl concentrations in two different periods (fifteen and thirty days). In the study, six different physiological parameters (root weight, root length, plant weight, stem length, root number and leaf number), soluble protein content, antioxidant enzyme activities, gene expressions and retrotransposon polymorphisms were analyzed. Among the varieties, in the 30-day stem length results, the highest length was observed in the maraş variety, and the least length was observed in the dhan 47 plant. While there was no negative effect on root lengths as much as 100 mM, it was observed that it had a negative effect in 200 mM medium. It was observed that the SOD activity in the leaves decreased in the Kızıltan variety compared to the control, while it was observed that the activity increased up to 100 mM salt concentration in the roots. In the dhan 47 variety, the highest CAT activity in the leaves was observed at 50 mM concentration, while it was observed that it showed decreasing

activity in the roots. In the 30-day results, it was observed that FDH activity increased in leaves and roots in all rice varieties compared to the control. In gene expression analyses, the highest (7 times) gene expression in roots was observed at Kızıltan 100 mM salt concentration. The highest expression (14 times) in leaves was in the Kızıltan mutant leaf at 200 mM salt concentration. The results showed different responses in physiological, antioxidant and gene expression analyses as salt concentrations of all rice varieties used in the study increased. With the results obtained, it is expected that different rice varieties that are sensitive and resistant to salt stress will contribute to the usability of agricultural lands where salinity is gradually increasing. Retrotransposon studies have resulted in different band profiles and polymorphism results between different salt concentrations of the same variety and various rice varieties. We observed that polymorphism ratios ranged from 0-98% in IRAP and REMAP analyses in the calculation made with the Jaccard similarity index in mutant samples. We report that mutant varieties give valuable results in IRAP and REMAP results compared to non-mutant varieties. This study showed valuable data on retrotransposon-based salinity stress treatment in rice with suitable retrotransposons. These results suggest that all tested retrotransposons are still active, causing genomic polymorphism among the rice plantlet.

Key words: Antioxidant, Enzyme activities, Gene expression, Mutant, Polymorphism, Retrotransposon, Rice, Salt stress

1.1 Literatür Özeti

Çeltik, zengin karbohidrat, protein, vitamin B3 (niasin) gibi biyomoleküller ve pek çok hücrel enzim fonksiyonlarını gerçekleştirebilmesi için gerekli iz elementlerden biri olan bakır gibi gerekli mineraller içeren buğdaygiller (Gramineae) ailesinin *Oryza* cinsinden otsu bir bitkidir. Bir çeltik danesi karyopsis olarak adlandırılan ve daneye yapışmadan etrafını saran iç kavuz ve kapçıktan oluşur. İnsanların tüketimi için önemli bir tahıl ürünü olan çeltik yaklaşık olarak 5000 yıldır tüketilmekte ve ekimi yapılan en önemli tarım ürünlerinden biri olarak kabul edilmektedir [1], [2], [3], [4], [5], [6]. Çeltik, $2n = 24$ kromozomlu ve tanımlanan 25 türü bulunan bir bitkidir [7]. Bunlardan da sadece *Oryza sativa* ve *Oryza glaberrima* kültüre alınmaktadır [8]. "*Oryza glaberrima*" Afrika çeltiği olarakta bilinmekte ve sadece Batı Afrika'da yetişebilmektedir. "*Oryza sativa*" ise Asya çeltiği olarakta bilinmekte, ticari olarak yüzden fazla ülkede yetiştirilmekte ve tüm dünyaya yayılmış haldedir [9]. Çeltik, dünyada en fazla Çin, Hindistan, Endonezya, Bangladeş, Myanma, Tayland, Vietnam gibi ülkelerde üretilmekte ve dünya nüfusunun yaklaşık %60'ının başlıca gıda kaynağıdır [10]. Çeltik, su içinde yetiştirilebilen tek tahıl cinsidir, kökleri suda erimiş oksijenden faydalanılabilmekle beraber, toprak isteği bakımından çok seçici olmayan bir bitkidir [11], [12]. Çeltik, kuru toprak yapısı ile derin suya sahip su altındaki arazilerde ve deniz seviyesinden, 2500 metre rakıma kadar çıkabilen çok geniş bir değişim gösteren çevre şartlarında yetiştirilebilir. Bundan dolayı bu bitkinin yetiştiği alanlar çok geniş bir çeşitlilik göstermektedir [13], [14], [15].

Bir çeltik danesinden etrafını saran iç kavuz ve kapçığın uzaklaştırılmasından sonra parlatma işlemi uygulanmış ürüne "pirinç" denmektedir. Türkiye'de kişi başına ortalama pirinç tüketimi yıllara göre değişmekle birlikte 1964 yılında 3,2 kg iken 1970'te 4,4'e, 2013'te 8,3 kg'a yükselmiş ve 2020 yılında 9,4 kg olmuştur [16]. Birim alan başına düşen çeltik üretimi hem vejetatif hem de üreme büyümesinin işlevidir. Küresel ısınma tahıl üretimi ile ilgili fizyolojik süreçleri etkilediğinden dolayı çeltik verimi de doğrudan etkilenmektedir. Peng vd., (2004) tarafından yapılan çalışmada kurak mevsimde optimum sıcaklığın 1 °C' lik artışın çeltik veriminde %10'luk azalmaya neden olduğu

rapor edilmiştir [17]. İnsanların dünya genelinde kalori ihtiyacının %21'i çeltikten karşılanmakta iken uzak doğu Asyalıların günlük temel besin kaynağı olan çeltikten günlük kalori ihtiyaçlarının yaklaşık %80'i karşılanmaktadır. Küresel ısınmanın etkisi ile çeltik üretiminin ilerleyen yıllarda %40 oranında küçüleceği yapılan çalışmalarda belirtilmektedir [18]. 2030 yılında artan dünya nüfusuna bağlı olarak yaklaşık %25 daha fazla oranda çeltiğe ihtiyaç duyulacağı belirtilmektedir [9]. Bununla birlikte bitkilerin yaşamları süresince doğal olarak yetiştikleri alanlarda büyüme, gelişme ve çoğalmalarını engelleyebilen pek çok stres faktörünün etkisi altında kaldıkları bilinmektedir [19]. Bu etmenleri; iklim, toprak, doğal olmayan kirleticiler, hayvanlar ve diğer bitkiler ile rekabet şeklinde sıralamak mümkündür. Bitkilerde stres etmenlerinin biyotik veya abiyotik kökenli olabileceği birçok araştırmacı tarafından belirtilmiştir. Toprak tuzluluğu, mahsul üretimi için önemli bir sınırlayıcı faktördür ve dünya çapında tarımda büyüyen bir sorundur. Topraklardaki yüksek tuz konsantrasyonlarının, çeşitli sulama uygulamalarının yanı sıra küresel iklimdeki değişikliklerin bir sonucu olarak artması beklenmektedir. Toprakta yüksek tuz konsantrasyonları altında, bitkiler suyu emme yeteneklerini kaybeder. Bu durum da çeşitli metabolik yolları ve fotosentetik verimliliği olumsuz etkiler dolayısıyla büyüme ve verimde azalmaya yol açar [20]. Tuz stresi, bitkiler üzerinde “toksik iyon” ve “ozmotik etki” olmak üzere iki şekilde etki eder. Osmotik etki, bitkilerin toprak çözeltisinden su alımını engellemekte, toksik iyon etkisi ise bitkilerdeki bazı fizyolojik olayları etkilemektedir [21], [22]. Toprakta tuz miktarının artmasıyla bitkilerin kök rizosferinde ilk olarak dışsal osmotik stres oluşmaktadır. Tuz stresi bitkilerde sadece fizyolojik değişikliklere neden olmaz aynı zamanda organ gelişimini de etkilemektedir. Organ gelişimine başlıca etkilerine; tohum çimlenmesi [23] ve fide büyümesi [24], [25] örnek gösterilebilir [26], [27], [28], [29].

Bitki türleri arasında ve aynı türün farklı genotipleri arasında tuzluluk stresi bakımından önemli farklılıklar bulunmaktadır. Stres toleransı bakımından sergilenen bu farklılıklar, genomik, transkriptomik, metabolomik ve proteomik olmak üzere dört temel moleküler mekanizmada oluşan değişikliklerden dolayı meydana gelmektedir [30], [31], [32], [33], [34], [35], [36].

İnsanların günlük tüketiminde eskiye nazaran daha fazla pirinç talebinde bulunmaları çeltik üretiminin öneminin giderek arttığını göstermektedir. Artan pirinç ihtiyacını karşılamamanın iki yolu mevcuttur. Birincisi: Çeltik ekilen alanı artırmaktır ki; artan

sehirleşme ve nüfustan dolayı zordur. İkincisi: Geleneksel metotların yanı sıra biyoteknolojik yöntemler vasıtasıyla yeni çeşitler geliştirilerek verim artışı sağlanabilir. Biyoteknolojik yöntemler ile verim artışı yanında, çeşitli biyotik ve abiyotik stres faktörlerinin neden olduğu ürün kaybı azaltılabilir. 1989 ile 2014 yılları arasında biyoteknolojik yöntemlerle Çin'de geliştirilen ve tarla denemeleri yapılan 250 transgenik çeltik türü bulunmaktadır. Günümüzde tarım alanlarının verimliliğini etkileyen abiyotik streslerden olan tuzluluğun giderek arttığı dikkate alındığında, yüksek tuz seviyelerinin meydana getirdiği stres mekanizmalarının genomik düzeyde anlaşılması tuzluluğa toleranslı yeni çeşitlerin geliştirilmesindeki başarı ihtimalini arttıracığı düşünülmektedir.

1.2 Tezin Amacı

Bu tez çalışmasında mutant ve mutant olmayan farklı çeltik genotiplerinde tuz stresinin bitki büyümesine olan etkisinin incelenmesi, mutant genotiplerin tuz stres koşullarında avantajlı olup olmadığının incelenmesi amaçlanmıştır. Farklı genotiplerin stres koşullarına karşı verdiği yanıtlar gen anlatımı düzeyinde değerlendirilerek, tuz stresi koşullarında yetiştirilmeye uygun aday genotiplerin önerilmesi amaçlanmıştır. Aynı zamanda tuz stresi koşulları altında retrotranspozonların hareketleri incelenerek polimorfizm düzeyinde farklılıkların IRAP ve REMAP moleküler markır tekniği kullanılarak incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, *in vitro* ortamda farklı zaman dilimlerinde (15 ve 30 günlük), Murashige ve Skoog (MS) besiyerinde farklı tuz konsantrasyonlarında (50 mM, 100 mM ve 200 mM) yetiştirilen mutasyon ıslahı yöntemi ile gama radyasyonu kullanılarak tuzluluğa toleranslı olarak geliştirilen mutant ve mutant olmayan çeltik varyetelerinde taze kök ağırlığı, kök uzunluğu, taze bitki ağırlığı, gövde uzunluğu, kök sayısı ve yaprak sayısı olmak üzere altı farklı morfolojik parametre incelendikten sonra kök ve yapraklarındaki çözünebilir protein miktarı, antioksidan enzim aktiviteleri (SOD, CAT, FDH), retrotranspozon polimorfizmleri, enerji ve stres metabolizmasında etkin rolleri bulunan Metiyonin Sülfoksit Redüktaz (MSR), Format Dehidrogenaz (FDH) ve Prolin genlerinin ROS (Reactive Oxygen Species- Reaktif oksijen türleri) birikiminin tetiklediği anlatım farklılıkları kantitatif real time-PCR (gerçek zamanlı kantitatif PCR) yöntemi ile incelenmesi amaçlanmıştır.

1.3 Hipotez

Çeltik insan beslenmesinde önemli bir yere sahip, ekonomik değeri yüksek bir bitkidir. Ülkemizde genelde çeltik ekimi ve buna bağlı olarak pirinç üretimi artış göstermekte ve pirinç tüketimi yıllara göre artan bir eğilim sergilemektedir. Abiyotik streslerin neden olduğu verim kayıpları, artan talebi karşılamak için gerekli olan yeterli üretimin önündeki en büyük engellerden biridir. Bu nedenle abiyotik stres mekanizmalarının aydınlatılması büyük önem arz etmektedir. Bitkilerde tuz stresinin tetiklediği gen anlatım değişiklikleri, protein anlatımlarını doğrudan etkileyerek kısa ve uzun vadede tuz stresi toleransını yönetirler. Bu kapsamda bitkilerde tuz stresinin gen anlatımına etkileri üzerine birçok araştırma yapılmasına karşın enerji ve stres metabolizmasında etkin rolleri bulunan MSR, FDH ve Prolin genleri ile ilgili az sayıda çalışma bulunmaktadır. Yapılan literatür araştırmalarında bitki türleri arasında ve aynı türün farklı çeşitleri arasında tuzluluk stresi altında fizyolojik ve moleküler düzeyde önemli farklılıkların bulunduğu belirtilmiştir. Bununla birlikte çalışmamızda kullanılan mutasyon ıslahı yöntemi ile gama radyasyonu kullanılarak tuzluluğa toleranslı olarak geliştirilen “Kızıltan mutant” ve atası olan “Kızıltan”, Maraş Sarı çeltik ve dhan 47 (tuza toleranslı) çeltik varyetelerinde tuz stresi altında retrotranspozon polimorfizmleri (IRAP ve REMAP) ve MSR, FDH ile Prolin genlerinin anlatım farklılıklarının tespit edildiği bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Dolayısıyla bu doktora tez çalışmasının hipotez sorusu; “Farklı tuz konsantrasyonlarının, mutasyon ıslahı yöntemi ile gama radyasyonu kullanılarak tuzluluğa toleranslı olarak geliştirilen mutant ve mutant olmayan çeltik varyetelerinde retrotranspozon hareketleri ile bitkilerde enerji ve stres metabolizmasında önemli fonksiyonları bulunan Prolin, FDH ve MSR genlerinin bitki tuz stres toleransında genotipe ve doza bağlı etkilerinin olup olmayacağı” olarak kurgulanmış ve aşağıda belirtilen alt sorulara yanıtlar aranmıştır.

Bu hipotezin araştırılması doğrultusunda yapılan çalışmada;

- ✓ Farklı tuz konsantrasyonlarında ilgili çeltik varyetelerinin morfolojik (taze bitki ağırlığı (g/bitki), taze kök ağırlığı (mg/bitki), kök uzunluğu (cm/bitki), gövde uzunluğu (cm/bitki), kök sayısı ve yaprak sayısı) özelliklerinin doza bağlı olarak değişip değişmediği

- ✓ Farklı tuz konsantrasyonlarında ilgili çeltik varyetelerinin çözünebilir protein miktarı, antioksidan enzim aktiviteleri (SOD, CAT ve FDH) üzerine etkilerinin doza bağlı olarak değişip değişmediği
- ✓ Farklı tuz konsantrasyonlarında ilgili çeltik varyetelerinin retrotranspozon hareketlerinin doza bağlı olarak değişip değişmediği
- ✓ Farklı tuz konsantrasyonlarında ilgili çeltik varyetelerinin retrotranspozon hareketlerinin doza bağlı olarak polimorfizme neden olup olmadığı
- ✓ Farklı tuz konsantrasyonlarında ilgili genlerin anlatım seviyelerinin doza bağlı olarak değişip değişmediği
- ✓ Farklı tuz konsantrasyonları ile farklı dokuların (kök ve yaprak) ROS üretimi arasındaki ilişkinin belirlenmesi
- ✓ Farklı tuz konsantrasyonlarının farklı zaman dilimlerinde (15 ve 30 gün) Prolin, FDH ve MSR seviyeleri üzerine etkilerinin belirlenmesi,
- ✓ Uygulama süresi sonunda total gen anlatım seviyelerinin belirlenmesi,
- ✓ Kök ve yapraklarda gen anlatım seviyelerinin farklılıkları ve farklı tuz konsantrasyonlarının kök ve yaprak metabolizmaları üzerindeki etkilerinin saptanması hedeflenmiştir.

in vitro ortamda farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen on beş ve otuz günlük Kızıltan mutant, Kızıltan, Maraş Sarı çeltik ve dhan 47 çeltik varyetelerinin kök ve yapraklarında retrotranspozon polimorfizmleri (IRAP ve REMAP) ile ROS birikiminin tetiklediği Prolin, MSR ve FDH gen anlatımlarına etkilerinin genotip ve farklı tuz konsantrasyonlarına bağlı değişiklikler düzeyinde incelenmesi bu çalışmanın özgün tarafını oluşturmaktadır. Genotip ve tuz stres toleransında doza bağlı etkileri tuza toleranslı ve hassas varyeteler ile aynı varyetenin farklı dokularında retrotranspozon polimorfizmleri ve gen anlatımı üzerine etkileri karşılaştırılarak incelenmiştir. Tuz stresinin farklı konsantrasyon ve uygulama zamanı ile orantılı olarak bu genlerin anlatımlarını ve polimorfizmleri nasıl etkilediği gözlenmiştir.

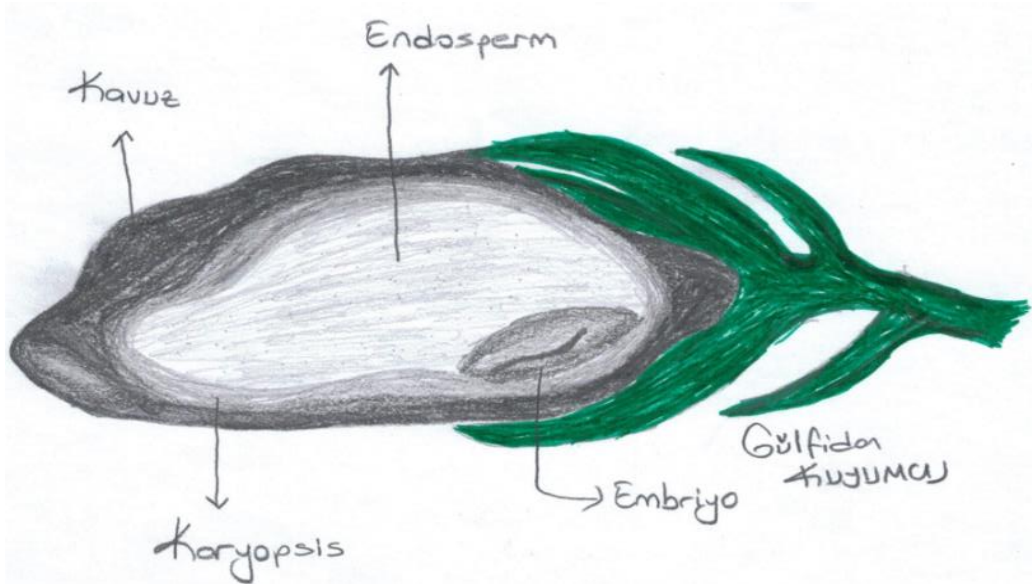
2.1 Çeltik (*Oryza sativa* L.)

Çeltik, zengin karbohidrat, protein, vitamin B3 (niasin) gibi biyomoleküller ve bakır gibi gerekli mineraller içeren buğdaygiller (Gramineae) ailesinin, *Oryza sativa* L. cinsinden otsu bir bitkidir. Bir çeltik danesi karyopsis olarak adlandırılan ve daneye yapışmadan etrafını saran iç kavuz ve kapçıktan oluşur. İnsanların tüketimi için önemli bir tahıl ürünü olan çeltik yaklaşık olarak 5000 yıldır tüketilmekte ve ekimi yapılan en önemli tarım ürünlerinden biri olarak kabul edilmektedir [1], [2], [3], [4], [5], [6]. Çeltik, $2n = 24$ kromozomlu ve altında birçok tür bulunan bir bitkidir [7], [37]. Günümüzde tanımlanan 25 türü bulunmaktadır. Bunlardan da sadece *Oryza sativa* ve *Oryza glaberrima* kültüre alınmaktadır [8]. "*Oryza glaberrima*" Afrika çeltiği olarakta bilinmekte ve sadece Batı Afrika'da yetişebilmektedir. "*Oryza sativa*" ise Asya çeltiği olarakta bilinmekte, ticari olarak yüzden fazla ülkede yetiştirilmekte ve tüm dünyaya yayılmış haldedir [9].

Çeltiğin ilk yerel çeşitlerinin Çin (*O. sinica*), Hindistan (*O. indica*) ve Endonezya'da (*O. javanica*) birbirinden bağımsız olarak yetiştirildiği bildirilmektedir. Orta çağ yıllarında Avrupa'da ekimine başlayan çeltiğin Türkiye'ye ise 500 yıl önce geldiği tahmin edilmektedir [1], [38]. Son 600 yılda ise Batı Afrika, Güney Amerika dahil çok farklı coğrafyalarda ekilmeye başlanmıştır [39]. Çeltik monokotil tek yıllık bir bitkidir (Şekil 2.1). Diploid kromozom sayısı 24 olan çeltik, genom projesi ilk tamamlanan bitkilerdendir ve genom büyüklüğü yaklaşık 389 megabazdır. Tahıllar arasında en küçük genom büyüklüğüne sahiptir. Bundan dolayı genom ve moleküler çalışmalarda model bitki olarak kullanılmaktadır [40]. Çeltik temel besin olarak tüketilen tüm tahıllar arasında sindirimi en kolay olan protein içeriğine sahip olmasına karşın vitamin açısından zengin bir besin değildir. Bol miktarda karbohidrat içermekte, tiamin, niasin, riboflavin, vitamin D gibi vitaminleri, demir ve kalsiyum başta olmak üzere birçok minerali ve lifleri içermektedir [6].

Çeltik, dünyada en fazla Çin, Hindistan, Endonezya, Bangladeş, Myanma, Tayland, Vietnam gibi ülkelerde üretilmekte ve dünya nüfusunun yaklaşık %60'ının başlıca gıda

kaynağıdır [41]. Çeltik, su içinde yetiştirilebilen tek tahıl cinsidir, kökleri suda erimiş oksijenden faydalanılabilmekle beraber, toprak isteği bakımından çok seçici olmayan bir bitkidir [11], [12], [18]. Çeltik, kuru toprak yapısı ile derin suya sahip su altındaki arazilerde ve deniz seviyesinden, 2500 metre rakıma kadar çıkabilen çok geniş bir değişim gösteren çevre şartlarında yetiştirilebilir. Bundan dolayı bu bitkinin yetiştiği alanlar çok geniş bir çeşitlilik göstermektedir [13]. Çeltik üreten başlıca ülkeler arasında Türkiye son sıralarda yer alır [16], [42]. Türkiye’de Cumhuriyetin ilk yıllarında sadece Maraş, Diyarbakır, Bursa ve Kastamonu ile sınırlı bir ekim alanına sahip olduğu bildirilmektedir. Çeltik üretiminin Türkiye’de bölgelere göre dağılımları ele alındığında en önemli ekim ve üretim bölgeleri çoktan aza doğru Marmara bölgesi, Karadeniz bölgesi, Güneydoğu Anadolu bölgesinde yapılmaktadır. İller arasında ise çoktan aza Edirne, Balıkesir, Samsun, Çorum ve Çanakkale en fazla çeltik ekilen yerlerdir [42]. Marmara Bölgesinde çeltik üretim alanlarının %71’i bulunmaktadır. Edirne de 46.730 ha üretim yapılmakta ve dört yüz beş bin ton çeltik üretimi ile ülkemizde toplam çeltik üretim alanlarının %40,05’lik kısmına sahiptir. 2019/20 sezonunda Türkiye’de bir önceki yıla göre çeltik üretimi %6,4 oranında artarak 1 milyon ton seviyesine ulaşmıştır. Çeltik verimi 791 kg/da olarak gerçekleşirken, en fazla çeltik üretimi yapan ilk on il, toplam üretimin %96’sını oluşturmuştur. 2019/20 sezonunda en yüksek verim 844 kg/da ile Çanakkale’de elde edilirken, Edirne 842 kg/da verim ile ikinci sırada kalmıştır [16], [42].



Şekil 2. 1 Çeltik tohumunun anatomik yapısı

2.2 Bitki Doku Kültürü

Temelde bir üretim yöntemi olan bitki doku kültürleri, ana bitkiden alınan hücre, doku veya organların “eksplant” olarak kullanılması ile yapay besiyerinde uygun ışık ve sıcaklıkta geliştirilmesidir [43]. Dolayısı ile bitki doku kültürü, çok hücreli canlılardaki her hücrenin, uygun koşullarda gelişim gösterebilme yeteneğine dayanmaktadır. Bitkilerde bu duruma “Totipotensi” denmektedir. Totipotent hücre, tüm organizmayı oluşturma kapasitesine sahip olan bir hücredir. Bitkilerin dokularından küçük bir parça (kök, gövde ve yaprak parçalarından) veya tek bir bitki hücresi alınarak, steril koşullarda, yapay besiyerinde kültüre alınması ile *in vitro* koşullarda tam donanımlı bir bitki elde edilebilmektedir [44]. Böylelikle kısa süre içerisinde çok sayıda bitki elde edilebilir. Yapay besiyeri; vitamin, su, bitki besin elementleri, gereken durumda bitki büyüme düzenleyicileri ile katılaştırıcının eklenmesiyle sterilize edilmiş bitki materyalinin steril kabin altında ve yine steril olan ağzı kapalı ışık geçirebilen kaplarda hazırlanmaktadır [45]. Mikroçoğaltım ve transformasyon, bitki doku kültürünün başlıca kullanım alanlarıdır. Çeltik kültürlerinin rejenerasyon kapasitesi genotipe bağlı olmakla birlikte kültür koşullarından da etkilenir [14], [15], [46]. Etkili ve rejenerasyon gösteren bir doku kültürü sisteminin varlığı bitki ıslahı, hızlı bitki üretimi, sekonder metabolit üretimi ve transformasyon çalışmalarında büyük önem taşımaktadır [43]. Transformasyon teknolojisi ile ekonomik değeri olan bir karakterin, istenen bir türe aktarılması günümüzde çokça kullanılan bir yöntemdir. Döl verebilen “fertile” transgenik çeltik, *Agrobacterium* [47], [48], elektroporasyon [49], [50], partikül bombardımanı [51], [52], polietilenglikol (PEG) yöntemi [52], [53], [54], [55], [56] ile elde edilebilmiştir. Günümüze kadar, çeltik genomuna çok sayıda gen aktarılmıştır [57], [58], [59], [60], [61], [62], [63]. Çeltik bitkisinde yüzlerce çalışma yapılmış ve ticareti yapılan yedi genetiği değiştirilmiş çeltik (*Oryza sativa* L.) geliştirilmiştir [64].

İlk doku kültürü deneyleri, yüksek yapılı bitkilerden alınan doku parçalarında gerçekleştirilmiş ve kültüre alınan doku parçalarında kallus oluşumu ile sonuçlanmıştır. Kallus ana bitkiden kesilip çıkartılan ve bölünme yeteneğini yitirmemiş olan organ ya da doku parçalarının *in vitro* koşullarda kültüre alınmasıyla oluşan morfolojik düzensizliğe sahip kütlelerdir. Kallus, parenkima hücre yığını olup, doğada genellikle kök veya gövdedeki yaralanan bölgelerde gelişir [43]. Kallus kültürü çalışmalarında besi ortamına 2,4-D hormon ilavesi ile kallus elde edilir [65], [66]. Çeltik tohumları MS temel besi

ortamında rahatlıkta büyüebilmektedirler. MS içeriğinde, bitki yaşamı için gerekli olan su, mikro ve makro besin elementleri ile vitaminleri içermektedir [14], [67], [68]. Farklı bitki büyüme düzenleyicilerinin tohum çimlenmesi üzerine etkisi, tohumdan indirekt bitki (kallus) eldesi, kallustan bitki rejenerasyonu ve alt kültüre alma, yaprak ve gövdeden bitki rejenerasyonu gibi Yapılacak çalışmanın içeriğine göre farklı bitki büyüme düzenleyicileri (NAA, IAA, 2,4-D, kinetin, BAP) kullanılabilir [69].

2.3 Bitkilerde Stres

Bitkilerin yaşamları süresince doğal olarak yetiştikleri alanlarda büyüme, gelişme ve çoğalmalarını engelleyebilen pek çok stresin etkisi altında kaldıkları bilinmektedir [19]. Bu etmenleri; iklim, toprak, doğal olmayan kirleticiler, hayvanlar ve diğer bitkiler ile rekabet şeklinde sıralamak mümkündür. Bitkilerde stres etmenlerinin biyotik veya abiyotik kökenli olabileceği birçok araştırmacı tarafından belirtilmiştir (Şekil 2.2) [22].



Şekil 2. 2 Bitkilerde yaygın abiyotik stres faktörlerinden kaynaklanan ortak tepkiler

2.4 Tuz Stresi

Toprak tuzluluğu, mahsul üretimi için önemli bir sınırlayıcı faktördür ve dünya çapında tarımda büyüyen bir sorundur. Topraklardaki yüksek tuz konsantrasyonlarının, çeşitli sulama uygulamalarının yanı sıra küresel iklimdeki değişikliklerin bir sonucu olarak artması beklenmektedir. Toprakta yüksek tuz konsantrasyonları altında, bitkiler suyu emme yeteneklerini kaybederek çeşitli metabolik yolları ve fotosentetik verimliliği olumsuz etkilediğinden büyüme ve verimde azalmaya yol açar. Tuzluluk, deniz veya sulama suyunda sodyum klorür (NaCl) birikmesinden kaynaklanan bir tür abiyotik strestir. Bitkilerde, tuz stresi mekanizması, Sodyum (Na) ve klorür (Cl) iyonlarının birikmesinden kaynaklanan stresin izlediği erken oluşan bir ozmotik stresi içerir [18]. Doğada en çok bulunan tuz formu NaCl olmakla birlikte, klorürler, sülfatlar, karbonatlar, bikarbonatlar ve boratlar gibi birçok farklı tuz türleri bulunmaktadır [70]. Tuzluluk, “primer” ve “sekonder” tuzluluk olmak üzere iki grup altında incelenmektedir. Oluşum nedenlerine göre oluşturulan bu gruplardan olan primer tuzluluk; ana kayaların ayrışması, tuz deposu okyanuslar ve iklimsel etmenlerden oluşmaktadır [71]. Sekonder tuzluluğun oluşma nedenleri ise; içeriğinde çeşitli tuzlar barındıran yeraltı suyu seviyesinin toprak yüzeyine kadar yükselmesi, aşırı otlama, tarımsal faaliyetler için kullanılan kimyasalların kontaminasyon oluşturması gibi etmenlerdir [72], [73], [74].

Tuzluluk, bitkilerde bütün metabolizmasına olumsuz etki eden bir abiyotik stres etmenidir. Tuzun, bitkilerin büyüme ve gelişmesini engellemesi en önemli olumsuz etkisi olarak belirtilmektedir. Dolayısıyla tuz stresinin büyüme ve gelişmesini engellemesi verim ve kalite kaybına neden olmakta ve kloroz ve lekelerin (nekrotik) oluşmasına yol açmaktadır. Tuzlu koşullar altında; toprak çözeltisindeki düşük su potansiyelinin uyardığı fizyolojik kuraklık, bitkilerdeki düşük su potansiyeli, düşük turgor ve hücrelerde iyon konsantrasyonunun artması sonucunda meydana gelen ozmotik değişiklikler bitki büyümesini etkileyen en önemli etmenlerdir. Tuzluluğun neden olduğu bu değişiklikler bitkilerde; hormonal dengesizliklere, stoma açılımının ve CO₂ alımının azalmasına, transpirasyon kaybına ve sonuçta büyümenin azalmasına neden olmaktadır [75], [76]. Sulama suyu olarak kullanılan suların içinde az veya çok miktarda çözülmüş tuzlar bulunmaktadır. Sulama sularının içerdikleri tuz miktarına göre yapılan sınıflandırma Tablo 2.1’de verilmiştir.

Tablo 2. 1 Tuz yoğunluğuna göre sulama sularının sınıflandırılması

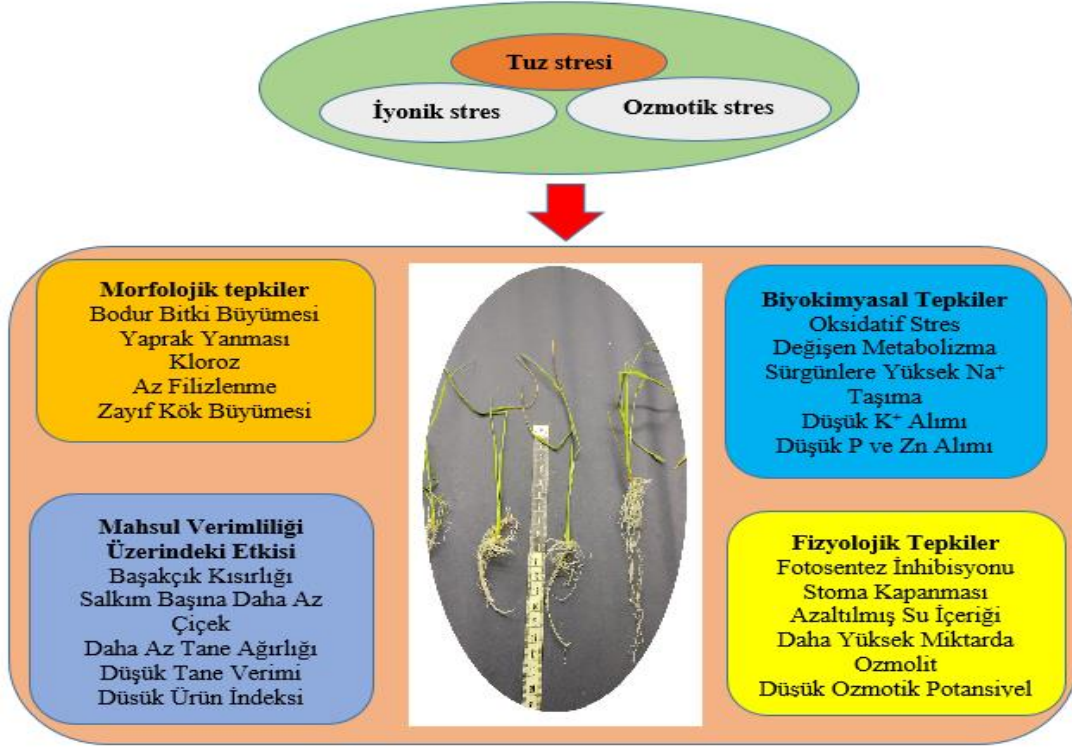
Suyun sınıfı	EC (dSm ⁻¹)	Tuz yoğunluğu (mg l ⁻¹)	Suyun tipi
Tuzsuz su	<0.7	<500	İçilebilir- Sulamada Kullanılabilir
Az tuzlu su	0.7-2	500-1500	Sulama Suyu
Orta tuzlu su	2-10	1500-7000	I. Derecede Drenaj ve Yeraltı Suyu
Yüksek tuzlu su	10-25	7000-15000	II. Derecede Drenaj ve Yeraltı Suyu
Çok yüksek tuzlu su	25-45	15000-35000	Çok Tuzlu Yeraltı Suyu
Tuzlu su	>45	>45000	Deniz Suyu

Sulu tarım yapılan arazilerde yeterli suyun temin edilemediği durumlarda tuzlu su kullanımı yapılmaktadır. Tuzlu suyun kullanımı zamanla topraklarda tuzun birikmesini sağladığı gibi bitki gelişimini, verimini ve ürün kalitesini de düşürmektedir [76], [77]. Ayrıca tuzlu suyun birikmesinin diğer nedenlerinden birisi de kurak ve yarı kurak bölgelerde elverişli suların yetersiz kalması nedeniyle daha az nitelikli suların kullanılmasıdır [20].

2.5 Tuz Stresinin Bitki Üzerindeki Etkileri

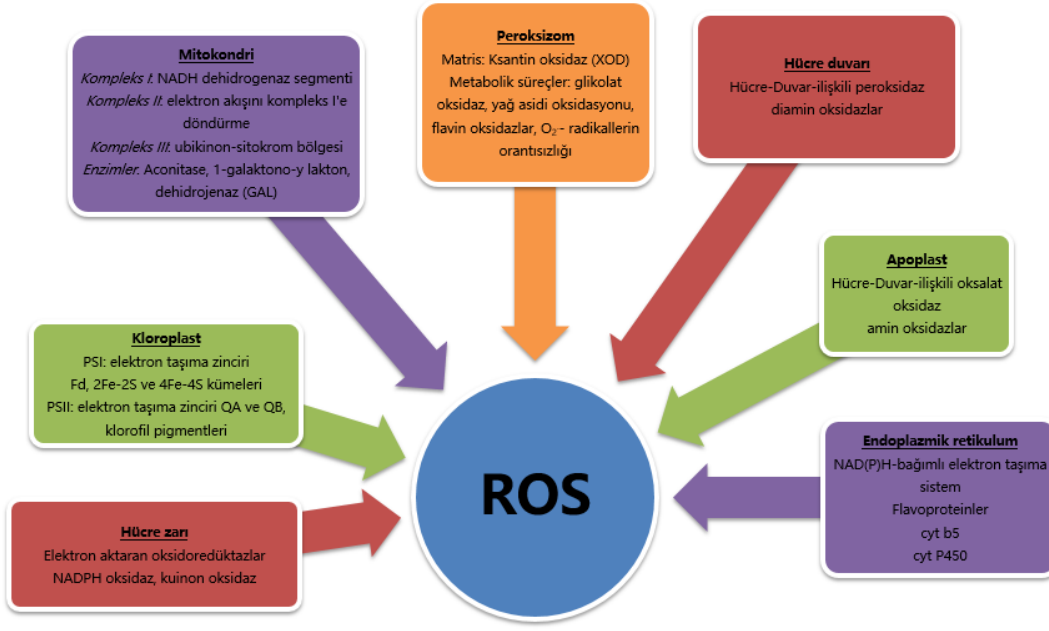
Tuz stresi, bitkiler üzerinde “toksik iyon” ve “ozmotik etki” olmak üzere iki şekilde etki eder. Osmotik etki, bitkilerin toprak çözeltisinden su alımını engellemekte, toksik iyon etkisi ise bitkilerdeki bazı fizyolojik olayları etkilemektedir [21]. Toprakta tuz miktarının artmasıyla bitkilerin kök rizosferinde ilk olarak dışsal osmotik stres oluşmaktadır. Bu da bitkilerin kullanılabilir su miktarının azalmasına neden olmaktadır. Bu olay aynı zamanda “fizyolojik kuraklık” olarak da adlandırılmaktadır [78].

Fizyolojik kuraklık hücre genişlemesinin azalmasına ve sürgün gelişiminin yavaşlamasına neden olmaktadır. Sonrasında meydana gelen toksik iyon stresinde ise, ortamdaki Na⁺ (Sodyum) ve Cl⁻ (Klor) iyon konsantrasyonlarının K⁺ (potasyum) ve Ca⁺² (kalsiyum) gibi iyon konsantrasyonlarından geçmesine neden olurlar [79]. Sodyum iyonunun kendisi bitkilerde doğrudan hücresel hasara neden olmakta ve kök bölgesinde yüksek miktarda sodyumun (Na⁺) birikmesi, antagonistik etkisinden dolayı Potasyum (K⁺)’un alımını engellemektedir (Şekil 2.3) [80].



Şekil 2. 3 Çeltik bitkilerinde tuzluluğa bağlı ana tepkiler

Dolayısı ile bitkiler tuzluluğun etkisini doğrudan ozmotik ve iyon stresi oluşturarak gösterirken, bitki de meydana gelen yapısal bozulmalar ve toksik bileşiklerin sentezlenmesinde tuzun etkisini dolaylı olarak göstermektedir. Bitkilerde ozmotik ve iyon stresi sonrasında meydana gelen değişimler ise sekonder etki olarak adlandırılmaktadır. Tuz stresi altındaki bitkilerde meydana gelen DNA, protein, klorofil ve zar fonksiyonuna zarar veren ROS sentezi; fotosentezin inhibisyonu, metabolik toksisite; K⁺ alımının engellenmesi ve hücre ölümü gibi birçok fizyolojik ve kimyasal olaylar sekonder etkiye örnek olarak sayılabilir [81], [82]. Bitkilerde ROS üretim yerleri şekil 2.4'te belirtilmiştir.



Şekil 2. 4 Bitkilerde reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretim yerleri [83]

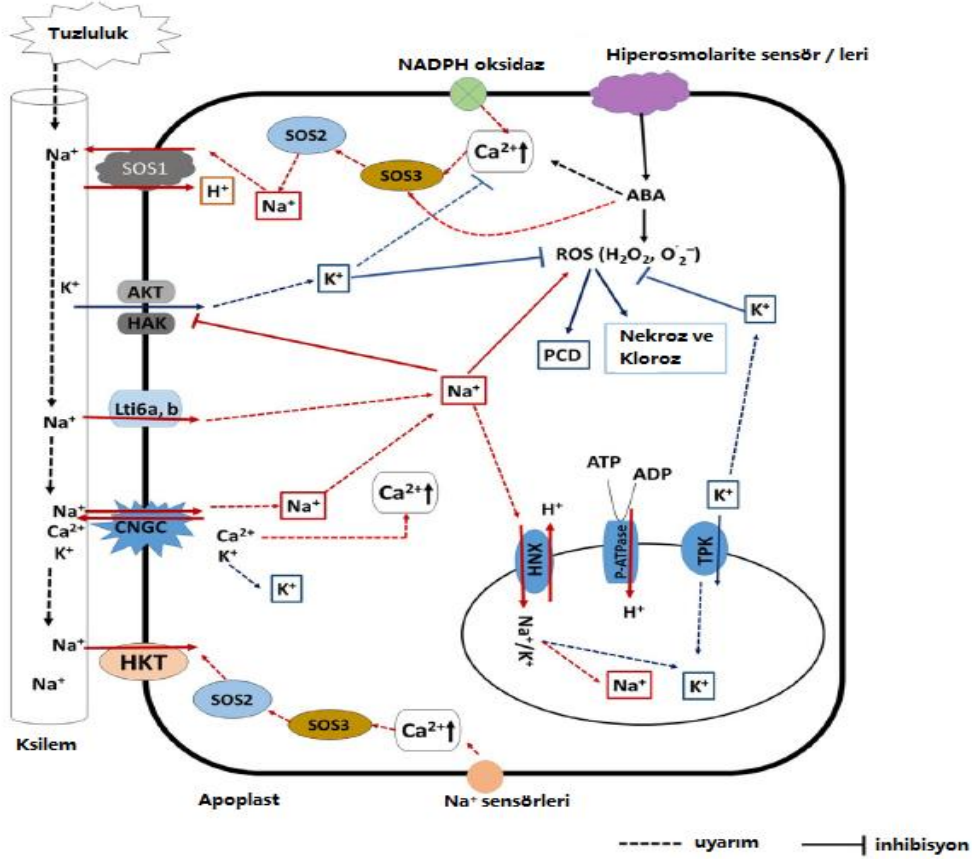
Tuz stresi bitkilerde sadece fizyolojik değişikliklere neden olmaz aynı zamanda organ gelişimini de etkilemektedir. Başlıca; tohum çimlenmesi [23] ve fide büyümesi [24], [25] örnek gösterilebilir. Ayrıca tuzun mitoz bölünmeye de olumsuz etkileri bulunmaktadır [26]. Buna bağlı olarak; bitkinin gövde ile kök uzunluğunda ve ağırlığında azalma, yapraklarda küçülme ve incelme ile sayılarında azalma, kutikula tabakasında incelme, vasküler doku farklılaşmasında ve gelişiminde azalma meydana gelir. Ayrıca, erken dönemde kökte lignifikasyon oluşumu da gözlenir [27], [28]. Tuz stresi, lipidlerin parçalanma ve modifikasyonunda görev alan lipoksigenaz enzim aktivitesinin artmasına da neden olur ve bu artış hücre zarında yer alan fosfolipidlerin miktarının azalmasını tetiklemektedir [29].

2.5.1 Tuzluluğun Çeltik Bitkileri Üzerindeki Etkisi

Toprak tuzluluğu çeltik üretimi için yeni bir sorun değildir. Kıyı bölgelerinde çeltik tarımı uzun zamandır tuzlu topraklarda yapılmaktadır. Dere yatakları, akarsular ve diğer su kütleleri her zaman belirli bir dereceye kadar tuzla kirlenir. Yeşil devrimin başlamasıyla birlikte çeltik üretiminin çoğu sulama suyuna bağımlı hale gelmiş ve kıyı kesimlerine tuz girişi son zamanlarda yaygın bir olgu haline gelmiştir. Genel olarak çeltik, büyüme ve verimden ödün vermeden az miktarda tuzlu suyu tolere edebilir. Bununla birlikte, büyük ölçüde çeltik tiplerine, türlerine ve büyüme evrelerine bağlıdır [22], [84], [85].

2.6 Tuz Stresine Karşı Geliştirilen Savunma Mekanizmaları

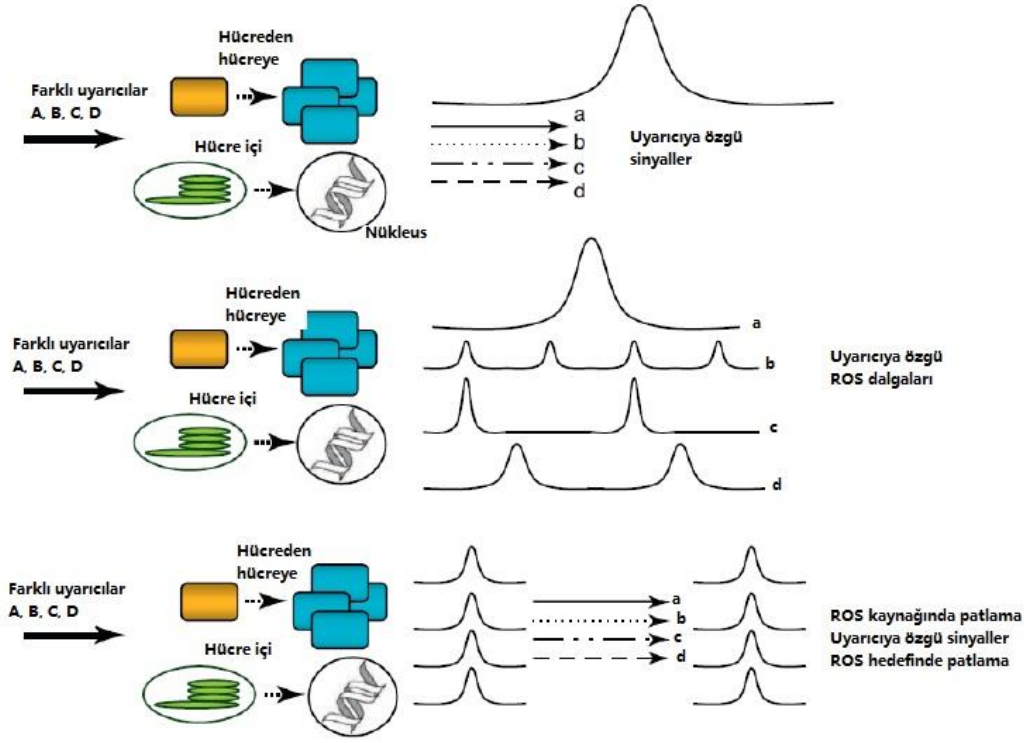
Tuz stresi, bitkide çok farklı etkilere sebep olurken bitkiler de bu strese karşı çeşitli tolerans mekanizmaları ile cevap verirler. Bu mekanizmalar 3 temel sınıfa ayrılabilir: doku toleransı, ozmotik tolerans ve iyonu ortamdan uzaklaştırma (şekil 2.5). Yüksek tuz konsantrasyonunun bulunduğu yapraklarda gerçekleşen doku toleransı, sitozolden Na⁺ uzaklaştırılması ve bu iyonun hücresel süreçlere zarar vermeden önce vakuolde biriktirilmesini kapsar [71], [86], [87]. Bu süreçte, iyon taşıyıcıları ve proton pompaları görev alırken, prolin, glisin betain ve sükroz gibi ozmotik koruyucular da sentezlenir. Ozmotik tolerans ise sürgünün büyümesini azaltan etkilerin minimum seviyeye indirilmesidir. Ayrıca algılama ve sinyalleşme mekanizmaları ile ilişki olabileceği de düşünülmektedir [88].



Şekil 2. 5 Tuzluluk altında çeltik bitkisi savunma tepkilerinin şematik bir model.

Tuzlu stres koşulları altında, Na⁺, NSCC yoluyla hücre zarından geçer, aktif potasyum taşıyıcısı (AKT) devre dışı bırakılır ve ana fizyolojik fonksiyonlara müdahale ederek bitki büyümesini sınırlayan membran depolarizasyonunu indükler, iyon homeostazını bozar, besin alımını azaltır ve artan hücresel Na⁺ seviyesi nedeniyle aşırı ROS ve lipid peroksidasyonu üretir. Büyük ROS birikimleri, dokuların nekrozuna yol açan PCD'yi başlatır. NSCC, seçici olmayan katyon kanalları; ROS, reaktif oksijen türleri; PCD, programlı hücre ölümü

Ozmotik tolerans, hızlı ve uzun-mesafeli sinyal gönderimi mekanizmalarını içermektedir. Sinyalleşme, ROS dalgaları aracılı olabileceği (şekil 2.6) gibi elektriksel sinyalleşme şeklinde de gerçekleşebilir [89], [90].



Şekil 2. 6 ROS sinyalinin özelleşmesinde farklı modeller. Farklı sinyaller (A, B, C, D), hücreler arası ya da hücre içindeki farklı organellerde sinyal yolları aracılığıyla iletilir [90]

İyon uzaklaştırma, çoğunlukla köklerdeki Na^+ ve Cl^- taşınım süreçlerinden oluşur ve bu moleküllerin toksik konsantrasyonda birikmesini engeller [88]. Dolayısı ile bitkiler iyonik tolerans mekanizmasını kullanarak toksik iyonların birikimini azaltarak veya tuza toleransı artırarak toksisiteyi engelleyebilirler. Yaprakla ilgili literatür çalışmalarında ozmotik toleransa oranla iyonik tolerans hakkında daha çok bilgi bulunmaktadır. Bunun nedeninin Na^+ ve Cl^- iyonlarının birikmesi ve daha kolay deney yapılabilirdiği için olduğu düşünülmektedir. Hem ozmotik tolerans hem de iyonik tolerans, plazma zarında ve tonoplastta birçok taşıyıcı ve onları kontrol eden moleküllerin görev yapmasıyla gerçekleşir [91], [92]. Bitkiler, tuz stresine maruz kaldıklarında aynı zamanda ozmotik koruyucu bileşikler de biriktirirler [22], [93]. Bunlar aynı zamanda “ozmolit” olarak da adlandırılmaktadırlar. Bu bileşenler bir miktar K^+ gibi temel iyonlar oluştursa da

çoğunlukla organik maddeler oluşturmaktadırlar [36], [94], [95], [96], [97]. Bitkilerde ozmotik koruyucuların miktarları türe/çeşide özgü olarak değişiklikler göstermekte ve bu miktar da dış ortamda artan ozmotik basınçla orantılı olarak değişim göstermektedir [98]. Aminoasit olan Prolin aynı zamanda bir ozmolit görevi görmektedir. Prolin yüksek yapılı bitkilerde yaygın olarak bulunmakta ve tuz stresi altında diğer aminoasitlere göre daha fazla birikmektedir [99]. Prolin, sitozolde birikmekte ve sitoplazmanın ozmotik düzenlenmesinde görev almaktadır [100]. Prolinin bu görevinin dışında membranlar ve proteinlerin stabilizasyonu sağlama, serbest radikallerin yakalanması, hücrel redoks potansiyelinin korunması ve DNA hasarlarının engellenmesi gibi çok önemli biyokimyasal süreçlerde de rol oynadığı düşünülmektedir. Prolin stres koşulları ortadan kalktığında hızlıca yıkıma uğramaz [101], [102], [103], [104], [105], [106], [107],[108].

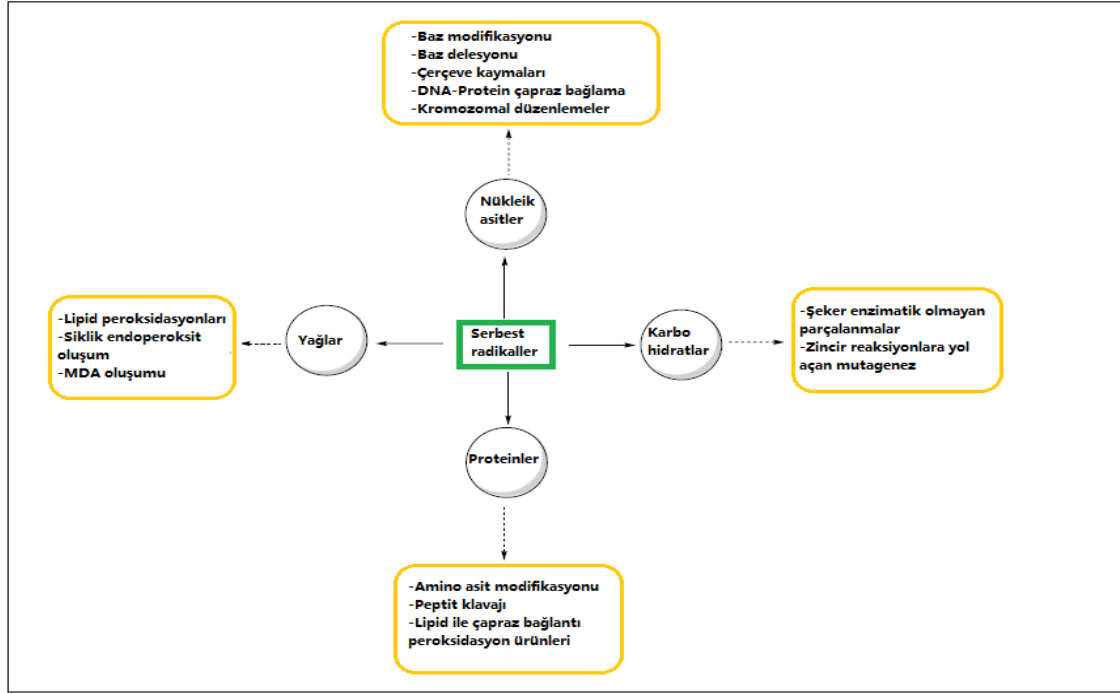
2.7 Antioksidan Savunma

Serbest radikaller, diğer moleküllerle kimyasal reaksiyonlara karşı oldukça kararsız ve aktif olan eşleşmemiş elektronlara sahip atomlar, moleküller veya iyonlardır. Üç elementten türerler: oksijen, azot ve kükürt. Örneğin, oksijen merkezli serbest radikaller ROS olarak bilinir ve süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil (HO^{\cdot}), peroksil (ROO^{\cdot}), alkoksil (RO^{\cdot}) ve nitrik oksit (NO^{\cdot}) içerir. Hidroksil ve alkoksil serbest radikalleri çok reaktiftir ve yakın hücrelerdeki moleküllere hızla saldırır ve muhtemelen bunların neden olduğu hasar kaçınılmazdır ve onarım işlemleriyle giderilir. Öte yandan, $O_2^{\cdot-}$, NO^{\cdot} ve lipid hidroperoksitler daha az reaktiftir [109], [110], [111]. Bu ROS radikallerine ek olarak, canlı organizmalarda singlet oksijen (1O_2), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hipokloröz asit ($HOCl$) gibi radikal olmayan başka ROS'larda bulunmaktadır [112], [113]. Tablo 2.2'de bazı reaktif oksijen ve reaktif nitrojen türleri belirtilmiştir.

Tablo 2. 2 Reaktif oksijen türleri (ROS), reaktif nitrojen türleri (ROS) ve serbest radikal olmayan türler

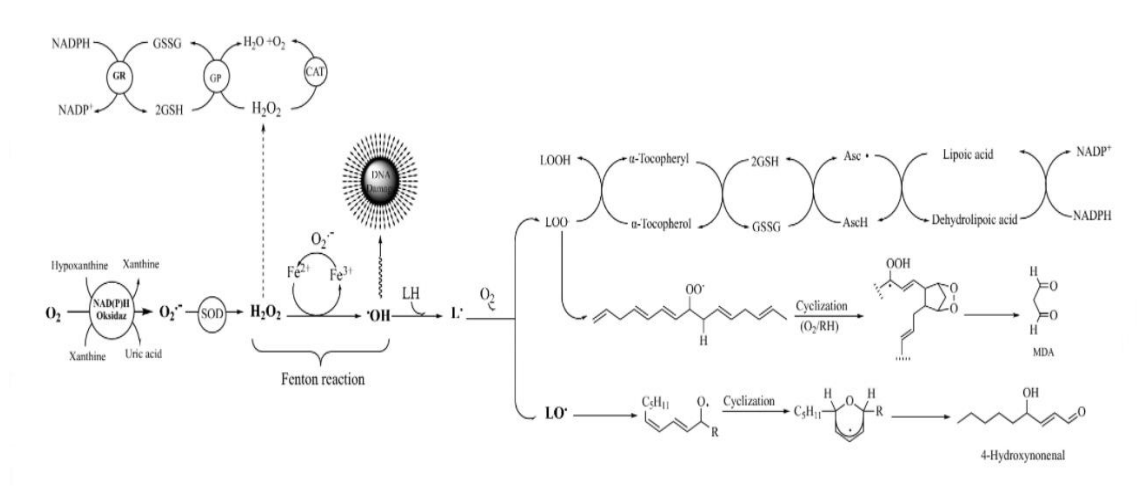
Reaktif Oksijen Türleri		Serbest Radikal Olmayan Türleri	
Hidroksil Radikali	HO·	Hidrojen Peroksit	H ₂ O ₂
Superoksit radikali	O ₂ ⁻ ·	Singlet oksijen	¹ O ₂
Hidroperoksil Radikali	HOO·	Ozon	O ₃
Lipid radikali	L·	Lipid Hidroperoksit	LOOH
Lipid peroksil Radikali	LOO·	Hipoklorit	HOCl
Peroksil Radikali	ROO·	Peroksinitrit	ONOO
Lipid Alkoksil Radikali	LO·	Dinitrojen Trioksit	N ₂ O ₃
Azot Dioksit Radikali	NO ₂ ·	Nitröz Asit	HNO ₂
Nitrik Asit Radikali	NO·	Nitril Klorür	NO ₂ Cl
Nitrosil Katyon	NO ⁺	Nitroksil Anyonu	NO ⁻
Thiyl radikali	RS·	Peroksinitröz asit	ONOOH
Protein radical	P·	Nitröz Oksit	N ₂ O

ROS'lar, oksidatif stres ve antioksidan koruma arasında bir denge kurarak hücre homeostazının korunmasını sağlarlar. Hücre homeostazı, hücre ve canlı organizmalar için çok önemlidir ve canlı organizmalar bunu bir antioksidan savunma sistemi ile başarırlar [114], [115]. ROS, normal hücrel metabolizma sırasında canlı organizmalarda meydana gelir ve lipidler, karbohidratlar, nükleik asitler ve proteinler gibi kararlı biyomoleküllere hasar verebilir (Şekil 2.7) [116]. Canlı organizmalar sürekli olarak metabolizmanın yan ürünleri, normal solunum ve ksenobiyotiklerin otoksidasyonu veya birçok hastalığa neden olan stresler sonucunda ROS'a maruz kalırlar [117]. Oksidatif stres, ROS ve antioksidan savunma arasındaki dengesizliğin bir sonucudur [113].



Şekil 2. 7 Serbest radikallerin özet biyolojik hedefleri

Oksidatif stres, bir dizi hücrel işlevi de-regüle eder ve ROS'un organizmanın antioksidatif savunmasını bastırdığı çeşitli patolojik koşullara yol açarak, yukarıda belirtilen biyolojik makromoleküllerin oksidatif modifikasyonuna, doku hasarına ve birçok hastalığın temeli olarak hızlandırılmış hücrel ölüme yol açar [118], [119]. ROS ile ilgili olarak, reaktif türlerin üretimine yol açan reaksiyonlar şekil 2.8'de gösterilmektedir.



Şekil 2. 8 ROS oluşumuna yol açan reaksiyonlara ve etkilerine genel bakış. SOD süperoksit dismutaz enzimi, CAT katalaz enzimi, GR Glutasyon redüktaz, GP glutasyon peroksidaz

2.7.1 Antioksidanlar

Antioksidanlar, ROS'un oksidatif süreçlerini ve zararlı etkilerini azaltmak için hem gıda sistemlerinde hem de insan vücudunda hayati bir rol oynamaktadır [120], [121]. Gıda sistemlerinde, lipid peroksidasyonunu geciktirmek ve sekonder lipid peroksidasyon ürününün oluşumu, besleyici antioksidan moleküllerin kullanılmasıyla önlenir, böylece depolama sırasında gıda ürününün lezzetini, rengini ve dokusunu korumaya yardımcı olur [120], [122]. Ayrıca, antioksidanlar amino asitleri azaltmada yardımcı olmasının yanı sıra lipid türevi karbonillerin proteinler ile etkileşimi sonucunda protein fonksiyonunda bir değişikliğe yol açıp protein oksidasyonuna neden olurlar [118]. Antioksidanlar, diğer moleküllerin oksidasyonunu inhibe edebilen moleküllerdir. Gıda açısından, antioksidanlar, “okside olabilen bir substratınkine kıyasla düşük konsantrasyonlarda mevcut olduğunda, o substratın oksidasyonunu önemli ölçüde geciktiren veya inhibe eden herhangi bir madde” olarak tanımlanmış, ancak daha sonra onları “geciktiren, önleyen veya hedef molekülün oksidatif hasarını ortadan kaldıran madde” olarak düzeltilmiştir [113]. Başka bir tanımda, antioksidanlar, “doğrudan veya dolaylı durumlarda ROS'u temizleyen veya antioksidan savunmalarını yukarı regüle (up-regulate) etmek veya ROS üretimini inhibe eden bir madde” olarak tanımlanır [123].

Antioksidan bileşikler, işleme ve depolama sırasında gıda ve farmasötik ürünlerin bozulmasının ana nedenlerinden biri olan lipid peroksidasyon sürecini geciktirerek serbest radikalleri temizleyebilir ve raf ömrünü uzatabilir [122]. Antioksidanlar ayrıca insan vücudunu serbest radikallerden ve ROS etkilerinden koruyabilir. Lipid peroksidasyonunun yanı sıra birçok kronik hastalığın ilerlemesini geciktirirler. Son yıllarda, alternatif doğal ve güvenli gıda antioksidan kaynaklarının belirlenmesine ve özellikle bitki kaynaklı doğal antioksidanların araştırılmasına büyük ilgi duyulmaktadır. Antioksidanlar, oksidasyonun radikal zincir reaksiyonlarını önlemek için sıklıkla gıdalara eklenir ve reaksiyonun sona ermesine yol açan başlama ve yayılma adımını engelleyerek etki eder ve oksidasyon sürecini geciktirir [124], [125]. Antioksidanlar, temel olarak gıda ürünlerinin duyuşal veya besinsel nitelikleri üzerinde herhangi bir olumsuz etki olmaksızın raf ömrünü uzatmak gibi benzersiz özellikleri nedeniyle gıda katkı maddelerinin vazgeçilmez bir grubu haline gelmiştir. Bununla birlikte, gıda sisteminde kullanılacak antioksidanlar ucuz, etkili ve düşük konsantrasyonlarda toksik olmamalıdır. Antioksidanlar son derece kararlı olan, işlem içinde fonksiyonunu devam ettirebilen,

kendine ait kokusu, tadı veya rengi olmayan; ürüne dahil edilmesi kolay olan ve üründe iyi çözünürlüğe sahip olan moleküllerdir [126]. Gıda bileşenlerinin antioksidan kapasitesinin belirlenmesi için antioksidan aktivite ve antioksidan kapasite terimleri sıklıkla birbirinin yerine kullanılır ancak farklı anlamlara sahip oldukları bilinmelidir. Aktivite, spesifik bir antioksidan ile spesifik bir oksidan arasındaki reaksiyonun hız sabitini ifade eder. Kapasite, bir numune tarafından temizlenen belirli serbest radikal miktarının bir ölçüsüdür [127].

Antioksidanlar vücutta sentezlenebildiği gibi diyet ile dışarıdan da alınabilirler. Canlılarda antioksidan savunma sistemi iki ana gruba ayrılır. Bunlar; endojen (metabolizmada üretilen) ve ekzojen (dışarıdan diyet ile alınan) antioksidan sistemleridir (Şekil 2.9) [128]. En önemli doğal antioksidanlar arasında askorbik asit (C vitamini), α -tokoferol (E vitamini), β -karoten (A vitamini) ve polifenolik yapıdaki bileşikler sayılabilir. Doğal antioksidanlar en çok yeşil sebzelerde [129], tohumlarda [130], baklagiller ve meyvelerde, A vitamini, C vitamini, E vitamini ve bazı B vitamini içeren besinlerde bulunur (Tablo 2.3) [131].

Tablo 2. 3 Bazı antioksidanlar

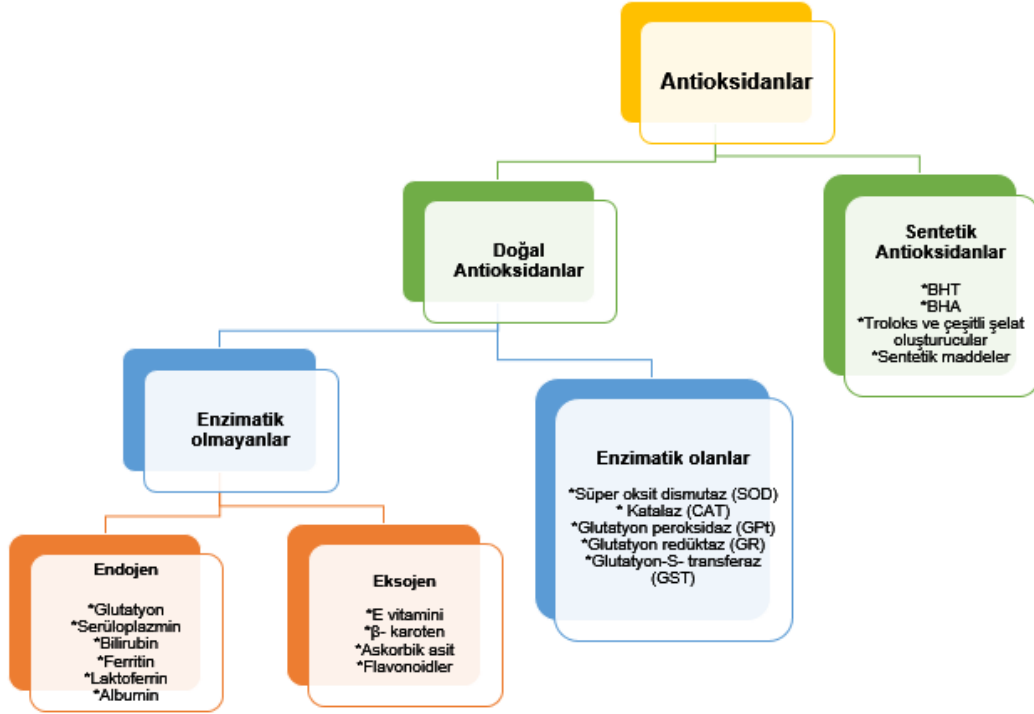
Antioksidan enzimler	Enzim yapısında olmayan antioksidanlar
Süperoksit dismutaz	A Vitamini (β -Karoten)
Katalaz	C Vitamini (Askorbik asit)
Süperoksit redüktaz	E Vitamini (α -Tokoferol)
Peroksiredoksinler	Proteinler (transferin, ferritin, albumin, bilirubin)
Peroksidazlar	Hormonlar (serotonin, melatonin)
Glutatyon redüktaz	Fenolik bileşikler (polifenoller, flavonoidler)
Glutatyon S-transferaz	Lipok asit, ürik asit, glutatyon

Ayrıca sebzelerde, kabuklu ve kabuksuz meyvelerde, tohumlarda, yapraklarda, çiçeklerde ve köklerde bol miktarda bulunmaktadır [132].

Bir antioksidanın aktivitesi şu faktörler ile belirlenir:

1. Hidrojen veya elektron donör aracı olarak gösterebildiği re-aktivite (Genelde indirgeme potansiyeline bağlıdır).
2. Antioksidandan türeyen radikalın akıbeti.

3. Diğer antioksidanlarla etkileşim yeteneği.
4. Geçiş metali şelatlama potansiyeli [133].



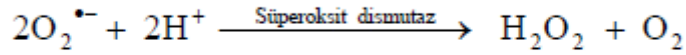
Şekil 2. 9 Antioksidanların sınıflandırılması

Bitkilerde antioksidan savunma, enzimatik (süperoksit dismutaz - SOD, katalaz - CAT, askorbat peroksidaz - APX, glutasyon redüktaz - GR, glutasyon peroksidaz - GPX, dehidroaskorbat redüktaz - DHAR) ve enzimatik olmayan sistemler (vitamin C, vitamin E, karotenoidler ve fenolik bileşikler) olmak üzere iki farklı şekilde gruplandırılmışlardır [134].

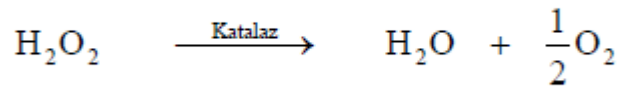
2.8 Enzimatik Antioksidanlar

Metalloenzim Süper Oksit Dismutazın hücre içi en etkili enzimatik antioksidan olduğu belirtilmekte ve bitkilerde ROS moleküllerinin zararlı etkilerine karşı savunma mekanizmasında görev alan ilk enzim olduğu düşünülmektedir. SOD enzimi, O_2^- molekülünün dismutasyonunu katalizleyerek H_2O_2 ve O_2 üretilmesini sağlamaktadır. Dolayısıyla Haber-Weiss reaksiyonu aracılığıyla O_2^- molekülünü ortadan kaldırarak OH $^-$ üretiminin oluşma riskini azaltır. Bu reaksiyon Enzim aracılı gerçekleştiği için kendiliğinden oluşan reaksiyondan 10.000 kat daha hızlı gerçekleşmektedir [134]. SOD

enzimi, yapısındaki metal kofaktörlerine göre 3 tip olarak celenmektedir. Bu tipler Cu/Zn-SOD (bakır/çinko-SOD), Mn-SOD (manganez-SOD) ve Fe-SOD (demir-SOD). Bu üç SOD molekülü kloroplast, sitozol, mitokondri ve peroksizomlar olmak üzere farklı bölgelerde bulunur. Cu/Zn-SOD izozimleri, sitozolde ve bitkilerde kloroplastlarda [135], Mn-SOD, ökaryotik hücrelerde mitokondri ve peroksizomlarda [136], Fe-SOD izozimleri ise kloroplastlarda nadir olarak bulunur [137], [138].



CAT enzimi de enzimatik antioksidanlardanır ve tetramerik hem içeren, H₂O₂'yi H₂O ve O₂ moleküllerine katalizleyen bir enzimdir. Böylece H₂O₂'den Fenton reaksiyonu ile hidroksil radikalının oluşumu engellenir [139]. Tüm enzimler içerisinde en yüksek “turnover” oranına sahip enzimlerden biridir. Bir CAT molekülü, dakikada yaklaşık 6 milyon H₂O₂ molekülünü H₂O ve O₂'ye çevirir. CAT enziminin önemi peroksizomlarda, yağ asitlerinin β- oksidasyonu, fotorespirasyon ve pürin katabolizmasında yer alan oksidaz enzimlerinin ürettiği H₂O₂'yi ortadan kaldırdığı için tüm hücre için çok önemi bulunmaktadır [134].



Bitkilerde NAD⁺- Bağımlı Format Dehidrogenaz (FDH) enziminin bitkilerde stres proteinlerine ait olduğunu göstermektedir. Kuraklık, sıcaklık değişimi, ağır metal kirliliği, kimyasal ajanlara maruz kalma, hipoksiya, patojenik mikroorganizma saldırısı gibi durumlarla bitkilerde FDH sentezinin arttığı farklı yayınlarda bildirilmektedir [140]. NAD⁺- bağımlı FDH'lerin solunum zincirine NADH sağladıkları gösterilmiştir 18. Tarihsel olarak, ilk bitki FDH aktivitesi, fasulye (*Phaseolus vulgaris*) tohumlarında tanımlanmıştır. FDH transkript birikimi, hipoksi, dondurucu soğuk, kuraklık, patatesten karanlık ve yaralama gibi çeşitli abiyotik stresler altında ve *A. thaliana* yapraklarının yanı sıra arpa kökündeki demir eksikliği bildirilmiştir [141], [142]. Birçok bitkide FDH mitokondride lokalize olmakla birlikte *A. thaliana*'dan izole edilen FDH ile ilgili çalışmalar enzimin




kloroplastta da taşındığını göstermektedir. Belli koşullarda kloroplastta lokalize olan AthFDH'in FDH'in ters yöndeki reaksiyonunu yani CO₂'in formata dönüşümünü katalizlediği düşünülmektedir [143]. FDH'in kloroplasttaki lokasyonu mitokondride normal olarak mümkün olandan daha yüksek enerjili elektron kaynağı sağlayabilmekte ve indirgenme reaksiyonlarını gerçekleştirebilmektedir 78. Araştırmalar hücre içinde meydana getirilen formatın diğer enzimatik reaksiyonlar tarafından tüketildiğinde FDH'in etkili bir şekilde CO₂'i formata indirgediğini göstermektedir [140], [144], [145].

2.9 Genetik Çeşitlilik (Varyasyon) Analizleri

Genetik çeşitlilik (Varyasyon), organizmalar ve türler arasındaki farklılık olarak tanımlanmaktadır [146]. Genetik çeşitlilik kalıtsal madde değişimleridir ve başlıca mutasyon ile rekombinant yollarla meydana gelmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda kalıtım maddesinde herhangi bir değişim olmadan gen anlatımında oluşan değişimlerin (epigenetik değişimler) de genetik çeşitliliğin çok önemli bir kısmını oluşturduğu açığa çıkartılmıştır. Meydana gelen bu genetiksel değişikliklerin normal ve farklı olanı karşılaştırılarak açığa çıkarılması genetik araştırmaların temelini oluşturmaktadır [147], [148], [149]. Bu bakımdan genetik çeşitlilik analizleri genetikçiler için çok önemlidir. Çeşitlilik genler içerisinde oluştuğunda alleller ve haplotipler, bireyler arasında oluştuğunda kişisel heterozigotluk, bir populasyonda oluştuğunda allel frekansları, ortalama heterozigotluk, ortalama polimorfikallel ve lokus oranı vb. kavramlar, populasyonlar arasında oluştuğunda da farklılaşma ve genetik uzaklıklar vb. kavramlar söz konusudur [149].

2.10 Genetik Çeşitlilik (Varyasyon) Mekanizmaları

Mutasyon, kalıtım maddesini oluşturan nükleotidlerin sayı, sıra ve çeşidinde rastgele meydana gelen kalıtsal değişimler olarak tanımlanmaktadır [146]. Rekombinasyon dışarıdan bir müdahale ile kalıtım materyalinden yeni bir düzenlenme ile değişikliklerin meydana gelmesidir. Ökaryotik organizmalarda bu yeni düzenlenmelere başlıca mayoz bölünme sırasındaki crossing-over ve metafaz I'deki bağımsız dizilim esnasında rastlanmaktadır [150]. Genetik maddeki olası değişimler şekil 2.11'de verilmiştir.

Nükleotid  Sitogenetik	Tek baz değişimleri <ul style="list-style-type: none"> Nokta mutasyonları (1 /800 bp) 	 Kopya sayısı varyasyonları  Yapısal varyasyonlar
	Küçük insersiyon / delesyonları <ul style="list-style-type: none"> Çerçeve kayması, mikrosatellit, minisatellit 	
	Hareketli elementler <ul style="list-style-type: none"> Retroelement insersiyonları (300 bp- 10 kb) 	
	Büyük düzeyde genomik kopya sayısı varyasyonları (>10 kb) <ul style="list-style-type: none"> Büyük Delesyonlar Segmental Duplikasyonlar 	
	Lokal düzenlemeler	
	Kromozomal Varyasyonlar <ul style="list-style-type: none"> Translokasyon, inversiyon, füzyon 	

Şekil 2. 10 Genetik çeşitliliğe yol açan olaylar

2.11 Genetik Çeşitlilik (Varyasyon) Analiz Tipleri

Genetik çeşitliliğin incelenmesi için birçok farklı tipler bulunmaktadır.

2.11.1 Morfolojik Analizler

Bu analiz yönteminde çiçek rengi, tohum biçimi gibi klasik veya gözlenebilen çeşitli karakter ve fenotipik özellikler incelenmektedir. Morfolojik analizlerde genellikle dominant / resesif ilişkiler incelenmektedir. Diploid organizmalarda her bir lokusta her gen için iki allel bulunmaktadır. Bu analiz yönteminde heterozigot bireyler belirlenmemektedir çünkü karakterler çevresel faktörlerden etkilenmekte, epistatik ve pleotropik etkiler altında kalabilmekte. Bu tip analizler kolaydır fakat sayı bakımından sınırlılık gösterirler [151].

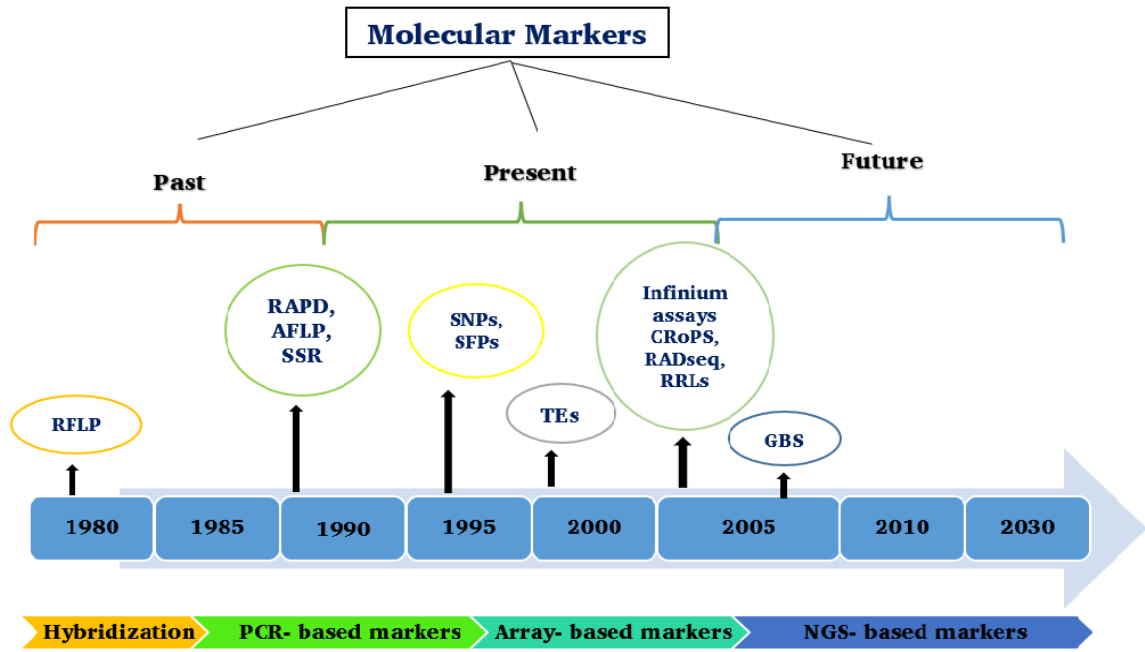
2.11.2 Biyokimyasal Analizler

Morfolojik karakterler çevresel faktörlerden etkilendiklerinden dolayı doğrudan gen ürünü olan proteinlerin analizleri gibi birçok analiz işlemleri için “biyokimyasal çeşitlilik analizleri” yapılmaktadır. Bu analiz metoduna sınırlılık olarak lokus sayısı azlığı ve çeşitlilik oranlarının düşük olması gösterilebilir. Ayrıca bu tip analizlerde kodominant etkiler de incelenebilmektedir [152].

2.11.3 Moleküler Analizler

Günümüzde bir genomun herhangi bir gen bölgesi ya da gen bölgesi ile ilişkili DNA parçaları incelenebilmekte ve tanımlanabilmektedir. Tüm genom analizleri yapılabildiği

gibi tek bir baz değişimi bile rahatlıkla incelenebilmekte ve izlenebilmektedir. Bu değişimler için yöntemler geliştirilmiş ve kolaylıkla uygulanabilmektedir. Bu analizler moleküler markır (markır) olarak tanımlanan DNA parçalarına dayanmaktadır [153]. Bu parça bir gen olabileceği gibi kısa birkaç diziden de oluşabilmektedir. Moleküler markırlar genomda hangi kromozomda ve bölgede olduğu bilinen DNA parçalarıdır. Markırlar kullanılarak tanımlama, sınıflandırma, genom haritalama, kimliklendirme ve tanı için kullanılmaktadırlar [154]. 1980'lerde ıslah programlarına yardımcı olmak için markır uygulanmasını kolaylaştıran önemli ilerleme, polimeraz zincir reaksiyonunun (PCR) ortaya çıkması olmuştur. Bireyleri kolayca genotiplendirmek için moleküler markırların sayısında bir artış ve çoğu lokusta daha yüksek polimorfizm seviyelerinin keşfi kısa sürede elde edilmiş ve zamanla birçok markır yöntemleri geliştirilmiştir (Şekil 11) [151], [155], [156], [157].



Şekil 2. 11 Geçmişten günümüze markırların gelişim tarihleri

Moleküler markırlar PCR temelli, PCR temelli olmayan ve ileri teknikler (genomik analizler) olarak gruplandırılmaktadır. Markır analizleri ise; Restriksiyon enzim kullanımı, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), Restriksiyon kesimi sonrası için PCR uygulaması olmak üzere üç temel yöntem ile yapılmaktadır. Bu temel yöntemlerden çeşitli analiz yöntemleri geliştirilmiştir (Tablo 2.6) [149], [154], [158].

Tablo 2. 4 Geliştirilen markır sistemleri ve çalışma prensipleri

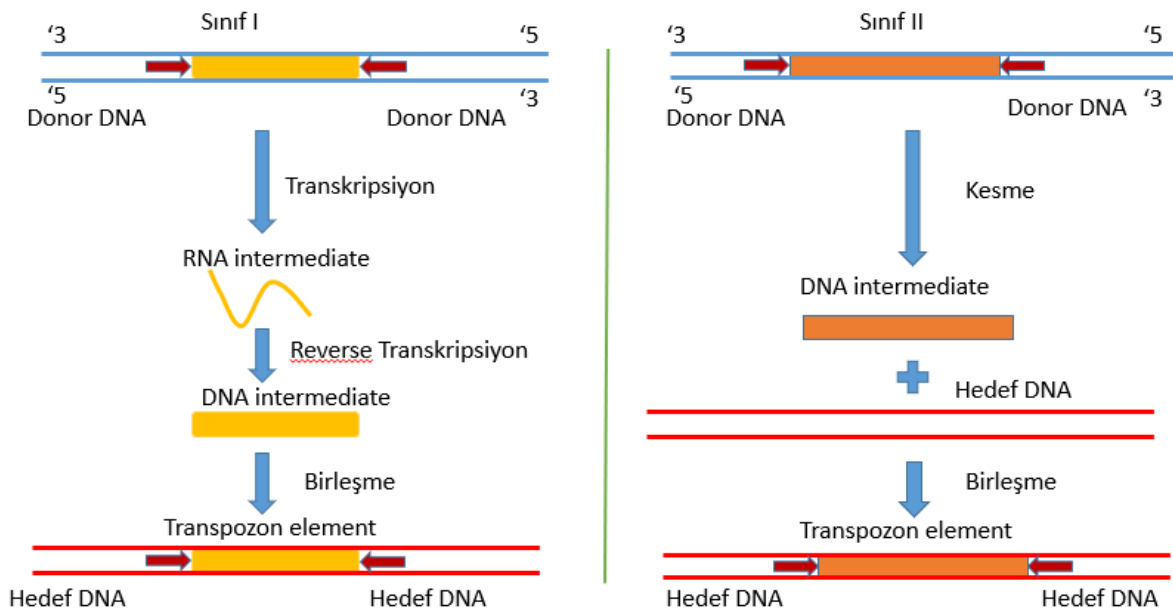
Grup		Markır Sistemi	Çalışma prensibi
1	Korunmuş DNA ve gen temelli markırlar. "Conserwed DNA Markers", CDMs"	CDDP "Conserved DNA-Derived Polymorphism"	Uzunluk polimorfizmini saptamak için korunmuş bitki genleri kısa evrensel ya da dejenere primerlerle çoğaltılır. Primer kombinasyonlarının kullanımı da mümkündür.
		PBA "Cytochrome P450 Based Analogues"	Sitokrom P450 monoksijenann ekson-intron bölgelerine uygun primerler kullanılır. Polimorfizm gen ailesi üyelerinin rastgele dağılımına göre saptanır.
		TBP "Tubulin Based Polymorphism"	Tek dejenere primer çiftleri, β -tübolin eksonlarının korunmuş bölgelerine uygun olarak tasarlanır, farklı tübülün izotiplerinden intronlar çoğaltılır.
		ITP "Intron Targeting Polymorphism"	Polimorfizmin belirlenmesi için seçilen intron bölgeler, eksone yakın bölgelere göre tasarlanan primerlerle çoğaltılır.
2	Tranposon temelli markırlar "Transposabl e Element Markers TEMs"	IRAP "Inter-Retrotransposon Amplified Polymorphism"	LTR dizilerine uygun primerler kullanılarak, iki retrotransposon arasındaki iç diziler çoğaltılır.
		REMAP "Retrotransposon Microsatellite Amplified Polymorphism"	LTR ye özgü bir primer ve ISSR'ye özgü bir primer kullanılarak polimorfizm saptanır
		ISAP "Inter-SINE Amplified Polymorphism"	SINE elementlerin içindeki çeşitli bölgelere özgü tasarlanan primerlerle komsu genom bölgeler çoğaltılır.
		iPBS "inter-Primer Binding Site"	Primerler bas basa "head-to-head" olarak bulunan LTR retrotranspozonlarının PBS bölgesine bağlanır. Çoğaltılan ürünler LTR bölgelerini ve genomik bölgeleri içerir.
		SSAP "Retrotransposon- Based Sequence-Specific Amplification" Polymorphism"	DNA restriksiyon enzimleriyle kesilir. Adaptörler restriksiyon bölgelerine bağlanır. Çoğaltım, LTR'ye özgü ve seçici nükleotidleri içeren adaptörlere özgü primerlerle gerçekleştirir.
3	Direnc gen temelli markırlar "Resistance Gene Markers, RGMs"	RGAP "Resistance Gene Analog Polymorphism"	Direnc geni temelli analog parmak izleri, dejenere özel primerler ya da primer çiftleri ile üretilir. Bu primerler R-genlerinin korunmuş bölgelerine göre tasarlanır.
		NBS "Nucleotide-Binding Site"	Genomik DNA, adaptörler bağlandıktan sonra restriksiyon enzimleriyle kesilir. Adaptöre özgü ve R-gene özgü primerler kullanılarak direnc gen bölgelerinin parmak izleri üretilir.

Tablo 2.4 Geliştirilen markır sistemleri ve çalışma prensipleri (Devamı)

4	RNA temelli markırlar "RNA-Based Markers" RBMs	iSNAP "Inter Small RNA polymorphism"	Polimorfik bantlar elde etmek için primerler, küçük RNA'lara (small RNAs) ve komşu bölgelere özgü tasarlanır.
		cDNA- AFLP "cDNA - Amplified Fragment Length Polymorphism"	AFLP analizinde, cDNA kullanılır.
		cDNA- RFLP "cDNA- Restriction Fragment Length Polymorphism"	cDNA, RFLP analizinde prob olarak kullanılır.
		EST SSR "Expressed Sequence Tags Simple Sequence Repeat"	EST veri tabanları, SSR dizilerini bulmak için kullanılabilir ve mikrosatellitler için primer tasarlanır
5	Hedeflenen parmak izi markırlar "Targeted Fingerprint Markers, TFMs"	DALP "Direct Amplification of Length Polymorphisms"	Yaygın M13 dizileme primeri, -40 USP içeren bir ileri primer ve 3' seçici nükleotidler ile eşleşir, parmak izlerini üretir.
		PAAP "Promoter Anchored Amplified Polymorphism"	Bitki promotör bölgelerindeki dejenere bölgeler polimorfizmin belirlenmesi için kısa oligonükleotidlere eklenir.
		SRAP "Sequence- Related Amplified Polymorphism"	Primerler: 5' merkez bir dizi (AATT ya da CCGG) ve 3' ucunda üç değişik nükleotid içerir. Çoğaltım, iki aşamada gerçekleşir. İlk olarak, başlangıç ürünü oluşturmak için düşük sıcaklıkta yanlış eşleşmeler gerçekleşir. İkinci aşamada, ilk aşama sonucu elde edilen ürünler kullanılarak yüksek sıcaklıkta çoğaltım yapılır.
		TRAP "Targeted Region Amplified"	Bir SRAP primeri, EST dizileri kullanılarak tasarlanan bir primer ile polimorfizm beraber kullanılır.
		CoRAP "Conserved Region Amplification Polymorphism"	TRAP yönteminde olduğu gibi, EST dizilerinden rastgele primerler tasarlanır fakat SRAP yönteminde olduğu gibi sabit bir primer farklı bir merkez dizi (CACGC) içerir. Bu dizi bitki intronlarında sıklıkla bulunur.
		SCoT "Start Codon Targeted"	ATG başlangıç kodonları, polimorfik parçalar üretmek için rastgele primerlerle birleştirilir. Primerler tek başına kullanılabildiği gibi birlikte kullanılabilir.

2.12 Transpozonlar

Transpozonlar genom içinde yer değiştirerek mutasyonlara ve genomdaki DNA miktarlarında değişikliklere sebep olan DNA dizileridir [159]. İlk başlarda önemsiz olduğu düşünülen transpozonlar üzerinde çok az çalışma yapılmıştır. Daha sonra 1970 yıllarda *Drosophila melanogaster* ve *Saccharomyces cerevisiae* [160], [161], [162], 1980 yıllarında *Caenorhabditis elegans* ve insanda [163], 1990'lı yıllarda ise filamentli mantarlarda transpozonlar tanımlanmıştır [164]. Başta bitki genomları olmak üzere tüm ökaryot genomlarının büyük bir kısmı retrotranspozonlardan oluşmaktadır. Örneğin mısır genomunun %75'ten fazlası [165], insan ve çeltik genomunun yaklaşık %45'i [166], [167], buğday ve arpanın %80'ni [168] transpozonlardan oluşmaktadır. Bazı istisnalar dışında transpozonlar bütün genomlarda bulunmaktadır [169], [170], [171]. Transpozonlar farklı yapı ve transpozisyon mekanizmasına göre 2 sınıf olarak gruplandırılmaktadır. RNA transpozonları (Sınıf I, aynı zamanda "retrotranspozonlar" olarak da adlandırılmaktadır) ve DNA transpozonları (Sınıf II) olarak sınıflandırılmışlardır [172], [173]. Retrotranspozonlar RNA aracılı kopyala-yapıştır mekanizması ile çoğalırlar dolayısıyla genomda artışa neden olmaktadır (Şekil 2.13) [169], [174], [175], [176].



Şekil 2. 12 Ökaryotlarda transpozonların sınıflandırılması [172]

Bitkilerde transpozon çalışmaları genellikle filogenetik haritalama gibi çalışmalara yoğunluk verilmiştir [172], [175], [177], [178]. Bu çalışmalar daha çok PCR temelli markır

sistemleri kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Bitkilerde retrotransposon kararlılıklarının belirlenmesine yönelik geliştirilen birçok yöntem bulunmaktadır. Bunlar yaygın olarak kullanılan yöntemler; Inter Retrotransposon Amplified Polymorphism (IRAP) [179], Retrotransposon Microsatellite Amplified Polymorphism (REMAP), Retrotransposon Based Insertional Polymorphism (RBIP), Sequence Specific Amplified Polymorphism (SSAP), RAPD-Retrotransposon Amplified Polymorphism (RRAP) ve Inter Primer Binding Site Amplification (iPBS)'dir. Bu yöntemlerden birkaçının karşılaştırılması tablo 2.7'de belirtilmiştir [180], [181], [182].

Tablo 2. 5 Farklı transpozon sistemlerinin karşılaştırılması

Markır	Gerekçe	Yöntem	Kalıtım	Algılama	Özellikleri	Referans
IRAP	DNA yerleştirme	PCR	Baskınlık	Çok-lokus	Teknik sadelik; yükseltelen iki bitişik LTR- arasında retrotranspozonları.	[177]
REMAP	DNA yerleştirme	PCR	Baskınlık	Çok-lokus	Teknik sadelik; IRAP benzer ama amplifikasyon retrotransposon ve microsatellite lokus arasındır	[177]
RBIP	DNA yerleştirme	PCR	Eş baskınlık	Tek-lokus	Teknik sadelik; sekans bilgisi gerekir, filogenetik analiz için çok yararlıdır	[179]

2.12.1 Retrotranspozon Temelli Moleküler Markırlar (IRAP ve REMAP)

Bitki genomlarının en yaygın bileşeni olan retrotranspozonlar transkripsiyon ve entegrasyon seviyelerinde aktivite göstermektedirler. Retrotranspozonlar; uzun uç tekrarı (Long Terminal Repeat- LTR), LTR içermeyen, uzun ara nükleer elementler (*LINE*) ve kısa ara nükleer elementler (*SINE*) olmak üzere dört grupta incelenmektedirler. Retrotranspozonlar canlı genomlarının büyük çoğunluğunu oluşturmakta ve genom üzerinde yer değiştirebilmektedirler [184], [185], [186], [187], [184]. Genom üzerinde hareketli parçacıklar olduklarından kes-yapıştır ve kopyala-yapıştır olmak üzere iki farklı hareket mekanizması ile çalışmakta ve bu özelliklerinden dolayı tür içi çeşitliliği sağlamaktadır.

Bununla birlikte retrotranspozonlar, genomik DNA ve onların korunmuş uçları arasında yeni birleşme bağlantıları oluşturduğundan, markır olarak kullanılabilirler. Günümüzde bu özelliklerinden dolayı polimorfizmi tespit etmek için çeşitli markır sistemleri geliştirilmiştir. Bu markır sistemlerinin çalışma prensipleri korunmuş uçlar ve yanındaki genomik DNA'nın bazı bileşenleri arasındaki PCR amplifikasyonuna dayanmaktadır [181]. Retrotranspozonlar arası çoğaltım polimorfizmi (IRAP), Retrotranspozon mikrosatellit çoğaltım polimorfizmi (REMAP) ve Primer bağlanma bölgeleri arası çoğaltım (iPBS) yaygın olarak kullanılan yöntemlerdir. REMAP ve IRAP genom haritalamalarında [188] ve allopoliploid türlerin genomik kararlılık çalışmalarında [189] başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Ayrıca bu iki markır sistemi vejetatif olarak çoğaltılmış türlerin genetik çeşitlilik çalışmalarının yanı sıra [190], bitki grubunun bir sınıfından türüne kadar olan ayrışmayı da yapabilir [182], [175], [180], [182], [191].

IRAP markır sistemi iki LTR-Retrotranspozon arasında kalan intergenomik bölgenin çoğaltılması prensibine dayanmaktadır. REMAP markır sistemi ise, basit dizi tekrarlarına (mikrosatellit) ile o bölgeye yakın insersiyon yapmış olan retrotranspozonun LTR bölgesi arasını çoğaltan markır sistemidir [175], [192], [193], [194]. Her iki teknik de polimorfizm tespiti PCR ürünlerinin sonucuna göre değerlendirilmektedir. Bu markırlar kullanılarak birçok çalışmada polimorfizm elde edilmiş ve tür içi akrabalıkların belirlenmesinde kullanılmıştır [174], [175], [195], [52], [163], [196], [197], [198], [199].

2.12.2 Çeltik LTR retrotranspozonları

Çeltik (*Oryza sativa* L.) bitkisi monokotiledon bir model organizmadır ve en çok üretilen 3. tahıldır [200]. 2014 yılında genom dizilemesi tamamlanmıştır. Çeltik genom projesi sonucunda çeltikte 55.986 lokus tanımlanmış ve bunlardan 16.941 lokusun transpozon içerdiği belirtilmiştir [201], [202].

Bitkilerin LTR retrotranspozonlarının büyüklükleri 2-18 kb arasında değişkenlikler göstermektedir. Çeltik retrotranspozonları *Copia*-like, *gypsy*-like ve *LINE* olmak üzere 3 farklı aileden oluşmaktadır. *Copia*-like retrotranspozonlar 5-6 kb, *gypsy*-like retrotranspozonlar ise 6-7 kb uzunluğundadır [186], [203]. Çeltikte birçok retrotranspozon tanımlanmasına rağmen transkripsiyonel olarak çok az aktif retrotranspozon bulunmuştur. Bunlar, *Tos17* [204], *karma* [205], *dTok* [206], *nDart* [207],

mPing/Pong [208] olarak sıralanabilir. Çeltik retrotranspozonları Tablo 8'de gösterilmiştir.

Houba/Tos5/Osr13 563 kopya sayısına sahip olan yüksek kopya sayılı ailelerdendir. *Hopi/Osr27 gypsy* sınıfı LTR retrotranspozon olmak üzere 12,892 bç büyüklüğündedir ve 1,103 bç LTR sekansına sahiptir. *Houba/Tos5/Osr13 copia* sınıf retrotranspozondur ve 6437 bç büyüklüğündedir ayrıca 968 bç LTR boyutuna sahiptir. *OSR37 gypsy* sınıf retrotranspozondur, 4,436 bç uzunluğundadır ve 974 bç LTR dizisine sahip olup çeltik genomunda 565 kopya sayısına sahiptir. *RIRE1 copia* sınıfı retrotranspozon olup 8,322 bç boyutundadır, 1,523 bç LTR dizisine sahiptir ve 262 kopya sayısına sahiptir [167], [209].



Tablo 2. 6 3000 çeltik genomunda yer değiştiren 32 element ailesi için TRACKPOSON sonuçları [163]

No	TE family	Toplam TE kopya sayısı	Families	Activity
1.	<i>Poprice</i>	1678	<i>Copia</i>	Recent
2.	<i>Tos17</i>	121	<i>Copia</i>	Recent
3.	<i>Houba</i>	5112	<i>Copia</i>	Recent
4.	<i>Fam89_osr7</i>	425	<i>Copia</i>	Recent
5.	<i>Fam35-fam36</i>	1678	<i>Copia</i>	Old
6.	<i>Fam67_echidne</i>	371	<i>Copia</i>	Recent
7.	<i>Rn304</i>	30	<i>Copia</i>	Continuous
8.	<i>Scaff6</i>	23	<i>Copia</i>	----
9.	<i>Lullaby</i>	92	<i>Copia</i>	Recent
10.	<i>Fam51_osr4</i>	1328	<i>Copia</i>	Recent
11.	<i>Fam90</i>	166	<i>Copia</i>	Recent
12.	<i>Fam93_ors14</i>	1521	<i>Copia</i>	Recent
13.	<i>Fam98_rn81</i>	123	<i>Copia</i>	Recent
14.	<i>Hopi</i>	5027	<i>Gypsy</i>	Continuous
15.	<i>Dagul</i>	2742	<i>Gypsy</i>	Recent
16.	<i>Fam17_Rn215_125</i>	7006	<i>Gypsy</i>	Continuous
17.	<i>Fam80_rire7</i>	338	<i>Gypsy</i>	Continuous
18.	<i>Dasheng</i>	4806	<i>Gypsy</i>	Recent
19.	<i>Rire2</i>	2785	<i>Gypsy</i>	Recent
20.	<i>Fam81-fam82</i>	2558	<i>Gypsy</i>	Continuous
21.	<i>Fam31_osr37</i>	2797	<i>Gypsy</i>	Recent
22.	<i>Fam49_osr29</i>	904	<i>Gypsy</i>	Old
23.	<i>Fam124_rn208</i>	68	<i>Gypsy</i>	Continuous
24.	<i>Fam108</i>	570	<i>Gypsy</i>	Continuous
25.	<i>Fam106</i>	148	<i>Gypsy</i>	Recent
26.	<i>Fam86</i>	450	<i>Gypsy</i>	Continuous
27.	<i>Fam79_rn206</i>	461	<i>Gypsy</i>	Recent
28.	<i>Rn60</i>	15	<i>Gypsy</i>	----
29.	<i>Scaff3</i>	28	<i>Gypsy</i>	Recent
30.	<i>Scaff5</i>	1	<i>Gypsy</i>	-----
31.	<i>Rire3</i>	3576	<i>Gypsy</i>	Continuous
32.	<i>Karma</i>	59	<i>LINE</i>	Recent

Bu araştırma kapsamında öncelikle mutant ve mutant olmayan çeltik örneklerinin tuz stres koşullarında optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Çeltik tohumlarına uygulanacak tuz (NaCl) konsantrasyonları ve inceleme süreleri optimizasyon çalışmaları sonucunda belirlenmiştir. Bu amaçla, önce çalışılacak tuz konsantrasyonlarına karar verilmiştir. Çalışmada tuz kaynağı olarak kullanılacak NaCl'nin 1 molar stok çözeltisi hazırlanmış, otoklavda steril edilmiş ve deneyde kullanılan çözeltiler bu stok solüsyonu kullanılarak hazırlanmıştır. Çalışmada kullanılacak tuz konsantrasyonlarını belirlemek için çeltik tohumları; 0 (sıfır) mM, 50 mM, 100 mM, 150 mM, 200 mM, 250 mM, 300 mM, 350 mM, 400 mM ve 450 mM olmak üzere 9 farklı tuz konsantrasyonunda; bir hafta boyunca çimlendirilmiştir. Belirtilen sürelerin sonlarında tuz uygulanan örneklerin kök ve gövde ağırlıkları, çimlenme yüzdeleri, kök ve gövde uzunluğu ölçülmüş, kök sayıları belirlenmiş ve fotoğrafları çekilmiştir. Deney gruplarının her biri için (9 ayrı konsantrasyon) Petri'de 5 adet tohum çimlendirilmiştir. İşlemlerin güvenilirliğini ve tekrarlanabilirliğini test etmek amacıyla deneyler 3 kez tekrar edilmiştir.

Belirgin farklılık tespit edilen 4 farklı konsantrasyon ile çalışmaya devam edilmiştir. Bu amaçla 0 MS (tuzsuz ortam), 50 mM, 100 mM, 200 mM tuz konsantrasyonları ile çalışılmaya karar verilmiştir. Maraş sarı çeltik, Kızıltan, Kızıltan mutant, dhan 47 olarak belirlenmiştir. Belirlenen çeltik örneklerinin, belirlenen tuz konsantrasyonlarında doku kültürü ortamında ekimleri gerçekleştirilmiştir. Ekilen 15 ve 30 günlük çeltik örneklerinden kök ve yapraklarından numuneler alınarak taze bitki ağırlığı (g/bitki), taze kök ağırlığı (mg/bitki), kök uzunluğu (cm/bitki), gövde uzunluğu (cm/bitki), kök sayısı ve yaprak sayısı olmak üzere 6 farklı morfolojik parametre ölçümleri alınmıştır. Çalışmanın devamında biyokimyasal analizler kısmında çözünebilir protein miktarı, antioksidan enzim aktiviteleri (SOD, CAT ve FDH), retrotranspozon polimorfizmleri (IRAP ve REMAP) ile ROS birikiminin tetiklediği ve enerji metabolizmasında etkin rolleri bulunan Metiyonin Sülfoksit Redüktaz (MSR) ve Format Dehidrogenaz (FDH) ile Prolin genlerinin anlatım farklılıkları kantitatif real time-PCR (gerçek zamanlı kantitatif PCR) yöntemi ile incelenmiştir.

3.1 Materyal ve Yöntem

Çalışmada kullanılacak çeltik örnekleri sterile edilmiştir. Çeltik sterilizasyonu için; olgunlaşmış tohumların üzerindeki zararlıları uzaklaştırmak amacıyla tohumlar %70 alkol ile 3 dakika yıkanmıştır. Daha sonra seyreltik (%18) sodyum hipoklorid solüsyonunda 15 dakika sterilizasyona tabi tutulmuş ve kimyasalları uzaklaştırmak için 7 kez distile suyla yıkanmıştır. Tohumlar oda sıcaklığında ve petri kaplarında steril filtre kâğıdı arasında steril kabin içinde tohumlar kuruyana kadar bekletilmiştir.

Daha sonra tohumlar tuz konsantrasyonlarına göre önceden hazırlanan MS besiyerlerine ekilmiştir. Daha sonra Petri kaplarının ağızları kapatılarak örnekler bitki büyütme kabineye transfer edilmiştir. Bitki büyütme kabini 16 saat gündüz ve 8 saat gece olacak şekilde ayarlanarak, sıcaklığı da 25+1 °C' ye ayarlanmıştır. Bitkiler 15 ve 30 gün boyunca 2 farklı zaman dilimi için büyüme kabini içinde bekletilmiştir. Yetiştirilen örneklerin morfolojik ölçümleri alındıktan sonra önceden sterile edilmiş havan içinde sıvı azot yardımı ile tokmakla ezildikten sonra ekstraksiyon işlemleri gerçekleştirilmiştir.

Protein ekstraksiyon yöntemi Pan ve ark. (2006)'dan değiştirilerek uygulanmıştır [210]. Örnekler, sıvı azot yardımıyla, soğuk porselen havanda ezildikten sonra üzerine 100 mg taze doku için 1 ml olacak şekilde fosfat tamponu (50 mM PBS [0.2 M monobazik sodyum fosfat, 0.2 mM dibazik sodyum fosfat, pH 7.0], 0.1 mM EDTA, %4 polivinilpolipirrolidon) ilave edilerek homojenat oluşturulmuştur. Oluşan homojenat buzda soğutulmuş 1.5 ml'lik santrifüj tüplerine aktararak ve 14000 rpm hızda, +4°C'de 20 dakika santrifüj edilmiştir (Allegra™ X-22R Centrifuge, Beckman Coulter). Santrifüjden sonra elde edilen üst sıvı, total protein miktarının belirlenmesinde, SOD, CAT ve FDH enzim aktivite tayininde kullanılıncaya kadar 20°C'de saklanmıştır.

3.2 Biyokimyasal Analizler

3.2.1 Çözünabilir Protein Miktarının Belirlenmesi

Örneklerin çözünabilir protein miktarı Bradford (1976) yöntemi kullanılarak belirlenmiştir [211]. Bu amaçla, Tablo 3.1' de belirtilen şekilde hazırlanan Bradford belirteci 5 kere sulandırılarak 1X elde edilmiştir. Total protein miktarını belirlemek için; ekstre örneğinden 10 µl alınarak, 500 µl 1X Bradford belirteci ile karıştırılıp, oda sıcaklığında 10 dakika bekletilmiştir. Standartlardan da 10 µl alınarak, 500 µl 1X Bradford belirteciyle karıştırılıp, karanlıkta ve oda sıcaklığında yaklaşık 10 dakika bekletilmiştir.

Bekleme süresinin ardından “microplate” teki kuyucuklara örneklere ve standartlara ait karışımlardan 200’er µl eklenmiş ve spektrofotometrede (µquant, Bio-Tek Instruments, Inc) 595 nm dalga boyunda absorbanları (A595) ölçülmüştür.

Tablo 3. 1 Bradford yönteminde kullanılan belirtecin içeriği (5X) [206]

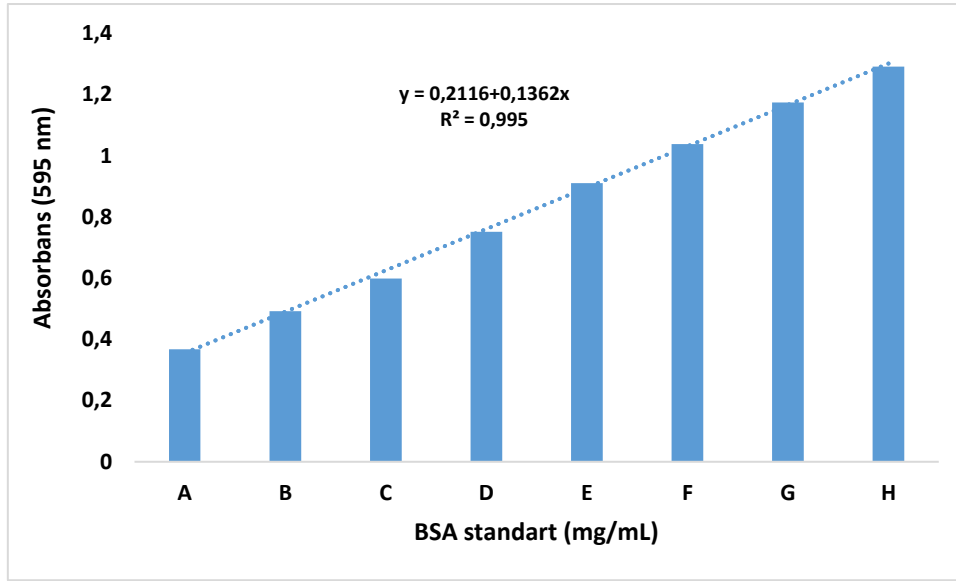
Bileşenin adı	Miktar (ml)
“Coomassie brilliant blue”	25 mg
%95 Etanol	12.5
%85 H ₃ PO ₄	25
dH ₂ O ile 250 ml’ye tamamlanır.	

Standart protein çözeltisi olarak distile su içinde çözündürülen BSA (bovine serum albumin) (Sigma, A9418) kullanılmıştır. Deney için dört ayrı konsantrasyonda (0.2, 0.4, 0.6, 0,8 mg/ml) BSA içeren çözeltiler hazırlanmıştır. Standart protein çözeltilerinin absorban değerlerinden yararlanılarak, Microsoft Excel programında standart grafik çizilmiştir. Standart grafiğe özgü kesme noktası (y-intercept) ve eğim (slope) gibi değerler, Microsoft Excel programındaki “Kesme Noktası” ve “Eğim” işlevleri ile hesaplanmıştır. Bu değerler ve örneklerin 595 nm dalga boyundaki absorbanı aşağıdaki formülde kullanılmıştır.

Konsantrasyon= (A595-kesme noktası) / eğim

Protein miktarının belirlenmesi için 3 biyolojik tekrar kullanılmış ve her örnekte 3 kez ölçüm yapılmıştır. Örneklerin protein miktarı (mg/g) altta belirtilen formül kullanılarak belirlenmiştir.

Örneğin protein miktarı (mg/g) = [Ekstrenin protein Konsantrasyonu (mg/ml) x Ekstre hazırlanmasında kullanılan tamponun hacmi (ml)] / Ekstre hazırlanan materyalin ağırlığı (g)



Şekil 3. 1 Çözünabilir protein miktarı tayininde kullanılan standart grafik. BSA çözeltilerinin 595 nm dalga boyundaki absorbans değerlerine göre çizilmiştir. BSA çözeltilerinin (mg/mL) konsantrasyonları A: 0,3681, B: 0,4924, C: 0,5688, D: 0,7519, E: 0,9108, F: 1,0386, G: 1,1746, H: 1,2914

3.2.2 Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Belirlenmesi

Bitkiler 15 ve 30 gün boyunca 2 farklı zaman dilimi için ayrı olmak üzere farklı konsantrasyonlardaki örneklerin yaprak ve köklerinden SOD aktivitesi Cakmak ve Marschner (1992) yöntemine [212] göre fotokimyasal olarak belirlenmiştir. Bu yöntemde göre riboflavin ve L- metionin ışık varlığında $O_2^{\cdot-}$ oluşturur. Nitroblue tetrazolium (NBT), $O_2^{\cdot-}$ ile reaksiyona girerek mavi renkli formazan kristalleri oluşturur. Ekstrede bulunan ve antioksidan enzimlerden biri olan SOD, $O_2^{\cdot-}$ radikallerini ortamdan uzaklaştırarak formazan oluşumunu inhibe eder. SOD aktivitesi, NBT' den formazan oluşumunun inhibisyonu ile belirlenir. Sonuçta, ışık etkisiyle mavi-mor renk oluşumu, SOD enziminin aktivitesi ile ters orantılıdır.

SOD aktivitesinin belirlenmesi için, 1 µl ekstre, 1 ml substrat tamponu (Tablo 3.2) ile karıştırılıp üzerine son konsantrasyonu 2 µM olacak şekilde riboflavin (0.2 mM) eklendikten sonra tüplerde renk değişimi görülünceye kadar 15 W'lık floresan ışık altında bekletilmiştir. Sürenin sonunda örneklerin üzeri, karanlık ortamın sağlanması için alüminyum folyo ile kapatılmış ve örnekler 560 nm dalga boyundaki absorbansı (A560) spektrofotometrede ölçülmüştür (µquant, Bio-Tek Instruments, Inc).

Tablo 3. 2 SOD aktivitesinin belirlenmesinde kullanılacak substratın içeriği

Bileşenin adı	Miktar (µl)	Son konsantrasyonu
Fosfat tamponu (100 mM)	500 µl	50 mM
Sodyum karbonat (2 M)	25 µl	50 mM
EDTA (0.5 M)	0.2 µl	100 µM
L-Metionin (300 mM)	43.3 µl	13 mM
NBT (7.5 mM)	10 µl	75 µM
dH ₂ O	421.5	
Toplam	1000 µl	

Pozitif kontrolü oluşturacak örneğe, ekstre yerine 1 µl 200 mM fosfat tamponu (pH 7.0) eklenmiştir. Pozitif kontrolde diğer örnekler ile ışıқта bekletilmiştir. Pozitif kontrol, SOD içermeyeceği için inhibe olmamış reaksiyon olarak kabul edilmiş ve reaksiyon değeri 100 olarak alınmıştır. Negatif kontrolü oluşturacak örneğe de ekstre yerine 1 µl 200 mM fosfat tamponu (pH 7.0) eklenmiştir. Negatif kontrol, örneklerin ve pozitif kontrolün ışıқта bekletildiği süre kadar, karanlıkta tutulmuş ve kör örnek (blank) olarak kullanılmıştır. Örneğin A560 değerinden, kör örneğin absorbansı çıkarıldıktan sonra kalan değer, aşağıdaki formülde yerine konarak, örnekteki % inhibisyon değeri hesaplanmıştır.

$$\% \text{ inhibisyon} = \frac{[(\text{Örnek A560} - \text{Blank A560}) \times 100]}{(\text{Pozitif kontrol A560} - \text{Blank A560})}$$

NBT'den formazan oluşum reaksiyonunu %50 oranında inhibe eden SOD miktarı 1 U (ünite) olarak kabul edilmektedir. Buna göre, örneklerdeki SOD aktivitesini (U/mg protein.dak) hesaplamak için, örneğin % inhibisyon değerine göre hesaplanan SOD miktarı (U), kullanılan ekstredeki protein miktarına (mg) ve ışıқта bekletildiği süreye bölünmüştür. SOD aktivitesi ölçümleri de 3 biyolojik tekrarlı yapılmıştır.

3.2.3 Katalaz (CAT) Aktivitesinin Belirlenmesi

Antioksidan savunma enzimlerinden biri olan CAT aktivitesi, H₂O₂ yıkımının, spektrofotometrik olarak, 240 nm'de izlenmesi temeline dayanan yöntemle belirlenmiştir [213]. Deney başlamadan önce H₂O₂'nin 240 nm'de ölçümü yapılmıştır. Çalışmalarda, 240 nm'de yapılacak ölçüm sonucunda elde edilen değere denk gelen konsantrasyonun karşılığı belirlenmiştir. Bu oran kullanılarak mevcut olan H₂O₂'nin konsantrasyonu belirlenmiştir. CAT aktivitesinin belirlenmesi için, Tablo 3.3'te miktarı verilen bileşenler,

0.5 ml'lik santrifüj tüpünde karıştırılmıştır. Spektrofotometre 240 nm'ye ayarlanmış ve ölçüm alınacak kuyucuğa bu bileşenler eklenmiştir (μ quant, Bio-Tek Instruments, Inc.). Daha sonra 5 μ l' lik örneğin eklenmesiyle hemen ölçüm alınmıştır. Reaksiyon hemen başladığı için örnek, kuyucuktaki substrata en son eklenmiştir.

Tablo 3.3 CAT aktivitesinin belirlenmesinde kullanılacak substratın içeriği

Bileşenin adı	Miktar (μ l)	Son konsantrasyonu
Fosfat tamponu (200 mM)	20 μ l	20 mM
H ₂ O ₂ (72 mM)	16.7 μ l	6 mM
dH ₂ O	158.3	-
Toplam	195 μl	-

CAT aktivitesi 240 nm'de gerçekleşen absorbanstaki düşüşün gözlemlenmesiyle belirlenmiştir [213]. Örneğin eklendiği anda okuma başlatılmıştır. Kinetik olarak gerçekleştirilen okumada, 120 saniye boyunca her 10 saniyede bir olmak üzere 12 kez ölçüm gerçekleştirilmiştir. Bu süreler içindeki absorbans değişimi belirlenmiştir. Absorbans değerindeki değişim $\Delta A_{240}/\text{mg protein.dak}$ olarak ifade edilmiştir. CAT aktivitesi ölçümlerinde üç deney tekrarı yapılmıştır.

3.2.4 Format Dehidrogenaz Aktivitesinin Belirlenmesi

Kök ve yaprak dokularının FDH aktivitesi kolorimetrik analiz ile Özgün ve ark. (2016) protokolüne göre belirlenmiştir [145]. FDH aktivitesi ölçümü için daha önceden enzim ekstraksiyon protokolü ile üretilen üst sıvılar kullanılmıştır. Kolorimetrik analiz, format dehidrogenaz tarafından üretilen NADH ile reaksiyona giren fenazin metosülfat (PMS-Phenazine methosulfate) varlığında, nitroblue tetrazolium'un (NBT) çözülebilir formazana indirgenmesine dayanmaktadır. Analiz aşağıdaki gibi yapılmıştır.

10-mM NAD⁺ 'dan 20 μ l, 20 μ l enzim ekstrakt, 20 μ l 200-mM sodyum format ve 300 μ M NBT (nitroblue tetrazolium) ve 30 μ M PMS (Phenazine Methosulfate- fenazin metosülfat) içeren 140 μ l 50 mM Tris-HCl tamponu (pH 8.0) UV 96'lık plate içerisinde karıştırılmıştır. Doğru bir ölçüm için plate reaksiyonu başlatan 20 μ l' lik enzim ekstraktı en son eklenmiştir.

FDH aktivitesi, mikroparka spektrofotometre (Biotek Instruments MQX200R2) ile 96-kuyucuklu bir plakada 580 nm'de ölçülmüştür. Her bir örnek için 3 farklı ölçüm alınmıştır.

3.3 Moleküler Çalışmalar

Ekilen çeltik (*Oryza sativa* L.) çeşitlerine ait 15 ve 30 günlük örneklerden kök ve yapraklarından numuneler alınarak, kontrol ve deney grupları arasında Prolin (delta-1-pyrroline-5-carboxylate synthase), Format dehidrogenaz ve Metiyonin sülfoksid redüktaz olmak üzere 3 farklı genin anlatımı Real Time PCR yöntemiyle analiz edilmiştir. Elde edilen verilerin istatistiksel analizi yapılmış ve sonuçlar kontrol ile deney grupları arasında karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

3.3.1 Total RNA İzolasyonu

İzolasyon sırasında nükleaz içermeyen (nuclease-free) plastik malzemeler (mikrosantrifüj tüpleri, pipet uçları) kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan cam malzemeler ve porselen havanlar %0,1'lik DEPC (diethylpirokarbonat) solüsyonunda 37 °C'de bir gece bekletilmiştir. Daha sonra, 121 °C sıcaklıkta 30 dakika süre ile otoklavlanarak 250 °C'deki pastör fırınında 5 saat kurutulmuştur. Homojenizasyon aşamasında, 15 ve 30 günlük örneklerden kök ve yapraklar steril porselen havan ve havaneli ile sıvı azot yardımıyla ezilen örnekler tüplere alınmış ve tüpler oda sıcaklığında 5 dakika bekletilmiştir. Toz haline getirilen dokuların üzerine her bir örnek için TriSolution Reagent® (50 mg doku için 1000 µl) eklenmiştir. Daha sonra, tüplere, kullanılan TriSolution Reagent® miktarıyla orantılı olarak 0.2 hacim kloroform eklenmiş ve örnekler karıştırılarak oda sıcaklığında 15 dakika bekletilmiştir. 12000 x *g*'de 4 °C'de 15 dakika süre ile santrifüjlenmiştir. Örnekler, santrifüj tüpünün içinde 3 ayrı faza ayrılmış ve üst faz total RNA için kullanılmıştır. Homojenizasyon aşamasının sonunda RNA içeren üst faz steril bir mikrosantrifüj tüpüne alınmış ve üzerine her 1 ml TriSolution Reagent® için 0.25 ml izopropanol ve 0.25 ml PS& PG Removal Solution eklenmiş ve oda sıcaklığında 5-10 dakika bekletilmiştir. Tüpler 12.000 x *g*'de 10 dakika +4 °C'de santrifüj edilmiş ve süpernatant uzaklaştırılmıştır. Pellet 1 ml %75' lik etanolde yıkanmış ve tüpler 1200 x *g*'de 5 dakika +4 °C'de santrifüj edilmiştir. Alkol uzaklaştırılmış ve pellet oda sıcaklığında 10 dakika kurutulmuştur. Pellet 50 µl nükleaz içermeyen suda çözündürülmüştür. İzole edilen RNA'ların kalitesi %1 agaroz jelde kontrol edilmiştir. Agaroz jel için 5X TBE tamponu hazırlanmıştır. Yaklaşık 800 ml dH₂O içinde, 54 g Tris ve 27.5 g borik asit çözdürülüp daha sonra 20 ml 0.5 M EDTA eklenmiştir. Elde edilen çözeltiye son hacim 1 lt olacak şekilde dH₂O eklenmiştir. Agaroz jel hazırlamak için 5X TBE jel tamponunu sulandırılmasıyla elde edilen 80 ml 1X TBE jel tamponu içine 0.8 g agaroz eklenip mikrodalga fırında çözdürülmüştür. Ilık hale gelen

agaroz jele 4 µl etidyum bromür solüsyonu (10 mg/ml) eklenip homojen hale getirilmiştir. Jel yatay elektroforez kasetine dökülen jel uygun tarak yerleştirildikten sonra oda sıcaklığında katılaşmaya bırakılmıştır. Katılaştıran jel, içinde 1X TBE jel tamponu bulunan elektroforez tankında bir süre bekletildikten sonra RNA örneklerinden 2 µl (400 ng/µl) alınarak, 2X yükleme tamponu ile karıştırılmış ve jele yüklenmiştir. Jelde markır olarak RNA ladder kullanılmıştır. Jel 90 voltta 90 dakika süre ile yürütülmüş ve UV tablasında görüntülenerek fotoğrafı çekilmiştir. Elektroforetik analizlerin yanı sıra, RNA örneklerinin Nonedropta da absorban ölçümü yapılmış ve konsantrasyonlar hesaplanmıştır.

3.3.2 DNaz I Uygulaması ve cDNA Sentezi

İzole edilen total RNA'lardan cDNA sentezi yapılmıştır. Bu amaçla; örneklere, genomik DNA kontaminasyonunu engellemek için DNaz I uygulanmıştır. DNaz I uygulaması için reaksiyon bileşenleri 0.5 µl'lik PCR tüplerinde, Tablo 3.4'te verilen oranlarda bir araya getirilip 37 °C' de 30 dakika inkübe edilmiştir. Süre sonunda reaksiyonu sonlandırmak için tüplere 1 µl EDTA (50 mM) ilave edilmiş ve 65 °C' de 10 dakika inkübe edilerek DNaz I enzimi inaktive edilmiştir.

Tablo 3. 4 DNaz I reaksiyonu bileşenleri ve miktarları

Bileşenin adı	Miktar (µl)
RNA örneği	7
10X reaksiyon tamponu	1
DNaz I (2U)	1
dH ₂ O	1
Toplam	10

Reaksiyon sonrasında RNA'larda genomik DNA kontaminasyonu, "housekeeping gen" (bütün hücreler için gerekli işlevleri kodlayan bu nedenle bütün hücrelerde anlatım yapan gen) olan 'aktin' geninin primerleriyle yapılan PCR ile kontrol edilmiştir. Reaksiyon için Tablo 3.5' te verilen primerler kullanılmıştır.

Tablo 3. 5 Real Time PCR analizinde kullanılacak genlerin primer dizileri

	Gene	Primer	Sequence	NCBI aksesyon numarası**	Hedef Büyüklük
1	<i>Actin</i>	Actin F Actin R	5' GCCGTGCTTTCCCTCTATG 3' 5' GCTTCTCCTTGATGTCCCTTA 3'	AY145451.1	235
2	<i>Prolin*</i>	Prolin-F Prolin-R	5' GAGTGGACTGATGGCTCTTTAC 3' 5' GAGTTGCTCCCGAACTTT 3'	XM_015784690.2	112
3	<i>Metiyonin sülfoksid redüktaz</i>	MSR-F MSR-R	5' TCTTCGCTGAGGGTGTTTATG 3' 5' GCTCCGGGAAATCCTTCATAG 3'	MF374626.1	115
4	<i>Format dehidrogenaz</i>	FDH-F FDH- R	5' CTTTCCACCCAGCCTATGTTAG 3' 5' CAGCTGCTGGCAGATCAATA 3'	JN944369.1	108

*delta-1-pyrroline-5-carboxylate synthase 1-like (LOC4338979). **Primerler belirtilen aksesyon numaralarına göre <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> adresinden yararlanılarak 03 Şubat 2021 tarihinde sentezletirilmiştir.

Reaksiyon bileşenleri Tablo 3.6'da verilen miktarlarda PCR tüpünde bir araya getirilmiştir. Kalıp olarak DNaz I uygulanan RNA örnekleri kullanılmıştır. Reaksiyon Tablo 3.7' de verilen koşullarda gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3. 6 Aktin ve diğer genler için yapılacak PCR' ların bileşenleri ve miktarları

Bileşenin adı	Miktar (µl)	Son konsantrasyon
Reaksiyon Tamponu (10X)	2.5	1X/µl
MgCl ₂ (25 mM)	2.5	2.5 mM/µl
2 mM dNTP	2.5	0.2 mM/µl
Forward primer (10 pmol/µl)	1	0.4 pmol/µl
Reverse primer (10 pmol/µl)	1	0.4 pmol/µl
Kalıp (20 ng/µl)	2	1.6 ng/µl
Enzim (5U/µl)	0.25	0.05 U/µl
dH ₂ O (nükleaz içermeyen)	13.25	
Toplam	25	

DNaz I uygulanan örnekler kullanılarak gerçekleştirilecek PCR sonrasında örnekler %1'lik agaroz jele yüklenmiştir. Jelde beklenildiği gibi bant gözlenmediği için DNA kontaminasyonu olmadığı anlaşılmıştır. Daha sonra, bu örneklerden cDNA sentezi gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon, 200 µl'lik PCR tüplerinde gerçekleştirilmiştir. cDNA sentezi için kullanılacak kit prosedürüne göre bileşenler hazırlanmıştır.

Tablo 3. 7 Aktin ve diğer genlerin çoğaltılmasında kullanılacak PCR döngüleri

Basamak	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
Başlangıç Denatürasyonu	95	3 dk	1
Denatürasyon	95	30 sn	30
Bağlanma	52	30 sn	
Uzama	72	1 dk	
Son Uzama	72	10 dk	1

cDNA sentezi için “RevertAid First Strand cDNA Synthesis” (K1622 Thermo Fisher) kiti kullanılmıştır. Sentez 2 aşamalı olarak gerçekleştirilmiştir ilk aşamada tablo 3.8’de verilen bileşenler tüpe eklenmiştir.

Tablo 3. 8 cDNA sentezinin ilk aşamasında kullanılan bileşenler

Bileşenin adı	Miktar (µL)	Son konsantrasyonu
Template RNA (total RNA)	10 µL	
Primer, Oligo (dT)18 gene-specific primer	1 µL	20 pmol
dH ₂ O	1 µL	-
Toplam	12 µL	

Daha sonra PCR tüplerinde bir araya getirilen bileşenler 65 °C’ de 5 dakika inkübe edilmiştir. Süre bitiminde örnekler buz üzerine alınmış ve Tablo 3.9’ da verilen bileşenler tüplere ilave edilerek 42 °C’de 60 dakika inkübe edilmiştir. Tüpler 70 °C’de 5 dakika bekletilerek reaksiyon sonlandırılmıştır. Sentez edilen cDNA’lar kullanılıncaya kadar -20 °C’de saklanmıştır.

Tablo 3. 9 cDNA sentezinin ikinci aşamasında kullanılan bileşenler

Bileşenin adı	Miktar (µL)	Son konsantrasyonu
5X Reaction Buffer	4 µL	
RiboLock RNase Inhibitor (20 U/µL)	1 µL	
10 mM dNTP Mix	2 µL	
RevertAid M-MuLV RT (200 U/µL)	1 µL	
Toplam	8 µL	
I ve II. Aşama toplamı	20 µL	

3.3.3 Real Time PCR

Deney gruplarından elde edilen kök ve yapraklardan FDH, MSR, Prolin genlerinin anlatımı, Real Time PCR ile analiz edilmiştir. Genlerin dizileri, NCBI veri tabanından faydalanılarak elde edilmiştir¹. Gen anlatım analizlerinden önce tasarlanan primerlerin özgün olmayan bantlar oluşturup oluşturmadığı sentez edilen cDNA'ların kalıp olarak kullanıldığı PCR ile kontrol edilmiştir (RT-PCR). PCR için Tablo 3.10'da verilen bileşenler ve Tablo 3.11'de belirtilen koşullar kullanılmıştır. PCR ürünleri %1' lik agaroz jelde 70 voltta 30 dakika yürütülerek kontrol edilmiştir. Beklenen hedef büyüklükler agaroz jelde gözlenmiş ve bu primerlerin kullanılabilmesine karar verilmiştir. Anlatım analizleri için Real Time PCR'da kullanılmak üzere standart bir eğri oluşturmak için kontrol cDNA'sının 2 kat sulandırılması ile 5 standart kullanılmıştır (1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625 ng/ μ L). Tüm örneklerin ve standartların real time PCR'ı, hata oranını azaltmak için iki biyolojik tekrarlı yapılmıştır. Reaksiyon SYBR kanalında okuma yapan mix ile Tablo 3.8' de verilen oranlarda ve Tablo 3.9'da belirtilen koşullarda gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3. 10 Real Time PCR bileşenleri ve miktarları

Bileşenin adı	Miktar (μ l)	Son konsantrasyon
2X SYBR Green Enzyme Mix	5	1X/ μ l
Primer F (10 μ mol/ μ l)	0.4	0.4 μ mol/ μ l
Primer R (10 μ mol/ μ l)	0.4	0.4 μ mol/ μ l
Kalıp DNA (10 ng/ μ l)	1	1 ng/ μ l
dH ₂ O	3.2	-
Toplam	10	-

Tablo 3. 11 Real Time PCR koşulları

Basamak	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü sayısı
Başlangıç denatürasyonu	95	3 dk	1
Denatürasyon	95	5 sn	40
Bağlanma ve uzama (veri alımı)	95	5 sn	

*Erime eğrisi analizi 65-95°C (0,5°C/döngü artışı, 5 sn/döngü).

Primerlerin özgünlüğünü test etmek için real time PCR'ın döngüleri tamamlandıktan sonra erime eğrisi "melt curve" analizi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler, Livak

¹ Erişim Tarihi: 03 Şubat 2021. Erişim için <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

metodu ile değerlendirilmiştir [214] ve sonuçların istatistiksel analizi ANOVA ile yapılmıştır. Sonuçlar deney grupları arasında karşılaştırılarak incelenmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı farklılıklar * işareti ile gösterilmiştir.

3.3.4 Genomik DNA İzolasyonu İçin Kullanılan CTAB Yöntemi

Çeltik bitkilerinden genomik DNA (gDNA) izolasyonu Kidwell ve Osborn (1992) tarafından uygulanan CTAB yöntemi değiştirilerek kullanılmıştır [215].

- DNA izolasyonu yapılacak her çeltik örneği üzerine sıvı azot ilave edilerek porselen havanda ezilip toz haline getirilmiştir.
- Sıvı azotun içinde soğutulmuş 1.5 ml'lik tüpe aktarılan tozun üzerine, 100 mg toz örnek için 65 °C'ye kadar ısıtılmış, 1000 µl ekstraksiyon tamponu (Tablo 3.12) eklenip, karıştırılmıştır.
- Tüp, 60 °C'lik su banyosunda en az 1 saat bekletilmiştir. Su banyosundan çıkarılan örnekler buzda 5 dakika bekletildikten sonra eşit hacimde (yaklaşık 500 µl) kloroform: izoamil alkol eklenmiştir.
- Tüp, en az kırk kez alt üst edilip karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 2000 rpm'de, yirmi dakika santrifüj edilmiştir (Hermle Santrifüj Z206 A).
- Santrifüjden sonra oluşan üst sıvı (yaklaşık 500 µl) yeni bir 1.5 ml'lik tüpe aktarılmış üzerine 50 µl CTAB/NaCl çözeltisi eklenip, en az 10 kez alt üst edilip karıştırıldıktan sonra 60 °C'lik su banyosunda on dakika bekletilmiştir.
- Su banyosundan çıkarılan tüpler buzda 5 dakika bekletildikten sonra tüpün içine yaklaşık 550 µl kloroform: izoamil alkol eklenmiştir.
- Tüpler, en az otuz kez alt üst edilip karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 2000 rpm hızda yirmi dakika santrifüj edilmiştir (Hermle Santrifüj Z206 A).
- Santrifüj sonrası oluşan üst sıvı yeni bir 1.5 ml'lik tüpe aktarılmış, tüpteki üst sıvının üzerine eşit hacim izopropanol (-20 °C) eklendikten sonra, tüp birkaç kez alt üst edilip karıştırıldıktan sonra -20 °C'de otuz dakika bekletilmiştir. Beklemeden sonra tüpler, 13500 rpm hızda on dakika santrifüj edilmiştir.
- Santrifüj sonrası oluşan üst sıvı pipet yardımıyla uzaklaştırılmıştır. Çökeltinin üzerine 100 µl %70 etanol (-20 °C) ilave edilip 13500 rpm hızda 2 dakika boyunca santrifüj edilerek çökelti yıkanmıştır. Yıkama işlemi bir kere daha tekrarlanmıştır.

Tablo 3. 12 gDNA izolasyonunda kullanılan çözeltiler

Adı	Çözelti İçeriği
Ekstraksiyon Tamponu	100 mM Tris (Tris [hydroxymethyl] aminomethane, 154563, Sigma), 25 mM EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid, E5134, Sigma), pH 8.0, 1.4 M NaCl (Sodium chloride, S3014, Sigma), %2 CTAB (Cetyltrimethylammonium bromide, H9151, Sigma)
Kloroform: İzomil alkol	24 Hacim Kloroform (Chloroform, C7559, Sigma): 1 Hacim İzomilalkol (Isoamylalcohol, W205702, Sigma)
CTAB/NaCl	%10 CTAB, 0.7 M NaCl

gDNA örneklerinin saflığı ve miktarı NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, N10588) cihazında ölçülerek belirlenmiştir. gDNA örneklerinin saflığı OD₂₆₀ değerinin hem OD₂₈₀ değerine oranı hem de OD₂₃₀ değerine oranı göz önüne alınarak belirlenmiştir. Bu oranların 1.7'den düşük oluşu, saflaştırılan DNA örneğindeki fenolik madde ve protein kontaminasyonuna işaret etmektedir. Bu durumun, PCR çalışmalarında hatalı sonuç oluşturabileceği düşünülerek; yalnızca, OD₂₆₀/OD₂₈₀ değeri 1,7-2,0 arasında olan ve OD₂₆₀/OD₂₃₀ değeri 1.7'den büyük olan gDNA örnekleri kullanılmıştır. gDNA örneklerinin kalitesi ise agaroz jel elektroforezi ile belirlenmiştir. gDNA örneğinden 1 µl alınarak, 0.2 µl yükleme tamponu ile karıştırılmıştır. Örnekler, %1'lik agaroz jelde, 150 V sabit güçte, 2 saat boyunca yürütülüp, UV ışık altında görüntülenmiştir. DNA uzunluk markırı ile karşılaştırılarak, 10 Kb veya daha yukarısında kalın, belirgin ve parlak bant görünümü oluşturan gDNA örnekleri, kırılmamış, bütün olarak kabul edilmiştir. Moleküler çalışmalarda kırılmamış gDNA örnekleri kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar uygun ve istenilen saflık düzeyinde olduğundan IRAP ve REMAP analizleri için PCR gerçekleştirilmiştir.

3.3.5 IRAP ve REMAP Analizleri

IRAP analizi için izole edilen DNA'lar kullanılmıştır. İzole edilen DNA'ların miktarları Nonedropta ölçülmüş ve her biri eşit konsantrasyonda (20 ng/µl) olacak şekilde sulandırılmıştır. Konsantrasyonu eşitlenen DNA'lar kullanılarak *Houba*, *RIRE1*, *Hopi*, *Osr30* ve *Tos17* retrotranspozonları için IRAP-PCR kurulmuştur.

3.3.5.1 IRAP- PCR

Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen 15 ve 30 günlük çeltik varyetelerinin kök ve yapraklarından izole edilen gDNA'lar kullanılarak IRAP analizleri gerçekleştirilmiştir.

IRAP analizlerinde Yüzbaşıoğlu (2017) [216] ve Kalendar ve ark., (1999) [181] çalışmalarından elde edilen 4 adet primer kullanılmıştır (*Hopi*, *Houba*, *Osr30* ve *Tos17*). IRAP-PCR için kullanılacak primer dizileri Tablo 3.13'te, IRAP-PCR için kullanılacak bileşenler Tablo 3.14'te, IRAP-PCR şartları Tablo 3.15'te gösterilmiştir.

Tablo 3. 13 IRAP-PCR çalışmasında kullanılacak primer dizileri

Primer dizileri	Referans dizilere ait NCBI Accession numaraları
<i>Osr30</i> -F: 5' GCAGCCGATTCTCGCTCTGTTTCCG 3'	AC078891.2
<i>Osr30</i> -R:5' GGCACGCTCACACATCCGAAGGCCA 3'	
<i>Hopi</i> -F: 5' CGCGAACCTTCCACACACAGACTAG 3'	AF537364.1
<i>Hopi</i> -R: 5' GGCCACGTGGGTGATCGTGTCTGCC 3'	
<i>Houba</i> -F: 5' CTTGAGTGGGCTAAGGCC 3'	AF537365.1
<i>Houba</i> -R: 5' GTTTCGACCAAGCAGCCGGTC 3'	
<i>Tos17</i> -LTR3: 5' CCAATGGACTGGACATCCGATGGG 3'	

Tablo 3. 14 IRAP-PCR bileşenleri IRAP-PCR bileşenleri

PCR Bileşeni	Miktar (µl)	Son konsantrasyon
2X PCR master mix (Ampliçon)	10	1X
25 mM MgCl ₂	2,5	0,25 mM
Primer F (10 pmol)	1,75	0,75 pmol
Primer R (10 pmol)	1,75	0,75 pmol
Kalıp (20 ng/µl)	3	2 ng/µl
dH ₂ O	1	-
Toplam	20 µl	

Tablo 3. 15 IRAP-PCR şartları

Basamak	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
Başlangıç Denatürasyonu	95	3 dk	1
Denatürasyon	95	30 sn	30
Bağlanma	Değişken*	30 sn	
Uzama	72	3 dk	
Son Uzama	72	10 dk	1

**Osr* ve *Houba* için 49 °C, *Rire* ve *Hopi* için 54 °C, *Tos17* LTR3 için 47 °C

3.3.5.2 REMAP-PCR

Retrotranspozon polimorfizmlerinin araştırılması için REMAP-PCR yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla aday olarak retrotranspozonlar (IRAP reverse primerleri) ve aday ISSR primerleri [(GA)₉C, (CT)₉G, (CAC)₇G, (GTG)₇C, (CA)₁₀G, (CAC)₇T, GT(CAC)₇] belirlenmiş ve gradiyent yapılmıştır. Bu ISSR primerlerine ait diziler Hirochika et al.

(1996) çalışmasından temin edilmiştir [204]. REMAP analizi için yetiştirilen 15 ve 30 günlük çeltiklerin kök ve yapraklarından elde edilen gDNA'lar kullanılmıştır. Konsantrasyonu eşitlenen gDNA'lar kullanılarak *Hopi*, *Houba*, *RIRE1*, *Osr30* ve *Tos17* retrotransposonlarının reverse primerleri ile [(GA)₉C, (CT)₉G, (CAC)₇G, (GTG)₇C, (CA)₁₀G, (CAC)₇T, GT(CAC)₇] ISSR primerlerinden ikili kombinler oluşturularak REMAP analizleri için gradiyent REMAP-PCR gerçekleştirilmiştir. Gradiyent PCR'larından elde edilen sonuçlarla Tablo 3.16'da belirtilen primerlerle REMAP-PCR gerçekleştirilmiştir. REMAP-PCR için kullanılacak bileşenler Tablo 3.17'de, REMAP-PCR şartları Tablo 3.18'de gösterilmiştir.

Tablo 3. 16 REMAP-PCR çalışmasında kullanılacak primer dizileri

Primer dizileri	Sekans	Sıcaklık
<i>Osr30</i> -R: 5' GGCACGCTCACACATCCGAAGGCGA 3'	(GA) ₉ C	52 °C
<i>RIRE1</i> -R: 5' CGTGATATCCAACATCTCCATGTTGCC 3'		
<i>Houba</i> -R: 5' GTTTCGACCAAGCAGCCGGTC 3'		
<i>Tos17</i> LTR1: 5' TTGGATCTTGTATCTTGTATATAC 3'		

Tablo 3. 17 REMAP-PCR bileşenleri

PCR Bileşeni	Miktar (µl)	Son konsantrasyon
2XPCR master mix (Ampliqon)	10	1X
25 mM MgCl ₂	2,5	0,25 mM
Primer F (10 pmol)	1,75	0,75 pmol
Primer R (10 pmol)	1,75	0,75 pmol
Kalıp (20 ng/µl)	3	2 ng/µl
dH ₂ O	1	-
Toplam	20 µl	

Tablo 3. 18 REMAP-PCR şartları

Basamak	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü Sayısı
Başlangıç Denatürasyonu	95	3 dk	1
Denatürasyon	95	30 sn	30
Bağlanma	52	30 sn	
Uzama	72	3 dk	
Son Uzama	72	10 dk	1

3.3.6 Agaroz Jel Elektroforezi

IRAP ve REMAP-PCR ürünlerinin değerlendirilmesinde agaroz jel elektroforezi ("Agarose Gel Electrophoresis") tekniği kullanılmıştır. Tablo 3.19'da belirtilen maddeler kullanılarak %1'lik agaroz jel hazırlanmıştır. DNA'nın agaroz jelde yürütülmesi için IX Tris-borik asit-EDTA (TBE) tamponu kullanılmıştır. %1'lik jel için 0.8 g agaroz (Sigma, A5073), 40 ml IX TBE tamponuna ilave edilerek mikrodalga fırında çözünene kadar ısıtılmıştır.

Tablo 3. 19 Agaroz jel elektroforezinde kullanılacak çözeltiler

Adı	Çözelti İçeriği
50× TAE tamponu	2 M Tris bazı (Bioshop, TRS001.1), 50 mM EDTA (Ph 8.0)
10 mg/ml EtBr	10 mg EtBr, 1 ml distile su içinde
6X Yükleme tamponu	100 mM EDTA (Ph8.0), %1 SDS, %60 Gliserol, %0.03 Bromfenol mavisi, %0.03 Ksilensiyanol FF

Jel katılaştıktan sonra tarak çıkarılarak kuyucuklar 1X TBE tamponu ile yıkanmıştır. Jel kaseti yatay elektroforez tankına yerleştirilerek tank 1X TBE tamponu ile doldurulmuştur. Her bir kuyucuğa 15 µl PCR ürünü yüklenmiş ve markır olarak 100 kb. DNA ladder kullanılmıştır. Jel 150 voltta 120 dakika yürütüldükten sonra UV ışıkta görüntülenerek fotoğrafı çekilmiştir. Elde edilen bant profilleri değerlendirilerek örnekler arasındaki polimorfizm hesaplanmıştır.

3.3.7 Markır Sonuçlarının Hesaplanması

IRAP-PCR ve REMAP-PCR sonuçlarına göre örnekler arasındaki polimorfizmi hesaplamak için Jaccard Benzerlik Katsayısı kullanılmıştır. Bu amaçla jelde belirgin olarak görülen monomorfik ve polimorfik bantlar sayılmıştır. Elde edilen sonuçlara Jaccard Benzerlik Katsayısı formülü uygulanarak örnekler arasındaki % benzerlik oranları hesaplanmıştır [217].

$$J (\text{Jaccard Benzerlik Katsayısı}) = \frac{MAB}{MB + MA + MAB} \quad (3.1)$$

MB: A bireyinde olmayan, B bireyinde var olan niteliklerin (bant) sayısı

MA: A bireyinde var olan, B bireyinde olmayan niteliklerin sayısı

MAB: Hem A hem de B bireyinde var olan niteliklerin sayısı

3.4 İstatistiksel Analizler

Bu doktora tez çalışmasında yapılan araştırmalar “tam şansa bağlı deneme” planına göre yürütülmüştür. Her bir deney en az üç defa tekrarlanmıştır. Bu tekrarlardan elde edilen ölümlerin aritmetik ortalamaları, standard sapma değerleri ile birlikte tablolarda ve şekillerde gösterilmiştir. Ortalama değerler arasındaki farkın önemlilik durumu 0,05 (%5) seviyesinde belirlenmiştir. İstatistiksel analizler “JMP Starter 6” program kullanılarak ANOVA testine göre Tukey oklu karşılaştırma testi ile gerçekleştirilmiştir.



Bu doktora tez çalışmasında ülkemizin yerel gen kaynaklarından *Oryza sativa* L. cv Maraş Sarı Çeltik, Kızıltan ve Kızıltan mutant çeltik varyeteleri ve Bangladeş yerel marketlerinden temin edilen *Oryza sativa* L. cv dhan 47 çeltik tohumları 0 mM, 50 mM, 100 mM ve 200 mM tuz konsantrasyonlarında 15 ve 30 günlük sürelerde yetiştirilmiştir. Elde edilen köklerin morfolojik, fizyolojik ve moleküler analizleri gerçekleştirilmiştir.

4.1 Optimizasyon Analizleri

Çalışmada öncelikle çeltik tohumlarına uygulanacak tuz konsantrasyonları ile çalışılacak süreler belirlenmiştir. Çalışmada kullanılacak tuz konsantrasyonlarını belirlemek için Kızıltan çeltik tohumları; 50 mM, 100 mM, 150 mM, 200 mM, 250 mM, 300 mM, 350 mM, 400 mM ve 450 mM olmak üzere 9 farklı tuz konsantrasyonunda (NaCl- Sodium chloride); 1 hafta boyunca çimlendirilerek optimizasyon çalışmaları yapılmış ve deney üç kez tekrar edilmiştir. Optimizasyon çalışmasının sonuçlarına göre, 300 mM ve yukarısı tuz ortamlarında hiçbir çimlenme olmadığı gözlenmiştir. 250 mM tuzda ise çok yetersiz çimlenme görüldüğünden, ölçümler için yeterli doku elde edememe riskinden dolayı çalışmalarda aralarında belirgin farklılık gözlenen; 0 mM, 50 mM, 100 mM ve 200 mM tuz konsantrasyonlarının kullanılmasına karar verilmiştir. Deney grupları arasındaki farklılığın istatistik analizi "JMP Starter 6" programında ANOVA testi ile gerçekleştirilmiştir. Farklı harflerle gösterilen sütunlar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır. Ayrıca "retrotranspozon" hareketlerinin daha iyi gözlenebilmesi için iki farklı zaman dilimi ve iki doku (kök ve yaprak) ile çalışıldığından tüm tez analizlerinde de iki farklı zaman dilimi ve iki farklı doku tercih edilmiştir.

Çalışma *in vitro* ortamda aseptik şartlarda yürütülmüştür. Çeltik (*Oryza sativa* L.) tohumlarının yüzey sterilizasyonu için tohumlar %70 alkol ile 3 dakika yıkanmıştır. Daha sonra seyreltik (%18) sodyum hipoklorid ile solüsyonunda 15 dakika sterilizasyona tabi tutulmuş ve kimyasalları uzaklaştırmak için 7 kez distile suyla yıkanmıştır. Tohumlar oda sıcaklığında ve petri kaplarında steril filtre kâğıdı arasında steril kabin içinde kuruyana kadar bekletilmiştir. Daha sonra tohumlar tuz konsantrasyonlarına (0, 50 mM, 100 mM

ve 200 mM) göre önceden hazırlanan MS besiyerlerine ekilmiştir. Daha sonra Petri kaplarının ağızları kapatılarak örnekler bitki büyütme kabine transfer edilmiştir. Bitki büyütme kabini 16 saat gündüz ve 8 saat gece olacak şekilde ayarlanarak, sıcaklığı da 25±1 °C' ye ayarlandı. 2 farklı zaman dilimi için ayrı ayrı olmak üzere yetiştirilen 15 ve 30 günlük bitkilerin morfolojik ölçümleri tamamlandıktan sonra SOD, CAT ve FDH enzim aktivite analizleri, gen anlatım analizleri ve retrotranspozon hareketlerinin belirlenmesi için kullanılmıştır.



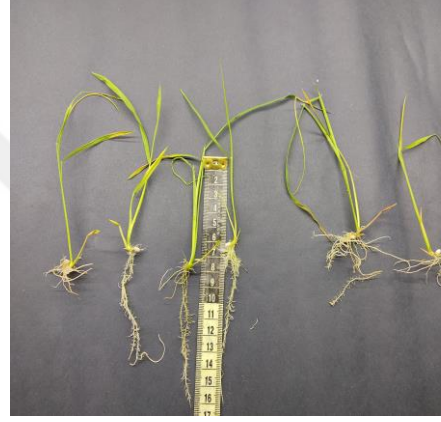
15 günlük

Maraş Sarı Çeltik 0 MS (Kontrol)

Maraş Sarı Çeltik 50 mM

Maraş Sarı Çeltik 100 mM

Maraş Sarı Çeltik 200 mM



Kızıltan 50 MS

K. Mutant 50 mM

Kızıltan 100 mM

K. Mutant 100 mM



Şekil 4. 1 Farklı tuz konsantrasyonlarının bazı çeltik çeşitlerinde fide büyümesi üzerine etkileri

4.2 Morfolojik Analizler

15 ve 30 gün süresince 0 MS (tuzsuz ortam) ve farklı tuz konsantrasyonlarında (50 mM, 100 mM ve 200 mM) yetiştirilen çeltik bitkilerinin; taze bitki ağırlığı (g/bitki), taze kök ağırlığı (mg/bitki), kök uzunluğu (cm/bitki), gövde uzunluğu (cm/bitki), kök sayısı ve yaprak sayısı olmak üzere 6 farklı parametrede farklılıklar gösterdi. 15 günlük sonuçlar ayrı, 30 günlük sonuçlar ayrı ve 15 ile 30 günlük sonuçlar da karşılıklı değerlendirilmiştir. Tablo 4.1'de kök ağırlığı sonuçları verilmiştir.

15 günlük sonuçlarda, kontrol ile karşılaştırıldığında artan tuz konsantrasyonunda tüm çeltik varyetelerinin kök ağırlığının azaldığı gözlenmiştir (Maraş için 33,63; 26,97; 24,42; 19,76; Kızıltan için 38,00; 17,97; 21,25; 6,07 ve Kızıltan mutant için 32,77; 23,86; 29,66; 5,56; dhan 47 için; 21,98; 5,69; 7,89). 30 günlük sonuçlarda maraş ve Kızıltan mutant varyetelerinde en fazla kök ağırlığının 100 mM tuz konsantrasyonunda olduğu gözlenmiştir (maraş için sırasıyla; 24,80; 39,60; 99,02; Kızıltan mutant için sırasıyla 19,56; 18,65; 79,94) 200 mM ortamda maraş ve Kızıltan mutant varyetelerinde olumsuz etkiye neden olduğu gözlenmiştir (maraş için; 23,31; Kızıltan mutant için; 22,64). Aynı süreler içerisinde Kızıltan ve dhan 47 varyetesinin kök ağırlıklarında kontrole göre artan tuz konsantrasyonlarında sürekli bir azalma gözlenmiştir (sırasıyla Kızıltan için; 50,50; 30,14; 33,34; 20,74; dhan 47 için; 71,59; 5,71; 7,89).

15 günlük sonuçlarda, kontrol ile karşılaştırıldığında artan tuz konsantrasyonunun kök uzunluğunu azalttığı gözlenmiştir (Maraş için 2,24; Kızıltan için 2,75 ve Kızıltan mutant için $2,73 \pm 0,24$). Benzer sonuç, kök ağırlığında da görülmüştür (Maraş için 19,76, Kızıltan için 6,07 ve Kızıltan mutant için 5,56). Bununla birlikte dhan 47 bitkisi 50 ve 100 mM konsantrasyonlarında stres şartlarında gelişme gösterirken 200 mM tuz konsantrasyonunda ise çimlenme gözlenmemiştir. 15 günlük sonuçlarda, tuz stresine dayanıklı olduğu bilinen dhan 47 varyetesinde artan tuz konsantrasyonu ile birlikte kök ağırlığı (7,89) ve kök uzunluğunda (3,57) artma olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.2).

30 günlük sonuçlarda maraş, Kızıltan ve Kızıltan mutant varyetelerinde, Kızıltan ve Kızıltan mutant bitkilerinde kök uzunlukları üzerinde 100 mM tuz konsantrasyonuna kadar olumsuz etkisi gözlenmezken (maraş için sırasıyla; $6,40 \pm 0,65$; $6,84 \pm 0,71$; $8,83 \pm 0,86$; Kızıltan için sırasıyla; 7,67; 7,91; 8,76; Kızıltan mutant için sırasıyla; 6,92; 8,63; 10,66) 200 mM ortamda olumsuz etkiye neden olduğu gözlenmiştir (sırasıyla 21,92; 7,00; 4,59). Aynı süreler içerisinde aynı çeltik varyetelerinde kök ağırlıklarında kontrole

göre artan tuz konsantrasyonlarında artma gözlenmiş ve bu artış aynı varyetenin farklı konsantrasyonunda farklılıklar göstermektedir. Dhan 47 bitkisinin kök uzunluğunun 30 günlük sonuçları incelendiğinde kontrole göre artan tuz konsantrasyonlarında olumsuz etkileri gözlenmemiştir (sırasıyla 7,00; 7,50; 8,67) (Tablo 4.2).



Tablo 4. 1 Farklı tuz konsantrasyonlarının çeltik çeşitlerinde kök ağırlığı (mg/bitki) üzerine etkileri

Çeltik çeşitleri	15. gün				30. gün			
	Kontrol (0 MS)	50 mM NaCl	100 mM NaCl	200 mM NaCl	Kontrol (0 MS)	50 mM NaCl	100 mM NaCl	200 mM NaCl
Maraş	33,63±8,94 bc	26,97±13,32 bc	24,42±6,39 bc	19,76±4,11 c	24,80±9,10 bc	39,60±11,00 b	99,02±21,85 a	23,31±3,93 bc
Kızıltan	38,00±9,68 ab	17,97±7,87 cd	21,25±4,16 cd	6,07±1,25 d	50,50±12,31 a	30,14±13,85 bc	33,34±13,27 bc	20,74±8,06 cd
Kızıltan mutant	32,77±13,46 b	23,86±7,58 b	29,66±19,17 b	5,56±2,08 c	19,56±4,38 bc	18,65±5,99 bc	79,94±9,64 a	22,64±3,31 b
Dhan 47	21,98±2,64 b	5,69±3,48 c	7,89±1,96 c	xxxx	71,59±8,98 a	5,71±3,48 c	7,89±1,96 c	xxxx

Tabloda aynı satırda farklı harfle gösterilen ortalama değerler arasındaki fark önemlidir, Tukey (p <0.05), n=3, ± SD. xxxxxdhan 47 çeltik varyetesi 200 mM tuz konsantrasyonunda çimlenmediği için sonuçlar gösterilememiştir.

Tablo 4. 2 Farklı tuz konsantrasyonlarının çeltik çeşitlerinde kök uzunluğu (cm/bitki) üzerine etkileri

Çeltik çeşitleri	15. gün				30. gün			
	Kontrol (0 MS)	50 mM NaCl	100 mM NaCl	200 mM NaCl	Kontrol (0 MS)	50 mM NaCl	100 mM NaCl	200 mM NaCl
Maraş	5,14±0,80 b	5,50±0,71 b	5,75±1,57 b	2,24±0,85 c	6,40±1,72 ab	6,84±1,89 ab	8,83±2,27 a	1,92±0,89 c
Kızıltan	5,84±1,43 b	6,31±2,13 b	7,75±1,31 ab	2,75±1,18 c	7,67±0,47 ab	7,91±0,73 ab	8,76±0,94 a	7,00±1,19 ab
Kızıltan mutant	5,83±1,37 cd	7,42±1,30 bc	6,20±1,04 bcd	2,73±0,63 e	6,92±1,30 bcd	8,63±2,22 ab	10,66±2,69 a	4,59±0,45 de
Dhan 47	5,87±1,23 bc	3,21±1,80 c	3,57±1,10 c	xxxx	7,00±0,96 ab	7,50±1,04 ab	8,67±2,92 a	xxxx

Tabloda aynı satırda farklı harfle gösterilen ortalama değerler arasındaki fark önemlidir, Tukey (p <0.05), n=3, ± SD. xxxxxdhan 47 çeltik varyetesi 200 mM tuz konsantrasyonunda çimlenmediği için sonuçlar gösterilmemiştir.

15 günlük sonuçlarda artan tuz konsantrasyonu, dhan 47, Kızıltan ve Kızıltan mutant bitkilerinin ağırlıkları üzerinde olumsuz etkisi gözlenmiştir (sırasıyla dhan için; 0,13; 0,07; 0,06; Kızıltan için; 0,23; 0,11; 0,15; 0,06; Kızıltan mutant için; 0,13; 0,12; 0,16; 0,05). Aynı süre içerisinde maraş çeltik varyetesinde bitki ağırlığı kontrol grubu ile kıyaslandığında 100 mM tuz konsantrasyonuna kadar azalma gösterdiği (sırasıyla; 0,20; 0,16; 0,13) 200 mM konsantrasyonda ise bitki ağırlığının kontrole göre daha fazla olduğu gözlenmiştir (200 mM için 0,22). 30 günlük sonuçlarda tüm varyetelerde tuz konsantrasyonunun olumsuz etkileri gözlenmiş ve bitki ağırlıklarında da azalma olduğu gözlenmiştir. Aynı süreler içerisinde çeltik varyetelerinde gövde uzunluğu sonuçları da aynı varyetede artan tuz konsantrasyonlarında kontrole kıyasla azalacak şekilde belirgin farklılıklar gözlenmiştir. Varyeteler arasında 30 günlük gövde uzunluğu sonuçlarında en fazla uzunluk maraş varyetesinde gözlenirken en az uzunluk dhan 47 bitkisinde gözlenmiştir (Tablo 4.3).

15 günlük sonuçlarda artan tuz konsantrasyonu, maraş çeltik varyetesinde 50 mM tuz konsantrasyonunda kök sayılarında kontrole göre artma gözlenirken (maraş için kontrol; 5,71; 50 mM için 6,86), Kızıltan, Kızıltan mutant ve dhan 47 bitkilerinin kök sayıları üzerinde olumsuz etkisi gözlenmiştir (sırasıyla Kızıltan için; 7,14; 4,71; 4,86; 2,86; Kızıltan mutant için; 5,00; 5,57; 5,00; 3,00; dhan 47 için; 6,43; 3,57; 3,57). 30 günlük sonuçlarda tüm varyetelerde tuz konsantrasyonunun olumsuz etkileri olduğu ve kök ağırlıklarında kontrole göre azalma olduğu gözlenirken maraş, Kızıltan mutant ve dhan 47 varyetelerinde 100 mM tuz konsantrasyonundaki kök ağırlığının 50 mM tuz konsantrasyonuna göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir (sırasıyla maraş için; 13,71; 10,00; 12,43; 3,43; Kızıltan mutant için; 11,14; 7,21; 8,29; 6,00; dhan 47 için; 13,57; 8,14; 9,43). Aynı süre içerisinde Kızıltan varyetesinde artan tuz konsantrasyonuna göre kök sayısında sürekli azalma olduğu belirlenmiştir (Kızıltan için sırasıyla; 11,29; 10,00; 9,29; 6,14) (Tablo 4.4).

Tablo 4. 3 Farklı tuz konsantrasyonlarının çeltik çeşitlerinde bitki ağırlığı (g/bitki) üzerine etkileri

Çeltik çeşitleri	15. gün				30. gün			
	Kontrol (0 MS)	50 mM NaCl	100 mM NaCl	200 mM NaCl	Kontrol (0 MS)	50 mM NaCl	100 mM NaCl	200 mM NaCl
Maraş	0,20±0,04 c	0,16±0,04 c	0,13±0,02 c	0,22±0,07 c	0,81±0,17 a	0,27±0,07 c	0,53±0,17 b	0,21±0,07 c
Kızıltan	0,23±0,03 bcd	0,11±0,02 de	0,15±0,04 cde	0,06±0,01 e	0,63±0,20 a	0,31±0,05 b	0,26±0,04 bc	0,19±0,03 bcd
Kızıltan mutant	0,13±0,02 c	0,12±0,02 cd	0,16±0,04 c	0,05±0,01 d	0,38±0,05 a	0,19±0,06 c	0,28±0,09 b	0,14±0,01 c
Dhan 47	0,13±0,04 c	0,07±0,01 c	0,06±0,01 c	xxxx	0,40±0,10 a	0,22±0,06 b	0,25±0,04 b	xxxx

Tabloda aynı satırda farklı harfle gösterilen ortalama değerler arasındaki fark önemlidir, Tukey (p <0.05), n=3, ± SD. xxxxdhan 47 çeltik varyetesi 200 mM tuz konsantrasyonunda çimlenmediği için sonuçlar gösterilememiştir.

Tablo 4. 4 Farklı tuz konsantrasyonlarının çeltik çeşitlerinde gövde uzunluğu (cm/bitki) üzerine etkileri

Çeltik çeşitleri	15. gün				30. gün			
	Kontrol (0 MS)	50 mM NaCl	100 mM NaCl	200 mM NaCl	Kontrol (0 MS)	50 mM NaCl	100 mM NaCl	200 mM NaCl
Maraş	7,07±0,61 b	6,86±0,90 b	4,50±0,76 b	4,43±1,24 b	12,22±4,05 a	12,07±3,13 a	12,11±3,17 a	4,64±1,38 b
Kızıltan	4,79±0,57 c	4,67±2,37 c	4,64±1,31 c	1,43±0,34 d	9,93±1,54 a	9,64±0,75 a	8,29±1,07 ab	5,00±0,82 bc
Kızıltan mutant	6,50±1,66 a	6,57±1,67 a	6,79±1,98 a	1,36±0,38 b	8,79±1,18 a	8,16±0,73 a	8,57±1,81 a	3,14±0,48 b
Dhan 47	3,43±1,40 c	4,21±1,58 bc	2,29±0,91 c	xxxx	5,86±1,86 a	5,71±1,48 b	5,00±1,44 b	xxxx

Tabloda aynı satırda farklı harfle gösterilen ortalama değerler arasındaki fark önemlidir, Tukey (p <0.05), n=3, ± SD. xxxxxdhan 47 çeltik varyetesi 200 mM tuz konsantrasyonunda çimlenmediği için sonuçlar gösterilememiştir.

Tablo 4. 5 Farklı tuz konsantrasyonlarının çeltik çeşitlerinde kök sayısı üzerine etkileri

Çeltik çeşitleri	15. gün				30. gün			
	Kontrol (0 MS)	50 mM NaCl	100 mM NaCl	200 mM NaCl	Kontrol (0 MS)	50 mM NaCl	100 mM NaCl	200 mM NaCl
Maraş	5,71±1,80 cd	6,86±1,07 c	4,29±1,11 cd	3,71±1,25 d	13,71±2,56 a	10,00±1,91 b	12,43±1,72 ab	3,43±0,53 d
Kızıltan	7,14±1,57 bcd	4,71±1,11 de	4,86±0,90 de	2,86±1,34 e	11,29±2,81 a	10,00±2,94 ab	9,29±2,75 abc	6,14±1,57 cde
Kızıltan mutant	5,00±0,82 cd	5,57±0,97 cd	5,00±1,83 cd	3,00±0,00 d	11,14±2,73 a	7,21±1,41 bc	8,29±1,78 b	6,00±1,15 bc
Dhan 47	6,43±1,27 c	3,57±1,40 d	3,57±1,40 d	xxxx	13,57±0,98 a	8,14±1,77 bc	9,43±2,37 b	xxxx

Tabloda aynı satırda farklı harfle gösterilen ortalama değerler arasındaki fark önemlidir, Tukey ($p < 0.05$), $n=3$, \pm SD. xxxxxdhan 47 çeltik varyetesi 200 mM tuz konsantrasyonunda çimlenmediği için sonuçlar gösterilememiştir.

Tablo 4. 6 Farklı tuz konsantrasyonlarının çeltik çeşitlerinde yaprak sayısı üzerine etkileri

Çeltik çeşitleri	15. gün				30. gün			
	Kontrol (0 MS)	50 mM NaCl	100 mM NaCl	200 mM NaCl	Kontrol (0 MS)	50 mM NaCl	100 mM NaCl	200 mM NaCl
Maraş	2,14±0,38 c	2,00±0,00 c	1,86±0,38 c	2,57±0,79 bc	3,86±0,38 a	3,14±0,38 ab	3,57±0,53 a	2,57±0,53 bc
Kızıltan	2,86±0,69 ab	2,00±0,00 b	2,14±0,38 b	1,86±0,38 b	3,71±0,76 a	3,43±0,79 a	3,86±0,90 a	3,57±0,79 a
Kızıltan mutant	2,29±0,49 b	2,14±0,38 b	2,14±0,38 b	1,57±0,53 b	4,00±0,82 a	3,25±0,38 a	3,57±0,98 a	4,00±0,00 a
Dhan 47	3,43±0,79 b	2,00±0,00 c	2,14±0,38 c	xxxx	4,71±0,95 a	3,00±0,58 bc	3,86±0,70 ab	xxxx

Tabloda aynı satırda farklı harfle gösterilen ortalama değerler arasındaki fark önemlidir, Tukey (p <0.05), n=3, ± SD. xxxxxdhan 47 çeltik varyetesi 200 mM tuz konsantrasyonunda çimlenmediği için sonuçlar gösterilememiştir.

4.3 Fizyolojik Analizler

4.3.1 Total Çözülebilir Protein Miktarı Analizi

15 gün ve 30 gün süresince yetiştirilen farklı çeltik varyetelerinden ayrı ayrı olmak üzere ekstreler hazırlanarak bu ekstrelerdeki çözünebilir protein miktarları (mg/g taze ağırlık), standart grafik (şekil 3.1) kullanılarak Bradford (1976) yöntemine göre belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar gruplar arası karşılaştırılarak analiz edilmiştir. Deney üç kez tekrar edilmiş ve sonuçların ortalaması alınarak istatistiksel anlamlılığı "JMP starter 6" programında ANOVA testi kullanılarak belirlenmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı farklılıklar harflendirilerek belirtilmiştir.

Tablo 4.7'de belirtildiği üzere maraş ve Kızıltan çeltik bitkilerinde 15 günlük sürede artan tuz konsantrasyonlarında kök ve yapraklarda kontrole göre protein miktarının arttığı belirlenmiştir (yapraklar için sırasıyla maraş için; 11,62; 28,99; 30,68; 43,44; maraş kökleri için; 17,04; 43,20; 59,40; 32,39; Kızıltan yapraklar için; 34,01; 57, 16; 46,25; 35,83; Kızıltan kökleri için; 16,32; 43,21; 82,65; 61,21). Dhan 47 bitkisinde 50 mM tuz konsantrasyonuna kadar yapraklarda kontrole göre protein miktarının arttığı (sırasıyla; 14,38; 32,97) ve bitkinin tuza karşı bir direnç gösterdiği belirlenmiştir. 15 günlük sürede köklerde en yüksek protein miktarının 100 mM tuz konsantrasyonunda olduğu belirlenmiştir (dhan 47 için; 51,87).

30 günlük sonuçlarda dhan 47 hariç diğer varyetelerdeki yaprakların protein miktarlarının kontrole göre arttığı belirlenmiştir. Dhan 47 bitkisinde artan tuz konsantrasyonunda yapraklardaki protein miktarının azaldığı gözlenmiştir. 30 günlük sürelerde Kızıltan bitkisi hariç diğer varyetelerin köklerindeki protein miktarının kontrole göre artış gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 4.7).

Tablo 4. 7 Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen çeltik çeşitlerinin 15 ve 30 günlük Protein miktarları

Çeltik çeşitleri	Yaprak								Kök							
	15 günlük				30 Günlük				15 günlük				30 Günlük			
	Kontrol (0 MS)	50 mM NaCl	100 mM NaCl	200 mM NaCl	Kontrol (0 MS)	50 mM NaCl	100 mM NaCl	200 mM NaCl	Kontrol (0 MS)	50 mM NaCl	100 mM NaCl	200 mM NaCl	Kontrol (0 MS)	50 mM NaCl	100 mM NaCl	200 mM NaCl
Maraş	11,62 ±0,89	28,99 ±0,22	30,68 ±1,85	43,44± 0,24	13,95 ±0,18	22,32 ±3,20	19,38± 5,92	15,43 ±0,21	17,04 ±5,12	43,20 ±12,48	59,40± 16,50 a	32,39 ±2,59	8,88 ±0,51	9,11 ±0,24	10,20± 1,47	29,35 ±2,28
Kızıltan	34,01 ±2,00	57,16 ±15,60	46,25 ±7,69	35,83± 1,21	11,65 ±1,50	33,78 ±10,17	14,01± 1,45	13,80 ±1,52	16,32 ±0,16	43,21 ±16,04	82,65± 10,51 a	61,21 ±21,88	11,10 ±1,77	9,32 ±0,83	8,38 ±0,12	32,78 ±22,03
Kızıltan mutant	31,02 ±0,69	21,57 ±8,31	15,81 ±2,63	7,94 ±0,43	10,96 ±1,50	24,30 ±6,57	18,78± 0,64	53,11 ±10,23	47,41 ±21,14	32,43 ±11,80	28,35± 4,03	33,23 ±4,57	7,62 ±0,91	60,30 ±14,44	18,19± 4,87	32,69 ±2,98
dhan 47	14,38 ±0,06	32,97 ±1,02	9,72 ±1,46	xxxx	26,40 ±6,94	9,82 ±1,30	12,95± 2,56	xxxx	25,97 ±6,86	25,54 ±2,66	51,87± 1,24	xxxx	12,17 ±1,71	13,76 ±2,67	18,97± 6,56	xxxx

Tabloda aynı satırda farklı harfle gösterilen ortalama değerler arasındaki fark önemlidir, Tukey ($p < 0.05$), $n=3$, \pm SD. xxxxdhan 47 çeltik varyetesi 200 mM tuz konsantrasyonunda çimlenmediği için sonuçlar gösterilememiştir.

4.3.2 SOD Aktivite Analizi

15 gün ve 30 gün süresince yetiştirilen farklı çeltik varyetelerinin SOD aktiviteleri, Cakmak and Marschner (1992) yöntemiyle belirlenmiş ve sonuçlar, gruplar arası karşılaştırılarak analiz edilmiştir. Tablo 4.8'de belirtildiği üzere Kızıltan mutant çeltik bitkilerinde 15 günlük sürede artan tuz konsantrasyonlarında yapraklarda kontrole göre tüm konsantrasyonlarda köklerde ise 100 mM tuz konsantrasyonuna kadar SOD aktivitesinin arttığı belirlenmiştir. Aynı sürede dhan 47 bitkisinde 100 mM tuz konsantrasyonunda SOD aktivitesinin en yüksek olduğu görülmüştür. Maraş ve Kızıltan bitkilerinde ise artan tuz konsantrasyonuna göre azalan aktivite gerçekleştiği belirlenmiştir. 30 günlük sonuçlarda ise Kızıltan varyetesinde yapraklardaki SOD aktivitesinin kontrole göre azaldığı gözlenirken köklerde 100 mM tuz konsantrasyonuna kadar artan aktivite gösterdiği gözlenmiştir. Dhan 47 varyetesinde yapraklardaki SOD aktivitesinin kontrole göre arttığı ve en fazla aktivitenin 50 mM konsantrasyonda olduğu gözlenirken köklerde ise artan tuz konsantrasyonunda azalan aktivite gösterdiği gözlenmiştir. Aynı sürelerde maraş ve Kızıltan mutant bitkilerinde yaprak ve köklerde artan tuz konsantrasyonuna göre azalan aktivite gerçekleştiği belirlenmiştir (Tablo 4.8).

Tablo 4. 8 Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen çeltik çeşitlerinin 15 ve 30 günlük SOD enzim aktivitesi sonuçları

Çeltik çeşitleri	Yaprak								Kök							
	15 günlük				30 Günlük				15 günlük				30 Günlük			
	Kontrol (0 MS)	50 mM NaCl	100 mM NaCl	200 mM NaCl	Kontrol (0 MS)	50 mM NaCl	100 mM NaCl	200 mM NaCl	Kontrol (0 MS)	50 mM NaCl	100 mM NaCl	200 mM NaCl	Kontrol (0 MS)	50 mM NaCl	100 mM NaCl	200 mM NaCl
Maraş	0,0019 ±0,0017	0,0013 ±0,0001	0,0006 ±0,0005	0,0007 ±0,0002	0,0024 ±0,0004	0,0012 ±0,0007	0,0016 ±0,0005	0,0013 ±0,0014	0,0019 ±0,0005	0,0009 ±0,0002	0,0007 ±0,0005	0,0009 ±0,0001	0,0074 ±0,0045	0,0048 ±0,0022	0,0039 ±0,0007	0,0010 ±0,0001
Kızıltan	0,0019 ±0,0006	0,0010 ±0,0009	0,0012 ±0,0006	0,0012 ±0,0005	0,0086 ±0,0018	0,0020 ±0,0018	0,0037 ±0,0021	0,0026 ±0,0025	0,0018 ±0,0011	0,0007 ±0,0001	0,0002 ±0,0005	0,0003 ±0,0001	0,0059 ±0,0024	0,0086 ±0,0010	0,0069 ±0,0005	0,0029 ±0,0018
Kızıltan mutant	0,0020 ±0,0015	0,0039 ±0,0014	0,0020 ±0,0002	0,0087 ±0,0052	0,0029 ±0,0004	0,0019 ±0,0004	0,0021 ±0,0018	0,0008 ±0,0001	0,0009 ±0,0004	0,0015 ±0,0019	0,0027 ±0,0019	0,0007 ±0,0002	0,0080 ±0,0072	0,0005 ±0,0003	0,0030 ±0,0024	0,0022 ±0,0016
Dhan 47	0,0034 ±0,0003	0,0015 ±0,0012	0,0057 ±0,0011	xxxx	0,0031 ±0,00080	0,0066 ±0,0005	0,0034 ±0,0026	xxxx	0,0025 ±0,0015	0,0021 ±0,0002	0,0012 ±0,0000	xxxx	0,0048 ±0,0021	0,0039 ±0,0009	0,0041 ±0,0012	xxxx

Tabloda aynı satırda farklı harfle gösterilen ortalama değerler arasındaki fark önemlidir, Tukey ($p < 0.05$), $n=3$, \pm SD. xxxxxdhan 47 çeltik varyetesi 200 mM tuz konsantrasyonunda çimlenmediği için sonuçlar gösterilememiştir.

4.3.3 CAT Aktivite Analizi

15 gün ve 30 gün süresince yetiştirilen farklı çeltik varyetelerinin CAT aktiviteleri, Cho et al. (2000) yöntemiyle belirlenmiş ve sonuçlar, gruplar arası karşılaştırılarak analiz edilmiştir. Tablo 4.9'da belirtildiği üzere Kızıltan mutant çeltik bitkilerinde 15 günlük sürede artan tuz konsantrasyonlarında yapraklarda ve köklerde kontrole göre tüm konsantrasyonlarda CAT aktivitesinin arttığı belirlenmiştir. Aynı sürede dhan 47 bitkisinde yapraklarda 100 mM tuz konsantrasyonunda CAT aktivitesinin en yüksek olduğu görülmekte, köklerde ise artan tuz konsantrasyonunda artan aktivite gözlenmiştir. Maraş ve Kızıltan bitkilerinde ise 100 mM tuz konsantrasyonunda CAT aktivitesinin kontrole göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. 30 günlük sonuçlarda ise Kızıltan varyetesinde yapraklardaki CAT aktivitesinin 50 ve 100 mM tuz konsantrasyonunda kontrole kıyasla azaldığı gözlenirken 200 mM tuz konsantrasyonunda kontrole kıyasla daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Köklerde 100 mM tuz konsantrasyonuna kadar artan aktivite gösterdiği gözlenmiştir. Dhan 47 varyetesinde yapraklardaki CAT aktivitesinin kontrole göre arttığı ve en fazla aktivitenin 50 mM konsantrasyonda olduğu gözlenirken köklerde ise artan tuz konsantrasyonunda azalan aktivite gösterdiği gözlenmiştir. Aynı sürelerde maraş ve Kızıltan mutant bitkilerinde yaprak ve köklerde artan tuz konsantrasyonuna göre azalan aktivite gerçekleştiği belirlenmiştir.

Tablo 4. 9 Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen çeltik çeşitlerinin 15 ve 30 günlük CAT enzim aktivitesi sonuçları

Çeltik çeşitleri	Yaprak								Kök							
	15 günlük				30 Günlük				15 günlük				30 Günlük			
	Kontrol (0 MS)	50 mM NaCl	100 mM NaCl	200 mM NaCl	Kontrol (0 MS)	50 mM NaCl	100 mM NaCl	200 mM NaCl	Kontrol (0 MS)	50 mM NaCl	100 mM NaCl	200 mM NaCl	Kontrol (0 MS)	50 mM NaCl	100 mM NaCl	200 mM NaCl
Maraş	0,002887 ±0,00079	0,001783 ±0,00084	0,001183 ±0,00021	0,000743 ±0,00019	0,002967 ±0,00122	0,00132 ±0,00036	0,00266 ±0,00137	0,00259 ±0,00090	0,002003 ±0,00088 abc	0,001077 ±0,00046 bc	0,0006770 ±0,00017 c	0,001213 ±0,00038 bc	0,004067 ±0,00122 a	0,00372 ±0,00160 ab	0,003963 ±0,00124 a	0,001413 ±0,00079 abc
Kızıltan	0,00087 ±0,00027 c	0,00064 ±0,00033 c	0,000687 ±0,00006 c	0,000883 ±0,00054 c	0,002713 ±0,00012 ab	0,001357 ±0,00041 bc	0,002413 ±0,00030 ab	0,003023 ±0,00104 a	0,00201 ±0,00033 bcd	0,00076 ±0,00030 cd	0,00023 ±0,00002 d	0,000603 ±0,00029 cd	0,002547 ±0,00100 bc	0,00404 ±0,00145 ab	0,00533 ±0,00123 a	0,00107 ±0,00035 cd
Kızıltan mutant	0,00124 ±0,00023 b	0,00174 ±0,00107 ab	0,002017 ±0,00078 ab	0,00442 ±0,00213 a	0,002967 ±0,00155 ab	0,00168 ±0,00051 ab	0,00202 ±0,00047 ab	0,000573 ±0,00008 b	0,00084 ±0,00023 b	0,001437 ±0,00116 b	0,000937 ±0,00040 b	0,0013 ±0,00061 b	0,006413 ±0,00207 a	0,000737 ±0,00015 b	0,001693 ±0,00028 b	0,00062± 0,00035 b
Dhan 47	0,00263 ±0,00089	0,000987 ±0,00020	0,003127 ±0,00167	xxxx	0,001107 ±0,00066	0,0021 ±0,00077	0,00206 ±0,00015	xxxx	0,00117 ±0,00047 ab	0,00145 ±0,00015 ab	0,000667 ±0,00033 b	xxxx	0,002853 ±0,00104 a	0,002513 ±0,00126 ab	0,00165 ±0,00056 ab	xxxx

Tabloda aynı satırda farklı harfle gösterilen ortalama değerler arasındaki fark önemlidir, Tukey ($p < 0.05$), $n=3$, \pm SD. xxxxxdhan 47 çeltik varyetesi 200 mM tuz konsantrasyonunda çimlenmediği için sonuçlar gösterilememiştir.

4.3.4 FDH Aktivite Analizi

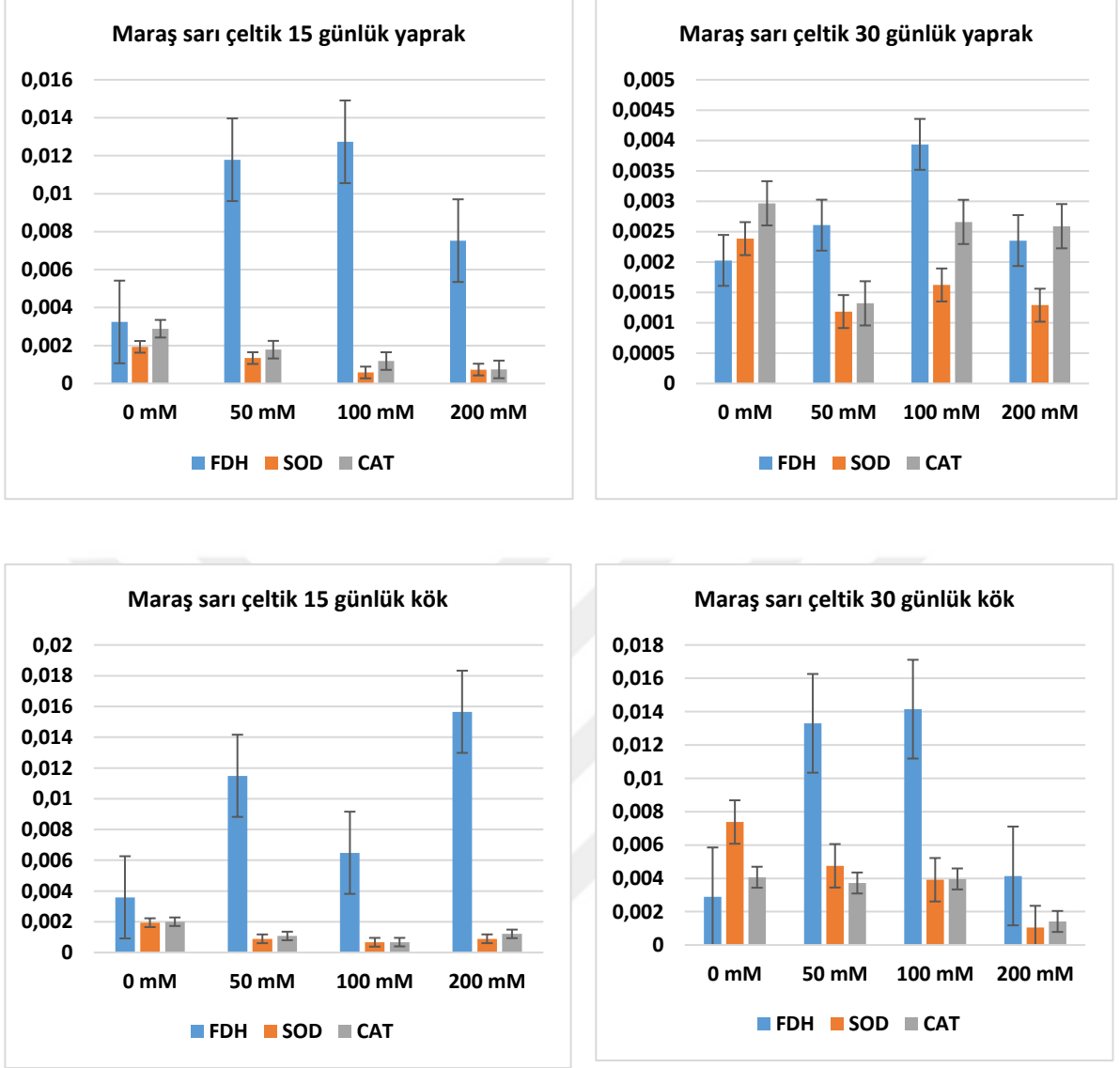
15 gün ve 30 gün süresince yetiştirilen farklı çeltik varyetelerinin FDH aktiviteleri, Özgün et al. (2016) yöntemiyle belirlenmiş ve sonuçlar, gruplar arası karşılaştırılarak analiz edilmiştir. Tablo 4.10'da belirtildiği üzere 15 günlük sonuçlarda yaprak ve köklerde tüm çeltik varyetelerinde kontrole göre FDH aktivitesinin arttığı gözlenmiştir. 50 ve 100 mM tuz konsantrasyonlarında en fazla artış maraş çeltik varyetesinde gözlenmiştir. 15 günlük yapraklarda 200 mM tuz konsantrasyonunda en fazla aktivite Kızıltan varyetesinde gözlenirken, 15 günlük köklerde 200 mM tuz konsantrasyonda maraş varyetesinde gözlenmiştir. 30 günlük sonuçlarda yaprak ve köklerde tüm çeltik varyetelerinde kontrole göre FDH aktivitesinin arttığı gözlenmiştir. Yapraklarda 50 ve 100 mM tuz konsantrasyonlarında en fazla artış Kızıltan mutant çeltik varyetesinde gözlenmiştir. 30 günlük yapraklarda 200 mM tuz konsantrasyonunda en fazla aktivite Kızıltan varyetesinde gözlenirken, 30 günlük köklerde 200 mM tuz konsantrasyonda Kızıltan mutant varyetesinde gözlenmiştir (Tablo 4.10).

Bu verilere ek olarak varyeteler bazında 15 ve 30 günlük süreler boyunca tuz stresi altında yaprak ve kök dokularının SOD, FDH ve CAT sonuçlarının karşılaştırmalı analizleri; Maraş varyetesi için şekil 4.2'de, Kızıltan varyetesi için şekil 4.3'te, Kızıltan mutant varyetesi için şekil 4.4'te, dhan 47 varyetesi için şekil 4.5'te gösterilmiştir.

Tablo 4. 10 Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen çeltik çeşitlerinin 15 ve 30 günlük FDH enzim aktivitesi sonuçları

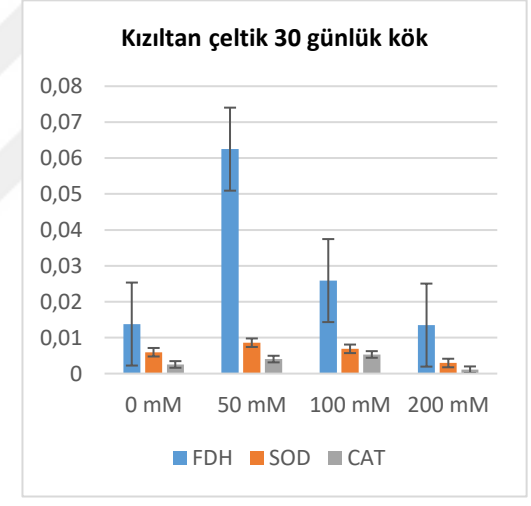
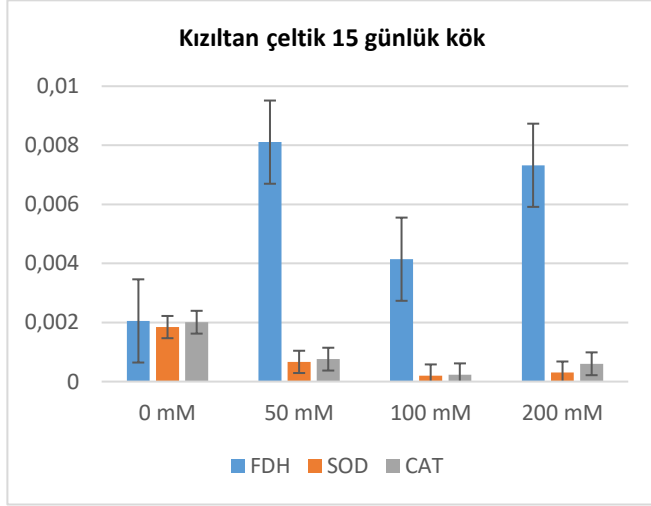
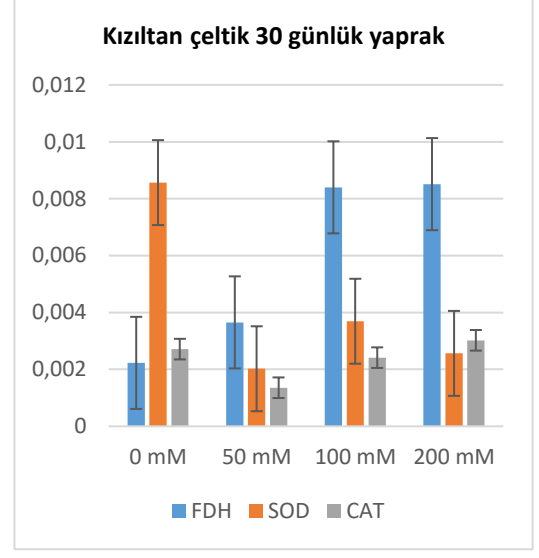
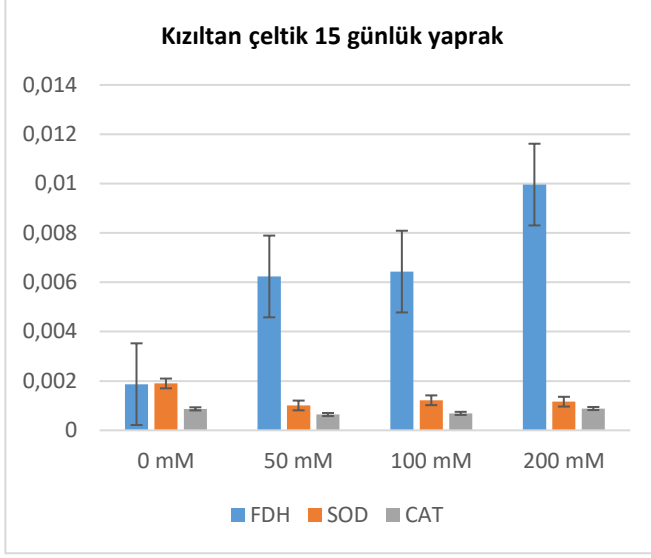
Çeltik çeşitleri	Yaprak								Kök							
	15 günlük				30 Günlük				15 günlük				30 Günlük			
	Kontrol (0 MS)	50 mM NaCl	100 mM NaCl	200 mM NaCl	Kontrol (0 MS)	50 mM NaCl	100 mM NaCl	200 mM NaCl	Kontrol (0 MS)	50 mM NaCl	100 mM NaCl	200 mM NaCl	Kontrol (0 MS)	50 mM NaCl	100 mM NaCl	200 mM NaCl
Maraş	0,0032 ±0,0011 b	0,0118 ±0,0027 a	0,0127 ±0,0041 a	0,0075 ±0,0024 ab	0,0020 ±0,0001 b	0,0026 ±0,0004 b	0,0039 ±0,0008 b	0,0024 ±0,0004 b	0,0036 ±0,0007 cd	0,0115 ±0,0022 abcd	0,0065 ±0,0015 abcd	0,0157 ±0,0012 a	0,0029 ±0,0001 d	0,0133 ±0,0051 abc	0,0142 ±0,0081 ab	0,0041 ±0,0009 bcd
Kızıltan	0,0019 ±0,0002 c	0,0062 ±0,0016 abc	0,0064 ±0,0006 abc	0,0100 ±0,0030 a	0,0022 ±0,0002 c	0,0037 ±0,0009 bc	0,0084 ±0,0026 ab	0,0085 ±0,0021 ab	0,0021 ±0,0002 c	0,0081 ±0,0025 c	0,0041 ±0,0011 c	0,0073 ±0,0010 c	0,0138 ±0,0107 c	0,0625 ±0,0631 c	0,0259 ±0,0217 a	0,0135 ±0,0091 b
Kızıltan mutant	0,0010 ±0,0002 b	0,0029 ±0,0016 b	0,0032 ±0,0015 b	0,0047 ±0,00112 b	0,0034 ±0,0006 b	0,0178 ±0,0054 a	0,0217 ±0,0003 a	0,0063 ±0,0010 b	0,0005 ±0,0000 c	0,0009 ±0,0001 c	0,0010 ±0,00005 c	0,0037 ±0,0015 c	0,0043 ±0,0004 c	0,0065 ±0,0013 c	0,0315 ±0,0049 a	0,0179 ±0,0057 b
Dhan 47	0,0020 ±0,0001 c	0,0089 ±0,0002 a	0,0066 ±0,0004 abc	xxxx	0,0012 ±0,0002 c	0,0076 ±0,0047 ab	0,0034 ±0,0008 bc	xxxx	0,0014 ±0,0001 b	0,0041 ±0,0002 ab	0,0039 ±0,0007 ab	xxxx	0,0029 ±0,0001 ab	0,0087 ±0,0049 a	0,0086 ±0,0027 a	xxxx

Tabloda aynı satırda farklı harfle gösterilen ortalama değerler arasındaki fark önemlidir, Tukey ($p < 0.05$), $n=3$, \pm SD. xxxxdhan 47 çeltik varyetesi 200 mM tuz konsantrasyonunda çimlenmediği için sonuçlar gösterilememiştir.



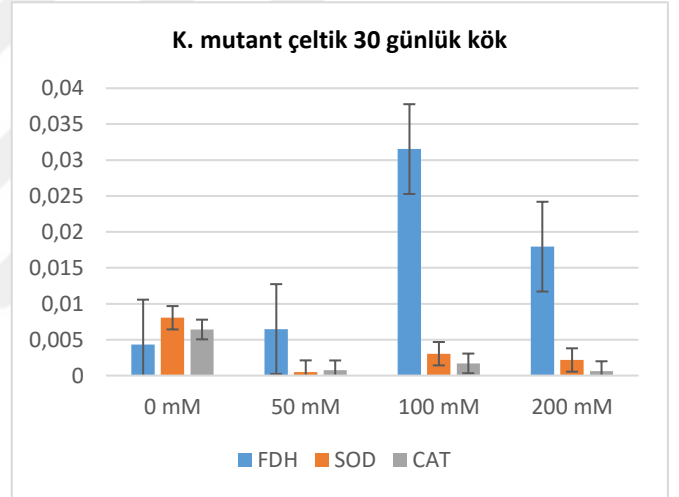
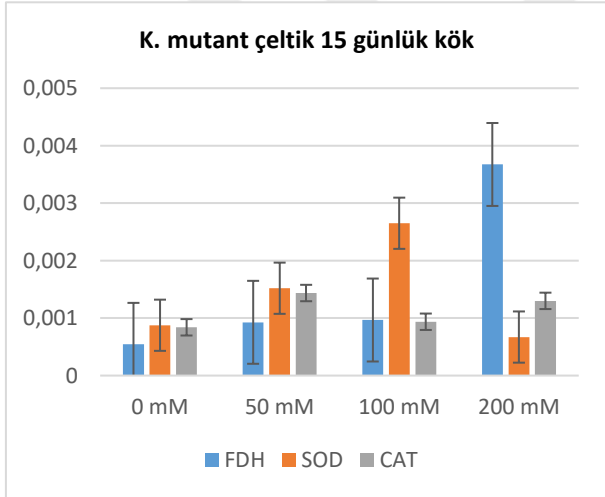
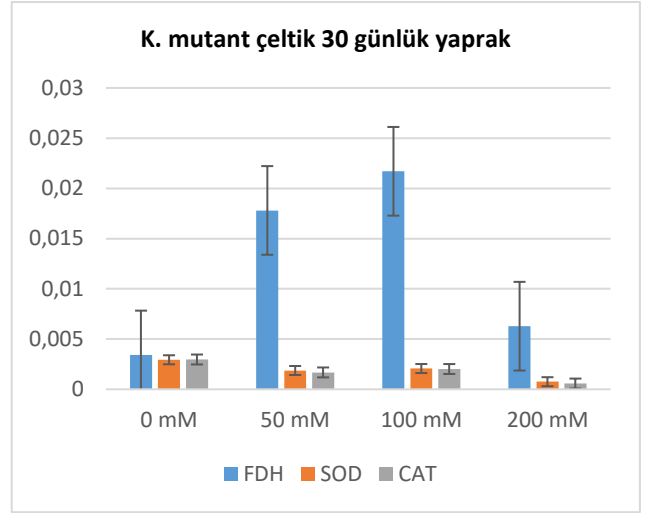
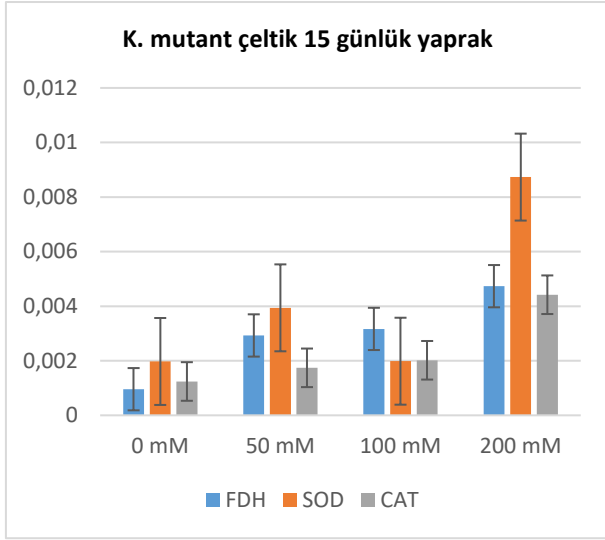
Şekil 4. 2 Maraş sarı çeltik genotiplerinde tuz stresi altında yaprak ve kök dokularının SOD, FDH ve CAT aktiviteleri

Tuzlulukla muamele edilmiş numunelerin bağlı SOD, FDH ve CAT aktivitesi, kontrol numunesine kıyasla hesaplanmıştır. Sütunların üzerindeki çubuklar, üç tekrarın \pm SD'sini temsil eder.



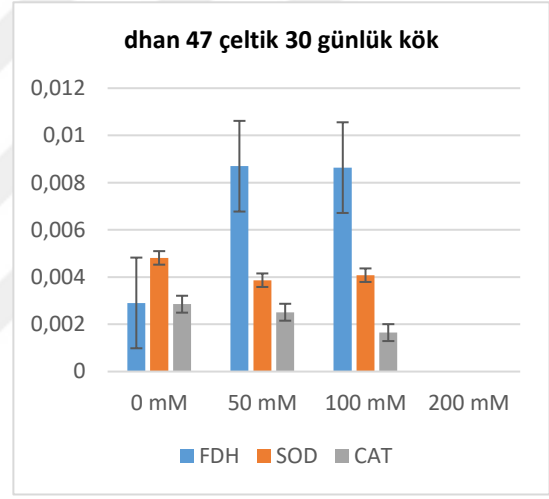
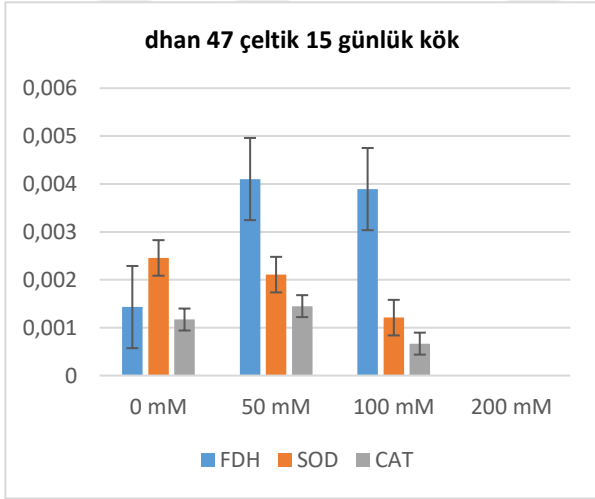
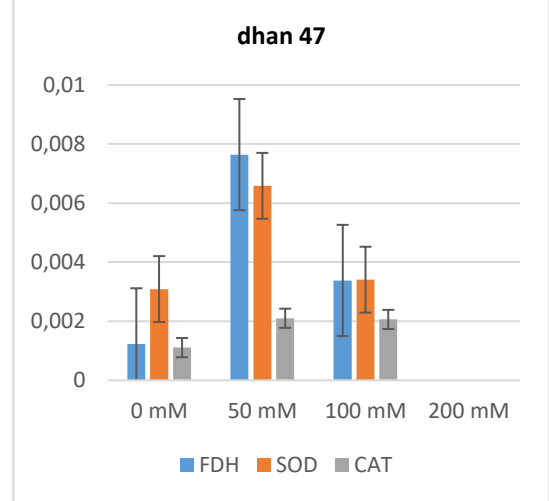
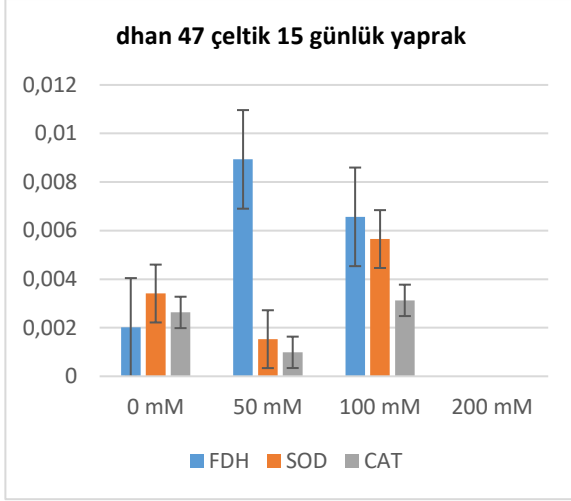
Şekil 4. 3 Kızıltan çeltik genotiplerinde tuz stresi altında yaprak ve kök dokularının SOD, FDH ve CAT aktiviteleri

Tuzlulukla muamele edilmiş numunelerin bağlı SOD, FDH ve CAT aktivitesi, kontrol numunesine kıyasla hesaplanmıştır. Sütunların üzerindeki çubuklar, üç tekrarın \pm SD'sini temsil eder.



Şekil 4. 4 K. mutant çeltik genotiplerinde tuz stresi altında yaprak ve kök dokularının SOD, FDH ve CAT aktiviteleri

Tuzlulukla muamele edilmiş numunelerin bağlı SOD, FDH ve CAT aktivitesi, kontrol numunesine kıyasla hesaplanmıştır. Sütunların üzerindeki çubuklar, üç tekrarın \pm SD'sini temsil eder.



Şekil 4. 5 dhan 47 çeltik genotiplerinde tuz stresi altında yaprak ve kök dokularının SOD, FDH ve CAT aktiviteleri

Tuzlulukla muamele edilmiş numunelerin bağlı SOD, FDH ve CAT aktivitesi, kontrol numunesine kıyasla hesaplanmıştır. Sütunların üzerindeki çubuklar, üç tekrarın \pm SD'sini temsil eder. dhan 47 çeltik varyetesi 200 mM tuz konsantrasyonunda çimlenmediği için sonuçlar gösterilememiştir.

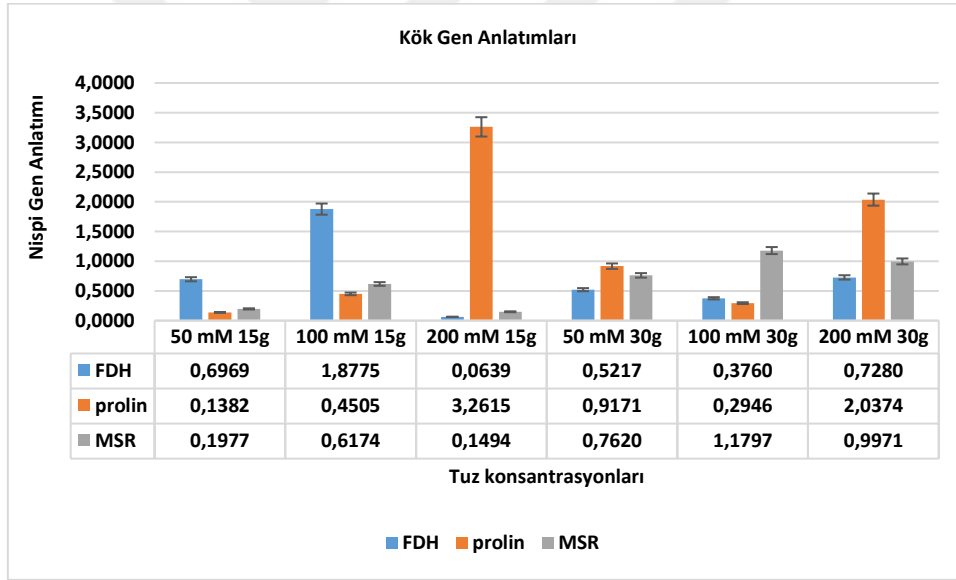
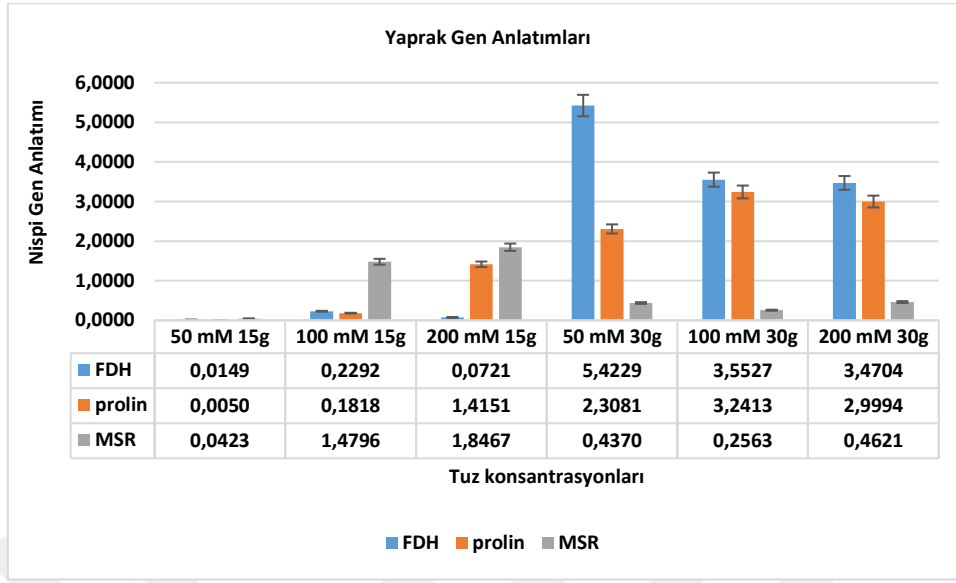
4.4 Moleküler Analizler

4.4.1 Gen Anlatım Analizleri

15 ve 30 gün süresince 0 MS (tuzsuz ortam) ve farklı tuz konsantrasyonlarında (50 mM, 100 mM ve 200 mM) yetiştirilen çeltik bitkilerinin; Prolin (delta-1-pyrroline-5-carboxylate synthase), Format dehidrogenaz ve Metiyonin sülfoksit redüktaz gen anlatım analizlerinin kontrole göre değişimi şekil 4.10'da gösterilmiştir. Genlerin anlatım profillerinin karşılaştırılması, 'Bio- Array Resource- BAR sıcaklık haritalaması programı ile gerçekleştirilmiştir (<http://bar.utoronto.ca>)². Elde edilen veriler, log2 formatında değerlendirilmiş ve yüzde bakımından sarıdan kırmızıya değişen renk skalasında değerlendirilmiştir (şekil 4.10). 15 günlük sonuçlar ayrı 30 günlük sonuçlar ayrı ve 15 ile 30 günlük sonuçlar da karşılıklı değerlendirilmiştir.

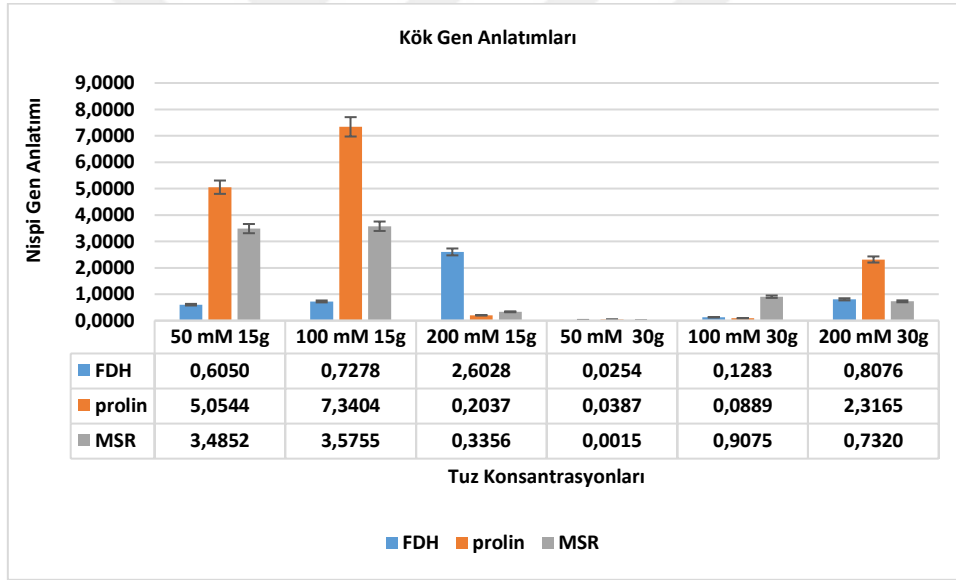
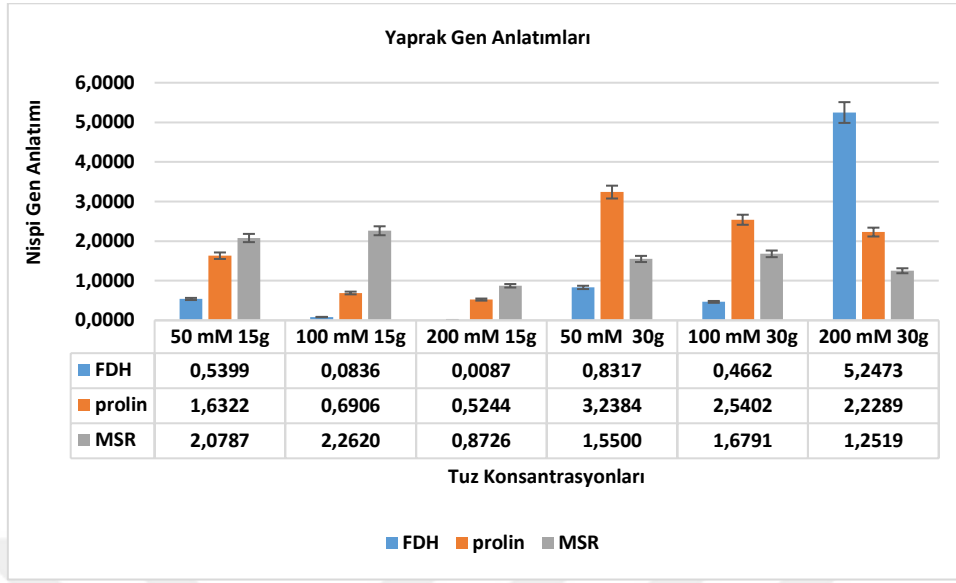
Bu verilere ek olarak varyeteler bazında 15 ve 30 günlük süreler boyunca tuz stresi altında yaprak ve kök dokularının gen anlatım analiz sonuçlarının karşılaştırmalı analizleri; Maraş varyetesi için şekil 4.6'da Kızıltan varyetesi için şekil 4.7'de, Kızıltan mutant varyetesi için şekil 4.8'de, dhan 47 varyetesi için şekil 4.9'da gösterilmiştir.

² Erişim tarihi: 12 Haziran 2021



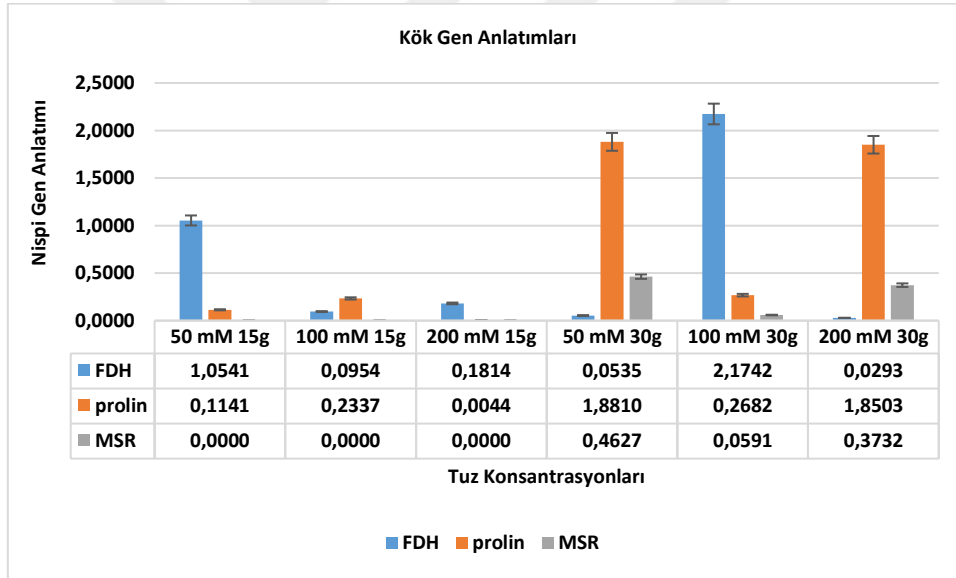
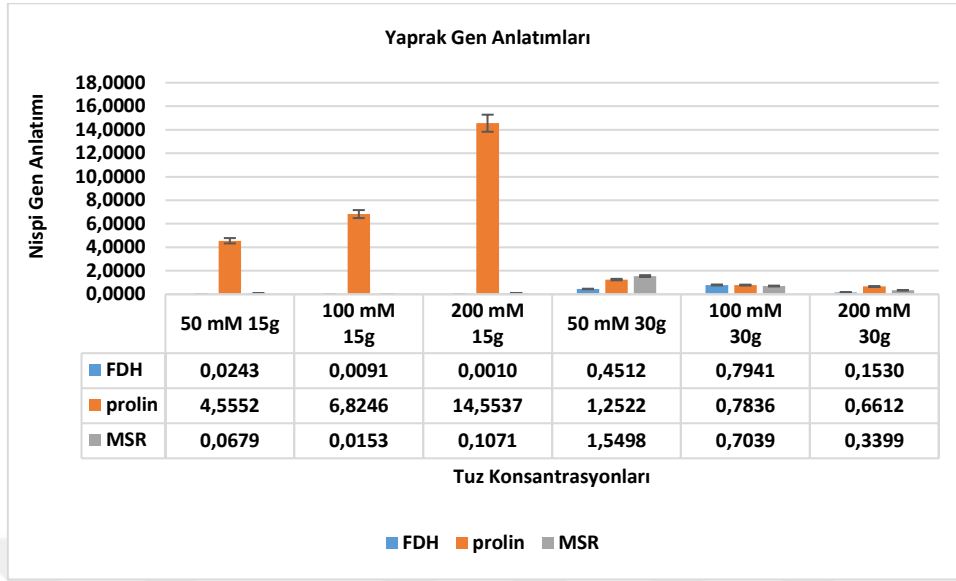
Şekil 4. 6 Maraş sarı çeltik varyetesinde tuz stresi altında yaprak ve kök dokularının gen anlatım analiz sonuçları

Tuzlulukla muamele edilmiş numunelerin bağlı MSR, FDH ve Prolin gen anlatım analizleri, kontrol numunesine kıyasla hesaplanmıştır. Sütunların üzerindeki çubuklar, üç tekrarın \pm SD'sini temsil eder.



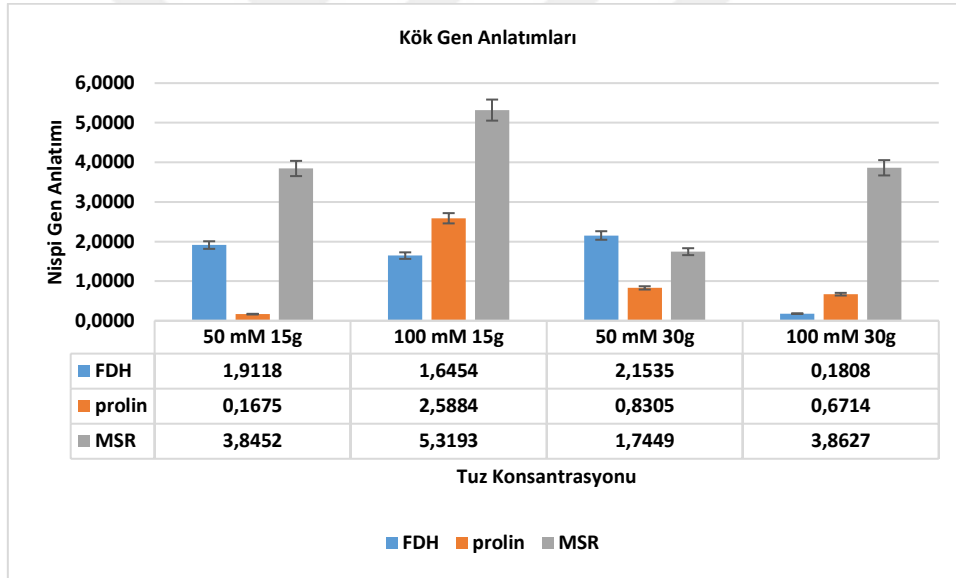
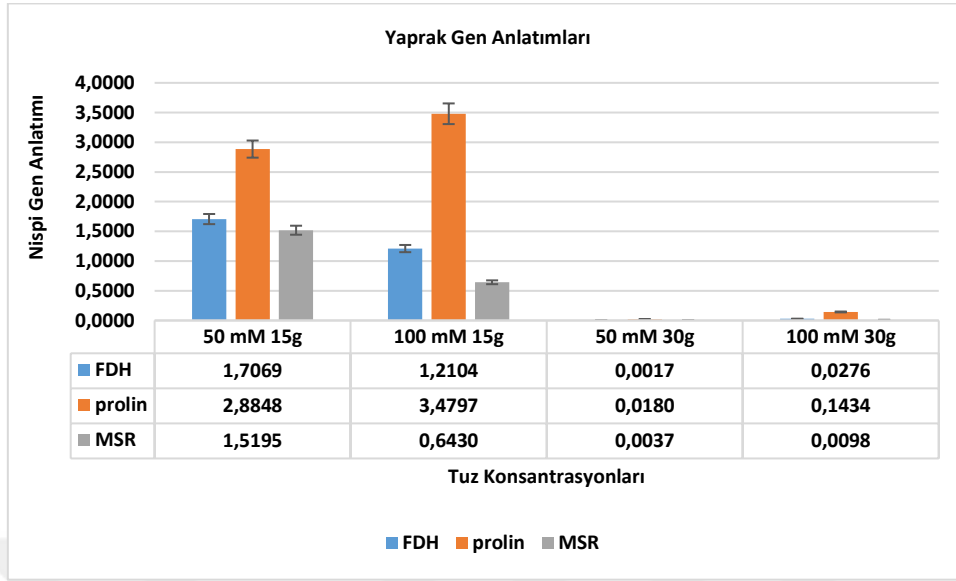
Şekil 4. 7 Kızıltan varyetesinde tuz stresi altında yaprak ve kök dokularının gen anlatım analiz sonuçları

Tuzlulukla muamele edilmiş numunelerin bağlı MSR, FDH ve Prolin gen anlatım analizleri, kontrol numunesine kıyasla hesaplanmıştır. Sütunların üzerindeki çubuklar, üç tekrarın \pm SD'sini temsil eder.



Şekil 4. 8 Kızıltan mutant varyetesinde tuz stresi altında yaprak ve kök dokularının gen anlatım analiz sonuçları

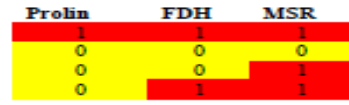
Tuzlulukla muamele edilmiş numunelerin bağlı MSR, FDH ve Prolin gen anlatım analizleri, kontrol numunesine kıyasla hesaplanmıştır. Sütunların üzerindeki çubuklar, üç tekrarın \pm SD'sini temsil eder.



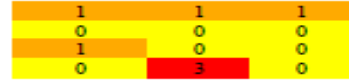
Şekil 4. 9 dhan 47 varyetesinde tuz stresi altında yaprak ve kök dokularının gen anlatım analiz sonuçları

Tuzlulukla muamele edilmiş numunelerin bağlı MSR, FDH ve Prolin gen anlatım analizleri, kontrol numunesine kıyasla hesaplanmıştır. 200 mM tuz konsantrasyonunda dhan 47 bitkisinde çimlenme olmadı Sütunların üzerindeki çubuklar, üç tekrarın \pm SD'sini temsil eder. dhan 47 çeltik varyetesi 200 mM tuz konsantrasyonunda çimlenmediği için sonuçlar gösterilememiştir.

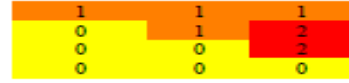
15 günlük kök ve yapraklar
 Maraş 0 MS 15 günlük yaprak (Kontrol)
 Maraş 50 mM NaCl 15 günlük yaprak
 Maraş 100 mM NaCl 15 günlük yaprak
 Maraş 200 mM NaCl 15 günlük yaprak



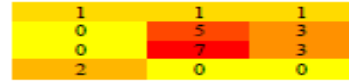
Maraş 0 MS 15 günlük kök (Kontrol)
 Maraş 50 mM NaCl 15 günlük kök
 Maraş 100 mM NaCl 15 günlük kök
 Maraş 200 mM NaCl 15 günlük kök



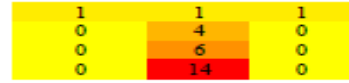
Kızıltan 0 MS 15 günlük yaprak (Kontrol)
 Kızıltan 50 mM NaCl 15 günlük yaprak
 Kızıltan 100 mM NaCl 15 günlük yaprak
 Kızıltan 200 mM NaCl 15 günlük yaprak



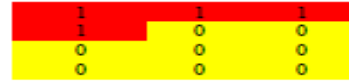
Kızıltan 0 MS 15 günlük kök (Kontrol)
 Kızıltan 50 mM NaCl 15 günlük kök
 Kızıltan 100 mM NaCl 15 günlük kök
 Kızıltan 200 mM NaCl 15 günlük kök



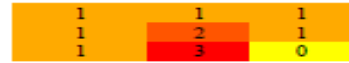
K. Mutant 0 MS 15 günlük yaprak (Kontrol)
 K. Mutant 50 mM NaCl 15 günlük yaprak
 K. Mutant 100 mM NaCl 15 günlük yaprak
 K. Mutant 200 mM NaCl 15 günlük yaprak



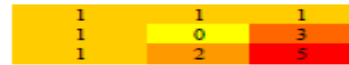
K. Mutant 0 MS 15 günlük kök (Kontrol)
 K. Mutant 50 mM NaCl 15 günlük kök
 K. Mutant 100 mM NaCl 15 günlük kök
 K. Mutant 200 mM NaCl 15 günlük kök



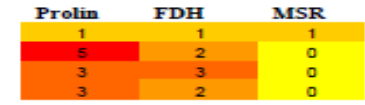
dhan47 0 MS 15 günlük yaprak (Kontrol)
 dhan47 50 mM NaCl 15 günlük yaprak
 dhan47 100 mM NaCl 15 günlük yaprak



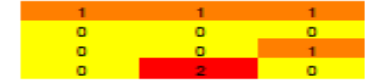
dhan47 0 MS 15 günlük kök (Kontrol)
 dhan47 50 mM NaCl 15 günlük kök
 dhan47 100 mM NaCl 15 günlük kök



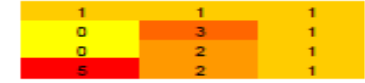
30 günlük kök ve yapraklar
 Maraş 0 MS 30 günlük yaprak (Kontrol)
 Maraş 50 mM NaCl 30 günlük yaprak
 Maraş 100 mM NaCl 30 günlük yaprak
 Maraş 200 mM NaCl 30 günlük yaprak



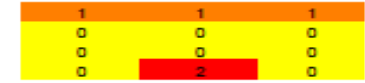
Maraş 0 MS 30 günlük kök (Kontrol)
 Maraş 50 mM NaCl 30 günlük kök
 Maraş 100 mM NaCl 30 günlük kök
 Maraş 200 mM NaCl 30 günlük kök



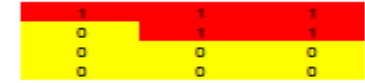
Kızıltan 0 MS 30 günlük yaprak (Kontrol)
 Kızıltan 50 mM NaCl 30 günlük yaprak
 Kızıltan 100 mM NaCl 30 günlük yaprak
 Kızıltan 200 mM NaCl 30 günlük yaprak



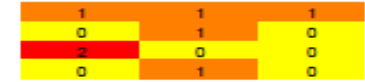
Kızıltan 0 MS 30 günlük kök (Kontrol)
 Kızıltan 50 mM NaCl 30 günlük kök
 Kızıltan 100 mM NaCl 30 günlük kök
 Kızıltan 200 mM NaCl 30 günlük kök



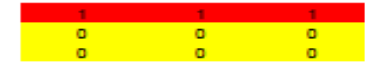
K. Mutant 0 MS 30 günlük yaprak (Kontrol)
 K. Mutant 50 mM NaCl 30 günlük yaprak
 K. Mutant 100 mM NaCl 30 günlük yaprak
 K. Mutant 200 mM NaCl 30 günlük yaprak



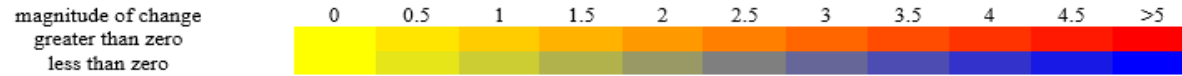
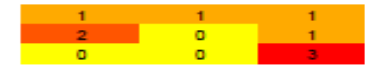
K. Mutant 0 MS 30 günlük kök (Kontrol)
 K. Mutant 50 mM NaCl 30 günlük kök
 K. Mutant 100 mM NaCl 30 günlük kök
 K. Mutant 200 mM NaCl 30 günlük kök



dhan47 0 MS 30 günlük yaprak (Kontrol)
 dhan47 50 mM NaCl 30 günlük yaprak
 dhan47 100 mM NaCl 30 günlük yaprak



dhan47 0 MS 30 günlük kök (Kontrol)
 dhan47 50 mM NaCl 30 günlük kök
 dhan47 100 mM NaCl 30 günlük kök



Şekil 4. 10 Deney gruplarında anlatımı analiz edilen üç genin renk haritası. Kontrol ile karşılaştırıldığında, renk skalasındaki sarı ve kırmızı, sırasıyla düşük ve yüksek anlatım profillerini göstermektedir. Nispi gen seviyeleri, $2^{-\Delta\Delta Ct}$ yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır

* 200 mM tuz konsantrasyonunda dhan 47 bitkisinde büyüme olmadığı için hesaplama dahil edilmedi. Renk haritası <http://bar.utoronto.ca/> adresi kullanılarak oluşturulmuştur. (Erişim tarihi: 12 Haziran 2021)

Tablo incelendiğinde; prolin gen anlatımında 15 günlük örneklerin yapraklarında kontrole göre bir miktar azalma ya da değişiklik olmadığı gözlenirken, köklerde kontrole göre artış olduğu gözlenmiştir. Köklerde en fazla artışın Kızıltan 200 mM tuz konsantrasyonunda yetişen köklerde olduğu gözlenmiştir. 30 günlük örneklerde ise; yapraklarda kontrole göre artışlar gözlenmekte ve en fazla 5 kat artışla Maraş sarı çeltik 50 mM tuz konsantrasyonunda ve Kızıltan 200 mM tuz konsantrasyonunda gözlenmiştir.

FDH gen anlatımında 15 günlük örneklerin yaprak ve köklerde varyeteler aralarında farklılıklar olmasına karşın kontrole göre artış olduğu gözlenirken, köklerde de kontrole göre artışlar gözlenmiştir. Köklerde en fazla 7 kat artışla Kızıltan 100 mM tuz konsantrasyonunda yetişen köklerde olduğu gözlenmiştir. Yapraklarda ise en fazla 14 kat artışla Kızıltan mutant 200 mM tuz konsantrasyonunda gözlenmiştir. 30 günlük örneklerde ise; Köklerde varyeteler aralarında farklılıklar olmasına karşın kontrole göre artış olduğu gözlenirken yapraklarda kontrole göre artışlar gözlenmekte ve yapraklarda en fazla 3 kat artışla Maraş sarı çeltik 100 mM tuz konsantrasyonunda ve Kızıltan 50 mM tuz konsantrasyonunda gözlenmiştir. Köklerde ise en fazla 2 kat artış ile Maraş ve Kızıltan çeşitlerinin 200 mM tuz konsantrasyonunda gözlenmiştir.

MSR gen anlatımında 15 günlük örneklerin yaprak ve köklerde varyeteler aralarında farklılıklar olmasına karşın kontrole göre artış olduğu gözlenirken, köklerde kontrole göre artışlar gözlenmiştir. Köklerde en fazla artışın dhan 47 100 mM tuz konsantrasyonunda yetişen köklerde olduğu gözlenmiştir. 30 günlük örneklerde ise; köklerde ve yapraklarda varyeteler aralarında farklılıklar olmasına karşın kontrole göre artış olduğu gözlenirken, köklerde en fazla 3 kat artışla dhan 47 100 mM tuz konsantrasyonunda gözlenmiştir.

Tüm tuz konsantrasyonları için ölçülen prolin, FDH ve MSR aktivitelerinin kontrol bitkisine kıyasla istatistiksel analize göre önemli ölçüde farklı olmasa da (sadece MSR 15 günlük kök sonuçlarında anlamlı farklılık tespit edilmiştir) ölçülen gen anlatım miktarları artan tuz konsantrasyonu ile birlikte arttığı belirlenmiştir. Farklı tuz konsantrasyonu altındaki çeltik bitkilerinin gen aktivite artışı bitkilerin tuz stresi ile mücadele ettiğini göstermektedir.

4.4.2 IRAP Moleküler Markır Bulgularının Hesaplanması

IRAP jel görüntülerinde her örnekte kendi içinde tekrarlanan bantlar hesaplanmıştır. Bant büyüklüğü DNA markırıyla karşılaştırılarak belirlenmiştir. Her bir varyeteden elde edilen IRAP bantları sayılarak her varyete türü kendi arasında (30-günlük kök ve yaprak ile 15-günlük kök ve yaprak) gruplandırılarak hesaplanmıştır. Belirli bir bantın varlığı bir (1), yokluğu sıfır (0) olarak kabul edilip ikili "binary" veri matrisi "Binary data matrix" hazırlanıp bu verilerle Jaccard benzerlik katsayısına (Jaccard, 1908) göre "Jaccard similarity coefficient" benzerlik indeksleri "similarity index" hesaplanmıştır. IRAP analiz sonuçlarının hesaplanmasında Jaccard benzerlik katsayısının kullanılmasının uygun olduğu belirtildiği için bu çalışmada da Jaccard benzerlik katsayısı tercih edilmiştir.

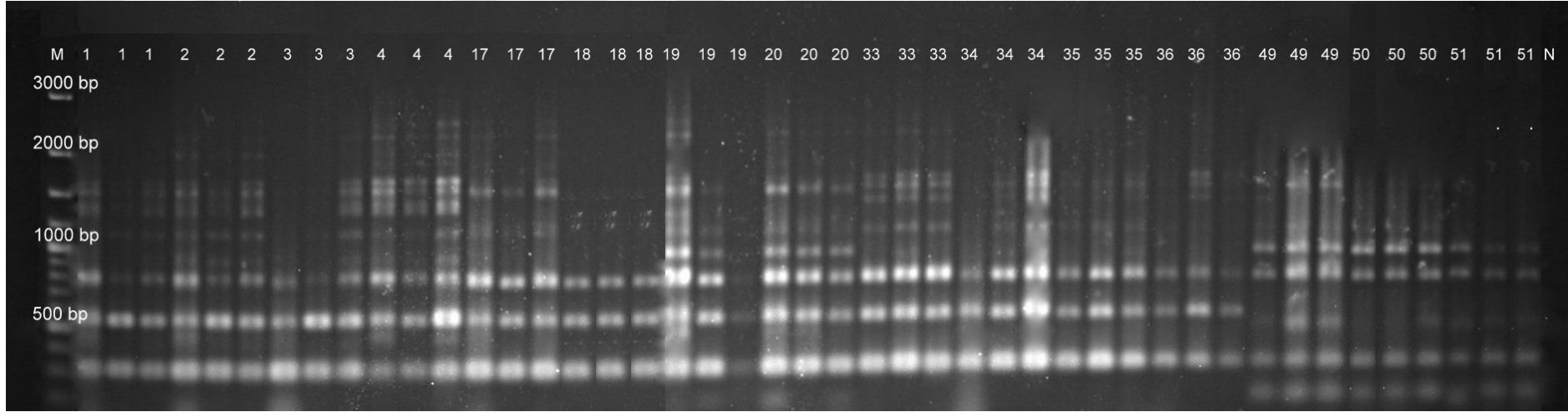
4.4.2.1 Hopi IRAP-PCR Analizi

Çalışmada 60 gDNA örneği üç tekrarlı olarak kullanılmış IRAP-PCR sonuçları %1'lik agaroz jelde 150 voltta 180 dakika süre ile yürütülmüş ve UV tablasında görüntülenerek fotoğrafı çekilmiştir. IRAP-PCR analizlerinde polimorfizm oranları, her örnek diğer örneklerle karşılaştırılarak hesaplanmıştır.

Buna göre 15 günlük yaprakların agaroz jel sonucunda 300 bç ile 1500 bç arasında 405 bant, 15 günlük kökler için 300 bç ile 1500 bç arasında 450 bant, 30 günlük yapraklar için 300 bç ile 1500 bç arasında 360 bant, 30 günlük kökler için 300 bç ile 1500 bç arasında 315 bant sayılmıştır.

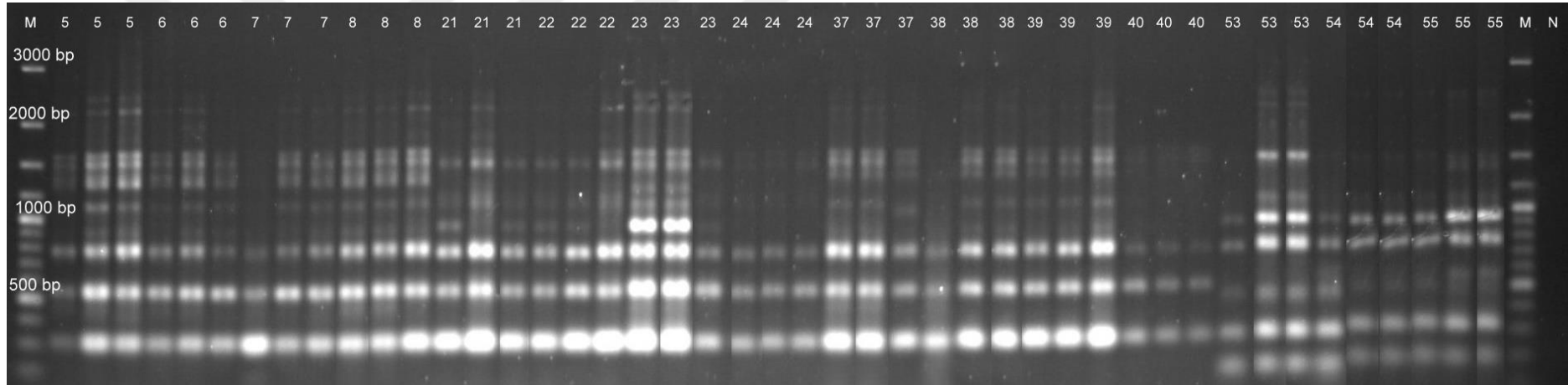
Sayılan bantlardan 15 günlük yapraklarda 325'i monomorfik, 80'ni polimorfiktir. 15 günlük köklerde 326'i monomorfik, 124'i polimorfiktir. 30 günlük yapraklarda 264'ü monomorfik, 96'sı polimorfiktir. 30 günlük köklerde 212'i monomorfik, 103'ü polimorfiktir.

Elde edilen sonuçlara göre 15 günlük yapraklarda %0-97 polimorfizm (Şekil 4.11 ve Tablo 4. 11), 15 günlük köklerin %0-94 polimorfizm (Şekil 4.12 ve Tablo 4.12), 30 günlük yaprakların %0- 96 polimorfizm (Şekil 4.13 ve Tablo 4.13), 30 günlük köklerde %0-96 polimorfizm (Şekil 4.14 ve Tablo 4.14) oranları hesaplanmıştır.



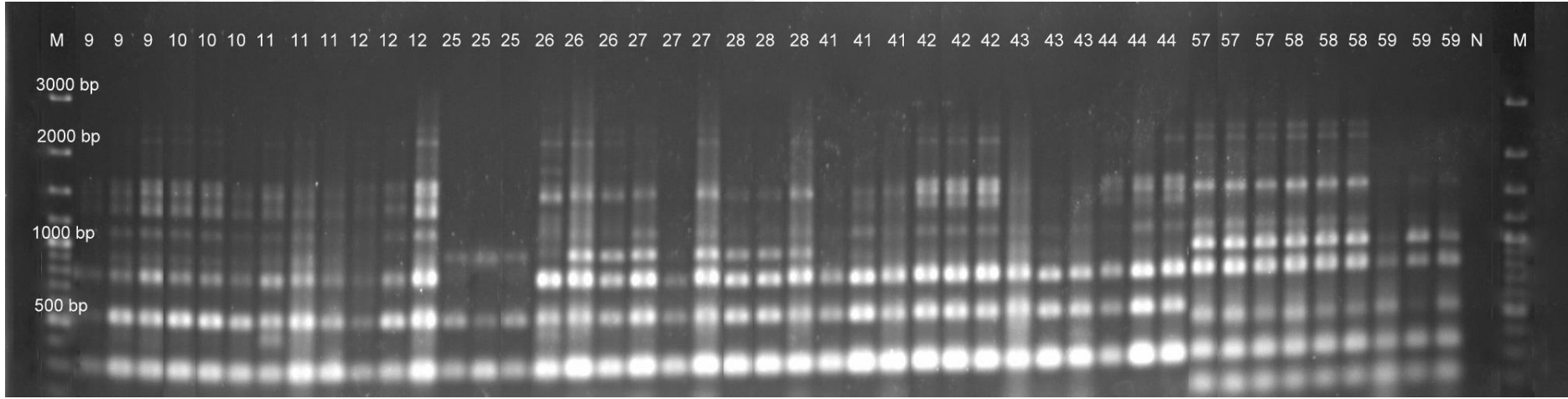
Şekil 4. 11 *Hopi* IRAP-PCR 15 günlük yaprak sonuçları. 1-51, çeltik varyeteleri; M, markır (Thermo, 100 bp #SM0321); N, PCR negatif kontrol. Polimorfizm oranı her örnek için 3 tekerrür dikkate alınarak hesaplanmıştır.

1- Maraş 0 MS 15 günlük yaprak (Kontrol), 2- Maraş 50 mM NaCl 15 günlük yaprak, 3- Maraş 100 mM NaCl 15 günlük yaprak, 4- Maraş 200 mM NaCl 15 günlük yaprak, 17- Kızıltan 0 MS 15 günlük yaprak (Kontrol), 18-Kızıltan 50 mM NaCl 15 günlük yaprak, 19-Kızıltan 100 mM NaCl 15 günlük yaprak, 20- Kızıltan 200 mM NaCl 15 günlük yaprak, 33- K. Mutant 0 MS 15 günlük yaprak (Kontrol), 34- K. Mutant 50 mM NaCl 15 günlük yaprak, 35- K. Mutant 100 mM NaCl 15 günlük yaprak, 36- K. Mutant 200 mM NaCl 15 günlük yaprak, 49- dhan 47 0 MS 15 günlük yaprak (Kontrol), 50- dhan 47 50 mM NaCl 15 günlük yaprak, 51- dhan 47 100 mM NaCl 15 günlük yaprak



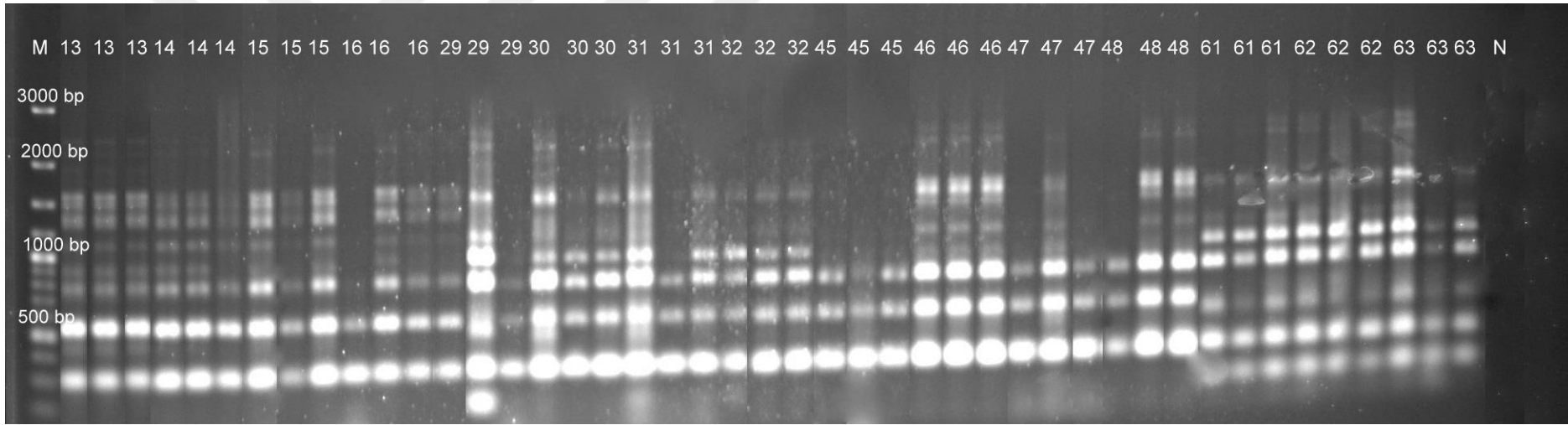
Şekil 4. 12 Hopi IRAP-PCR 15 günlük kök sonuçları. 5-55, çeltik varyeteleri; M, markır (Thermo, 100 bp #SM0321); N, PCR negatif kontrol. Polimorfizm oranı her örnek için 3 tekerrür dikkate alınarak hesaplanmıştır.

5- Maraş 0 MS 15 günlük kök (Kontrol), 6- Maraş 50 mM NaCl 15 günlük kök, 7- Maraş 100 mM NaCl 15 günlük kök, 8- Maraş 200 mM NaCl 15 günlük kök, 21- Kızıltan 0 MS 15 günlük kök (Kontrol), 22- Kızıltan 50 mM NaCl 15 günlük kök, 23- Kızıltan 100 mM NaCl 15 günlük kök, 24- Kızıltan 200 mM NaCl 15 günlük kök, 37- K. Mutant 0 MS 15 günlük kök (Kontrol), 38- K. Mutant 50 mM NaCl 15 günlük kök, 39- K. Mutant 100 mM NaCl 15 günlük kök, 40- K. Mutant 200 mM NaCl 15 günlük kök, 53- dhan 47 0 MS 15 günlük kök (Kontrol), 4- dhan 47 50 mM NaCl 15 günlük kök, 55- dhan 47 100 mM NaCl 15 günlük kök



Şekil 4. 13 Hopi IRAP-PCR 30 günlük yaprak sonuçları. 9-59, çeltik varyeteleri; M, markır (Thermo, 100 bp #SM0321); N, PCR negatif kontrol. Polimorfizm oranı her örnek için 3 tekerrür dikkate alınarak hesaplanmıştır.

9- Maraş 0 MS 30 günlük yaprak (Kontrol), 10- Maraş 50 mM NaCl 30 günlük yaprak, 11- Maraş 100 mM NaCl 30 günlük yaprak, 12- Maraş 200 mM NaCl 30 günlük yaprak, 25- Kızıltan 0 MS 30 günlük yaprak (Kontrol), 26- Kızıltan 50 mM NaCl 30 günlük yaprak, 27- Kızıltan 100 mM NaCl 30 günlük yaprak, 28- Kızıltan 200 mM NaCl 30 günlük yaprak, 41- K. Mutant 0 MS 30 günlük yaprak (Kontrol), 42- K. Mutant 50 mM NaCl 30 günlük yaprak, 43- K. Mutant 100 mM NaCl 30 günlük yaprak, 44- K. Mutant 200 mM NaCl 30 günlük yaprak, 57- dhan 47 0 MS 30 günlük yaprak (Kontrol), 58- dhan 47 50 mM NaCl 30 günlük yaprak, 59- dhan 47 100 mM NaCl 30 günlük yaprak



Şekil 4. 14 *Hopi* IRAP-PCR 30 günlük kök sonuçları. 13-63, çeltik varyeteleri; M, markır (Thermo, 100 bp #SM0321); N, PCR negatif kontrol. Polimorfizm oranı her örnek için 3 tekerrür dikkate alınarak hesaplanmıştır.

13- Maraş 0 MS 30 günlük kök (Kontrol), 14- Maraş 50 mM NaCl 30 günlük kök, 15- Maraş 100 mM NaCl 30 günlük kök, 16- Maraş 200 mM NaCl 30 günlük kök, 29- Kızıltan 0 MS 30 günlük kök (Kontrol), 30- Kızıltan 50 mM NaCl 30 günlük kök, 31- Kızıltan 100 mM NaCl 30 günlük kök, 32- Kızıltan 200 mM NaCl 30 günlük kök, 45- K. Mutant 0 MS 30 günlük kök (Kontrol), 46- K. Mutant 50 mM NaCl 30 günlük kök, 47- K. Mutant 100 mM NaCl 30 günlük kök, 48- K. Mutant 200 mM NaCl 30 günlük kök, 61- dhan 47 0 MS 30 günlük kök (Kontrol), 62- dhan 47 50 mM NaCl 30 günlük kök, 63- dhan 47 100 mM NaCl 30 günlük kök

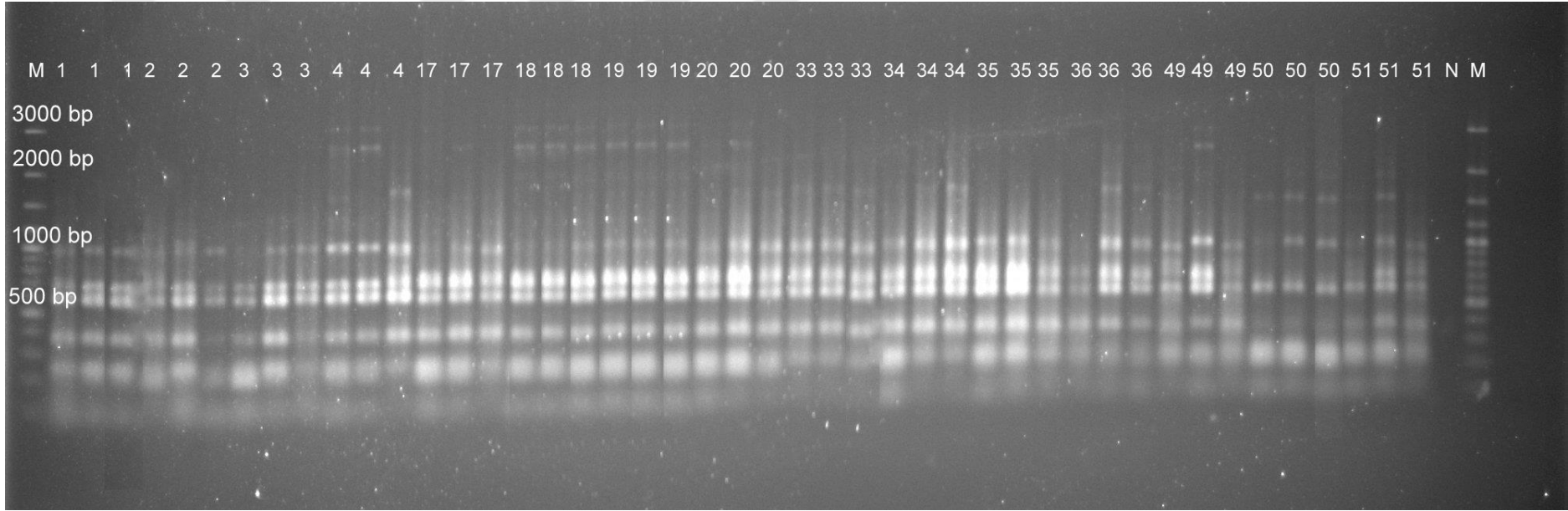
4.4.2.2 Osr30 IRAP-PCR Analizi

Çalışmada 60 gDNA örneği üç tekrarlı olarak kullanılmış IRAP-PCR sonuçları %1'lik agaroz jelde 150 voltta 180 dakika süre ile yürütülmüş ve UV tablasında görüntülenerek fotoğrafı çekilmiştir. IRAP-PCR analizlerinde polimorfizm oranları, her örnek diğer örneklerle karşılaştırılarak hesaplanmıştır.

Buna göre 15 günlük yaprakların agaroz jel sonucunda 300 bç ile 3000 bç arasında 360 bant, 15 günlük kökler için 300 bç ile 3000 bç arasında 315 bant, 30 günlük yapraklar için 300 bç ile 3000 bç arasında 315 bant, 30 günlük köklerde 300 bç ile 3000 bç arasında 315 bant sayılmıştır.

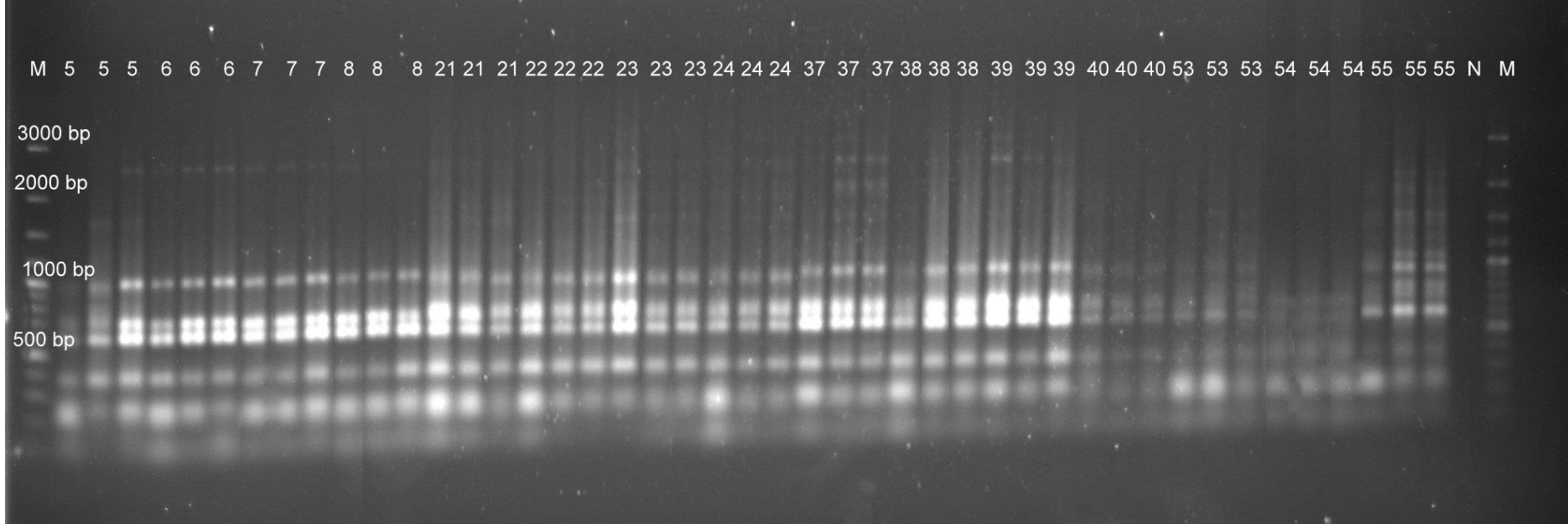
Sayılan bantlardan 15 günlük yapraklarda 239'u monomorfik, 121'i polimorfiktir. 15 günlük köklerde 201'i monomorfik, 114'ü polimorfiktir. 30 günlük yapraklarda 236'sı monomorfik, 79'u polimorfiktir. 30 günlük köklerde 206'sı monomorfik, 109'u polimorfiktir.

Elde edilen sonuçlara göre 15 günlük yapraklarda %0-92 polimorfizm (Şekil 4.15 ve Tablo 4.15), 15 günlük köklerin %0-94 polimorfizm (Şekil 4.16 ve Tablo 4.16), 30 günlük yaprakların %0- 94 polimorfizm (Şekil 4.17 ve Tablo 4.17), 30 günlük köklerde %0-94 polimorfizm (Şekil 4.18 ve Tablo 4.18) oranları hesaplanmıştır.



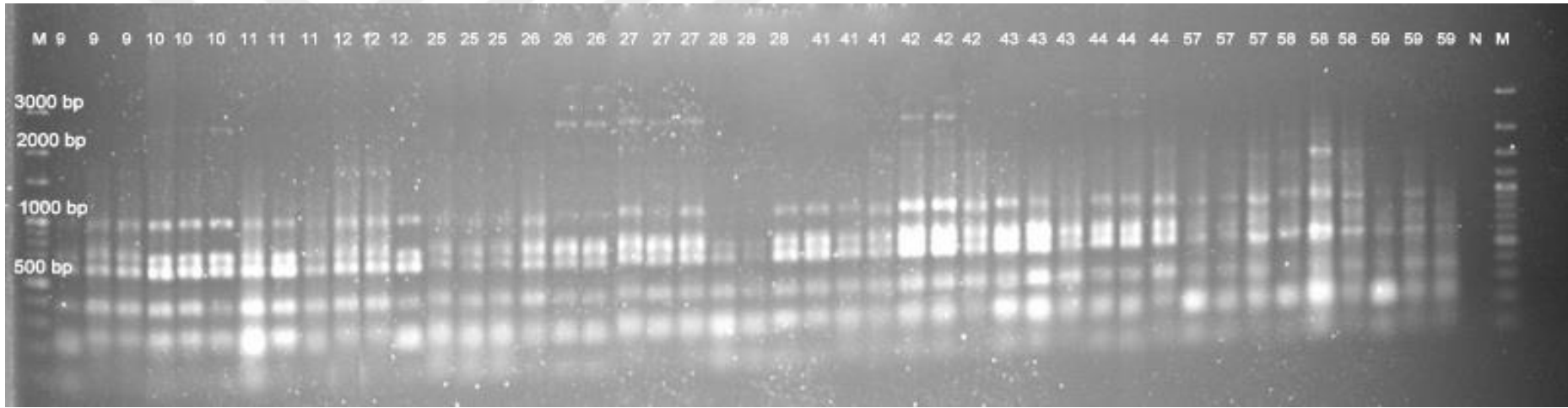
Şekil 4. 15 *Osr* IRAP-PCR 15 günlük yaprak sonuçları. 1-51, çeltik varyeteleri; M, markır (Thermo, 100 bp #SM0321); N, PCR negatif kontrol. Polimorfizm oranı her örnek için 3 tekerrür dikkate alınarak hesaplanmıştır.

1- Maraş 0 MS 15 günlük yaprak (Kontrol), 2- Maraş 50 mM NaCl 15 günlük yaprak, 3- Maraş 100 mM NaCl 15 günlük yaprak, 4- Maraş 200 mM NaCl 15 günlük yaprak, 17- Kızıltan 0 MS 15 günlük yaprak (Kontrol), 18-Kızıltan 50 mM NaCl 15 günlük yaprak, 19-Kızıltan 100 mM NaCl 15 günlük yaprak, 20- Kızıltan 200 mM NaCl 15 günlük yaprak, 33- K. Mutant 0 MS 15 günlük yaprak (Kontrol), 34- K. Mutant 50 mM NaCl 15 günlük yaprak, 35- K. Mutant 100 mM NaCl 15 günlük yaprak, 36- K. Mutant 200 mM NaCl 15 günlük yaprak, 49- dhan 47 0 MS 15 günlük yaprak (Kontrol), 50- dhan 47 50 mM NaCl 15 günlük yaprak, 51- dhan 47 100 mM NaCl 15 günlük yaprak



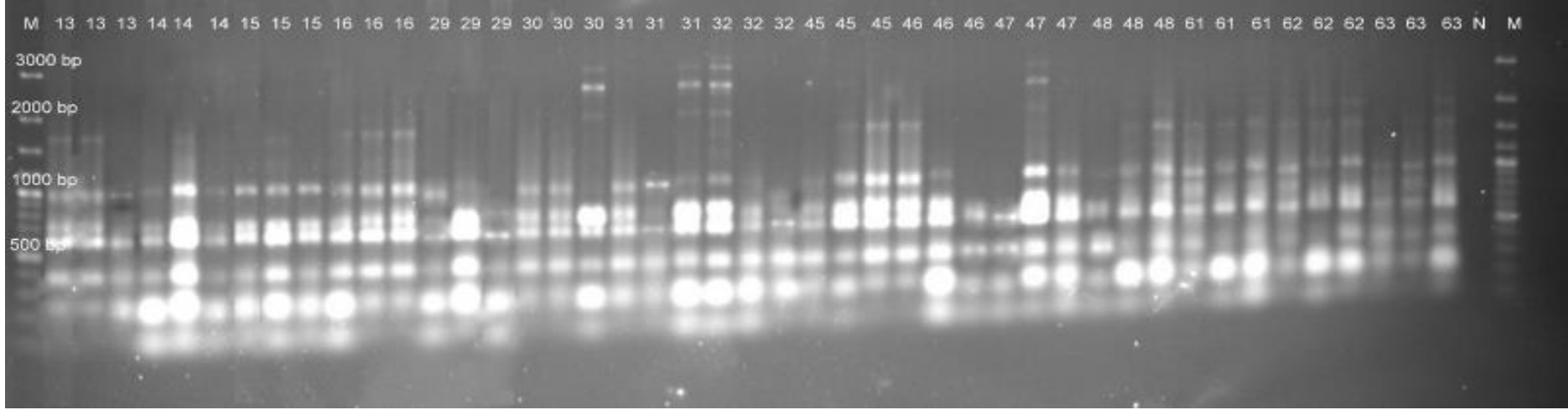
Şekil 4. 16 *Osr* IRAP-PCR 15 günlük kök sonuçları. 5-55, çeltik varyeteleri; M, markır (Thermo, 100 bp #SM0321); N, PCR negatif kontrol. Polimorfizm oranı her örnek için 3 tekerrür dikkate alınarak hesaplanmıştır.

5- Maraş 0 MS 15 günlük kök (Kontrol), 6- Maraş 50 mM NaCl 15 günlük kök, 7- Maraş 100 mM NaCl 15 günlük kök, 8- Maraş 200 mM NaCl 15 günlük kök, 21- Kızıltan 0 MS 15 günlük kök (Kontrol), 22- Kızıltan 50 mM NaCl 15 günlük kök, 23- Kızıltan 100 mM NaCl 15 günlük kök, 24- Kızıltan 200 mM NaCl 15 günlük kök, 37- K. Mutant 0 MS 15 günlük kök (Kontrol), 38- K. Mutant 50 mM NaCl 15 günlük kök, 39- K. Mutant 100 mM NaCl 15 günlük kök, 40- K. Mutant 200 mM NaCl 15 günlük kök, 53- dhan 47 0 MS 15 günlük kök (Kontrol), 4- dhan 47 50 mM NaCl 15 günlük kök, 55- dhan 47 100 mM NaCl 15 günlük kök



Şekil 4. 17 *Osr* IRAP-PCR 30 günlük yaprak sonuçları. 9-59, çeltik varyeteleri; M, markır (Thermo, 100 bp #SM0321); N, PCR negatif kontrol. Polimorfizm oranı her örnek için 3 tekerrür dikkate alınarak hesaplanmıştır.

9- Maraş 0 MS 30 günlük yaprak (Kontrol), 10- Maraş 50 mM NaCl 30 günlük yaprak, 11- Maraş 100 mM NaCl 30 günlük yaprak, 12- Maraş 200 mM NaCl 30 günlük yaprak, 25- Kızıltan 0 MS 30 günlük yaprak (Kontrol), 26- Kızıltan 50 mM NaCl 30 günlük yaprak, 27- Kızıltan 100 mM NaCl 30 günlük yaprak, 28- Kızıltan 200 mM NaCl 30 günlük yaprak, 41- K. Mutant 0 MS 30 günlük yaprak (Kontrol), 42- K. Mutant 50 mM NaCl 30 günlük yaprak, 43- K. Mutant 100 mM NaCl 30 günlük yaprak, 44- K. Mutant 200 mM NaCl 30 günlük yaprak, 57- dhan 47 0 MS 30 günlük yaprak (Kontrol), 58- dhan 47 50 mM NaCl 30 günlük yaprak, 59- dhan 47 100 mM NaCl 30 günlük yaprak



Şekil 4. 18 *Osr* IRAP-PCR 30 günlük kök sonuçları. 13-63, çeltik varyeteleri; M, markır (Thermo, 100 bp #SM0321); N, PCR negatif kontrol. Polimorfizm oranı her örnek için 3 tekrerrür dikkate alınarak hesaplanmıştır.

13- Maraş 0 MS 30 günlük kök (Kontrol), 14- Maraş 50 mM NaCl 30 günlük kök, 15- Maraş 100 mM NaCl 30 günlük kök, 16- Maraş 200 mM NaCl 30 günlük kök, 29- Kızıltan 0 MS 30 günlük kök (Kontrol), 30- Kızıltan 50 mM NaCl 30 günlük kök, 31- Kızıltan 100 mM NaCl 30 günlük kök, 32- Kızıltan 200 mM NaCl 30 günlük kök, 45- K. Mutant 0 MS 30 günlük kök (Kontrol), 46- K. Mutant 50 mM NaCl 30 günlük kök, 47- K. Mutant 100 mM NaCl 30 günlük kök, 48- K. Mutant 200 mM NaCl 30 günlük kök, 61- dhan 47 0 MS 30 günlük kök (Kontrol), 62- dhan 47 50 mM NaCl 30 günlük kök, 63- dhan 47 100 mM NaCl 30 günlük kök

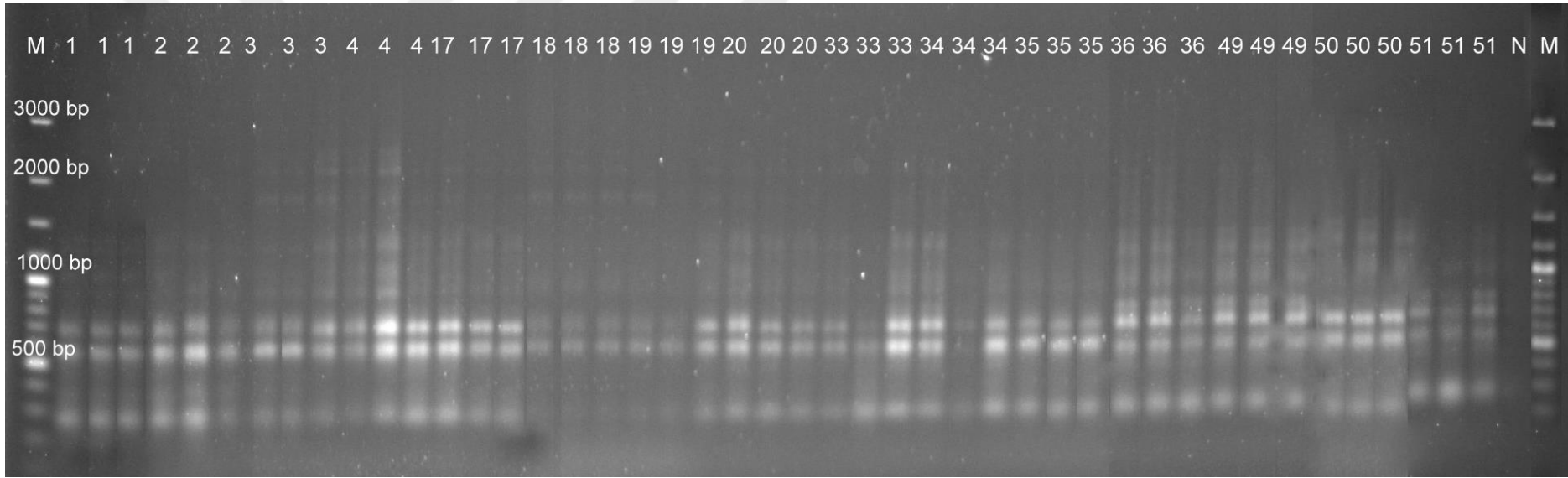
4.4.2.3 *Houba* IRAP-PCR Analizi

Çalışmada 60 gDNA örneği üç tekrarlı olarak kullanılmış IRAP-PCR sonuçları %1'lik agaroz jelde 150 voltta 180 dakika süre ile yürütülmüş ve UV tablasında görüntülenerek fotoğrafı çekilmiştir. IRAP-PCR analizlerinde polimorfizm oranları, her örnek diğer örneklerle karşılaştırılarak hesaplanmıştır.

Buna göre 15 günlük yaprakların agaroz jel sonucunda 300 bç ile 2000 bç arasında 360 bant, 15 günlük köklerde 600 bç ile 2100 bç arasında 270 bant, 30 günlük yapraklarda 300 bç ile 2100 bç arasında 360 bant, 30 günlük köklerde 300 bç ile 1000 bç arasında 180 bant sayılmıştır.

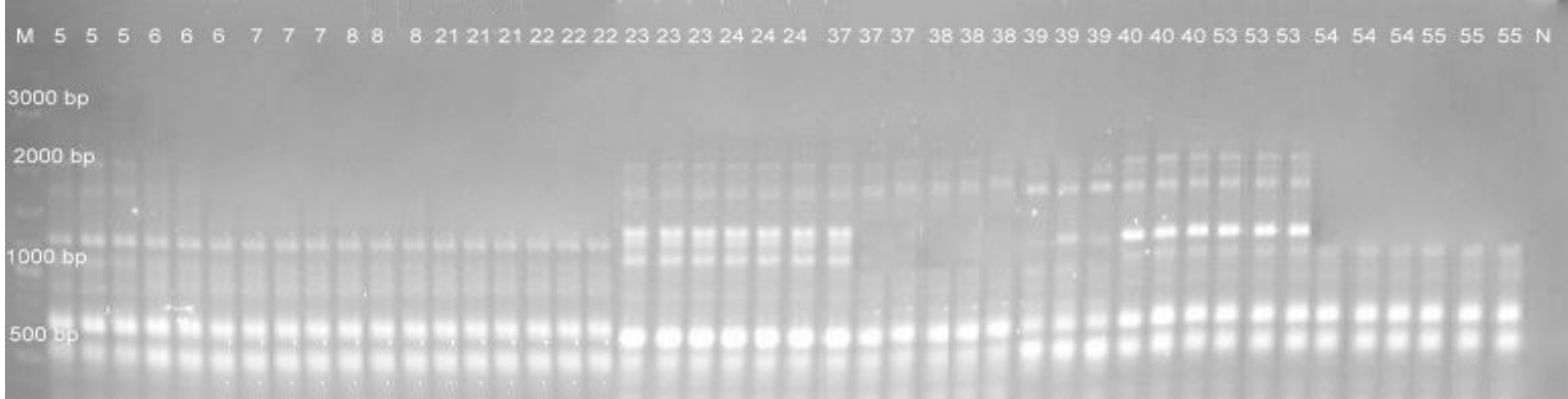
Sayılan bantlardan 15 günlük yapraklarda 246'sı monomorfik, 114'ü polimorfiktir. 15 günlük köklerde 151'i monomorfik, 119'u polimorfiktir. 30 günlük yapraklarda 222'si monomorfik, 138'i polimorfiktir. 30 günlük köklerde 142'si monomorfik, 38'i polimorfiktir.

Elde edilen sonuçlara göre 15 günlük yapraklarda %0-94 polimorfizm (Şekil 4.19 ve Tablo 4.19), 15 günlük köklerin %0-98 polimorfizm (Şekil 4.20 ve Tablo 4.20), 30 günlük yaprakların %0- 94 polimorfizm (Şekil 4.21 ve Tablo 4.21), 30 günlük köklerde %0-96 polimorfizm (Şekil 4.22 ve Tablo 4.22) oranları hesaplanmıştır.



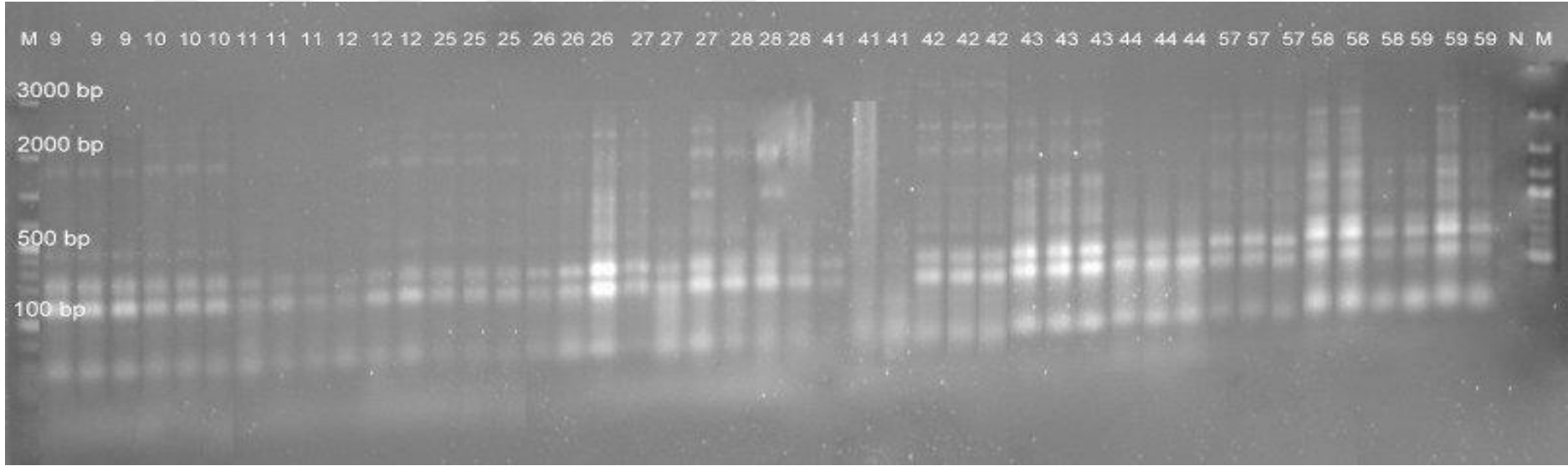
Şekil 4. 19 *Houba* IRAP-PCR 15 günlük yaprak sonuçları. 1-51, pirinç varyeteleri; M, markır (Thermo, 100 bp #SM0321); N, PCR negatif kontrol. Polimorfizm oranı her örnek için 3 tekerrür dikkate alınarak hesaplanmıştır.

1- Maraş 0 MS 15 günlük yaprak (Kontrol), 2- Maraş 50 mM NaCl 15 günlük yaprak, 3- Maraş 100 mM NaCl 15 günlük yaprak, 4- Maraş 200 mM NaCl 15 günlük yaprak, 17- Kızıltan 0 MS 15 günlük yaprak (Kontrol), 18-Kızıltan 50 mM NaCl 15 günlük yaprak, 19-Kızıltan 100 mM NaCl 15 günlük yaprak, 20- Kızıltan 200 mM NaCl 15 günlük yaprak, 33- K. Mutant 0 MS 15 günlük yaprak (Kontrol), 34- K. Mutant 50 mM NaCl 15 günlük yaprak, 35- K. Mutant 100 mM NaCl 15 günlük yaprak, 36- K. Mutant 200 mM NaCl 15 günlük yaprak, 49- dhan 47 0 MS 15 günlük yaprak (Kontrol), 50- dhan 47 50 mM NaCl 15 günlük yaprak, 51- dhan 47 100 mM NaCl 15 günlük yaprak



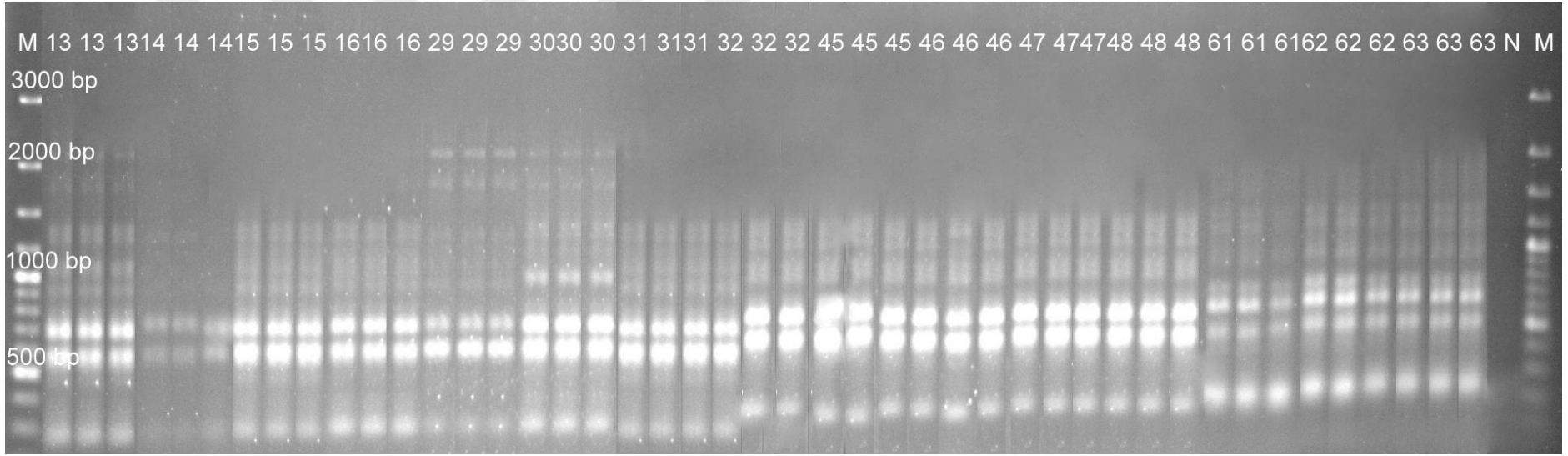
Şekil 4. 20 *Houba* IRAP-PCR 15 günlük kök sonuçları. 5-55, çeltik varyeteleri; M, markır (Thermo, 100 bp #SM0321); N, PCR negatif kontrol. Polimorfizm oranı her örnek için 3 tekerrür dikkate alınarak hesaplanmıştır.

5- Maraş 0 MS 15 günlük kök (Kontrol), 6- Maraş 50 mM NaCl 15 günlük kök, 7- Maraş 100 mM NaCl 15 günlük kök, 8- Maraş 200 mM NaCl 15 günlük kök, 21- Kızıltan 0 MS 15 günlük kök (Kontrol), 22- Kızıltan 50 mM NaCl 15 günlük kök, 23- Kızıltan 100 mM NaCl 15 günlük kök, 24- Kızıltan 200 mM NaCl 15 günlük kök, 37- K. Mutant 0 MS 15 günlük kök (Kontrol), 38- K. Mutant 50 mM NaCl 15 günlük kök, 39- K. Mutant 100 mM NaCl 15 günlük kök, 40- K. Mutant 200 mM NaCl 15 günlük kök, 53- dhan 47 0 MS 15 günlük kök (Kontrol), 4- dhan 47 50 mM NaCl 15 günlük kök, 55- dhan 47 100 mM NaCl 15 günlük kök



Şekil 4. 21 *Houba* IRAP-PCR 30 günlük yaprak sonuçları. 9-59, çeltik varyeteleri; M, markır (Thermo, 100 bp #SM0321); N, PCR negatif kontrol. Polimorfizm oranı her örnek için 3 tekerrür dikkate alınarak hesaplanmıştır.

9- Maraş 0 MS 30 günlük yaprak (Kontrol), 10- Maraş 50 mM NaCl 30 günlük yaprak, 11- Maraş 100 mM NaCl 30 günlük yaprak, 12- Maraş 200 mM NaCl 30 günlük yaprak, 25- Kızıltan 0 MS 30 günlük yaprak (Kontrol), 26- Kızıltan 50 mM NaCl 30 günlük yaprak, 27- Kızıltan 100 mM NaCl 30 günlük yaprak, 28- Kızıltan 200 mM NaCl 30 günlük yaprak, 41- K. Mutant 0 MS 30 günlük yaprak (Kontrol), 42- K. Mutant 50 mM NaCl 30 günlük yaprak, 43- K. Mutant 100 mM NaCl 30 günlük yaprak, 44- K. Mutant 200 mM NaCl 30 günlük yaprak, 57- dhan 47 0 MS 30 günlük yaprak (Kontrol), 58- dhan 47 50 mM NaCl 30 günlük yaprak, 59- dhan 47 100 mM NaCl 30 günlük yaprak



Şekil 4. 22 *Houba* IRAP-PCR 30 günlük kök sonuçları. 13-63, çeltik varyeteleri; M, markır (Thermo, 100 bp #SM0321); N, PCR negatif kontrol. Polimorfizm oranı her örnek için 3 tekerrür dikkate alınarak hesaplanmıştır.

13- Maraş 0 MS 30 günlük kök (Kontrol), 14- Maraş 50 mM NaCl 30 günlük kök, 15- Maraş 100 mM NaCl 30 günlük kök, 16- Maraş 200 mM NaCl 30 günlük kök, 29- Kızıltan 0 MS 30 günlük kök (Kontrol), 30- Kızıltan 50 mM NaCl 30 günlük kök, 31- Kızıltan 100 mM NaCl 30 günlük kök, 32- Kızıltan 200 mM NaCl 30 günlük kök, 45- K. Mutant 0 MS 30 günlük kök (Kontrol), 46- K. Mutant 50 mM NaCl 30 günlük kök, 47- K. Mutant 100 mM NaCl 30 günlük kök, 48- K. Mutant 200 mM NaCl 30 günlük kök, 61- dhan 47 0 MS 30 günlük kök (Kontrol), 62- dhan 47 50 mM NaCl 30 günlük kök, 63- dhan 47 100 mM NaCl 30 günlük kök

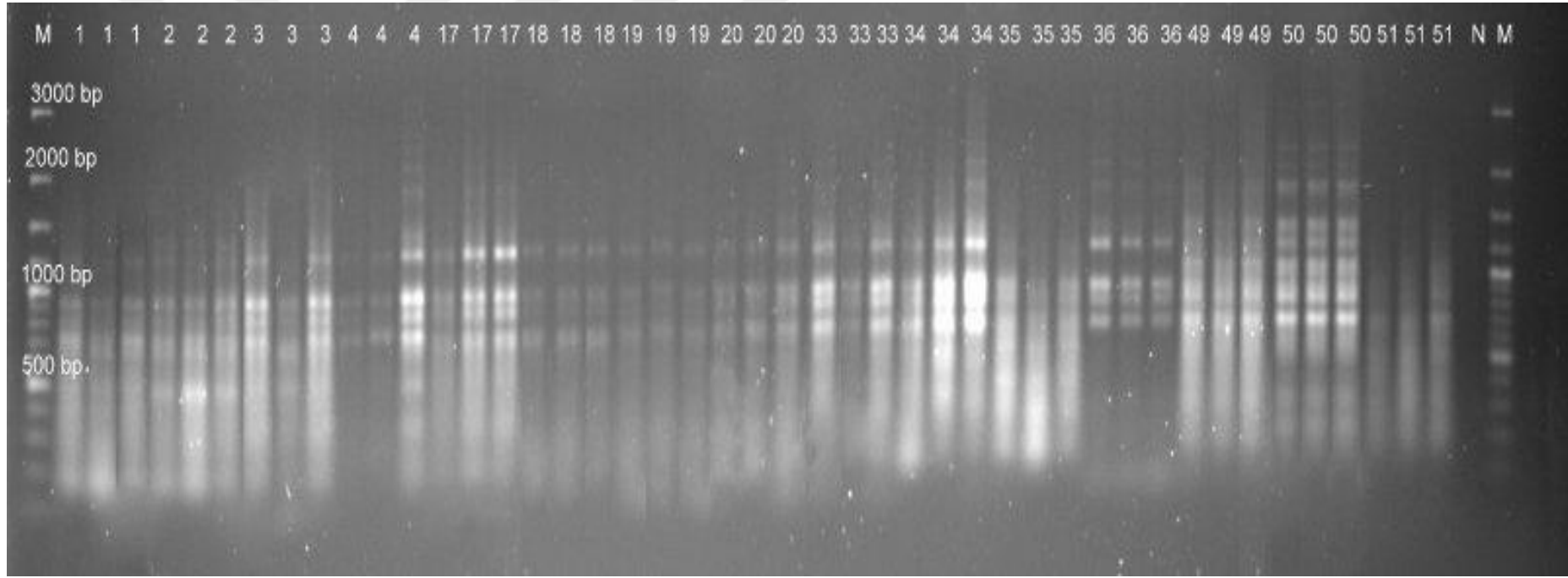
4.4.2.4 Tos17 IRAP-PCR Analizi

Çalışmada 60 gDNA örneği üç tekrarlı olarak kullanılmış IRAP-PCR sonuçları %1'lik agaroz jelde 150 voltta 180 dakika süre ile yürütülmüş ve UV tablasında görüntülenerek fotoğrafı çekilmiştir. IRAP-PCR analizlerinde polimorfizm oranları, her örnek diğer örneklerle karşılaştırılarak hesaplanmıştır.

Buna göre 15 günlük yaprakların agaroz jel sonucunda 500 bç ile 2000 bç arasında 405 bant, 15 günlük köklerde 600 bç ile 2100 bç arasında 270 bant, 30 günlük yapraklarda 400 bç ile 3000 bç arasında 360 bant, 30 günlük köklerde 700 bç ile 2000 bç arasında 315 bant sayılmıştır.

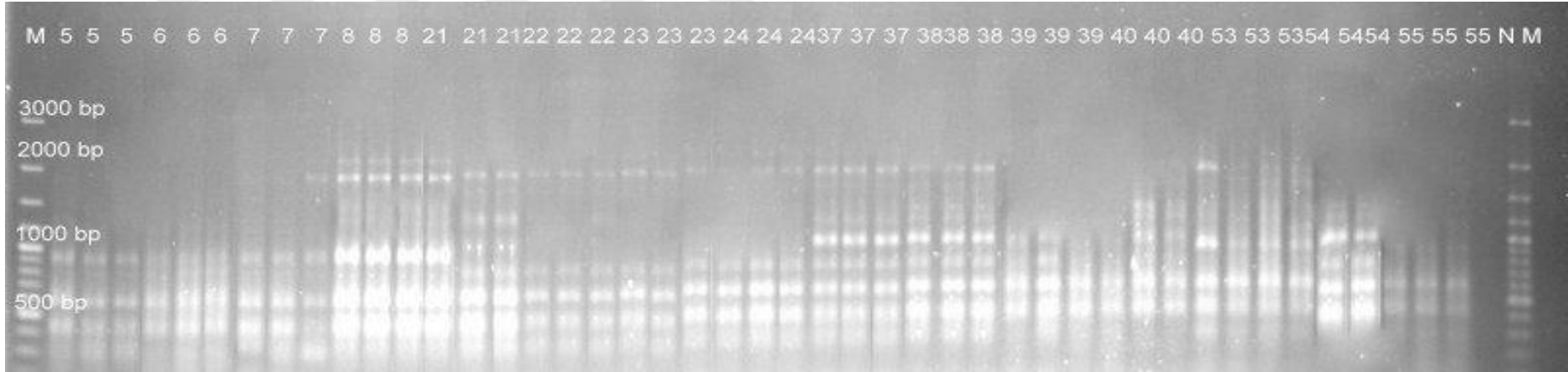
Sayılan bantlardan 15 günlük yapraklarda 216'sı monomorfik, 189'u polimorfiktir. 15 günlük köklerde 151'i monomorfik, 119'u polimorfiktir. 30 günlük yapraklarda 203'ü monomorfik, 157'si polimorfiktir. 30 günlük köklerde 186'sı monomorfik, 129'u polimorfiktir.

Elde edilen sonuçlara göre 15 günlük yapraklarda %0-100 polimorfizm (Şekil 4.23 ve Tablo 4.23), 15 günlük köklerin %0-98 polimorfizm (Şekil 4.24 ve Tablo 4.24), 30 günlük yaprakların %0- 94 polimorfizm (Şekil 4.25 ve Tablo 4.25), 30 günlük köklerde %0-94 polimorfizm (Şekil 4.25 ve Tablo 4.26) oranları hesaplanmıştır.



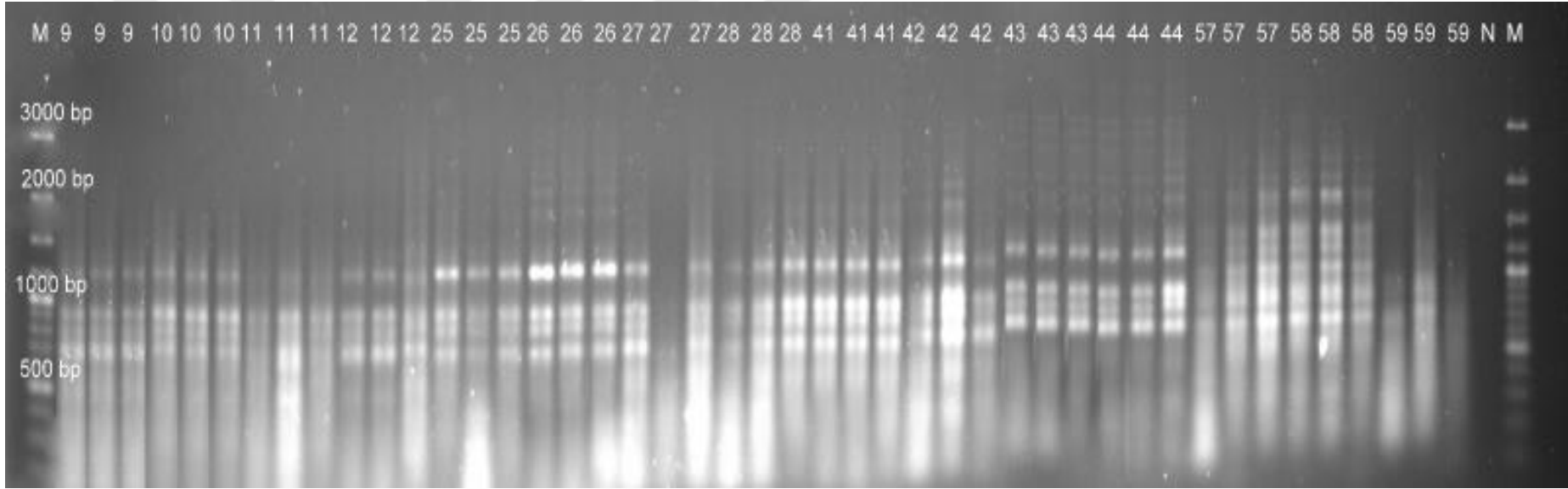
Şekil 4. 23 *Tos17* IRAP-PCR 15 günlük yaprak sonuçları. 1-51, çeltik varyeteleri; M, markır (Thermo, 100 bp #SM0321); N, PCR negatif kontrol. Polimorfizm oranı her örnek için 3 tekerrür dikkate alınarak hesaplanmıştır.

1- Maraş 0 MS 15 günlük yaprak (Kontrol), 2- Maraş 50 mM NaCl 15 günlük yaprak, 3- Maraş 100 mM NaCl 15 günlük yaprak, 4- Maraş 200 mM NaCl 15 günlük yaprak, 17- Kızıltan 0 MS 15 günlük yaprak (Kontrol), 18-Kızıltan 50 mM NaCl 15 günlük yaprak, 19-Kızıltan 100 mM NaCl 15 günlük yaprak, 20- Kızıltan 200 mM NaCl 15 günlük yaprak, 33- K. Mutant 0 MS 15 günlük yaprak (Kontrol), 34- K. Mutant 50 mM NaCl 15 günlük yaprak, 35- K. Mutant 100 mM NaCl 15 günlük yaprak, 36- K. Mutant 200 mM NaCl 15 günlük yaprak, 49- dhan 47 0 MS 15 günlük yaprak (Kontrol), 50- dhan 47 50 mM NaCl 15 günlük yaprak, 51- dhan 47 100 mM NaCl 15 günlük yaprak



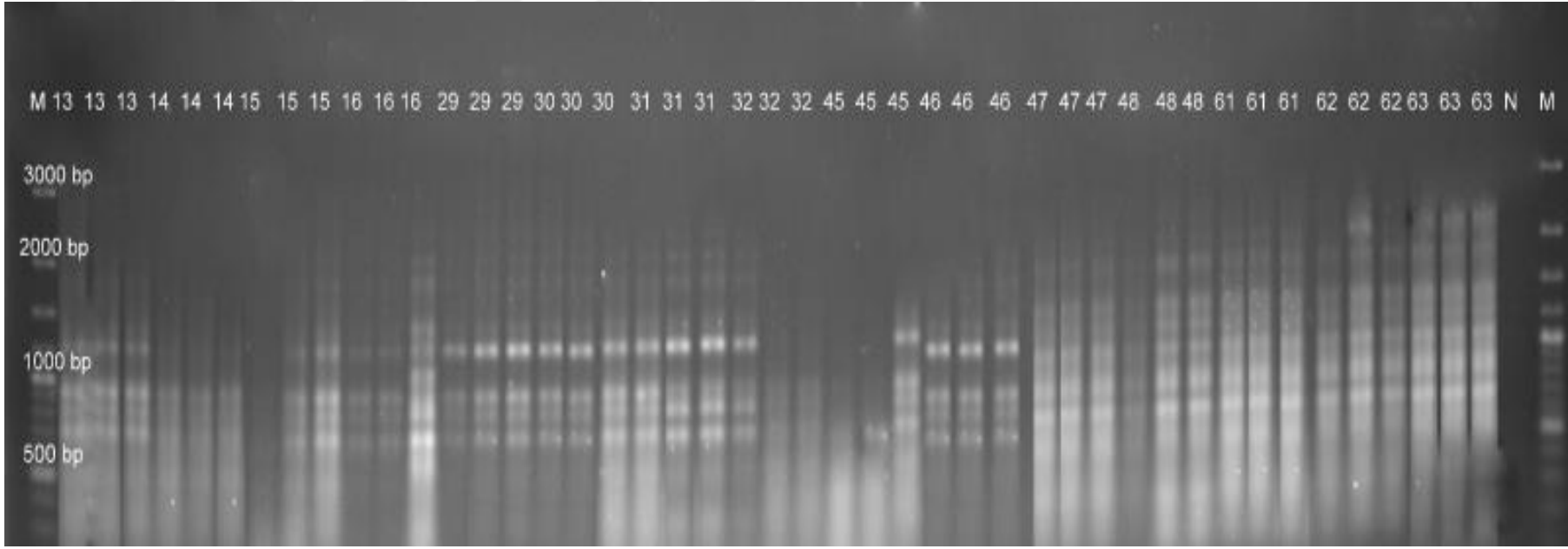
Şekil 4. 24 *Tos17* IRAP-PCR 15 günlük kök sonuçları. 5-55, çeltik varyeteleri; M, markır (Thermo, 100 bp #SM0321); N, PCR negatif kontrol. Polimorfizm oranı her örnek için 3 tekrerr dikkate alınarak hesaplanmıştır.

5- Maraş 0 MS 15 günlük kök (Kontrol), 6- Maraş 50 mM NaCl 15 günlük kök, 7- Maraş 100 mM NaCl 15 günlük kök, 8- Maraş 200 mM NaCl 15 günlük kök, 21- Kızıltan 0 MS 15 günlük kök (Kontrol), 22- Kızıltan 50 mM NaCl 15 günlük kök, 23- Kızıltan 100 mM NaCl 15 günlük kök, 24- Kızıltan 200 mM NaCl 15 günlük kök, 37- K. Mutant 0 MS 15 günlük kök (Kontrol), 38- K. Mutant 50 mM NaCl 15 günlük kök, 39- K. Mutant 100 mM NaCl 15 günlük kök, 40- K. Mutant 200 mM NaCl 15 günlük kök, 53- dhan 47 0 MS 15 günlük kök (Kontrol), 4- dhan 47 50 mM NaCl 15 günlük kök, 55- dhan 47 100 mM NaCl 15 günlük kök



Şekil 4. 25 *Tos17* IRAP-PCR 30 günlük yaprak sonuçları. 9-59, çeltik varyeteleri; M, markır (Thermo, 100 bp #SM0321); N, PCR negatif kontrol. Polimorfizm oranı her örnek için 3 tekerrür dikkate alınarak hesaplanmıştır.

9- Maraş 0 MS 30 günlük yaprak (Kontrol), 10- Maraş 50 mM NaCl 30 günlük yaprak, 11- Maraş 100 mM NaCl 30 günlük yaprak, 12- Maraş 200 mM NaCl 30 günlük yaprak, 25- Kızıltan 0 MS 30 günlük yaprak (Kontrol), 26- Kızıltan 50 mM NaCl 30 günlük yaprak, 27- Kızıltan 100 mM NaCl 30 günlük yaprak, 28- Kızıltan 200 mM NaCl 30 günlük yaprak, 41- K. Mutant 0 MS 30 günlük yaprak (Kontrol), 42- K. Mutant 50 mM NaCl 30 günlük yaprak, 43- K. Mutant 100 mM NaCl 30 günlük yaprak, 44- K. Mutant 200 mM NaCl 30 günlük yaprak, 57- dhan 47 0 MS 30 günlük yaprak (Kontrol), 58- dhan 47 50 mM NaCl 30 günlük yaprak, 59- dhan 47 100 mM NaCl 30 günlük yaprak



Şekil 4. 26 *Tos17* IRAP-PCR 30 günlük kök sonuçları. 13-63, çeltik varyeteleri; M, markır (Thermo, 100 bp #SM0321); N, PCR negatif kontrol. Polimorfizm oranı her örnek için 3 tekerrür dikkate alınarak hesaplanmıştır.

13- Maraş 0 MS 30 günlük kök (Kontrol), 14- Maraş 50 mM NaCl 30 günlük kök, 15- Maraş 100 mM NaCl 30 günlük kök, 16- Maraş 200 mM NaCl 30 günlük kök, 29- Kızıltan 0 MS 30 günlük kök (Kontrol), 30- Kızıltan 50 mM NaCl 30 günlük kök, 31- Kızıltan 100 mM NaCl 30 günlük kök, 32- Kızıltan 200 mM NaCl 30 günlük kök, 45- K. Mutant 0 MS 30 günlük kök (Kontrol), 46- K. Mutant 50 mM NaCl 30 günlük kök, 47- K. Mutant 100 mM NaCl 30 günlük kök, 48- K. Mutant 200 mM NaCl 30 günlük kök, 61- dhan 47 0 MS 30 günlük kök (Kontrol), 62- dhan 47 50 mM NaCl 30 günlük kök, 63- dhan 47 100 mM NaCl 30 günlük kök

4.4.3 REMAP Moleküler Markır Verilerinin Değerlendirilmesi

REMAP jel görüntülerinde her örnekte kendi içinde tekrarlanan bantlar hesaplanmıştır. Bant büyüklüğü DNA ladderla karşılaştırılarak belirlenmiştir. Her bir varyeteden elde edilen REMAP bantları sayılarak her varyete türü kendi arasında (30-günlük kök ve yaprak ile 15-günlük kök ve yaprak) gruplandırılarak hesaplanmıştır. Belirli bir bantın varlığı bir (1), yokluğu sıfır (0) olarak kabul edilip ikili "binary" veri matrisi "Binary data matrix" hazırlanıp bu verilerle Jaccard benzerlik katsayısına (Jaccard, 1908) göre "Jaccard similarity coefficient" benzerlik indeksleri "similarity index" hesaplanmıştır. REMAP analiz sonuçlarının hesaplanmasında Jaccard benzerlik katsayısının kullanılması uygun olduğu belirtildiği için bu çalışmada da Jaccard benzerlik katsayısı tercih edilmiştir.

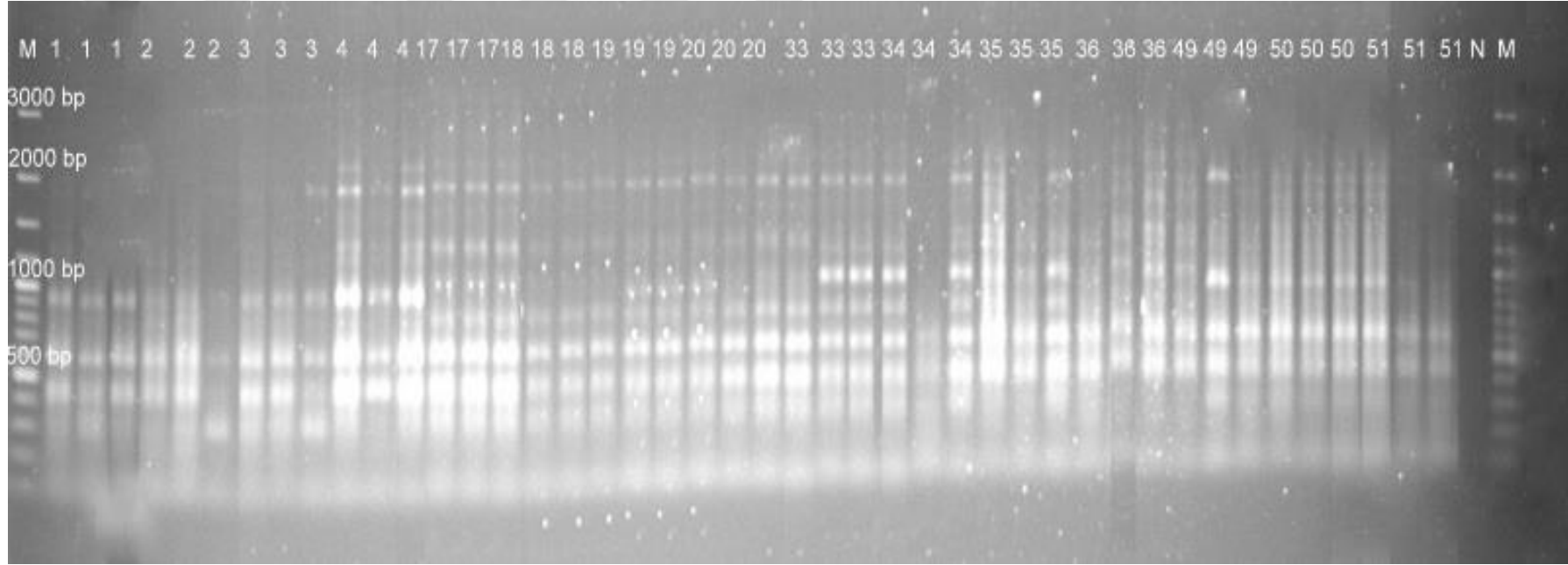
4.4.3.1 *Houba* REMAP-PCR Analizi

Çalışmada 60 gDNA rneği üç tekrarlı olarak kullanılmış REMAP-PCR sonuçları %1'lik agaroz jelde 150 voltta 180 dakika süre ile yürütülmüş ve UV tablasında görüntülenerek fotoğrafı çekilmiştir. REMAP-PCR analizlerinde polimorfizm oranları, her örnek diğer örneklerle karşılaştırılarak hesaplanmıştır.

Buna göre 15 günlük yaprakların agaroz jel sonucunda 400 b ile 2000 b arasında 360 bant, 15 günlük köklerde 400 b ile 1800 b arasında 270 bant, 30 günlük yapraklarda 400 b ile 2000 b arasında 225 bant, 30 günlük köklerde 400 b ile 2100 b arasında 405 bant sayılmıştır.

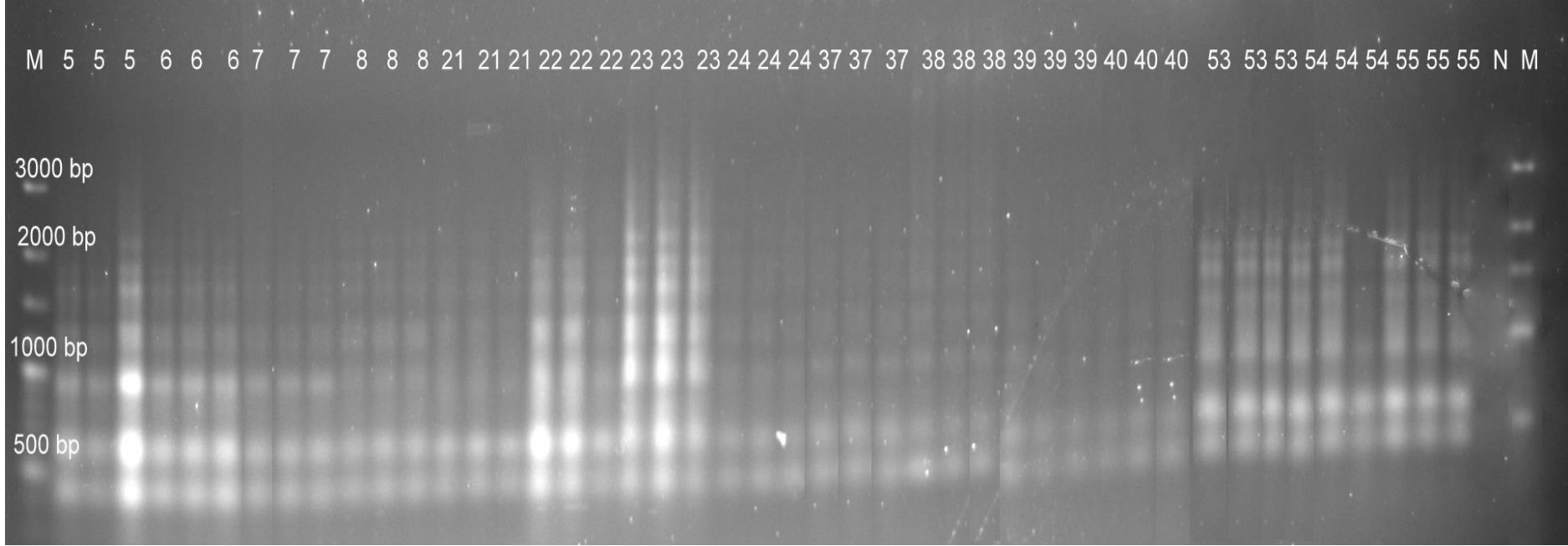
Sayılan bantlardan 15 günlük yapraklarda 230'u monomorfik, 130'u polimorfiktir. 15 günlük köklerde 208'i monomorfik, 62'si polimorfiktir. 30 günlük yapraklarda 164' monomorfik, 61'i polimorfiktir. 30 günlük köklerde 241'i monomorfik, 164' polimorfiktir.

Elde edilen sonuçlara göre 15 günlük yapraklarda %0-94 polimorfizm (şekil 4.27 ve Tablo 4.27), 15 günlük köklerin %0-96 polimorfizm (şekil 4.28 ve Tablo 4.28), 30 günlük yaprakların %0- 96 polimorfizm (şekil 4.29 ve Tablo 4.29), 30 günlük köklerde %0-98 polimorfizm (şekil 4.30 ve Tablo 4.30) oranları hesaplanmıştır.



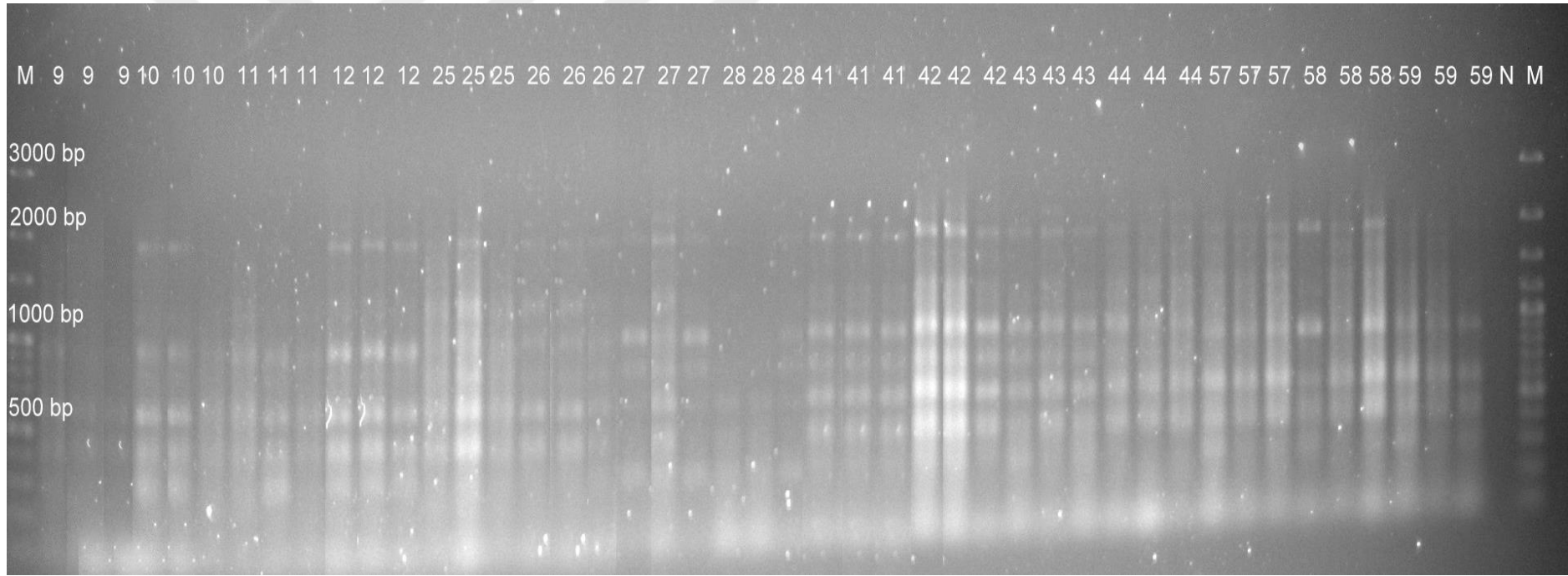
Şekil 4. 27 *Houba* REMAP-PCR 15 günlük yaprak sonuçları. 1-51, çeltik varyeteleri; M, markır (Thermo, 100 bp #SM0321); N, PCR negatif kontrol. Polimorfizm oranı her örnek için 3 tekerrür dikkate alınarak hesaplanmıştır.

1- Maraş 0 MS 15 günlük yaprak (Kontrol), 2- Maraş 50 mM NaCl 15 günlük yaprak, 3- Maraş 100 mM NaCl 15 günlük yaprak, 4- Maraş 200 mM NaCl 15 günlük yaprak, 17- Kızıltan 0 MS 15 günlük yaprak (Kontrol), 18-Kızıltan 50 mM NaCl 15 günlük yaprak, 19-Kızıltan 100 mM NaCl 15 günlük yaprak, 20- Kızıltan 200 mM NaCl 15 günlük yaprak, 33- K. Mutant 0 MS 15 günlük yaprak (Kontrol), 34- K. Mutant 50 mM NaCl 15 günlük yaprak, 35- K. Mutant 100 mM NaCl 15 günlük yaprak, 36- K. Mutant 200 mM NaCl 15 günlük yaprak, 49- dhan 47 0 MS 15 günlük yaprak (Kontrol), 50- dhan 47 50 mM NaCl 15 günlük yaprak, 51- dhan 47 100 mM NaCl 15 günlük yaprak



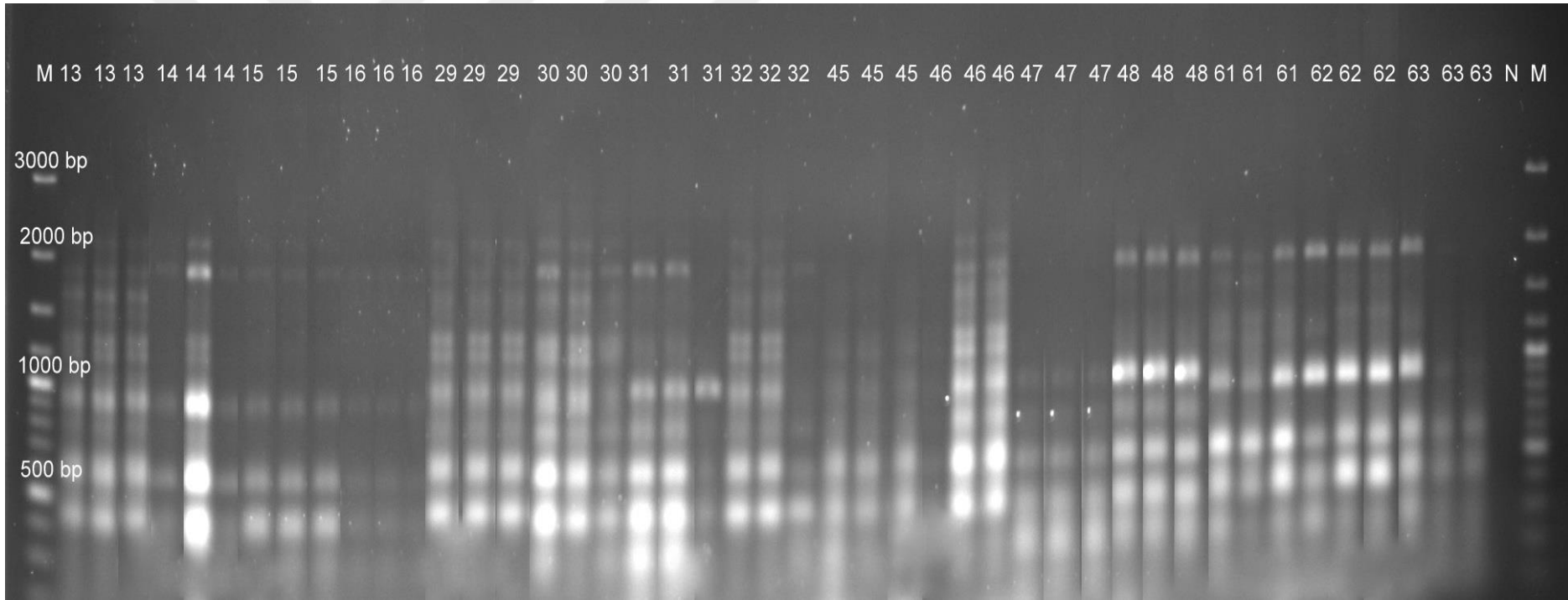
Şekil 4. 28 *Houba* REMAP-PCR 15 günlük kök sonuçları. 5-55, çeltik varyeteleri; M, markır (Thermo, 100 bp #SM0321); N, PCR negatif kontrol. Polimorfizm oranı her örnek için 3 tekerrür dikkate alınarak hesaplanmıştır.

5- Maraş 0 MS 15 günlük kök (Kontrol), 6- Maraş 50 mM NaCl 15 günlük kök, 7- Maraş 100 mM NaCl 15 günlük kök, 8- Maraş 200 mM NaCl 15 günlük kök, 21- Kızıltan 0 MS 15 günlük kök (Kontrol), 22- Kızıltan 50 mM NaCl 15 günlük kök, 23- Kızıltan 100 mM NaCl 15 günlük kök, 24- Kızıltan 200 mM NaCl 15 günlük kök, 37- K. Mutant 0 MS 15 günlük kök (Kontrol), 38- K. Mutant 50 mM NaCl 15 günlük kök, 39- K. Mutant 100 mM NaCl 15 günlük kök, 40- K. Mutant 200 mM NaCl 15 günlük kök, 53- dhan 47 0 MS 15 günlük kök (Kontrol), 4- dhan 47 50 mM NaCl 15 günlük kök, 55- dhan 47 100 mM NaCl 15 günlük kök



Şekil 4. 29 *Houba* REMAP-PCR 30 günlük yaprak sonuçları. 9-59, çeltik varyeteleri; M, markır (Thermo, 100 bp #SM0321); N, PCR negatif kontrol. Polimorfizm oranı her örnek için 3 tekerrür dikkate alınarak hesaplanmıştır.

9- Maraş 0 MS 30 günlük yaprak (Kontrol), 10- Maraş 50 mM NaCl 30 günlük yaprak, 11- Maraş 100 mM NaCl 30 günlük yaprak, 12- Maraş 200 mM NaCl 30 günlük yaprak, 25- Kızıltan 0 MS 30 günlük yaprak (Kontrol), 26- Kızıltan 50 mM NaCl 30 günlük yaprak, 27- Kızıltan 100 mM NaCl 30 günlük yaprak, 28- Kızıltan 200 mM NaCl 30 günlük yaprak, 41- K. Mutant 0 MS 30 günlük yaprak (Kontrol), 42- K. Mutant 50 mM NaCl 30 günlük yaprak, 43- K. Mutant 100 mM NaCl 30 günlük yaprak, 44- K. Mutant 200 mM NaCl 30 günlük yaprak, 57- dhan 47 0 MS 30 günlük yaprak (Kontrol), 58- dhan 47 50 mM NaCl 30 günlük yaprak, 59- dhan 47 100 mM NaCl 30 günlük yaprak



Şekil 4. 30 *Houba* REMAP-PCR 30 günlük kök sonuçları. 13-63, çeltik varyeteleri; M, markır (Thermo, 100 bp #SM0321); N, PCR negatif kontrol. Polimorfizm oranı her örnek için 3 tekerrür dikkate alınarak hesaplanmıştır.

13- Maraş 0 MS 30 günlük kök (Kontrol), 14- Maraş 50 mM NaCl 30 günlük kök, 15- Maraş 100 mM NaCl 30 günlük kök, 16- Maraş 200 mM NaCl 30 günlük kök, 29- Kızıltan 0 MS 30 günlük kök (Kontrol), 30- Kızıltan 50 mM NaCl 30 günlük kök, 31- Kızıltan 100 mM NaCl 30 günlük kök, 32- Kızıltan 200 mM NaCl 30 günlük kök, 45- K. Mutant 0 MS 30 günlük kök (Kontrol), 46- K. Mutant 50 mM NaCl 30 günlük kök, 47- K. Mutant 100 mM NaCl 30 günlük kök, 48- K. Mutant 200 mM NaCl 30 günlük kök, 61- dhan 47 0 MS 30 günlük kök (Kontrol), 62- dhan 47 50 mM NaCl 30 günlük kök, 63- dhan 47 100 mM NaCl 30 günlük kök

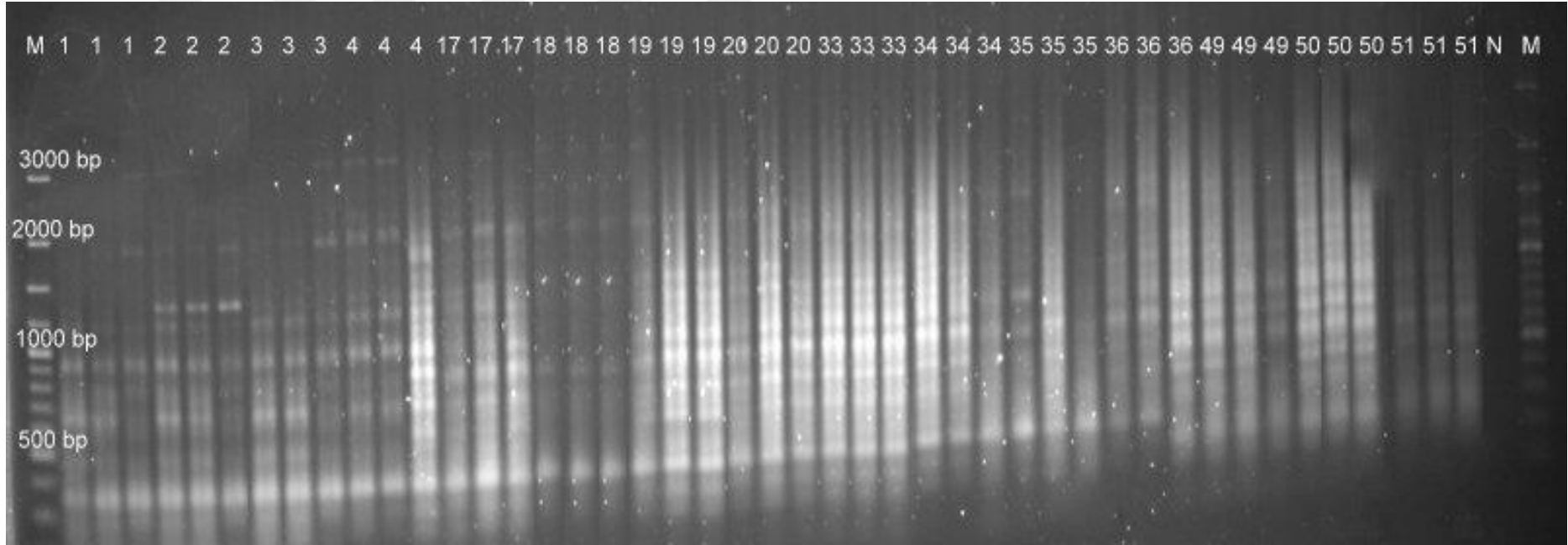
4.4.3.2 Osr30 REMAP-PCR Analizi

Çalışmada 60 gDNA örneği üç tekrarlı olarak kullanılmış REMAP-PCR sonuçları %1'lik agaroz jelde 150 voltta 180 dakika süre ile yürütülmüş ve UV tablasında görüntülenerek fotoğrafı çekilmiştir. REMAP-PCR analizlerinde polimorfizm oranları, her örnek diğer örneklerle karşılaştırılarak hesaplanmıştır.

Buna göre 15 günlük yaprakların agaroz jel sonucunda 400 bç ile 2000 bç arasında 270 bant, 15 günlük köklerde 400 bç ile 1700 bç arasında 540 bant, 30 günlük yapraklarda 400 bç ile 2000 bç arasında 360 bant, 30 günlük köklerde 400 bç ile 2100 bç arasında 360 bant sayılmıştır.

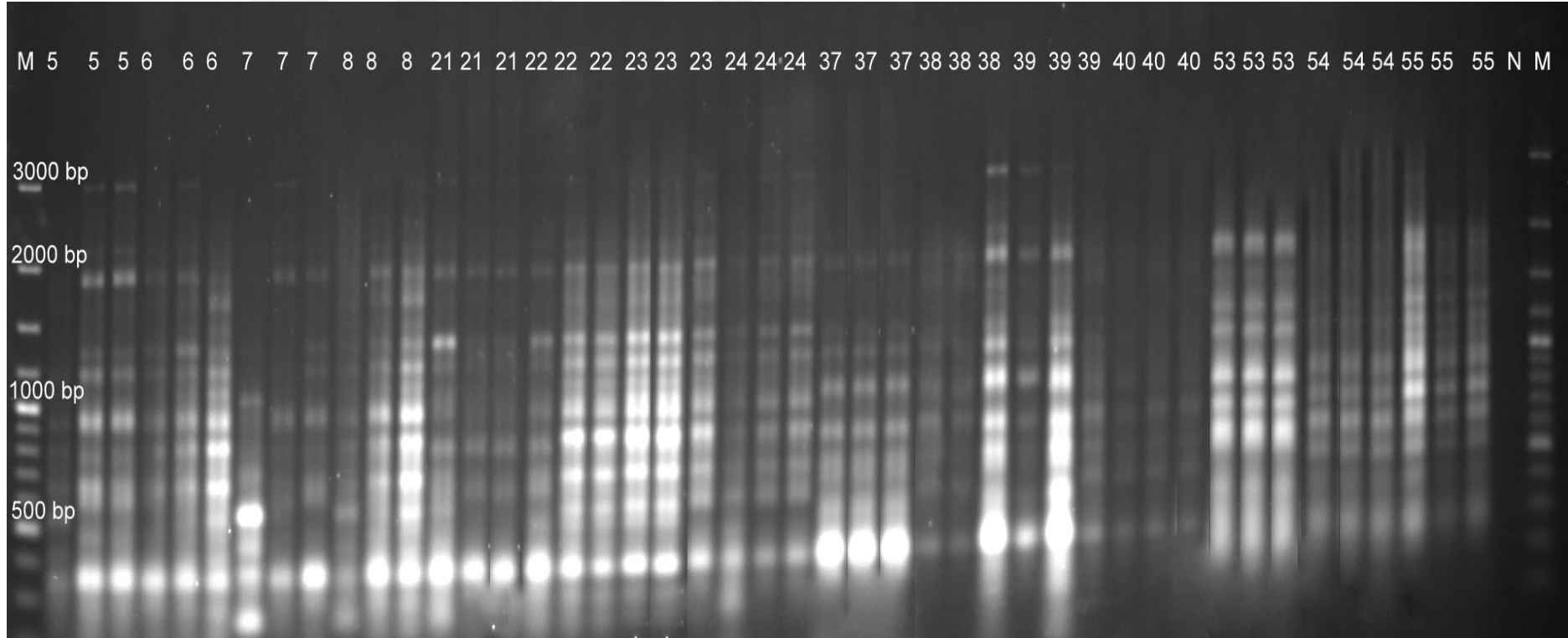
Sayılan bantlardan 15 günlük yapraklarda 177'si monomorfik, 93'ü polimorfiktir. 15 günlük köklerde 316'sı monomorfik, 224'si polimorfiktir. 30 günlük yapraklarda 276'sı monomorfik, 84'ü polimorfiktir. 30 günlük köklerde 262'i monomorfik, 98'i polimorfiktir.

Elde edilen sonuçlara göre 15 günlük yapraklarda %0-100 polimorfizm (Şekil 4.31 ve Tablo 4.31), 15 günlük köklerin %0-91 polimorfizm (Şekil 4.32 ve Tablo 4.32), 30 günlük yaprakların %0- 96 polimorfizm (Şekil 4.33 ve Tablo 4.33), 30 günlük köklerde %0-96 polimorfizm (Şekil 4.34 ve Tablo 4.34) oranları hesaplanmıştır.



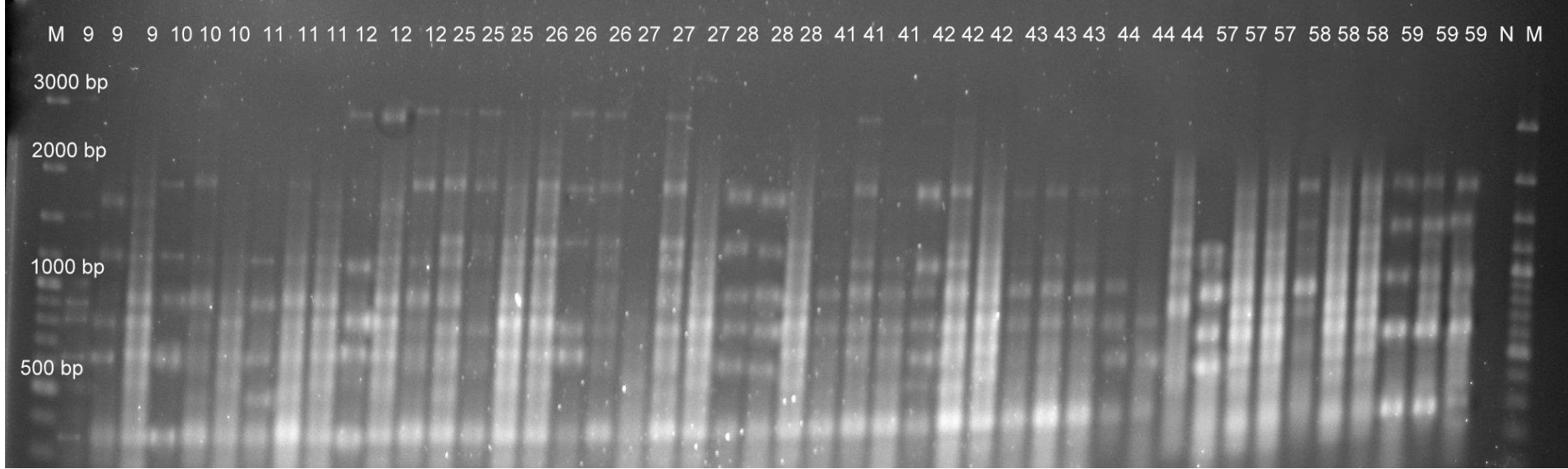
Şekil 4. 31 *Osr* REMAP-PCR 15 günlük yaprak sonuçları. 1-51, çeltik varyeteleri; M, markır (Thermo, 100 bp #SM0321); N, PCR negatif kontrol. Polimorfizm oranı her örnek için 3 tekerrür dikkate alınarak hesaplanmıştır.

1- Maraş 0 MS 15 günlük yaprak (Kontrol), 2- Maraş 50 mM NaCl 15 günlük yaprak, 3- Maraş 100 mM NaCl 15 günlük yaprak, 4- Maraş 200 mM NaCl 15 günlük yaprak, 17- Kızıltan 0 MS 15 günlük yaprak (Kontrol), 18-Kızıltan 50 mM NaCl 15 günlük yaprak, 19-Kızıltan 100 mM NaCl 15 günlük yaprak, 20- Kızıltan 200 mM NaCl 15 günlük yaprak, 33- K. Mutant 0 MS 15 günlük yaprak (Kontrol), 34- K. Mutant 50 mM NaCl 15 günlük yaprak, 35- K. Mutant 100 mM NaCl 15 günlük yaprak, 36- K. Mutant 200 mM NaCl 15 günlük yaprak, 49- dhan 47 0 MS 15 günlük yaprak (Kontrol), 50- dhan 47 50 mM NaCl 15 günlük yaprak, 51- dhan 47 100 mM NaCl 15 günlük yaprak



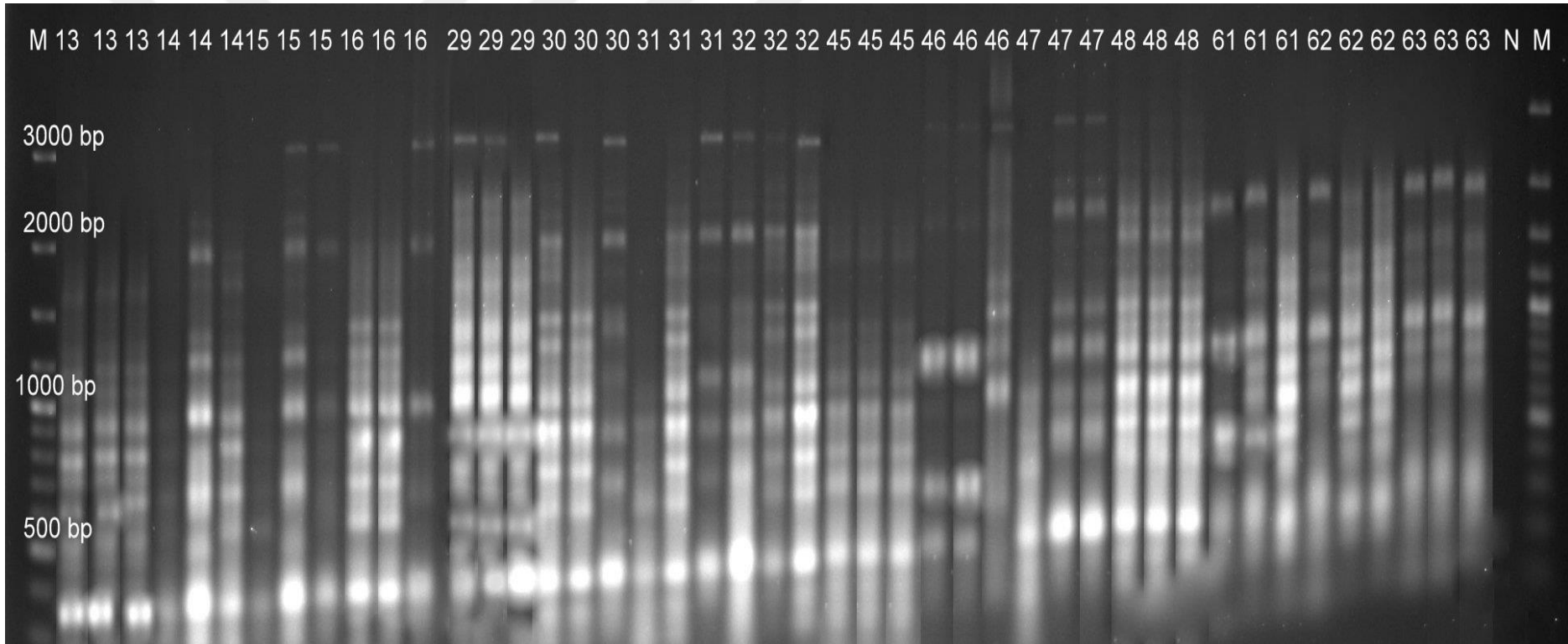
Şekil 4. 32 *Osr* REMAP-PCR 15 günlük kök sonuçları. 5-55, çeltik varyeteleri; M, markır (Thermo, 100 bp #SM0321); N, PCR negatif kontrol. Polimorfizm oranı her örnek için 3 tekrerrür dikkate alınarak hesaplanmıştır.

5- Maraş 0 MS 15 günlük kök (Kontrol), 6- Maraş 50 mM NaCl 15 günlük kök, 7- Maraş 100 mM NaCl 15 günlük kök, 8- Maraş 200 mM NaCl 15 günlük kök, 21- Kızıltan 0 MS 15 günlük kök (Kontrol), 22- Kızıltan 50 mM NaCl 15 günlük kök, 23- Kızıltan 100 mM NaCl 15 günlük kök, 24- Kızıltan 200 mM NaCl 15 günlük kök, 37- K. Mutant 0 MS 15 günlük kök (Kontrol), 38- K. Mutant 50 mM NaCl 15 günlük kök, 39- K. Mutant 100 mM NaCl 15 günlük kök, 40- K. Mutant 200 mM NaCl 15 günlük kök, 53- dhan 47 0 MS 15 günlük kök (Kontrol), 4- dhan 47 50 mM NaCl 15 günlük kök, 55- dhan 47 100 mM NaCl 15 günlük kök



Şekil 4. 33 *Osr* REMAP-PCR 30 günlük yaprak sonuçları. 9-59, çeltik varyeteleri; M, markır (Thermo, 100 bp #SM0321); N, PCR negatif kontrol. Polimorfizm oranı her örnek için 3 tekrür dikkate alınarak hesaplanmıştır.

9- Maraş 0 MS 30 günlük yaprak (Kontrol), 10- Maraş 50 mM NaCl 30 günlük yaprak, 11- Maraş 100 mM NaCl 30 günlük yaprak, 12- Maraş 200 mM NaCl 30 günlük yaprak, 25- Kızıltan 0 MS 30 günlük yaprak (Kontrol), 26- Kızıltan 50 mM NaCl 30 günlük yaprak, 27- Kızıltan 100 mM NaCl 30 günlük yaprak, 28- Kızıltan 200 mM NaCl 30 günlük yaprak, 41- K. Mutant 0 MS 30 günlük yaprak (Kontrol), 42- K. Mutant 50 mM NaCl 30 günlük yaprak, 43- K. Mutant 100 mM NaCl 30 günlük yaprak, 44- K. Mutant 200 mM NaCl 30 günlük yaprak, 57- dhan 47 0 MS 30 günlük yaprak (Kontrol), 58- dhan 47 50 mM NaCl 30 günlük yaprak, 59- dhan 47 100 mM NaCl 30 günlük yaprak



Şekil 4. 34 *Osr* REMAP-PCR 30 günlük kök sonuçları. 13-63, çeltik varyeteleri; M, markır (Thermo, 100 bp #SM0321); N, PCR negatif kontrol. Polimorfizm oranı her örnek için 3 tekerrür dikkate alınarak hesaplanmıştır.

13- Maraş 0 MS 30 günlük kök (Kontrol), 14- Maraş 50 mM NaCl 30 günlük kök, 15- Maraş 100 mM NaCl 30 günlük kök, 16- Maraş 200 mM NaCl 30 günlük kök, 29- Kızıltan 0 MS 30 günlük kök (Kontrol), 30- Kızıltan 50 mM NaCl 30 günlük kök, 31- Kızıltan 100 mM NaCl 30 günlük kök, 32- Kızıltan 200 mM NaCl 30 günlük kök, 45- K. Mutant 0 MS 30 günlük kök (Kontrol), 46- K. Mutant 50 mM NaCl 30 günlük kök, 47- K. Mutant 100 mM NaCl 30 günlük kök, 48- K. Mutant 200 mM NaCl 30 günlük kök, 61- dhan 47 0 MS 30 günlük kök (Kontrol), 62- dhan 47 50 mM NaCl 30 günlük kök, 63- dhan 47 100 mM NaCl 30 günlük kök

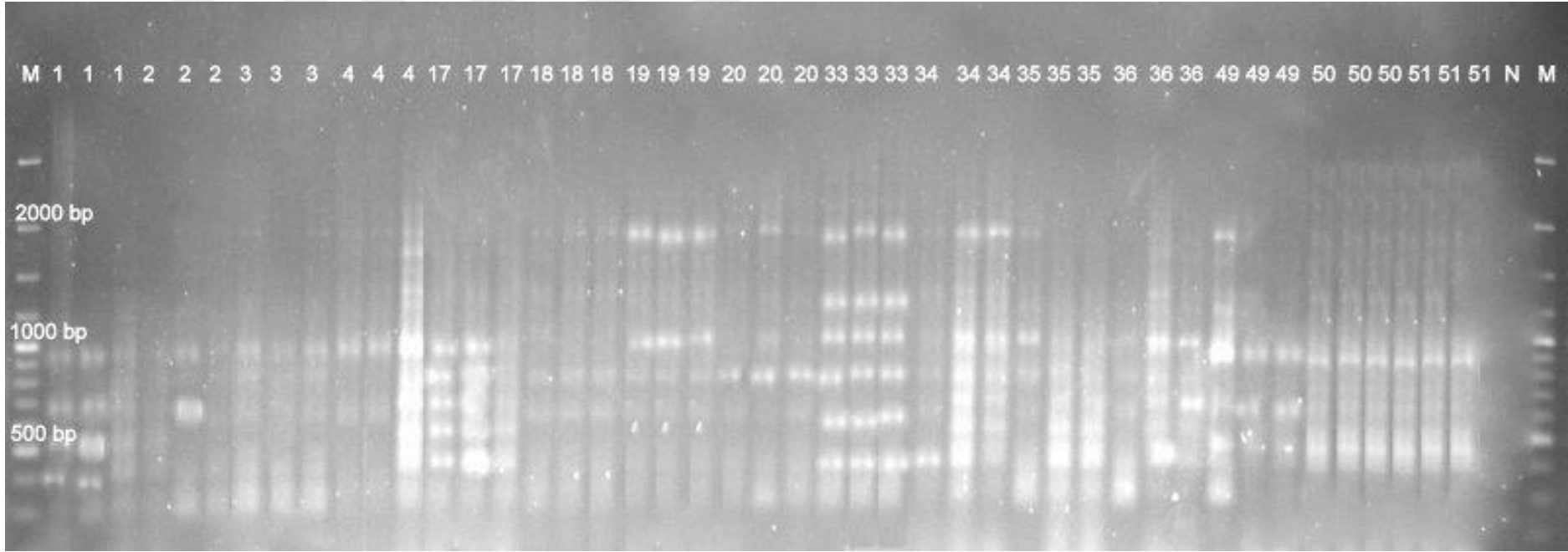
4.4.3.3 Rire REMAP-PCR Analizi

Çalışmada 60 gDNA örneği üç tekrarlı olarak kullanılmış REMAP-PCR sonuçları %1'lik agaroz jelde 150 voltta 180 dakika süre ile yürütülmüş ve UV tablasında görüntülenerek fotoğrafı çekilmiştir. REMAP-PCR analizlerinde polimorfizm oranları, her örnek diğer örneklerle karşılaştırılarak hesaplanmıştır.

Buna göre 15 günlük yaprakların agaroz jel sonucunda 400 bç ile 2000 bç arasında 405 bant, 15 günlük köklerde 500 bç ile 2000 bç arasında 270 bant, 30 günlük yapraklarda 300 bç ile 1800 bç arasında 360 bant, 30 günlük köklerde 500 bç ile 1600 bç arasında 270 bant sayılmıştır.

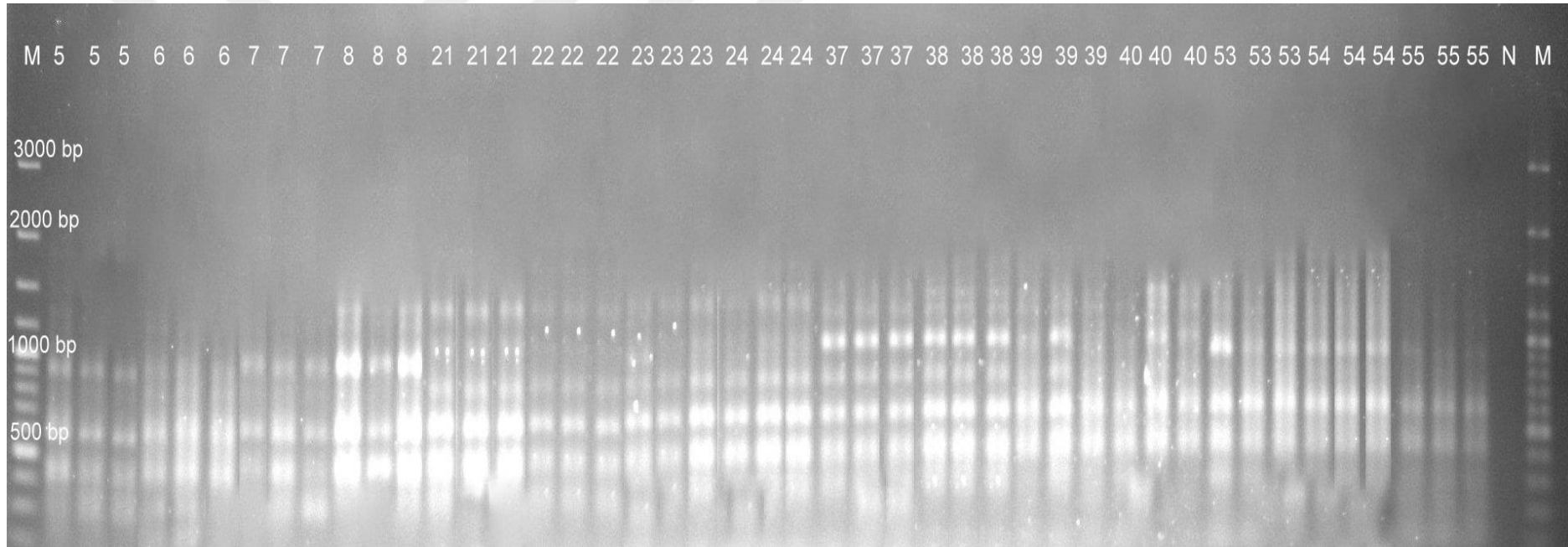
Sayılan bantlardan 15 günlük yapraklarda 149'u monomorfik, 256'sı polimorfiktir. 15 günlük köklerde 236'sı monomorfik, 34'ü polimorfiktir. 30 günlük yapraklarda 244'ü monomorfik, 116'sı polimorfiktir. 30 günlük köklerde 174'ü monomorfik, 96'sı polimorfiktir.

Elde edilen sonuçlara göre 15 günlük yapraklarda %0-100 polimorfizm (Şekil 4.35 ve Tablo 4.35), 15 günlük köklerin %0-92 polimorfizm (Şekil 4.36 ve Tablo 4.36), 30 günlük yaprakların %0- 97 polimorfizm (Şekil 4.37 ve Tablo 4.37), 30 günlük köklerde %0-96 polimorfizm (Şekil 4.38 ve Tablo 4.38) oranları hesaplanmıştır.



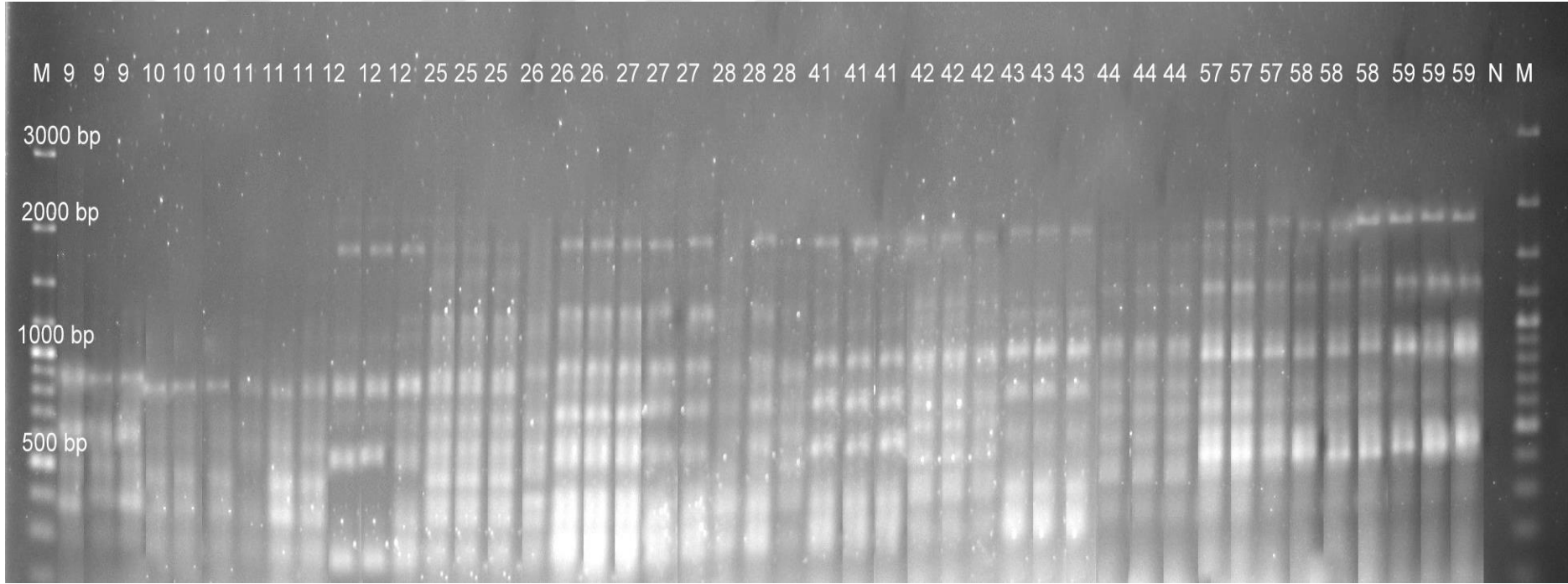
Şekil 4. 35 *Rire* REMAP-PCR 15 günlük yaprak sonuçları. 1-51, çeltik varyeteleri; M, markır (Thermo, 100 bp #SM0321); N, PCR negatif kontrol. Polimorfizm oranı her örnek için 3 tekerrür dikkate alınarak hesaplanmıştır.

1- Maraş 0 MS 15 günlük yaprak (Kontrol), 2- Maraş 50 mM NaCl 15 günlük yaprak, 3- Maraş 100 mM NaCl 15 günlük yaprak, 4- Maraş 200 mM NaCl 15 günlük yaprak, 17- Kızıltan 0 MS 15 günlük yaprak (Kontrol), 18-Kızıltan 50 mM NaCl 15 günlük yaprak, 19-Kızıltan 100 mM NaCl 15 günlük yaprak, 20- Kızıltan 200 mM NaCl 15 günlük yaprak, 33- K. Mutant 0 MS 15 günlük yaprak (Kontrol), 34- K. Mutant 50 mM NaCl 15 günlük yaprak, 35- K. Mutant 100 mM NaCl 15 günlük yaprak, 36- K. Mutant 200 mM NaCl 15 günlük yaprak, 49- dhan 47 0 MS 15 günlük yaprak (Kontrol), 50- dhan 47 50 mM NaCl 15 günlük yaprak, 51- dhan 47 100 mM NaCl 15 günlük yaprak



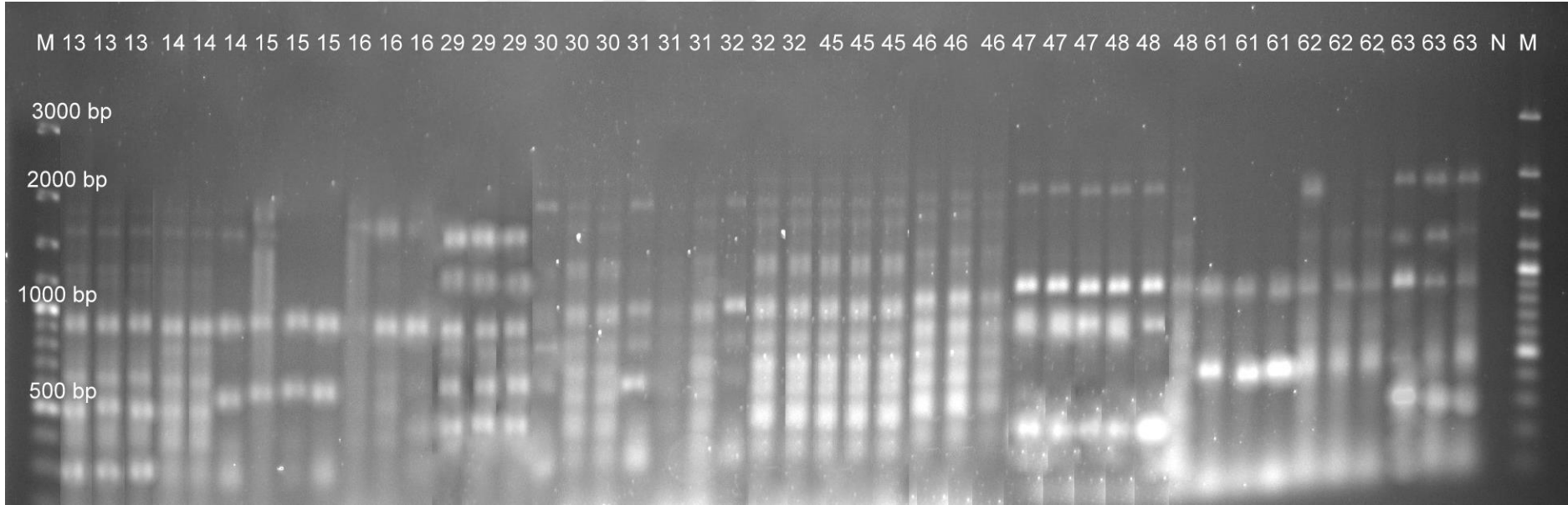
Şekil 4. 36 *Rire* REMAP-PCR 15 günlük kök sonuçları. 5-55, çeltik varyeteleri; M, markır (Thermo, 100 bp #SM0321); N, PCR negatif kontrol. Polimorfizm oranı her örnek için 3 tekerrür dikkate alınarak hesaplanmıştır.

5- Maraş 0 MS 15 günlük kök (Kontrol), 6- Maraş 50 mM NaCl 15 günlük kök, 7- Maraş 100 mM NaCl 15 günlük kök, 8- Maraş 200 mM NaCl 15 günlük kök, 21- Kızıltan 0 MS 15 günlük kök (Kontrol), 22- Kızıltan 50 mM NaCl 15 günlük kök, 23- Kızıltan 100 mM NaCl 15 günlük kök, 24- Kızıltan 200 mM NaCl 15 günlük kök, 37- K. Mutant 0 MS 15 günlük kök (Kontrol), 38- K. Mutant 50 mM NaCl 15 günlük kök, 39- K. Mutant 100 mM NaCl 15 günlük kök, 40- K. Mutant 200 mM NaCl 15 günlük kök, 53- dhan 47 0 MS 15 günlük kök (Kontrol), 54- dhan 47 50 mM NaCl 15 günlük kök, 55- dhan 47 100 mM NaCl 15 günlük kök



Şekil 4. 37 Rire REMAP-PCR 30 günlük yaprak sonuçları. 9-59, çeltik varyeteleri; M, markır (Thermo, 100 bp #SM0321); N, PCR negatif kontrol. Polimorfizm oranı her örnek için 3 tekrerrür dikkate alınarak hesaplanmıştır.

9- Maraş 0 MS 30 günlük yaprak (Kontrol), 10- Maraş 50 mM NaCl 30 günlük yaprak, 11- Maraş 100 mM NaCl 30 günlük yaprak, 12- Maraş 200 mM NaCl 30 günlük yaprak, 25- Kızıltan 0 MS 30 günlük yaprak (Kontrol), 26- Kızıltan 50 mM NaCl 30 günlük yaprak, 27- Kızıltan 100 mM NaCl 30 günlük yaprak, 28- Kızıltan 200 mM NaCl 30 günlük yaprak, 41- K. Mutant 0 MS 30 günlük yaprak (Kontrol), 42- K. Mutant 50 mM NaCl 30 günlük yaprak, 43- K. Mutant 100 mM NaCl 30 günlük yaprak, 44- K. Mutant 200 mM NaCl 30 günlük yaprak, 57- dhan 47 0 MS 30 günlük yaprak (Kontrol), 58- dhan 47 50 mM NaCl 30 günlük yaprak, 59- dhan 47 100 mM NaCl 30 günlük yaprak



Şekil 4. 38 Rire REMAP-PCR 30 günlük kök sonuçları. 13-63, pirinç varyeteleri; M, markır (Thermo, 100 bp #SM0321); N, PCR negatif kontrol. Polimorfizm oranı her örnek için 3 tekerrür dikkate alınarak hesaplanmıştır.

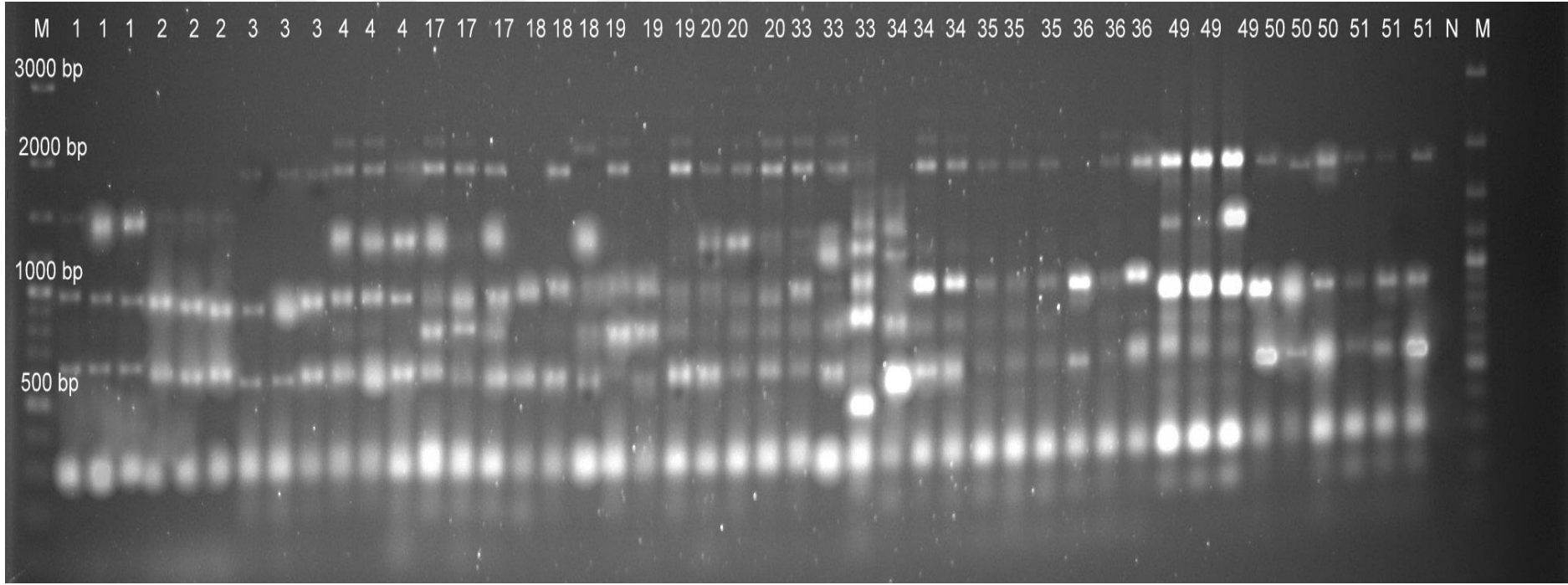
13- Maraş 0 MS 30 günlük kök (Kontrol), 14- Maraş 50 mM NaCl 30 günlük kök, 15- Maraş 100 mM NaCl 30 günlük kök, 16- Maraş 200 mM NaCl 30 günlük kök, 29- Kızıltan 0 MS 30 günlük kök (Kontrol), 30- Kızıltan 50 mM NaCl 30 günlük kök, 31- Kızıltan 100 mM NaCl 30 günlük kök, 32- Kızıltan 200 mM NaCl 30 günlük kök, 45- K. Mutant 0 MS 30 günlük kök (Kontrol), 46- K. Mutant 50 mM NaCl 30 günlük kök, 47- K. Mutant 100 mM NaCl 30 günlük kök, 48- K. Mutant 200 mM NaCl 30 günlük kök, 61- dhan 47 0 MS 30 günlük kök (Kontrol), 62- dhan 47 50 mM NaCl 30 günlük kök, 63- dhan 47 100 mM NaCl 30 günlük kök

4.4.3.4 *Tos17* REMAP-PCR Analizi

Çalışmada 60 gDNA örneği üç tekrarlı olarak kullanılmış REMAP-PCR sonuçları %1'lik agaroz jelde 150 voltta 180 dakika süre ile yürütülmüş ve UV tablasında görüntülenerek fotoğrafı çekilmiştir. REMAP-PCR analizlerinde polimorfizm oranları, her örnek diğer örneklerle karşılaştırılarak hesaplanmıştır. Buna göre 15 günlük yaprakların agaroz jel sonucunda 300 bç ile 2100 bç arasında 360 bant, 15 günlük köklerde 300 bç ile 2200 bç arasında 405 bant, 30 günlük yapraklarda 300 bç ile 2100 bç arasında 450 bant, 30 günlük köklerde 400 bç ile 2100 bç arasında 360 bant sayılmıştır.

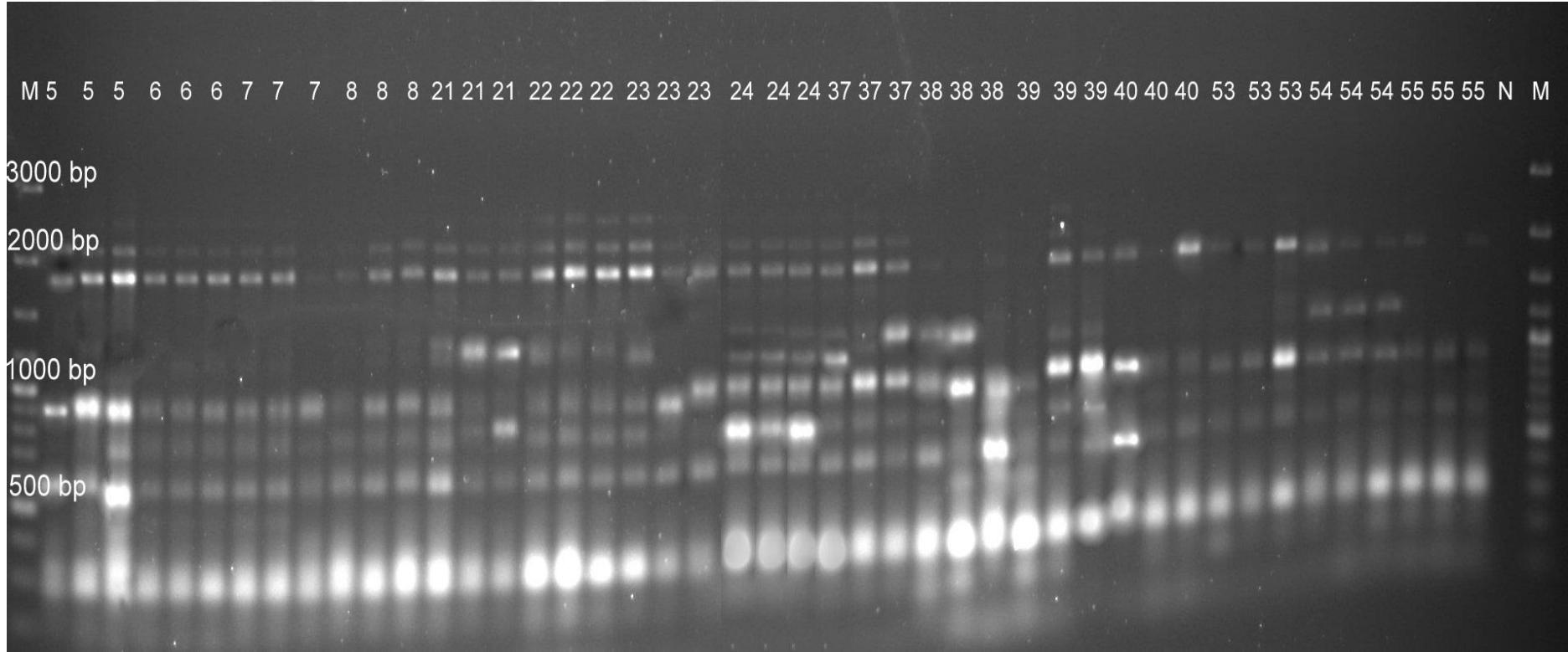
Sayılan bantlardan 15 günlük yapraklarda 237'si monomorfik, 123'ü polimorfiktir. 15 günlük köklerde 284'ü monomorfik, 121'i polimorfiktir. 30 günlük yapraklarda 357'si monomorfik, 93'ü polimorfiktir. 30 günlük köklerde 317'si monomorfik, 43'ü polimorfiktir.

Elde edilen sonuçlara göre 15 günlük yapraklarda %0-94 polimorfizm (Şekil 4.39 ve Tablo 4.39), 15 günlük köklerin %0-91 polimorfizm (Şekil 4.40 ve Tablo 4.40), 30 günlük yaprakların %0- 92 polimorfizm (Şekil 4.41 ve Tablo 4.41), 30 günlük köklerde %0-90 polimorfizm (Şekil 4.42 ve Tablo 4.42) oranları hesaplanmıştır.



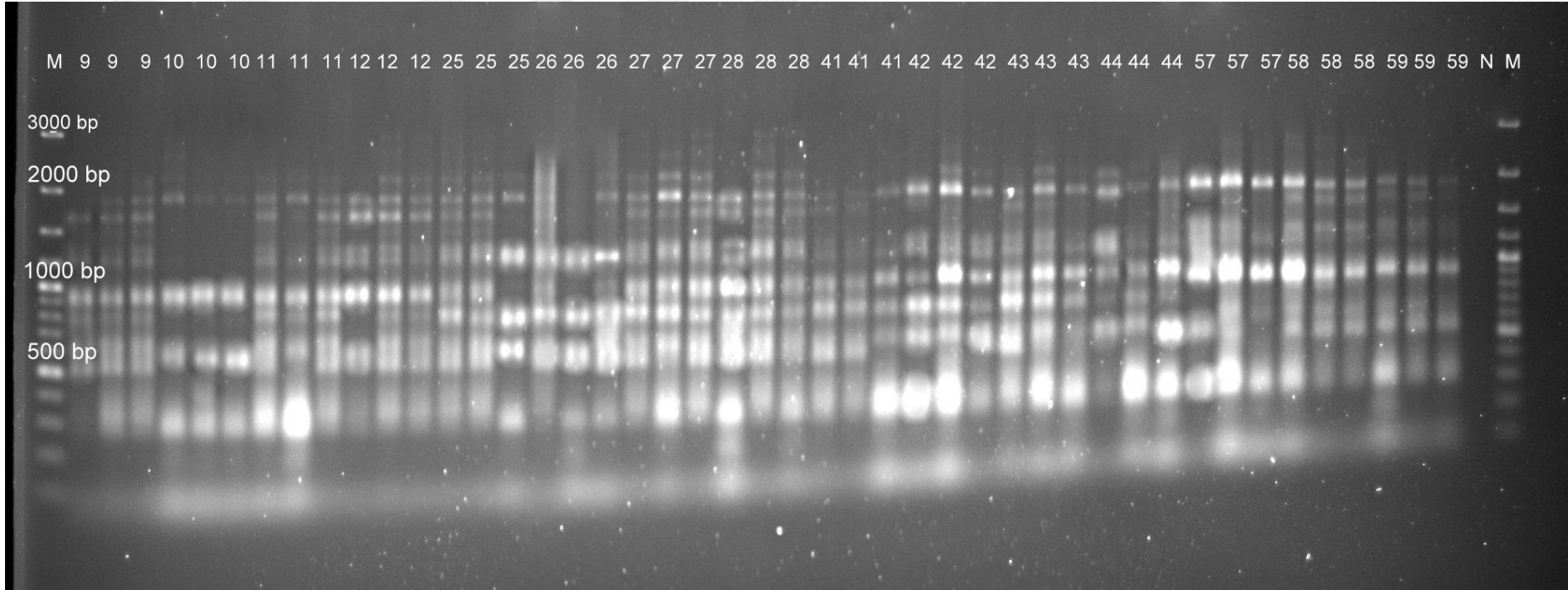
Şekil 4. 39 *Tos17* REMAP-PCR 15 günlük yaprak sonuçları. 1-51, çeltik varyeteleri; M, markır (Thermo, 100 bp #SM0321); N, PCR negatif kontrol. Polimorfizm oranı her örnek için 3 tekerrür dikkate alınarak hesaplanmıştır.

1- Maraş 0 MS 15 günlük yaprak (Kontrol), 2- Maraş 50 mM NaCl 15 günlük yaprak, 3- Maraş 100 mM NaCl 15 günlük yaprak, 4- Maraş 200 mM NaCl 15 günlük yaprak, 17- Kızıltan 0 MS 15 günlük yaprak (Kontrol), 18-Kızıltan 50 mM NaCl 15 günlük yaprak, 19-Kızıltan 100 mM NaCl 15 günlük yaprak, 20- Kızıltan 200 mM NaCl 15 günlük yaprak, 33- K. Mutant 0 MS 15 günlük yaprak (Kontrol), 34- K. Mutant 50 mM NaCl 15 günlük yaprak, 35- K. Mutant 100 mM NaCl 15 günlük yaprak, 36- K. Mutant 200 mM NaCl 15 günlük yaprak, 49- dhan 47 0 MS 15 günlük yaprak (Kontrol), 50- dhan 47 50 mM NaCl 15 günlük yaprak, 51- dhan 47 100 mM NaCl 15 günlük yaprak



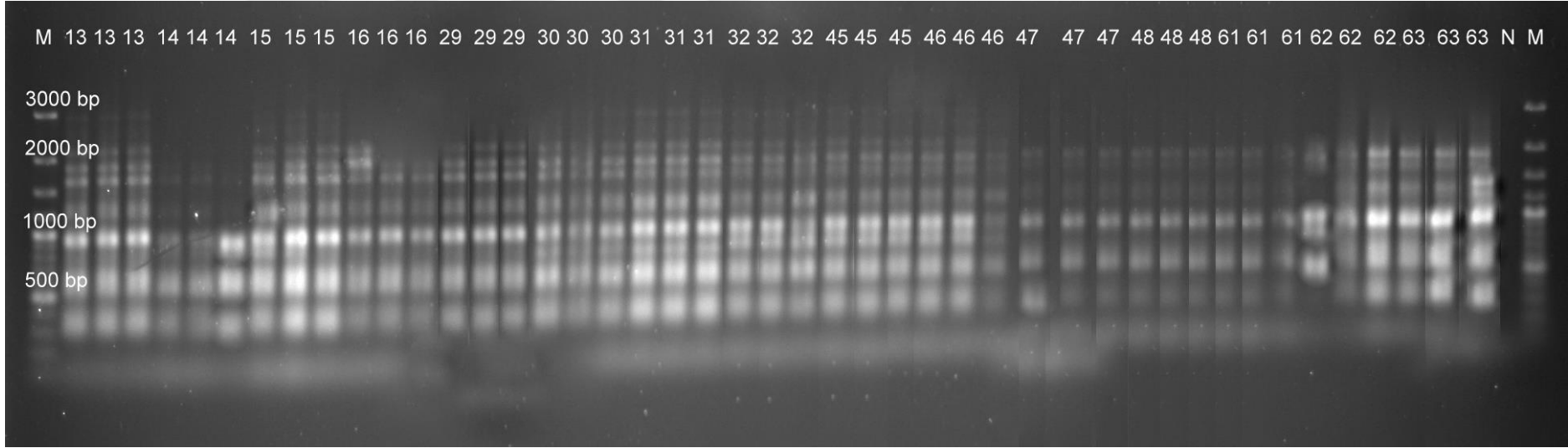
Şekil 4. 40 *Tos17* REMAP-PCR 15 günlük kök sonuçları. 5-55, çeltik varyeteleri; M, markır (Thermo, 100 bp #SM0321); N, PCR negatif kontrol. Polimorfizm oranı her örnek için 3 tekerrür dikkate alınarak hesaplanmıştır.

5- Maraş 0 MS 15 günlük kök (Kontrol), 6- Maraş 50 mM NaCl 15 günlük kök, 7- Maraş 100 mM NaCl 15 günlük kök, 8- Maraş 200 mM NaCl 15 günlük kök, 21- Kızıltan 0 MS 15 günlük kök (Kontrol), 22- Kızıltan 50 mM NaCl 15 günlük kök, 23- Kızıltan 100 mM NaCl 15 günlük kök, 24- Kızıltan 200 mM NaCl 15 günlük kök, 37- K. Mutant 0 MS 15 günlük kök (Kontrol), 38- K. Mutant 50 mM NaCl 15 günlük kök, 39- K. Mutant 100 mM NaCl 15 günlük kök, 40- K. Mutant 200 mM NaCl 15 günlük kök, 53- dhan 47 0 MS 15 günlük kök (Kontrol), 54- dhan 47 50 mM NaCl 15 günlük kök, 55- dhan 47 100 mM NaCl 15 günlük kök



Şekil 4. 41 *Tos17* REMAP-PCR 30 günlük yaprak sonuçları. 9-59, çeltik varyeteleri; M, markır (Thermo, 100 bp #SM0321); N, PCR negatif kontrol. Polimorfizm oranı her örnek için 3 tekrerrür dikkate alınarak hesaplanmıştır.

9- Maraş 0 MS 30 günlük yaprak (Kontrol), 10- Maraş 50 mM NaCl 30 günlük yaprak, 11- Maraş 100 mM NaCl 30 günlük yaprak, 12- Maraş 200 mM NaCl 30 günlük yaprak, 25- Kızıltan 0 MS 30 günlük yaprak (Kontrol), 26- Kızıltan 50 mM NaCl 30 günlük yaprak, 27- Kızıltan 100 mM NaCl 30 günlük yaprak, 28- Kızıltan 200 mM NaCl 30 günlük yaprak, 41- K. Mutant 0 MS 30 günlük yaprak (Kontrol), 42- K. Mutant 50 mM NaCl 30 günlük yaprak, 43- K. Mutant 100 mM NaCl 30 günlük yaprak, 44- K. Mutant 200 mM NaCl 30 günlük yaprak, 57- dhan 47 0 MS 30 günlük yaprak (Kontrol), 58- dhan 47 50 mM NaCl 30 günlük yaprak, 59- dhan 47 100 mM NaCl 30 günlük yaprak



Şekil 4. 42 *Tos17* REMAP-PCR 30 günlük kök sonuçları. 13-63, pirinç varyeteleri; M, markır (Thermo, 100 bp #SM0321); N, PCR negatif kontrol. Polimorfizm oranı her örnek için 3 tekerrür dikkate alınarak hesaplanmıştır.

13- Maraş 0 MS 30 günlük kök (Kontrol), 14- Maraş 50 mM NaCl 30 günlük kök, 15- Maraş 100 mM NaCl 30 günlük kök, 16- Maraş 200 mM NaCl 30 günlük kök, 29- Kızıltan 0 MS 30 günlük kök (Kontrol), 30- Kızıltan 50 mM NaCl 30 günlük kök, 31- Kızıltan 100 mM NaCl 30 günlük kök, 32- Kızıltan 200 mM NaCl 30 günlük kök, 45- K. Mutant 0 MS 30 günlük kök (Kontrol), 46- K. Mutant 50 mM NaCl 30 günlük kök, 47- K. Mutant 100 mM NaCl 30 günlük kök, 48- K. Mutant 200 mM NaCl 30 günlük kök, 61- dhan 47 0 MS 30 günlük kök (Kontrol), 62- dhan 47 50 mM NaCl 30 günlük kök, 63- dhan 47 100 mM NaCl 30 günlük kök

Bu tez çalışmasında, farklı tuz konsantrasyonlarının (0 MS, 50 mM, 100 mM ve 200 mM) 15 ve 30 günlük çeltik bitkilerinin yaprak ve köklerinde sebep olduğu etkiler; morfolojik, fizyolojik, moleküler açıdan araştırılmıştır. Tezin birinci kısmını oluşturan morfolojik çalışmalarda tuz konsantrasyonlarının taze bitki ağırlığı (g/bitki), taze kök ağırlığı (mg/bitki), kök uzunluğu (cm/bitki), gövde uzunluğu (cm/bitki), kök sayısı ve yaprak sayısı üzerine etkileri incelenmiştir. Tezin ikinci kısmını oluşturan fizyolojik çalışmalarda, çözünülebilir protein miktarları, SOD, CAT ve FDH enzim aktiviteleri incelenmiştir. Moleküler çalışmalarda ise abiyotik stres ile ilişkili prolin, format dehidrogenaz ve metiyonin sülfoksid redüktaz genlerinin anlatımı Real Time PCR yöntemiyle analiz edildikten sonra son olarak IRAP ve REMAP yöntemleri kullanılarak retrotranspozonların neden olduğu polimorfizm araştırılmıştır.

Bitki biyoteknolojisi alanında, biyotik ve abiyotik stres faktörlerinin bitkiler üzerinde meydana getirdiği fizyolojik etkiler; lipid peroksidasyon, prolin birikimi, klorofil miktarı, kök uzunluğu, bitki ağırlığı, kök ağırlığı, gövde uzunluğu, total protein konsantrasyonu tayini ve çeşitli antioksidan enzimlerin aktivitelerinin belirlenmesi gibi biyokimyasal analizler ile değerlendirilmektedir [104], [218], [219], [220], [221], [222]. Bu çalışmada farklı tuz konsantrasyonlarında (0 MS, 50 mM, 100 mM ve 200 mM) yetiştirilen 15 ve 30 günlük çeltik bitkilerinde morfolojik ve biyokimyasal analizler gerçekleştirilmiştir. Artan tuz konsantrasyonlarının kontrole kıyasla kök ağırlıkları, kök uzunlukları, bitki ağırlıkları, gövde uzunluğu, kök sayısı, yaprak sayısı ve protein miktarı ile SOD, CAT ve FDH enzim aktivitelerinde farklı şekilde etki ettiği görülmüştür.

Hariadi ve ark. (2015) tarafından 6 farklı çeltik varyeteleri kullanılarak saksıda 0, 50 mM, 100 mM, 150 mM ve 200 mM tuz konsantrasyonlarında yetiştirdikleri 21 günlük çeltiklerin bitki boyu ve yaprak genişliği üzerindeki etkilerinin incelediklerini belirtmişlerdir. Çalışmanın sonunda tuz konsantrasyonu arttıkça

bitki boyunun azaldığını belirtmişlerdir [223]. Rahman ve ark. (2016) tarafından yapılan çalışmada BRR1 dhan34, BRR1 dhan38, Binadhan- 9, Binadhan-13, Kalijira ve Rajbhogh aromatik çeltik çeşitleri kullanılarak 30, 45, 60, 75 ve 90 günlük farklı zaman dilimlerinde 0, 25 mM, 50 mM, 75 mM ve 100 mM tuz konsantrasyonlarındaki büyüme parametrelerini incelemişlerdir. Çalışmada 45 ve 90 gün aralığında ortalama bitki boyunun azaldığı ve en düşük ortalama bitki boyunun 100 mM tuz konsantrasyonunda elde edildiği belirtilmiştir [85]. Ologondudu ve ark. (2014) tarafından yapılan çalışmada Nerica 1, Nerica 5, Nerica 12, Nerica 19, IR29, IR20, IWA 11 ve Pokkali çeltik çeşitlerinin 0, 5, 10, 15 dS.m⁻¹ tuz konsantrasyonlarında sürgün uzunluğu, kök uzunluğu, kuru sürgün ağırlığı ve kuru kök ağırlığı gibi 4 farklı büyüme parametrelerini araştırdıkları bir çalışmada geçen süre boyunca çeltik çeşitlerinde araştırılan tüm parametrelerin azaldığını gözlediklerini belirtmişlerdir [224]. Bu çalışmada kullanılan Maraş sarı çeltik, Kızıltan, Kızıltan mutant, Dhan 47 çeltik çeşitlerinin 0 MS, 50 mM, 100 mM ve 200 mM tuz stresi altında 6 farklı büyüme parametreleri incelenmiştir. Tüm çeltik çeşitlerinde artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak fiziksel değişimler gerçekleşmiş ve hem aynı varyetenin farklı konsantrasyonlarında hem de varyeteler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar tespit edilmiştir.

Tuz stresi her abiyotik stres faktörü gibi farklı bitki türlerinde ve varyeteler arasında total protein konsantrasyonu üzerinde farklı etkiler oluşturmaktadır. Yapılan birçok çalışmada, araştırmacılar tuz stresinin protein sentez hızını azalttığını, proteinleri inhibe eden enzimlerin aktivitelerinin arttığını, ortamdaki aminoasit miktarının azaldığını ve ilgili aminoasitler ile protein sentezi ile ilişkili enzimlerin hidrolize olduklarını belirtmişlerdir [225], [226]. Ayrıca tuz stresinin etkilerinin tuz konsantrasyon miktarına, çalışılan dokuya göre farklılıklar gösterdiği ve tuz stresi ile ilişkili proteinlerin ve bu proteinlerin rol aldığı metabolik yollardaki enzimlerin aktivitelerinin artabileceği de belirtilmiştir [227], [228].

Kumar ve ark. (2009) tarafından Panvel-3, Kalarata ve Karjat-3 çeltik çeşitlerini 0, 50 mM, 100 mM, 150 mM, 200 mM, 250 mM ve 300 mM tuz konsantrasyonlarında 14 gün yetiştirdiklerini ve bazı fizyolojik etkileri incelediklerini belirtmişlerdir. Çalışmada tuza karşı hassas Karjat-3 varyetesinin yapraklarında protein

konsantrasyonunun kontrole göre tüm konsantrasyonlarda azaldığı buna karşın köklerde 150 mM'a kadar artış gösterdiği rapor edilmiştir. Ayrıca tuza orta düzeyde toleranslı Kalarata ve toleranslı Panvel-3 çeşitlerinde ise köklerdeki protein miktarlarının tüm tuz konsantrasyonlarında azaldığı, yapraklarda da 150 mM tuz konsantrasyonuna kadar artış gösterdiği belirtilmiştir. Total protein konsantrasyon tayininde ise tuza toleranslı çeltik çeşitlerinde osmotik etkiye karşı cevap veren proteinlerin miktarının belirli tuz konsantrasyonlarına kadar arttığını, tuza hassas çeşitlerde ise, bu durumun görülmediği ifade edilmiştir [229]. Benzer şekilde bu çalışmada da tüm çeltik çeşitlerinde artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak protein miktarının değiştiği belirlenmiştir. Bununla birlikte hem aynı varyetenin farklı konsantrasyonlarında hem de varyeteler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar da tespit edilmiştir.

Serbest radikaller ve reaktif oksijen türevleri biyolojik redoks reaksiyonlarının kaçınılmaz yan ürünleridir. ROS ve türevlerinin miktarındaki artış stres altındaki bir bitkinin gösterdiği en belirgin tepkilerdendir. Bitkilerde ve diğer tüm canlılarda ROS ve türevleri ile ilgili mücadelede savunma mekanizmaları gelişmiştir [230], [231], [232], [233]. Antioksidan enzim aktivitesinin yüksek olması ROS'ların aktivitelerini sınırlamakta ve oksidatif etkenlerin metabolizmaya zarar vermesini engellemektedir. Bu açıdan antioksidan savunma metabolizma için önem arz etmektedir. Son yıllarda birçok çalışmada biyoteknolojik araçlar ile elde edilen transgenik çeşitlerde antioksidan enzimleri kodlayan genlerin anlatımını sağlayan gen/lerin transferleriyle özellikle tuz stresine dayanıklı çeşitler olmak üzere biyotik stres faktörlerine dayanıklı ürünler elde edildiği belirtilmiştir [234], [235], [236], [237], [238], [239].

SOD, oksijen metabolizmasına sahip hücrelerde, sitoplazmada, kloroplast ve mitokondri gibi organellerde aktivite gösteren bir enzimdir. O_2 moleküllerinin H_2O_2 ve O_2 dönüşümünü sağlayarak ROS'lara karşı ilk savunma mekanizmasını oluşturmaktadır. SOD enzimi kofaktör ile çalışmakta ve bu kofaktörler Cu, Zn, Mn veya Fe gibi elementlerdir [137], [240]. Abiyotik stres şartlarında özellikle tuz stresi şartlarında dayanıklı ve hassas çeşitlerde SOD aktivitesinin arttığı bazı çalışmalarda belirtilmiştir [241], [242]. Tuz stresi uygulanan çalışmalarda tuza toleranslı çeltik

çeşitlerin kök ve yapraklarında SOD aktivitesinin arttığı hassas çeşitlerde ise azaldığı yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir [64], [243]. Jalali ve ark., (2019) tarafından yapılan çalışmada iki çeltik genotipi kullanılarak (Hashemi parental and Hashemi advanced mutant line) 0 (kontrol olarak), 5 ve 10 dS / m NaCl konsantrasyonlarında 25 günlük fideler üzerinde yaptığı çalışmalarda süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), peroksidaz (POX) glutatyon redüktaz (GR) gibi antioksidan enzim aktivitelerinin önemli derecede artış gösterdiğini belirtmiştir [244]. Ayan (2019) tarafından yapılan çalışmada Osmancık-97 ve Mevlütbey çeltik çeşitlerinden, gama radyasyonu ile tuzluluğa toleranslı mutantların elde edildiği çalışmada tuz stresi uygulayarak yaptığı çalışmada total protein konsantrasyonu, peroksidaz, süperoksit dismutaz ve katalaz enzim aktivitesini ölçtüğünü ve artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak kontrole göre SOD aktivitesinde istatistiksel açıdan anlamlı artışlar saptandığını ifade etmiştir [237]. Bu çalışmada 0 MS, 50 mM, 100 mM ve 200 mM tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen Maraş sarı çeltik, Kızıltan, Kızıltan mutant, Dhan 47 çeltik çeşitlerinin SOD aktivite analizi gerçekleştirilmiş ve tüm çeltik çeşitlerinde artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak SOD aktivite değişimleri gerçekleştiği gözlenmiştir. Hem aynı varyetenin farklı konsantrasyonlarında hem de varyeteler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar tespit edilmiştir. 15 günlük sürede artan tuz konsantrasyonlarında yapraklarda kontrole göre tüm konsantrasyonlarda, köklerde ise 100 mM tuz konsantrasyonuna kadar SOD aktivitesinin arttığı gözlenmiştir. Aynı sürede dhan 47 bitkisinde 100 mM tuz konsantrasyonunda SOD aktivitesinin en yüksek olduğu görülmektedir. Maraş ve Kızıltan bitkilerinde ise artan tuz konsantrasyonuna göre azalan aktivite gösterdiği gözlenmiştir. 30 günlük sonuçlarda ise Kızıltan varyetesinde yapraklardaki SOD aktivitesinin kontrole göre azaldığı gözlenirken köklerde 100 mM tuz konsantrasyonuna kadar artan aktivite gösterdiği gözlenmiştir. Dhan 47 varyetesinde yapraklardaki SOD aktivitesinin kontrole göre arttığı ve en fazla aktivitenin 50 mM konsantrasyonda olduğu gözlenirken, köklerde ise artan tuz konsantrasyonunda azalan aktivite gösterdiği gözlenmiştir. Aynı sürelerde maraş ve Kızıltan mutant çeşitlerinde yaprak ve köklerde artan tuz konsantrasyonuna göre azalan aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

CAT enzimi tek hücreli canlılardan çok hücreli canlılara kadar tüm canlılarda bulunan ve hidrojen peroksiti (H_2O_2) H_2O ve O_2 'ye parçalayan antioksidan bir enzimdir. Hidrojen peroksitin parçalanması ile lipid peroksidasyonu önlenerek hücre membran zararlanmasını ve klorofil yıkımının azaltılarak hücrenin metabolik işlemlerin aksamamasını sağlar. CAT enzimi SOD tarafından yan ürün olarak oluşturulan hidrojen peroksiti parçalamaktadır [245], [246]. Yaghubi ve ark. (2014) tarafından yapılan bir çalışmada bir dayanıklı, bir hassas çeltik çeşidinin kullanılarak 0, 40, 80 and 120 mM tuz konsantrasyonunda 16 günlük fidelerde dayanıklı çeltik (improved cultivar of Ghaem) çeşidinde katalaz (CAT), peroxidase (POD), askorbat peroksidaz (APX) ve süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitelerinin arttığı rapor edilmiştir [247]. Çeltik bitkisi kullanılarak farklı tuz konsantrasyonu uygulanan birçok çalışmada dayanıklı çeşitlerde CAT aktivitesinin belli konsantrasyonlara kadar arttığı, hassas çeşitlerde ise CAT aktivitesinin azaldığı birçok çalışmada belirtilmiştir [245], [248], [249], [250], [251]. Bu çalışmada da farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen Maraş sarı çeltik, Kızıltan, Kızıltan mutant, dhan 47 çeltik çeşitlerinin CAT aktivite analizi gerçekleştirilmiştir. 15 günlük sürede Kızıltan mutant çeltik bitkilerinde artan tuz konsantrasyonlarında yapraklarda ve köklerde kontrole göre tüm konsantrasyonlarda CAT aktivitesinin arttığı belirlenmiştir. Aynı sürede dhan 47 bitkisinde yapraklarda 100 mM tuz konsantrasyonunda CAT aktivitesinin en yüksek olduğu gözlenirken, köklerde ise artan tuz konsantrasyonunda artan aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Maraş ve Kızıltan bitkilerinde ise 100 mM tuz konsantrasyonunda CAT aktivitesinin kontrole göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. 30 günlük sonuçlarda ise Kızıltan varyetesinde yapraklardaki CAT aktivitesinin 50 ve 100 mM tuz konsantrasyonunda kontrole göre azaldığı gözlenirken 200 mM tuz konsantrasyonunda kontrole kıyasla daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Köklerde ise 100 mM tuz konsantrasyonuna kadar artan aktivite gösterdiği belirlenmiştir. dhan 47 varyetesinde yapraklardaki CAT aktivitesinin kontrole göre arttığı ve en fazla aktivitenin 50 mM konsantrasyonda olurken, köklerde artan tuz konsantrasyonunda azalan aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Aynı sürelerde maraş ve Kızıltan mutant bitkilerinde yaprak ve köklerde artan tuz konsantrasyonuna göre azalan aktivite gerçekleştiği belirlenmiştir. Hem aynı varyetenin farklı konsantrasyonlarında hem de varyeteler

arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar literatür ile uyumludur.

Format dehidrogenaz (FDH, EC 1.2.1.2) metilotrofik mikroorganizmalar ve yüksek bitkilerde yaygın olarak bulunan bir enzimdir. FDH enzimi NAD(P)⁺ varlığında formatın (HCOO⁻) CO₂'e oksidasyonunu katalizlerken NAD⁺'nin NADH'e indirgenmesini ve uygun şartlarda NADH varlığında ise ters yönde, CO₂'in indirgenmesini katalizleyebilmektedir. Bu özellikleri ile FDH, kiral bileşiklerin enzimatik sentezi sırasında kullanılması gereken ve pahalı bir koenzim olan NAD(P)H'in yeniden elde edilmesi, ortamdaki formik asit miktarının belirlenmesi, atmosferik CO₂'in tutulması ve CO₂'den hidrojen yakıtının stabilize edilmiş bir formu olan formik asit üretilmesi gibi biyoteknolojik uygulamalar için çok önemli bir enzim olduğu bilinmektedir. NAD⁺, 300'den fazla redoks reaksiyonunda bir koenzim olarak işlev görmekte ve bu özelliğinden dolayı hücrel metabolizmada merkezi bir rol oynamaktadır.

Yapılan birçok bilimsel araştırmada NAD⁺- bağımlı FDH enziminin bitkilerde stres proteinlerine ait olduğunu göstermektedir. Kuraklık, yüksek-düşük sıcaklık, ağır metal kirliliği, kimyasal ajanlara maruz kalma, hipoksiya, patojenik mikroorganizma saldırısı gibi durumlarla bitkilerde FDH sentezinin arttığı farklı yayınlarda bildirilmektedir [140]. Bitkilerde FDH aktivite tayini çalışmaları ilk kez fasulye (*Phaseolus vulgaris*) tohumlarında tanımlanmıştır [252]. Biyotik ve abiyotik stres koşulları altında FDH'lerin bitki büyümesi üzerindeki etkileri hakkında çok sayıda veri olmasına rağmen, bitki kaynaklı rekombinant FDH'lerin kinetiği ve stabilitesi konusundaki bilgi sınırlıdır [140], [253], [254]. Yapılan literatür araştırmalarında *Arabidopsis thaliana* [255] *Glycine max* (Soya) [256], [257] *Lotus japonicus* ve *Gossypium hirsutum* (Pamuk) [144], [145], [258] gibi bitkilerde çalışılmasına rağmen çeltik bitkisinde FDH enzim aktivitesi ile herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu açıdan bu çalışmadaki FDH aktivite sonuçları ilk rapor olma özelliği taşımaktadır.

15 gün ve 30 gün süresince yetiştirilen farklı çeltik varyetelerinin FDH enzim aktivite sonuçları gruplar arası karşılaştırılarak analiz edilmiştir. 15 günlük sonuçlarda yaprak ve köklerde tüm çeltik varyetelerinde kontrole göre FDH

aktivitesinin arttığı gözlenmiştir. 50 ve 100 mM tuz konsantrasyonlarında en fazla artış maraş çeltik varyetesinde gözlenmiştir. 15 günlük yapraklarda 200 mM tuz konsantrasyonunda en fazla aktivite Kızıltan varyetesinde gözlenirken, 15 günlük köklerde 200 mM tuz konsantrasyonda maraş varyetesinde gözlenmiştir. 30 günlük sonuçlarda yaprak ve köklerde tüm çeltik varyetelerinde kontrole göre FDH aktivitesinin arttığı gözlenmiştir. Yapraklarda 50 ve 100 mM tuz konsantrasyonlarında en fazla artış Kızıltan mutant çeltik varyetesinde gözlenmiştir. 30 günlük yapraklarda 200 mM tuz konsantrasyonunda en fazla aktivite Kızıltan varyetesinde gözlenirken, 30 günlük köklerde 200 mM tuz konsantrasyonda Kızıltan mutant varyetesinde gözlenmiştir. Hem aynı varyetenin farklı konsantrasyonlarında hem de varyeteler arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar tespit edilmiştir.

Bu çalışmadaki FDH gen anlatım analiz sonuçları incelendiğinde 15 günlük yapraklarda en fazla 14 kat artış Kızıltan Mutant yaprağında belirlenmiştir. 15 günlük Kızıltan mutant yapraklarında kontrole göre tuz konsantrasyonu arttıkça FDH gen anlatım miktarının da arttığı gözlenmiştir. 50 mM'de 4 kat, 100 mM'de 6 kat artış gerçekleştiği belirlenmiştir. Dhan 47 varyetesinde de yine tuz konsantrasyonu arttıkça FDH gen anlatım miktarının da arttığı gözlenmiştir. 50 mM'de 2 kat, 100 mM'de 3 kat artış gözlenmiştir. 15 günlük köklerde en fazla 7 kat artış ile 100 mM tuz konsantrasyonunda yetiştirilen Kızıltan varyetesinde olduğu belirlenmiştir. Kızıltan varyetesinde 50 mM'de 5 kat artış gözlenirken, 200 mM' de kontrole kıyasla gen anlatımında azalma gözlenmiştir. 30 günlük sonuçlarda yapraklarda Maraş Sarı çeltik 100 mM tuz konsantrasyonunda ve Kızıltan 50 mM tuz konsantrasyonlarında en fazla 3 kat artış gözlenmiştir. Maraş sarı çeltik 50 mM ve 200 mM tuz konsantrasyonlarında 2 kat artış gözlenmiştir. Kızıltan 100 mM ve 200 mM tuz konsantrasyonlarında da yine 2 kat artış gözlenmiştir. Köklerde de Maraş Sarı Çeltik ve Kızıltan varyetelerinin 200 mM tuz konsantrasyonlarında 2 kat artış gözlenmiştir. FDH gen anlatımı için elde edilen verilerin "JMP Starter 6" programında ANOVA testi ile istatistik analizi yapılmıştır ve elde edilen veriler değerlendirildiğinde önemli farklılık olmadığı belirlenmiştir.

Proteinlerin yapısına katılan metiyonin amino asitleri aerobik koşullarda Reaktif oksijen türleri tarafından oksidasyona oldukça açıktır. Metiyonin yapısında bulunan kükürt atomu oksidasyon sonucunda sülfoksite dönüşür ve böylece metiyonin sülfoksite (Met-O) dönüşmüş olur. Oksitlenmiş olan metiyoninler metiyonin sülfoksit redüktazlar (MSR) denilen antioksidan enzimler tarafından onarılır [259], [260]. Metiyonin sülfoksitler oksijenin bağlandığı kükürt atomunun kimerik yapısından dolayı iki farklı stereoizomer oluşur. Bunlar (met-SO) ve (met-RO)'dur [261], [262]. Oksidasyona uğramış metiyoninler metiyonin-S-sülfoksit (MSRA) tarafından ve metiyonin-Rsülfoksitler(MSRB) tarafından onarılır [263]. Metiyonin sülfoksit redüktaz enzim sistemleri yalnızca protein onarımında değil, proteinlerin redoks regülasyonunda, redoksa bağlı sinyal ileti yollarında, hücreleri oksidatif stresten koruma gibi görevleri de vardır [264].

Bitki genomları, memelilerden daha fazla sayıda MSRA geni içerir [265], [266]. Bechtold ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada AtMSRA2 geninin *Arabidopsis thaliana*'da oksidatif strese karşı savunmaya katıldığını belirtmişlerdir [267]. Benzer bir çalışmada AtMSRA4'ün (PMSR4) ifadesi, bitkinin bu tür stresi yönetme yeteneği ile ilişkili olduğu belirtilmiştir [268]. Çeltik bitkisinde, OsMSRA4.1 geninin aşırı ekspresyonu, tuzluluğa tolerans sağladığı belirtilmiştir [265]. *A. thaliana* bitkisinde TaMSRA2 ve TaMSRA5 genlerinin anlatımlarının artış gösterdiğinde bitkinin tuzluluk ve oksidatif strese toleransını transgenik bitkilere eşdeğer olacak şekilde arttırdığı belirtilmiştir [269]. Ding ve ark. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada buğdayda tuzluluk ve kuraklık stresi altında TaMSRA4.1 geninin anlatımına artış gösterdiğini belirtmişlerdir [270].

Bu çalışmada MSR gen anlatımı incelendiğinde en fazla 5 kat artış ile 15 günlük 100 mM tuz konsantrasyonunda yetiştirilen dhan 47 varyetesinin köklerinde olduğu belirlenmiştir. 15 günlük sonuçlarda dhan 47 varyetesinin 50 mM, Kızıltan varyetesinin 50 mM ve 100 mM tuz konsantrasyonunda yetiştirilen köklerde 3 kat artış gözlenirken diğer ortamlarda kontrol ile aynı olduğu veya azaldığı belirlenmiştir. 30 günlük sonuçlarda en fazla 3 kat artış ile dhan 47 varyetesinin 100 mM tuz konsantrasyonunda yetiştirilen köklerde gözlenirken geriye kalan tüm konsantrasyonlarda yaprak ve köklerde gen anlatımının kontrol ile aynı olduğu veya

azalan değişim gösterdikleri belirlenmiştir. Elde edilen verilerin “JMP Starter 6” programında ANOVA testi istatistik analizi yapılmış ve 15 günlük sonuçlar arasında istatistiksel olarak önemli farklılık olduğu gözlenirken 30 günlük sonuçlarda önemli farklılık olmadığı belirlenmiştir.

Prolin, stres koşulları altında proteinlerin, hücre zarının ve hücre altı yapıların stabilizasyonu ve ROS'ların temizlenmesiyle hücrel fonksiyonların korunması gibi çeşitli rollere sahip bir aminoasittir [271]. Prolin, ozmotik düzenleme yeteneği sayesinde hücre sitoplazmasındaki ozmotik potansiyelin koordinasyonundan sorumlu birincil derecede önemli bir bileşiktir [101], [272]. Kloroplastlarda şartlar olumsuz hale geldiğinde elektron taşıma zinciri doğun hale gelir ve aşırı indirgeme potansiyeli birikir. Bu durum fotosentetik mekanizmanın zarar görmesine neden olur. Prolin sentezi ve birikimindeki artış kloroplastlarda oluşan bu aşırı indirgeme potansiyelini dağıtarak redoks dengesinin stabilizasyonuna ve hücrel homeostazın korunmasına katkıda bulunabilir [102], [273]. Ayrıca prolin, ozmotik koruyucu rollerine ek olarak strese yanıt veren genleri düzenleyen sinyal iletim yollarının bir bileşeni olarak da hareket etmektedir [274], [275].

Serbest prolin birikimi, hiperosmotik stres koşullarına maruz kalan birçok bitkide incelenmiştir [276]. Abiyotik stres koşulları altında artan sentez ve azalan bozunma nedeniyle prolin birikimi, türe ve uygulanan stresin boyutuna bağlı olarak milimolar konsantrasyonlara ulaşabilir [71], [277]. Abiyotik stres altında prolin genini kodlayan *P5CS1* ve *P5CS2* genlerinin gen anlatımının artış gösterdiği *Arabidopsis thaliana* [278], *Medicago sativa* [279], domates [280] ve *M. truncatula* [281] ve çeltik [272], [275], [282], [283] bitkilerinde yapılan çalışmalarda belirtilmiştir. Tuz stresi altında yetiştirilen çeltik bitkilerinde prolin ile ilişkili genlerin farklı sonuçlar gösterdiği görülmektedir. Bu aynı zamanda diğer bitkilerde de görülebilmektedir [100], [284]. Çeltikte gözlenen tuz muamelesine yanıt olarak *P5CS1* ve *P5CS2* genlerinin gösterdiği anlatım farklılıkları, diğer türlerde de kaydedilmiştir. Bunun başlıca nedenleri genotiplerin birbirinden çok farklı iklimlerde yetiştirilip ve farklı karakteristik özelliklere sahip olmaları ve çalışmalarda uygulanan farklı tuz konsantrasyonları olabilir. Kamrawa ve ark. (2021) yaptıkları çalışmada 0 ile 9 dS/m arasında farklı tuz seviyelerinde Shastak Mohammadi, Nemat, Tarom Ghali,

GASMAL, Neda, Roshan, Nonabokra, FL478, Dilmani ve Arpa çeşitlerinde yaptıkları çalışmada tuz seviyesi arttıkça prolin ve sodyum iyon içeriğinde önemli ölçüde artış gözlediklerini belirtmişlerdir [275]. Somboonwatthanaku ve ark. (2010) tarafından kallus ve hücre kültürü yöntemleri ile 250 mM tuz konsantrasyonu altında yetiştirdikleri çeltik bitkilerinde prolin ile ilişkili *OsP5CS2* ve *P5CS1* genlerinin farklı zamanlarda farklı anlatımlara sahip olduklarını belirtmişlerdir [285].

Bu çalışmada farklı sürelerde prolin gen anlatımının farklılıklar göstermesi literatür çalışmaları ile uyum göstermektedir. Çalışmada çeltik varyetelerinin farklı tuz konsantrasyonlarında farklı tepkiler gösterdikleri gözlenmiştir. 30 günlük Maraş Sarı Çeltik varyetesinin 50 mM tuz konsantrasyonunda yetişen yapraklarda ve Kızıltan varyetesinin 200 mM tuz konsantrasyonunda yetişen yapraklarında 5 kat artış ile en fazla prolin geninde anlatımın arttığı belirlenmiştir. Maraş çeltik varyetesinde 100 mM tuz konsantrasyonunda kontrole göre 3 kat artış, 200 mM tuz konsantrasyonunda ise 2 kat artış belirlenmiştir. Dhan 47 varyetesinde 30 günlük köklerde 50 mM tuz konsantrasyonunda ve Kızıltan varyetesinin 15 günlük köklerinde 2 kat artış belirlenmiştir. Geriye kalan tüm konsantrasyon ve çeşitlerde ya herhangi bir değişiklik olmadığı veya kontrole göre azalma olduğu gözlenmiştir. Elde edilen verilerin "JMP Starter 6" programında ANOVA testi istatistik analizi yapılmış ve elde edilen veriler değerlendirildiğinde Prolin gen anlatımı için önemli farklılık olmadığı belirlenmiştir.

IRAP ve REMAP markırları Arpa, çeltik, buğday, muz, zeytin birçok farklı türler arasındaki benzerlikleri belirlemede kullanılmıştır [178]. IRAP tekniği 2 retrotranspozon arasında DNA'nın segmentlerini tamamlayarak ekleme polimorfizmi gösterir. Bu özelliği ile çok sayıda genetik çeşitlilik çalışmasında kullanılmıştır [193], [286], [287], [288], [289], [290].

Tufan ve ark., (2020) Tarafından yapılan çalışmada, petri kaplarında 10 günlük yapraklar kullanılarak *Oryza sativa* L. (çeltik), *Brachypodium distachyon* (L.) P. Beauv., *Hordeum vulgare* L., (arpa) ve *Triticum aestivum* L. (buğday) türlerinden aldıkları örneklerle *Hopi*, *Houba*, *Osr30* ve *RIRE1* primerleriyle IRAP-PCR moleküler markır tekniğini kullanarak araştırma yaptıklarını belirtmişlerdir. Çalışmada; her türün bireyleri arasında farklı bant profilleri ve polimorfizm oranları ile

sonuçlanmasına rağmen sadece çeltik türleri arasında önemli derecede polimorfizm görüldüğü belirtilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, çalışmada kullanılan 4 retrotransposon çeşidinin diğer türlerde inaktif durumdayken çeltik bitkisinde hala aktif olduğu belirtilmiştir. Ayrıca çalışmada *Houba* retrotranspozonunun IRAP-PCR sonucunda 260 ila 6000 bp arasındaki bantlar sayılmış %20 ile %75 arasında polimorfizm tespit edildiği belirtilmiştir. *Hopi* retrotranspozonunun IRAP-PCR sonucunda 300 ila 3000 bp arasındaki bantların sayıldığı, çeltikte %0-19 arasında polimorfizm tespit edildiği ve sonuçların *Houba* ile benzerlik gösterdiği belirtilmiştir. *Osr30* retrotranspozonunun IRAP-PCR sonucunda 200 ila 4000 bp arasındaki bantların sayıldığı %0-37 oranlarında polimorfizm tespit edildiği belirtilmiştir. *RIRE1* retrotranspozonunun IRAP-PCR sonucunda 260 ila 4000 bp arasındaki bantların sayıldığı %37-70 oranlarında polimorfizm tespit edildiği belirtilmiştir. Netice itibari ile çeltikte test edilen tüm retrotranspozonların IRAP sonuçları farklı oranlarda polimorfizm ile sonuçlandığı belirtilmiştir [174]. Bu sonuçlar bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlarla karşılaştırıldığında *Hopi*, *Houba*, *Osr30* ve *RIRE1* retrotranspozonlarında polimorfizm oranlarında daha fazla artış gözlenmiştir. Bunun başlıca sebepleri genotiplerin birbirinden çok farklı iklimlerde yetiştirilmeleri, farklı karakteristik özelliklerde olması, farklı süreler uygulanması ve bu çalışmada uygulanan farklı tuz konsantrasyonları olabilir.

Yetgin (2019) tarafından yapılan bir çalışmada; farklı bor konsantrasyonları altında yetiştirilen bir haftalık Türk Kır çeltiği ve Bafra Yıldızı çeltik çeşitlerinde, *Houba*, *Osr30*, *RIRE1*, *Hopi*, *Sukkula* ve *Nikita* retrotranspozonlarının hareketleri IRAP moleküler markır tekniği kullanılarak incelendiği belirtilmiştir. Çalışmada düşük bor konsantrasyonunda daha az sayıda bant oluşumu gözleendiği, yüksek bor konsantrasyonu uygulaması altında yetiştirilen Bafra Yıldızı cinsi çeltik örneklerinin daha çok sayıda bant gözleendiği belirtilmiştir. Bu sonuçlar, çeltik bitkisinin Türk Kır çeltiği ve Bafra Yıldızı çeşitlerinde farklı bor konsantrasyonlarının, retrotranspozon hareketlerini arttırabileceğini belirtmişlerdir. Farklı bor konsantrasyonları altında yetiştirilen çeltik örneklerinde gözlenen fizyolojik değişimlerin sebebinin bu retrotranspozon hareketlerinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ayrıca çalışmada *Houba* için gerçekleştirilen PCR çalışmalarında 200 ila 1000 bp arasındaki bantların sayıldığı %0-37, *Hopi* için gerçekleştirilen PCR çalışmalarında

200 ile 800 bp arasındaki bantların sayıldığı %0-60, *Osr30* için gerçekleştirilen PCR çalışmalarında 200 ile 1000 bp arasındaki bantların sayıldığı %0-87, *RIRE1* için gerçekleştirilen PCR çalışmalarında 200 ile 1000 arasındaki bantların sayıldığı ve %0-100 oranlarında polimorfizm tespit edildiği belirtilmiştir [291]. Bu sonuçlar bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlarla karşılaştırıldığında *Hopi*, *Houba*, *Osr30* ve *RIRE1* retrotranspozonlarında polimorfizm oranlarında artış gözlenmiştir. Bunun başlıca sebepleri genotiplerin birbirinden çok farklı iklimlerde yetiştirilmeleri, farklı karakteristik özelliklerde olması, farklı süreler uygulanması ve Yetgin (2019) çalışmasında bor stresi kullanması bizim ise farklı tuz konsantrasyonları kullanmamızdan kaynaklanabilir.

Carpentier ve ark. (2019) Asya kıtasında ekimi gerçekleştirilen 3000 pirinç genomu (*Indica*, *Japonica*, *Aus/Boro*) üzerinde yaptıkları çalışmada pirinç çeşitlerinin retrotranspozon ilişkilerini sınıflandırdıkları bir çalışma gerçekleştirdiklerini belirtmişlerdir. Yapılan çalışmada 3000 pirinç genomunda 32 retrotranspozon ailesi kullanılarak yapılan taramada 50.000'den fazla transpoze edilebilir element polimorfizmi tespit ettiklerini belirtmişlerdir. Ayrıca çalışmada 7 transpozon elementinin yüksek oranda polimorfizm açığa çıkardıklarını ifade etmişlerdir. Bizim çalışmamızda *Hopi/Osr27*, *Houba/Tos5/Osr13*, *Osr30*, *Tos17* kullandığımız retrotranspozon primerlerinin aktivitelerinin devam ettiği belirtilmiştir [167].

Yuzbasioglu ve ark. (2016) tarafından transgenik pirinçte transformasyonun transpozon hareketleri üzerindeki etkisinin araştırıldığı çalışma da GD pirinç örnekleri ile GD olmayan pirinç örnekleri transpozon (*Hopi/Osr27* ve *Houba/Tos5/Osr13*, *Osr30*, *RIRE1*) hareketleri açısından karşılaştırılarak bu yolla oluşabilecek varyasyonların nedenleri araştırıldığı belirtilmiştir. Çalışmada elde edilen sonuçlara göre polimorfizm oranı *Hopi* için 0-75%, *Osr30* için 0-57%, *Houba* 0-52% için ve *RIRE1* için 0-45% olarak tespit edildiği belirtilmiştir. Ayrıca farklı organizmalarda, farklı primer çiftleri kullanılarak IRAP-PCR yöntemi kullanıldığı da belirtilmiştir. *Secale* türünde *Cassandra* ve *Bilby* primerleri kullanılarak yapılan IRAP-PCR çalışmasında 73 PCR ürünü elde edilmiş ve % 86.8 oranında polimorfizm elde edildiği belirtilmiştir. Çalışmada *Hopi* için gerçekleştirilen PCR çalışmasında 250 ile 1000 bp arasında değişen 12 PCR bandı elde edildiği, *Osr30* gerçekleştirilen

PCR çalışmasında 250 ile 1000 bp arasında 7 adet PCR fragmenti elde edildiği, hem *Houba* hem de *RIRE1* için gerçekleştirilen PCR çalışmasında 400 ile 1000 bp arasında 7 adet PCR fragmenti elde edildiği belirtilmiştir [216], [292], [293]. Bu sonuçlar bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlarla karşılaştırıldığında bizim çalışmamızda *Hopi*, *Houba*, *Osr30* ve *RIRE1* retrotranspozonlarında polimorfizm oranlarında artış gözlenmiştir. Bunun başlıca sebepleri genotiplerin birbirinden çok farklı iklimlerde yetiştirilmeleri, farklı karakteristik özelliklerde olması, farklı süreler uygulanması ve bu çalışmada uygulanan farklı tuz konsantrasyonları olabilir.

Aydin ve ark., (2021) tarafından 5-Aminolevulinik Asitle muamele edilen fasulye fidelerinde REMAP tekniği ile polimorfizm elde ettiklerini belirtmişlerdir [294]. Yiğider (2020), mısırdaki ağır metal stresi ile bazı retrotranspozonların hareketinden kaynaklanan polimorfizmi IRAP ve REMAP teknikleri kullanarak belirtmişlerdir [295]. Turhan ve ark., (2021) tarafından yapılan bir çalışmada kuraklık stresine maruz kalan buğdayda selenyumun neden olduğu retrotranspozonların hareketinden kaynaklanan polimorfizmi IRAP ve REMAP teknikleri kullanarak belirlediklerini belirtmiştir [197]. Noormohammadi ve ark., (2020) pamuk bitkisinde (GT40 ve NNC) salisilik asit (0,5 ve 1mM SA) ve tuzun (100 ve 150mM NaCl uygulamaları ve 0,5mM SA ve 150mM NaCl) IRAP ve REMAP hareketleri üzerine etkilerini incelediklerini belirtmişlerdir. Çalışmanın sonucunda tuz stresi ve salisilik asit uygulamalarında retrotranspozon hareketinden ayırt edici profiller elde ettiklerini belirtmişlerdir [296].

Çalışmada, 60 gDNA örneği üç tekrarlı olarak kullanılmış ve IRAP-PCR sonuçları sonuçları %1'lik agaroz jelde 150 voltta 180 dakika süre ile yürütülmüş ve UV tablasında görüntülenerek fotoğrafı çekilmiştir. IRAP-PCR analizlerinde polimorfizm oranları, her örnek diğer örneklerle karşılaştırılarak hesaplanmıştır. IRAP çalışmaları çeltik bitkisinde aktiviteleri devam eden ve çok kopyalı halde bulunduğu bilinen 4 adet primer (*Hopi/Osr27* ve *Houba/Tos5/Osr13*, *Osr30* ve *Tos17*) ile oluşturuldu. REMAP çalışmaları ise 4 primer ile 4 farklı kombinasyon oluşturularak (*Houba/Tos5/Osr13*, *Osr30*, *RIRE1* retrotranspozon primerleri ile (GA)_nC ISSR primeri) gerçekleştirilmiştir. Çeltik bitkilerinden, onbeş ve otuz günlük

yaprak ve köklerinden izolasyonu yapılan gDNA'lar, IRAP ve REMAP çalışmalarında ayrı olmak üzere 4 primer kombinasyonu ile çoğaltıldı. PCR ürünleri, GeneRuler 100 bp. DNA Ladder (Thermo, 100 bp #SM0321) kullanılarak Agaroz jel ile ayrıldı ve etidyum bromür (EtBr) boyama ile görüntüledi. PCR sonuçlarına göre kök ve yapraklar arasındaki Jaccard benzerlik oranları hesaplanmıştır.

Bu çalışmada *Hopi* IRAP-PCR analizi için 15 günlük yaprakların agaroz jel sonucunda 300 bç ile 1500 bç arasında 405 bant, 15 günlük köklerin agaroz jel sonucunda 300 bç ile 1500 bç arasında 450 bant, 30 günlük yaprakların agaroz jel sonucunda 300 bç ile 1500 bç arasında 360 bant, 30 günlük köklerin agaroz jel sonucunda 300 bç ile 1500 bç arasında 315 bant sayılmıştır. Sayılan bantlardan 15 günlük yapraklarda 325'i monomorfik, 80'ni polimorfiktir. 15 günlük köklerde 326'i monomorfik, 124'i polimorfiktir. 30 günlük yapraklarda 264'ü monomorfik, 96'sı polimorfiktir. 30 günlük köklerde 212'i monomorfik, 103'ü polimorfiktir. Elde edilen sonuçlara göre 15 günlük yapraklarda %0-97 polimorfizm, 15 günlük köklerin %0-94 polimorfizm, 30 günlük yaprakların %0- 96 polimorfizm, 30 günlük köklerde %0-96 polimorfizm oranları bulunmuştur.

Osr30 IRAP-PCR analizi için, 15 günlük yaprakların agaroz jel sonucunda 300 bç ile 3000 bç arasında 360 bant, 15 günlük köklerin agaroz jel sonucunda 300 bç ile 3000 bç arasında 315 bant, 30 günlük yaprakların agaroz jel sonucunda 300 bç ile 3000 bç arasında 315 bant, 30 günlük köklerin agaroz jel sonucunda 300 bç ile 3000 bç arasında 315 bant sayılmıştır. Sayılan bantlardan 15 günlük yapraklarda 239'u monomorfik, 121'i polimorfiktir. 15 günlük köklerde 201'i monomorfik, 114'ü polimorfiktir. 30 günlük yapraklarda 236'sı monomorfik, 79'u polimorfiktir. 30 günlük köklerde 206'sı monomorfik, 109'u polimorfiktir. Elde edilen sonuçlara göre 15 günlük yapraklarda %0-92 polimorfizm, 15 günlük köklerin %0-94 polimorfizm, 30 günlük yaprakların %0- 94 polimorfizm, 30 günlük köklerde %0-94 polimorfizm oranları bulunmuştur.

Houba IRAP-PCR analizi için 15 günlük yaprakların agaroz jel sonucunda 300 bç ile 2000 bç arasında 360 bant, 15 günlük köklerin agaroz jel sonucunda 600 bç ile 2100 bç arasında 270 bant, 30 günlük yaprakların agaroz jel sonucunda 300 bç ile 2100 bç arasında 360 bant, 30 günlük köklerin agaroz jel sonucunda 300 bç ile 1000 bç

arasında 180 bant sayılmıştır. Sayılan bantlardan 15 günlük yapraklarda 246'sı monomorfik, 114'ü polimorfiktir. 15 günlük köklerde 151'i monomorfik, 119'u polimorfiktir. 30 günlük yapraklarda 222'si monomorfik, 138'i polimorfiktir. 30 günlük köklerde 142'si monomorfik, 39'u polimorfiktir. Elde edilen sonuçlara göre 15 günlük yapraklarda %0-94 polimorfizm, 15 günlük köklerin %0-98 polimorfizm, 30 günlük yaprakların %0- 94 polimorfizm, 30 günlük köklerde %0-96 polimorfizm oranları bulunmuştur.

Tos17 IRAP-PCR analizi için 15 günlük yaprakların agaroz jel sonucunda 500 bç ile 2000 bç arasında 405 bant, 15 günlük köklerin agaroz jel sonucunda 600 bç ile 2100 bç arasında 270 bant, 30 günlük yaprakların agaroz jel sonucunda 400 bç ile 3000 bç arasında 360 bant, 30 günlük köklerin agaroz jel sonucunda 700 bç ile 2000 bç arasında 315 bant sayılmıştır. Sayılan bantlardan 15 günlük yapraklarda 216'sı monomorfik, 189'u polimorfiktir. 15 günlük köklerde 151'i monomorfik, 119'u polimorfiktir. 30 günlük yapraklarda 203'ü monomorfik, 157'si polimorfiktir. 30 günlük köklerde 186'sı monomorfik, 129'u polimorfiktir. Elde edilen sonuçlara göre 15 günlük yapraklarda %0-100 polimorfizm, 15 günlük köklerin %0-98 polimorfizm, 30 günlük yaprakların %0- 94 polimorfizm, 30 günlük köklerde %0-94 polimorfizm oranları bulunmuştur.

Houba REMAP-PCR analizi için 15 günlük yaprakların agaroz jel sonucunda 400 bç ile 2000 bç arasında 360 bant, 15 günlük köklerin agaroz jel sonucunda 400 bç ile 1800 bç arasında 270 bant, 30 günlük yaprakların agaroz jel sonucunda 400 bç ile 2000 bç arasında 225 bant, 30 günlük köklerin agaroz jel sonucunda 400 bç ile 2100 bç arasında 405 bant sayılmıştır. Sayılan bantlardan 15 günlük yapraklarda 230'u monomorfik, 130'u polimorfiktir. 15 günlük köklerde 208'i monomorfik, 62'si polimorfiktir. 30 günlük yapraklarda 164'ü monomorfik, 61'i polimorfiktir. 30 günlük köklerde 241'i monomorfik, 164'ü polimorfiktir. Elde edilen sonuçlara göre 15 günlük yapraklarda %0-94 polimorfizm, 15 günlük köklerin %0-96 polimorfizm, 30 günlük yaprakların %0- 96 polimorfizm, 30 günlük köklerde %0-98 polimorfizm oranları bulunmuştur.

Osr30 REMAP-PCR analizi için 15 günlük yaprakların agaroz jel sonucunda 400 bç ile 2000 bç arasında 270 bant, 15 günlük köklerin agaroz jel sonucunda 400 bç ile

1700 bç arasında 540 bant, 30 günlük yaprakların agaroz jel sonucunda 400 bç ile 2000 bç arasında 360 bant, 30 günlük köklerin agaroz jel sonucunda 400 bç ile 2100 bç arasında 360 bant sayılmıştır. Sayılan bantlardan 15 günlük yapraklarda 177'si monomorfik, 93'ü polimorfiktir. 15 günlük köklerde 316'sı monomorfik, 224'si polimorfiktir. 30 günlük yapraklarda 276'sı monomorfik, 84'ü polimorfiktir. 30 günlük köklerde 262'i monomorfik, 51'i polimorfiktir. Elde edilen sonuçlara göre 15 günlük yapraklarda %0-100 polimorfizm, 15 günlük köklerin %0-91 polimorfizm, 30 günlük yaprakların %0- 96 polimorfizm, 30 günlük köklerde %0-96 polimorfizm oranları bulunmuştur.

Rire REMAP-PCR analizi için 15 günlük yaprakların agaroz jel sonucunda 400 bç ile 2000 bç arasında 405 bant, 15 günlük köklerin agaroz jel sonucunda 500 bç ile 2000 bç arasında 270 bant, 30 günlük yaprakların agaroz jel sonucunda 300 bç ile 1800 bç arasında 360 bant, 30 günlük köklerin agaroz jel sonucunda 500 bç ile 1600 bç arasında 270 bant sayılmıştır. Sayılan bantlardan 15 günlük yapraklarda 149'u monomorfik, 256'sı polimorfiktir. 15 günlük köklerde 236'sı monomorfik, 34'ü polimorfiktir. 30 günlük yapraklarda 244'ü monomorfik, 116'sı polimorfiktir. 30 günlük köklerde 174'ü monomorfik, 96'sı polimorfiktir. Elde edilen sonuçlara göre 15 günlük yapraklarda %0-100 polimorfizm, 15 günlük köklerin %0-92 polimorfizm, 30 günlük yaprakların %0- 97 polimorfizm, 30 günlük köklerde %0-96 polimorfizm oranları bulunmuştur.

Tos17 REMAP-PCR analizi için 15 günlük yaprakların agaroz jel sonucunda 300 bç ile 2100 bç arasında 360 bant, 15 günlük köklerin agaroz jel sonucunda 300 bç ile 2200 bç arasında 405 bant, 30 günlük yaprakların agaroz jel sonucunda 300 bç ile 2100 bç arasında 450 bant, 30 günlük köklerin agaroz jel sonucunda 400 bç ile 2100 bç arasında 360 bant sayılmıştır. Sayılan bantlardan 15 günlük yapraklarda 237'si monomorfik, 123'ü polimorfiktir. 15 günlük köklerde 284'ü monomorfik, 121'i polimorfiktir. 30 günlük yapraklarda 357'si monomorfik, 93'ü polimorfiktir. 30 günlük köklerde 317'si monomorfik, 43'ü polimorfiktir. Elde edilen sonuçlara göre 15 günlük yapraklarda %0-94 polimorfizm, 15 günlük köklerin %0-91 polimorfizm, 30 günlük yaprakların %0- 92 polimorfizm, 30 günlük köklerde %0-90 polimorfizm oranları bulunmuştur.

Retrotranspozonların tüm genoma yayılıp iki primer arasında kalan kısım *Taq* polimeraz tarafından çoğaltılamayabilir veya jel elektroforezinde ayrılamayacak kadar büyük olabilmektedir. Bundan dolayı (*Hopi/Osr27* ve *Houba/Tos5/Osr13*, *Osr30* ve *Tos17* dizilerine özgü primerler ile yapılan IRAP çalışmalarında, 100 bç ile 10000 bç büyüklükleri arasında çoğaltım ürünleri elde edilebilmektedir [175], [180]. Bu çalışmada IRAP ve REMAP PCR ürünleri 100 bç ile 3000 bç arasında bant çoğaltılmıştır. Daha önceden IRAP tekniği kullanılarak yapılan birçok çalışmada; 200-2500 bç [297], 100-4000 bç [298], 1100-1500 bç [299], 400-1700 bç [300], 180-3200 bç [301], 250-5000 bç [290], 70-1300 bç [302], 100-1000 bç [292], 100-1000 bç [291], 260-6000 bç [174] gibi farklı büyüklüklerdeki bant aralıklarında çoğaltım yapıldığı belirtilmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar literatür ile uyumludur ve kullanılan markır büyüklüğünde polimorfizm elde edilebilmiştir. IRAP ve REMAP PCR sonuçlarının ayrılmasında agaroz jel elektroforezinin yeterli olduğu literatür çalışmalarında belirtildiği için [174], [182], [303]; bu çalışmada da çoğaltım ürünlerinin ayrıştırılması için %1'lik agaroz jel elektroforezi denendi. Bu çalışmada tüm primer setlerinin ayrılması için agaroz jel elektroforezi yeterli olduğu için Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE) jel sisteminin kullanılmasına gerek duyulmamıştır. Bu çalışmada elde edilen PCR ürünlerinin boyutu, daha önce yapılan çalışmalar ile karşılaştırıldığında benzerlik göstermektedir. *Taq* polimeraz ve enzim tamponu, gDNA örneklerinin saflığı ve MgCl₂ konsantrasyonu PCR sonuçlarını ve çoğaltım ürünlerinin boyutunu etkilemektedir.

Sonuç olarak; ülkemizdeki biyolojik çeşitliliğin korunması, yerel gen kaynaklarının muhafaza edilmesi, yeni metotlar ve biyoteknolojik yöntemler kullanılarak farklı çevre, iklim ve coğrafik koşullarda daha yüksek ürün potansiyeline sahip yeni çeşitlerin geliştirilmesi için varyete bazında stres ile mücadele mekanizmalarının ve strese dayanıklılıklarının açığa çıkarılması büyük önem arz etmektedir. Bu çalışmada farklı varyetelerin tuza karşı olan toleranslarının birbirlerinden farklılıklar gösterdiğinden buna katkılar sağlayacağı düşünülmektedir. Enerji metabolizmasının iki temel üretim grubu olan glikoliz ve krebs döngüsü safhalarında rol alan genlerin farklı tuz konsantrasyonlarında gösterecekleri anlatım farklılıklarının genomik düzeyde incelenmesi tuzluluğa toleranslı yeni

çeşitler geliştirilmesindeki başarı ihtimalini arttıracak ve çalışmalara ışık tutacağı düşünülmektedir. Elde edilen sonuçların, çeltik ve anlatımı analiz edilen genlerin benzer dizilerine sahip bitkilerde de tuz ile gen anlatımı arasındaki ilişkinin anlaşılmasına katkı sağlaması beklenmektedir.

Bitkilerde abiyotik stres faktörlerine karşı moleküler düzeydeki tepki mekanizmalarından biri de retrotranspozon hareketleridir. Bu nedenle transpozonlar, tür içi çeşitliliğin ortaya çıkmasında anahtar rol oynamaktadır. Bu tez çalışmasında Maraş Sarı çeltik, Kızıltan, Kızıltan mutant ve dhan 47 çeltik varyetelerinde IRAP ve REMAP moleküler markır teknikleri kullanılarak araştırılmıştır. Çeşitler arasındaki polimorfizm oranları, farklı tuz konsantrasyonlarının retrotranspozon hareketlerini artırabileceğini gösterdi. Küresel ısınmanın etkisiyle tuzluluğun ve kuraklığın etkilerinin tüm dünyada daha yaygın olması beklendiğinden, bu çalışmada elde edilen verilerin çeltik bitkilerinde retrotranspozonların işlevleri ve çeltik ıslah çalışmaları için önemli bir referans oluşturabileceği düşünülmektedir.

Günümüzde artan stres faktörlerinin komplike olarak bitkilere etki etmesi yeni sonuçlar doğuracaktır. Oluşan bu değişikliklerde de transpozonların aktif hareketlerine etki edeceği düşünülmektedir. Tüm bu sonuçlar transpozonların hareketlerinin gelecekte dikkatlice analiz edilmesi gereken araçlar olduğunu göstermektedir. Yapılan son çalışmalarda verim ve tohum büyüklüğü üzerinde transpozonların etkisinin olduğunun anlaşılması daha küçük boyuttaki transpozonların da etkilerinin anlaşılmasını gerektirdiği bununda markır sistemlerinin gelişmesine bağlı olarak değişeceği anlaşılmaktadır.

- [1] Gül, U., (2003). Çeltik, Ankara: Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü.
- [2] Kahlon, T.S., (2009). Rice bran: production, composition, functionality and food applications, physiological benefits: CRC Press, Taylor & Francis Group: Boca Raton, FL, USA.
- [3] Özipek, D., (2014). Ülkemizde İşlenen Bazı Çeltik Çeşitlerinin Kalite ve Biyoaktif Özelliklerinin İncelenmesi, ed^eds. Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı. Çanakkale: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi.
- [4] Taşlıgil, N. ve Şahin, G., (2011). "Türkiye'de Çeltik (*Oryza sativa* L.) Yetiştiriciliği ve Coğrafi Dağılımı", Adıyaman Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi, 2011.
- [5] Chang, T.-T. ve Map, U.B., (2002). "Origin, Domestication, and", Rice: Origin, history, technology, and production, 3: 3.
- [6] Sato, Y. Tsuda, K. Yamagata, Y. Matsusaka, H. Kajiya-Kanegae, H. Yoshida, Y. Agata, A. Ta, K.N. Shimizu-Sato, S. ve Suzuki, T., (2021). "Collection, preservation and distribution of *Oryza* genetic resources by the National Bioresource Project RICE (NBRP-RICE)", Breeding science: 21005.
- [7] Ghosh, B. Md, N.A. ve Gantait, S., (2016). "Response of rice under salinity stress: a review update", Rice research: open access: 1-8.
- [8] Akay, H., (2010). Çeltik (*Oryza sativa* L.) Farklı Somatik Eksplantlardan Kallus Oluşumunun ve Bitki Elde Etme Potansiyelinin Belirlenmesi ed^eds. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi. Samsun- Türkiye.: Ondokuz Mayıs Üniversitesi.
- [9] Arvas, Y.E., (2017). Genetiği Değiştirilmiş Bitkiler ve Tanısı: LAP Lambert Academic Publishing.
- [10] IFAD, (2019). An outlook on asia's agricultural and rural transformation. Prospects and options for making it an inclusive and sustainable one, ed^eds. Italy. ISBN 978-92-9072-879-5: International Fund for Agricultural Development (IFAD).
- [11] Özşahin, E., (2008). "Gönen Ovasında Pirinç Tarımı", Fırat Üniversitesi Sosyal Bilimler Dergisi, 18: 49-70.
- [12] Turan, A., (2013). Çimlendirilmiş Esmer Pirinç Keki Üretiminin Biyoaktif Bileşenlere Etkisi, ed^eds. Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı. Ankara: Hacettepe Üniversitesi.
- [13] Sürek, H., (2002). "Çeltik tarımı", Hasat Yayıncılık Limited Şirketi, İstanbul.
- [14] Karakütük, S., (2017). Türkiye'de yetiştirilen kır çeltik çeşitlerinin in vitro koşullarda doku kültürü parametrelerinin ve kuraklığa toleranslarının belirlenmesi ed^eds. Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi. Samsun. Türkiye: Ondokuz Mayıs Üniversitesi.
- [15] Kaya, Y. Kuyumcu, G. Karakütük, S. ve Arvas, Y.E., (2017). "Kır Çeltik Bitkisi".
- [16] Yazici, E., (2020). Durum ve Tahmin PİRİNÇ ed^eds. Ankara.
- [17] Peng, S. Huang, J. Sheehy, J.E. Laza, R.C. Visperas, R.M. Zhong, X. Centeno, G.S. Khush, G.S. ve Cassman, K.G., (2004). "Rice yields decline with higher

- night temperature from global warming", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101: 9971-9975.
- [18] Fahad, S. Adnan, M. Hassan, S. Saud, S. Hussain, S. Wu, C. Wang, D. Hakeem, K.R. Alharby, H.F. ve Turan, V., (2019). Rice responses and tolerance to high temperature, ed. *Advances in rice research for abiotic stress tolerance*. Elsevier, 201-224.
- [19] Reddy, I.N.B.L. Kim, B.-K. Yoon, I.-S. Kim, K.-H. ve Kwon, T.-R., (2017). "Salt tolerance in rice: focus on mechanisms and approaches", *Rice Science*, 24: 123-144.
- [20] Korres, N.E. Varanasi, V.K. Slaton, N.A. Price, A.J. ve Bararpour, T., (2019). Effects of salinity on rice and rice weeds: short-and long-term adaptation strategies and weed management, ed. *Advances in Rice Research for Abiotic Stress Tolerance*. Elsevier, 159-176.
- [21] Dölarslan, M. ve Gül, E., (2012). "Toprak bitki ilişkileri açısından tuzluluk", *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 5: 56-59.
- [22] Rahman, A. Nahar, K. Al Mahmud, J. Hasanuzzaman, M. Hossain, M.S. ve Fujita, M., (2017). "Salt stress tolerance in rice: Emerging role of exogenous phytoprotectants", *Advances in international rice research*: 139-174.
- [23] Rani, C.R. Reema, C. Alka, S. ve Singh, P., (2012). "Salt tolerance of Sorghum bicolor cultivars during germination and seedling growth", *Research Journal of Recent Sciences*, 1: 1-10.
- [24] Kaya, M.D. Day, S. Cikili, Y. ve Arslan, N., (2012). "Classification of some linseed (*Linum usitatissimum* L.) genotypes for salinity tolerance using germination, seedling growth, and ion content", *Chilean journal of agricultural research*, 72: 27.
- [25] Ghazizade, M. Golkar, P. ve Salehinejad, F., (2012). "Effect of salinity stress on germination and seedling characters in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) genotypes", *Annals of Biological Research*, 3: 114-118.
- [26] Cesur, A. ve Tabur, S., (2011). "Chromotoxic effects of exogenous hydrogen peroxide (H_2O_2) in barley seeds exposed to salt stress", *Acta physiologiae plantarum*, 33: 705-709.
- [27] Mohammad, M. Shibli, R. Ajlouni, M. ve Nimri, L., (1998). "Tomato root and shoot responses to salt stress under different levels of phosphorus nutrition", *Journal of plant nutrition*, 21: 1667-1680.
- [28] Reddy, M. ve Iyengar, E., (1999). "Crop responses to salt stress: Seawater application and prospects", *Handbook of Plant and Crop Stress*. Marcel Dekker In. New York: 1041-1068.
- [29] Huang, B., (2006). "Cellular membranes in stress sensing and regulation of plant adaptation to abiotic stresses", *Plant–environment interactions*, 3: 1-26.
- [30] Dassanayake, M. Oh, D.-H. Haas, J.S. Hernandez, A. Hong, H. Ali, S. Yun, D.-J. Bressan, R.A. Zhu, J.-K. ve Bohnert, H.J., (2011). "The genome of the extremophile crucifer *Thellungiella parvula*", *Nature genetics*, 43: 913-918.
- [31] Meriç, S. Ayan, A. ve Atak, Ç., (2020). *Molecular Abiotic Stress Tolerans Strategies: From Genetic Engineering to Genome Editing Era*, ed. *Abiotic Stress in Plants*. IntechOpen.
- [32] Abbasi, F.M. ve Komatsu, S., (2004). "A proteomic approach to analyze salt-responsive proteins in rice leaf sheath", *Proteomics*, 4: 2072-2081.

- [33] Kim, D.W. Rakwal, R. Agrawal, G.K. Jung, Y.H. Shibato, J. Jwa, N.S. Iwahashi, Y. Iwahashi, H. Kim, D.H. ve Shim, I.S., (2005). "A hydroponic rice seedling culture model system for investigating proteome of salt stress in rice leaf", *Electrophoresis*, 26: 4521-4539.
- [34] Yan, S. Tang, Z. Su, W. ve Sun, W., (2005). "Proteomic analysis of salt stress-responsive proteins in rice root", *Proteomics*, 5: 235-244.
- [35] Chitteti, B.R. ve Peng, Z., (2007). "Proteome and phosphoproteome differential expression under salinity stress in rice (*Oryza sativa*) roots", *Journal of Proteome Research*, 6: 1718-1727.
- [36] Razzaq, A. Ali, A. Safdar, L.B. Zafar, M.M. Rui, Y. Shakeel, A. Shaukat, A. Ashraf, M. Gong, W. ve Yuan, Y., (2020). "Salt stress induces physiochemical alterations in rice grain composition and quality", *Journal of food science*, 85: 14-20.
- [37] Koide, Y. Kuniyoshi, D. ve Kishima, Y., (2020). "Fertile tetraploids: new resources for future rice breeding?", *Frontiers in plant science*, 11: 1231.
- [38] Takano-Kai, N. Jiang, H. Kubo, T. Sweeney, M. Matsumoto, T. Kanamori, H. Padhukasahasram, B. Bustamante, C. Yoshimura, A. ve Doi, K., (2009). "Evolutionary history of GS3, a gene conferring grain length in rice", *Genetics*, 182: 1323-1334.
- [39] Silva, F. Stevens, C.J. Weisskopf, A. Castillo, C. Qin, L. Bevan, A. ve Fuller, D.Q., (2015). "Modelling the geographical origin of rice cultivation in Asia using the rice archaeological database", *PloS one*, 10: e0137024.
- [40] Jackson, S.A., (2016). "Rice: the first crop genome", *Rice*, 9: 1-3.
- [41] Wu, D.H. Gealy, D.R. Jia, M.H. Edwards, J.D. Lai, M.H. ve McClung, A.M., (2020). "Phylogenetic origin and dispersal pattern of Taiwan weedy rice", *Pest Management Science*, 76: 1639-1651.
- [42] Raporu, T.C.T.v.O.B., (2020). "Çeltik. Tarım Ürünleri Piyasaları", Available at: <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge/Belgeler/PDF%20Tar%C4%B1m%20%C3%9Cr%C3%BCnleri%20Piyasalar%C4%B1/2020-Temmuz%20Tar%C4%B1m%20%C3%9Cr%C3%BCnleri%20Raporu/%C3%87eltik,%20Temmuz-2020,%20Tar%C4%B1m%20%C3%9Cr%C3%BCnleri%20Piyasa%20Raporu.pdf>. Accessed 23.10.2021.
- [43] Kocaçalışkan, İ., (2017). *Doku ve Hücre Kültürü Teknikleri*, Ankara: Nobel akademik yayıncılık.
- [44] Cardoza, V., (2008). "Tissue culture: The manipulation of plant development", *Plant Biotechnology and Genetics: principles, techniques, and applications*: 113-134.
- [45] Ahloowalia, B. Prakash, J. Savangikar, V. ve Savangikar, C., (2004). *Plant tissue culture, eds. Low cost options for tissue culture technology in developing countries*. Vienna- Austria: International Atomic Energy Agency. ISBN1011-4289
- [46] García-González, R. Quiroz, K. Carrasco, B. ve Caligari, P., (2010). "Plant tissue culture: Current status, opportunities and challenges", *Ciencia e Investigación Agraria*, 37: 5-30.
- [47] Matthews, P.R. Wang, M.-B. Waterhouse, P.M. Thornton, S. Fieg, S.J. Gubler, F. ve Jacobsen, J.V., (2001). "Marker gene elimination from transgenic barley,

- using co-transformation with adjacent twin T-DNAs' on a standard *Agrobacterium* transformation vector", *Molecular Breeding*, 7: 195-202.
- [48] Banu, M.S.A. Ahmed, B. Parveen, S. Rashid, M.H.U. ve Huda, K.M.K., (2021). "Agrobacterium-mediated Genetic Transformation of Rice var. BRR1 Dhan 58", *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, 31: 71-80.
- [49] Ritala, A. Nuutila, A.-M. Aikasalo, R. Kauppinen, V. ve Tammisola, J., (2002). "Measuring gene flow in the cultivation of transgenic barley", *Crop science*, 42: 278-285.
- [50] Elakhdar, A. Fukuda, M. ve Kubo, T., (2021). "Agrobacterium-mediated Transformation of Japonica Rice Using Mature Embryos and Regenerated Transgenic Plants", *Bio-protocol*, 11: e4143-e4143.
- [51] Choi, H. Lemaux, P. ve Cho, M.-J., (2002). "Use of fluorescence in situ hybridization for gross mapping of transgenes and screening for homozygous plants in transgenic barley (*Hordeum vulgare* L.)", *Theoretical and applied genetics*, 106: 92-100.
- [52] Tamzil, M.S. Alfiko, Y. Mubarak, A.F. Purwantomo, S. Suwanto, A. ve Budiarti, S., (2021). "Development of Auxotrophic *Agrobacterium tumefaciens* AGL1 by Tn5 Transposon for Rice (*Oryza sativa* L.) Transformation", *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 26: 641-649.
- [53] Zhu, G. Gu, L. Shi, Y. Chen, H. Liu, Y. Lu, F. Ren, Z. Wang, Y. Lu, H. ve Tabassum, A., (2021). "Plant hydraulic conductivity determines photosynthesis in rice under PEG-induced drought stress", *Pakistan Journal of Botany*, 53.
- [54] Rozen, N. Kasim, M. ve Anwar, A., (2021). "Effects of Seed PEG Immersion And Hydration-Dehydration on Rice Physiological Quality": IOP Publishing.
- [55] Violita, V. ve Azhari, S., (2021). "Effect of PEG-8000 imposed drought stress on rice varieties germination": IOP Publishing.
- [56] Nobre, J. Davey, M. Lazzeri, P. ve Cannell, M., (2000). "Transformation of barley scutellum protoplasts: regeneration of fertile transgenic plants", *Plant cell reports*, 19: 1000-1005.
- [57] Li, L. Dong, M. An, N. Liang, L. Wan, Y. ve Jin, W., (2015). "A novel reference plasmid for the qualitative detection of genetically modified rice in food and feed", *BioMed research international*, 2015.
- [58] Nugroho, S. Slamet-Loedin, I.H. ve Estiati, A., (2021). "Development of yellow stem borer resistant rice varieties in Indonesia", *Genetically Modified Crops in Asia Pacific*: 245.
- [59] Yarra, R. ve Wei, W., (2021). "The NAC-type transcription factor GmNAC20 improves cold, salinity tolerance, and lateral root formation in transgenic rice plants", *Functional & Integrative Genomics*, 21: 473-487.
- [60] Yan, L. Baoxiang, W. Jingfang, L. Zhiguang, S. Ming, C. Yungao, X. Bo, X. Bo, Y. Jian, L. ve Jinbo, L., (2021). "A novel SAPK10-WRKY87-ABF1 biological pathway synergistically enhance abiotic stress tolerance in transgenic rice (*Oryza sativa*)", *Plant Physiology and Biochemistry*.
- [61] Narayanan, S.P. Lung, S.-C. Liao, P. Lo, C. ve Chye, M.-L., (2020). "The overexpression of OsACBP5 protects transgenic rice against necrotrophic, hemibiotrophic and biotrophic pathogens", *Scientific reports*, 10: 1-19.
- [62] Zheng, X. Weng, Z. Li, H. Kong, Z. Zhou, Z. Li, F. Ma, W. Lin, Y. ve Chen, H., (2021). "Transgenic rice overexpressing insect endogenous microRNA csu-

- novel-260 is resistant to striped stem borer under field conditions", *Plant Biotechnology Journal*, 19: 421.
- [63] Chen, J. Liu, X. Liu, S. Fan, X. Zhao, L. Song, M. Fan, X. ve Xu, G., (2020). "Co-overexpression of OsNAR2. 1 and OsNRT2. 3a increased agronomic nitrogen use efficiency in transgenic rice plants", *Frontiers in plant science*, 11: 1245.
- [64] Sahoo, J.P. Samal, K.C. ve Mishra, A.P., (2021). "Provitamin-A Biofortified Golden Rice Approved for Commercial Cultivation in Philippines-A Breakthrough in Fighting Hidden Hunger", *Biotica Research Today*, 3: 648-650.
- [65] Heyser, J. Dykes, T. DeMott, K. ve Nabors, M., (1983). "High frequency, long term regeneration of rice from callus culture", *Plant Science Letters*, 29: 175-182.
- [66] Lambé, P. Mutambel, H.S.N. Fouché, J.-G. Deltour, R. Foidart, J.-M. ve Gaspar, T., (1997). "DNA methylation as a key process in regulation of organogenic totipotency and plant neoplastic progression?", *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 33: 155-162.
- [67] Kaya, Y. ve Karakütük, S., (2018). "Farklı büyüme düzenleyicilerin Türk kır çeltiği rejenerasyonuna etkisi", *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 33: 226-231.
- [68] Kaya, Y. Aksoy, H.M. Edbeib, M.F. Wahab, R.A. Ozyigit, I.I. Hamid, A.A.A. Huyop, F. Mohammed, S. ve Aslan, A., (2020). "Agrobacterium-mediated transformation of Turkish upland rice (*Oryza sativa* L.) for Dalapon herbicide tolerance".
- [69] Özcan, S. Gürel, E. ve Babaoğlu, M., (2001). "Bitki biyoteknolojisi genetik mühendisliği ve uygulamaları", SÜ Basımevi. Konya.
- [70] Elias, M. Laranjo, M. Agulheiro-Santos, A.C. ve Potes, M.E., (2020). "The role of salt on food and human health", *Salt in the Earth*, 19.
- [71] Munns, R. ve Tester, M., (2008). "Mechanisms of salinity tolerance", *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59: 651-681.
- [72] Shrivastava, P. ve Kumar, R., (2015). "Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation", *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22: 123-131.
- [73] Corwin, D.L., (2021). "Climate change impacts on soil salinity in agricultural areas", *European Journal of Soil Science*, 72: 842-862.
- [74] Misle, E. ve Kahlaoui, B., (2021). "Converting classic data of salt tolerance into an allometric crop salinity response function", *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 155: 235-240.
- [75] Grieve, C.M. Grattan, S.R. ve Maas, E.V., (2012). "Plant salt tolerance", *ASCE manual and reports on engineering practice*, 71: 405-459.
- [76] Imran, Q.M. Falak, N. Hussain, A. Mun, B.-G. ve Yun, B.-W., (2021). "Abiotic Stress in Plants; Stress Perception to Molecular Response and Role of Biotechnological Tools in Stress Resistance", *Agronomy*, 11: 1579.
- [77] Acosta-Motos, J.R. Ortuño, M.F. Bernal-Vicente, A. Diaz-Vivancos, P. Sanchez-Blanco, M.J. ve Hernandez, J.A., (2017). "Plant responses to salt stress: adaptive mechanisms", *Agronomy*, 7: 18.
- [78] Tuteja, N., (2007). "Mechanisms of high salinity tolerance in plants", *Methods in enzymology*, 428: 419-438.

- [79] Hu, Y. ve Schmidhalter, U., (2005). "Drought and salinity: a comparison of their effects on mineral nutrition of plants", *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 168: 541-549.
- [80] Xiong, L. ve Zhu, J.K., (2002). "Molecular and genetic aspects of plant responses to osmotic stress", *Plant, Cell & Environment*, 25: 131-139.
- [81] Botella, M.A. Rosado, A. Bressan, R.A. ve Hasegawa, P.M., (2005). "Plant adaptive responses to salinity stress", *Plant abiotic stress*, 21: 38-70.
- [82] Hong, C.-Y. Chao, Y.-Y. Yang, M.-Y. Cheng, S.-Y. Cho, S.-C. ve Kao, C.H., (2009). "NaCl-induced expression of glutathione reductase in roots of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings is mediated through hydrogen peroxide but not abscisic acid", *Plant and Soil*, 320: 103-115.
- [83] Bose, J. Rodrigo-Moreno, A. ve Shabala, S., (2014). "ROS homeostasis in halophytes in the context of salinity stress tolerance", *Journal of Experimental Botany*, 65: 1241-1257.
- [84] Gurmani, A. Bano, A. Khan, S. Din, J. ve Zhang, J., (2011). "Alleviation of salt stress by seed treatment with abscisic acid (ABA), 6-benzylaminopurine (BA) and chlormequat chloride (CCC) optimizes ion and organic matter accumulation and increases yield of rice ('*Oryza sativa*'L.)", *Australian Journal of Crop Science*, 5: 1278-1285.
- [85] Rahman, M.H. Naim, M.A. Matin, M.A. Anee, T.I. Hossain, M.A. ve Hasanuzzaman, M., (2016). "Variations of Growth Parameters in Some Aromatic Rice Varieties under Salt Stress", *Bangladesh Agronomy Journal*, 19: 1-10.
- [86] Flowers, T., (2004). "Improving crop salt tolerance", *Journal of Experimental Botany*, 55: 307-319.
- [87] Flowers, T.J. ve Colmer, T.D., (2008). "Salinity tolerance in halophytes", *New Phytologist*, 179: 945-963.
- [88] Roy, S.J. Negrão, S. ve Tester, M., (2014). "Salt resistant crop plants", *Current opinion in Biotechnology*, 26: 115-124.
- [89] Maischak, H. Zimmermann, M.R. Felle, H.H. Boland, W. ve Mithöfer, A., (2010). "Alamethicin-induced electrical long distance signaling in plants", *Plant signaling & behavior*, 5: 988-990.
- [90] Mittler, R. Vanderauwera, S. Suzuki, N. Miller, G. Tognetti, V.B. Vandepoele, K. Gollery, M. Shulaev, V. ve Van Breusegem, F., (2011). "ROS signaling: the new wave?", *Trends in plant science*, 16: 300-309.
- [91] Tester, M. ve Davenport, R., (2003). "Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants", *Annals of Botany*, 91: 503-527.
- [92] Craig Plett, D. ve Møller, I.S., (2010). "Na⁺ transport in glycophytic plants: what we know and would like to know", *Plant, Cell & Environment*, 33: 612-626.
- [93] Hussain, T.M. Ch, T. Hazara, M. Sultan, Z. Saleh, B.K. ve Gopal, G.R., (2008). "Recent advances in salt stress biology a review", *Biotechnology and Molecular Biology Reviews*, 3: 8-13.
- [94] Parvaiz, A. ve Satyawati, S., (2008). "Salt stress and phyto-biochemical responses of plants-a review", *Plant Soil and Environment*, 54: 89.
- [95] Djilianov, D. Georgieva, T. Moyankova, D. Atanassov, A. Shinozaki, K. Smeeken, S. Verma, D. ve Murata, N., (2005). "Improved abiotic stress

- tolerance in plants by accumulation of osmoprotectants—gene transfer approach", *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 19: 63-71.
- [96] Chen, Z. Cuin, T.A. Zhou, M. Twomey, A. Naidu, B.P. ve Shabala, S., (2007). "Compatible solute accumulation and stress-mitigating effects in barley genotypes contrasting in their salt tolerance", *Journal of Experimental Botany*, 58: 4245-4255.
- [97] Vijayan, K., (2009). "Approaches for enhancing salt tolerance in mulberry (*Morus L*)-A review", *Plant Omics*, 2: 41.
- [98] Parida, A.K. Das, A.B. Mitra, B. ve Mohanty, P., (2004). "Salt-stress induced alterations in protein profile and protease activity in the mangrove *Bruguiera parviflora*", *Zeitschrift für Naturforschung C*, 59: 408-414.
- [99] Abrahám, E. Rigó, G. Székely, G. Nagy, R. Koncz, C. ve Szabados, L., (2003). "Light-dependent induction of proline biosynthesis by abscisic acid and salt stress is inhibited by brassinosteroid in *Arabidopsis*", *Plant molecular biology*, 51: 363-372.
- [100] Altuntaş, C. Demiralay, M. Muslu, A.S. ve Terzi, R., (2020). "Proline-stimulated signaling primarily targets the chlorophyll degradation pathway and photosynthesis associated processes to cope with short-term water deficit in maize", *Photosynthesis research*, 144: 35-48.
- [101] Shakeri, E. Mozafari, A.A. Sohrabi, F. ve Saed-Moucheshi, A., (2019). Role of proline and other osmoregulatory compounds in plant responses to abiotic stresses, ed. *Handbook of Plant and Crop Stress*, Fourth Edition. CRC press, 165-173.
- [102] Kaur, G. ve Asthir, B., (2015). "Proline: a key player in plant abiotic stress tolerance", *Biologia Plantarum*, 59: 609-619.
- [103] Joseph, E. Radhakrishnan, V. ve Mohanan, K., (2015). "A study on the accumulation of proline-an osmoprotectant amino acid under salt stress in some native rice cultivars of North Kerala, India", *Universal Journal of Agricultural Research*, 3: 15-22.
- [104] Demiral, T. ve Türkan, I., (2004). "Does exogenous glycinebetaine affect antioxidative system of rice seedlings under NaCl treatment?", *Journal of plant physiology*, 161: 1089-1100.
- [105] Sakamoto, A. ve Murata, N., (2002). "The role of glycine betaine in the protection of plants from stress: clues from transgenic plants", *Plant, Cell & Environment*, 25: 163-171.
- [106] Atzori, G., (2021). The Potential of Edible Halophytes as New Crops in Saline Agriculture: The Ice Plant (*Mesembryanthemum crystallinum L.*) Case Study, ed. *Future of Sustainable Agriculture in Saline Environments*. CRC Press, 443-460.
- [107] Lee, J.-W. Park, S.-Y. ve Oh, M.-M., (2021). "Supplemental radiation of ultraviolet-A light-emitting diode improves growth, antioxidant phenolics, and sugar alcohols of ice plant", *Horticulture, Environment, and Biotechnology*: 1-12.
- [108] Kim, Y. Kim, I. Shin, S. Park, T. Park, H. Kim, Y. Lee, G. Kang, H. Lee, S. ve Yoon, H., (2014). "Overexpression of dehydroascorbate reductase confers enhanced tolerance to salt stress in rice plants (*Oryza sativa L. japonica*)", *Journal of agronomy and crop science*, 200: 444-456.

- [109] Ames, B.N. Shigenaga, M.K. ve Hagen, T.M., (1993). "Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90: 7915-7922.
- [110] Han, H. Yilmaz, H. ve Gulcin, I., (2018). "Antioxidant activity of flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) shell and analysis of its polyphenol contents by LC-MS/MS".
- [111] Bulut, N. Kocyigit, U.M. Gecibesler, I.H. Dastan, T. Karci, H. Taslimi, P. Durna Dastan, S. Gulcin, I. ve Cetin, A., (2018). "Synthesis of some novel pyridine compounds containing bis-1, 2, 4-triazole/thiosemicarbazide moiety and investigation of their antioxidant properties, carbonic anhydrase, and acetylcholinesterase enzymes inhibition profiles", *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 32: e22006.
- [112] Pietta, P.-G., (2000). "Flavonoids as antioxidants", *Journal of natural products*, 63: 1035-1042.
- [113] Gulcin, İ., (2020). "Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview", *Archives of toxicology*, 94: 651-715.
- [114] Huyut, Z. Beydemir, Ş. ve Gülçin, İ., (2017). "Antioxidant and antiradical properties of selected flavonoids and phenolic compounds", *Biochemistry research international*, 2017.
- [115] Öztaskın, N. Taslimi, P. Maraş, A. Gülçin, İ. ve Göksu, S., (2017). "Novel antioxidant bromophenols with acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase and carbonic anhydrase inhibitory actions", *Bioorganic chemistry*, 74: 104-114.
- [116] Cakmak, K.C. ve Gülçin, İ., (2019). "Anticholinergic and antioxidant activities of usnic acid-An activity-structure insight", *Toxicology reports*, 6: 1273-1280.
- [117] Anraku, M. Gebicki, J.M. Iohara, D. Tomida, H. Uekama, K. Maruyama, T. Hirayama, F. ve Otagiri, M., (2018). "Antioxidant activities of chitosans and its derivatives in in vitro and in vivo studies", *Carbohydrate polymers*, 199: 141-149.
- [118] Sindhi, V. Gupta, V. Sharma, K. Bhatnagar, S. Kumari, R. ve Dhaka, N., (2013). "Potential applications of antioxidants–A review", *Journal of pharmacy research*, 7: 828-835.
- [119] Apak, R.a. Özyürek, M. Güçlü, K. ve Çapanoğlu, E., (2016). "Antioxidant activity/capacity measurement. 1. Classification, physicochemical principles, mechanisms, and electron transfer (ET)-based assays", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64: 997-1027.
- [120] Çakmakçı, S. Topdaş, E.F. Kalın, P. Han, H. Şekerci, P. P. Köse, L. ve Gülçin, İ., (2015). "Antioxidant capacity and functionality of oleaster (*E laeagnus angustifolia* L.) flour and crust in a new kind of fruity ice cream", *International Journal of Food Science & Technology*, 50: 472-481.
- [121] Göçer, H. Akıncioğlu, A. Öztaşkın, N. Göksu, S. ve Gülçin, İ., (2013). "Synthesis, Antioxidant, and Antiacetylcholinesterase Activities of Sulfonamide Derivatives of Dopamine-R elated Compounds", *Archiv der pharmazie*, 346: 783-792.
- [122] Bursal, E. Köksal, E. Gülçin, İ. Bilsel, G. ve Gören, A.C., (2013). "Antioxidant activity and polyphenol content of cherry stem (*Cerasus avium* L.) determined by LC–MS/MS", *Food Research International*, 51: 66-74.

- [123] Taslimi, P. ve Gülçin, İ., (2018). "Antioxidant and anticholinergic properties of olivetol", *Journal of food biochemistry*, 42: e12516.
- [124] Shahidi, F. Janitha, P. ve Wanasundara, P., (1992). "Phenolic antioxidants", *Critical reviews in food science & nutrition*, 32: 67-103.
- [125] Gülçin, İ., (2006). "Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine", *Life sciences*, 78: 803-811.
- [126] Shahidi, F. ve Ambigaipalan, P., (2015). "Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects–A review", *Journal of Functional Foods*, 18: 820-897.
- [127] MacDonald-Wicks, L.K. Wood, L.G. ve Garg, M.L., (2006). "Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro: a review", *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86: 2046-2056.
- [128] Gülçin, İ. Gören, A.C. Taslimi, P. Alwasel, S.H. Kılıç, O. ve Bursal, E., (2020). "Anticholinergic, antidiabetic and antioxidant activities of Anatolian pennyroyal (*Mentha pulegium*)-analysis of its polyphenol contents by LC-MS/MS", *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, 23: 101441.
- [129] Gülçin, İ. Küfrevioğlu, Ö.İ. Oktay, M. ve Büyükokuroğlu, M.E., (2004). "Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.)", *Journal of ethnopharmacology*, 90: 205-215.
- [130] Gülçin, İ.B. Ş ve Hisar, O., (2005). "Effect of α -tocopherol on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)", *Acta Veterinaria Hungarica*, 53: 425-433.
- [131] Gülçin, İ. Berashvili, D. ve Gepdiremen, A., (2005). "Antiradical and antioxidant activity of total anthocyanins from *Perilla pankenensis* decne", *Journal of ethnopharmacology*, 101: 287-293.
- [132] Pratt, D.E. ve Hudson, B.J., (1990). *Natural antioxidants not exploited commercially*, ed. Food antioxidants. Springer, 171-191.
- [133] Diplock, A. Charuleux, J.-L. Crozier-Willi, G. Kok, F. Rice-Evans, C. Roberfroid, M. Stahl, W. ve Vina-Ribes, J., (1998). "Functional food science and defence against reactive oxidative species", *British journal of nutrition*, 80: S77-S112.
- [134] Gill, S.S. ve Tuteja, N., (2010). "Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants", *Plant Physiology and Biochemistry*, 48: 909-930.
- [135] del Río, L.A. Sandalio, L.M. Altomare, D.A. ve Zilinskas, B.A., (2003). "Mitochondrial and peroxisomal manganese superoxide dismutase: differential expression during leaf senescence", *Journal of Experimental Botany*, 54: 923-933.
- [136] del Río, L.A. Sandalio, L.M. Corpas, F.J. Palma, J.M. ve Barroso, J.B., (2006). "Reactive oxygen species and reactive nitrogen species in peroxisomes. Production, scavenging, and role in cell signaling", *Plant Physiology*, 141: 330-335.
- [137] Alscher, R.G. Erturk, N. ve Heath, L.S., (2002). "Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants", *Journal of Experimental Botany*, 53: 1331-1341.
- [138] Ferreira, R.R. Fornazier, R.F. Vitória, A.P. Lea, P.J. ve Azevedo, R.A., (2002). "Changes in antioxidant enzyme activities in soybean under cadmium stress", *Journal of plant nutrition*, 25: 327-342.

- [139] Halliwell, B., (2006). "Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life", *Plant Physiology*, 141: 312-322.
- [140] Lou, H.Q. Gong, Y.L. Fan, W. Xu, J.M. Liu, Y. Cao, M.J. Wang, M.-H. Yang, J.L. ve Zheng, S.J., (2016). "A formate dehydrogenase confers tolerance to aluminum and low pH", *Plant Physiology*, 171: 294-305.
- [141] Hatrongjit, R. ve Packdibamrung, K., (2010). "A novel NADP⁺-dependent formate dehydrogenase from *Burkholderia stabilis* 15516: screening, purification and characterization", *Enzyme and microbial technology*, 46: 557-561.
- [142] Yu, X. Niks, D. Mulchandani, A. ve Hille, R., (2017). "Efficient reduction of CO₂ by the molybdenum-containing formate dehydrogenase from *Cupriavidus necator* (*Ralstonia eutropha*)", *Journal of Biological Chemistry*, 292: 16872-16879.
- [143] Olson, B.J. Skavdahl, M. Ramberg, H. Osterman, J.C. ve Markwell, J., (2000). "Formate dehydrogenase in *Arabidopsis thaliana*: characterization and possible targeting to the chloroplast", *Plant Science*, 159: 205-212.
- [144] Kurt, S. ve Ordu, E., (2021). "Effect of Met/Leu substitutions on the stability of NAD⁺-dependent formate dehydrogenases from *Gossypium hirsutum*", *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105: 2787-2798.
- [145] Kurt-Gür, G. Demirci, H. Sunulu, A. ve Ordu, E., (2018). "Stress response of NAD⁺-dependent formate dehydrogenase in *Gossypium hirsutum* L. grown under copper toxicity", *Environmental Science and Pollution Research*, 25: 31679-31690.
- [146] Gozukirmizi, N., (2018). *Genetik Çeşitlilik (Varyasyon) Analizleri*, G. Temizkan ve Arda, N., ed. *Temel ve İleri Moleküler Biyoloji Yöntemleri Genomik ve Proteomik Analizler*. Ankara-Turkey: Nobelkitap, 459-464.
- [147] Datta, J. ve Lal, N., (2021). "Genetic variability assessment of *Fusarium* wilt pathogen races affecting chickpea using molecular markers", *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2021: 2392-2397.
- [148] Maia, R.T. ve Campos, M.D.A., (2021). *Genetic Variation: BoD-Books on Demand*.
- [149] Shimizu, T. Kacar, Y.A. Cristofani-Yaly, M. Curtolo, M. ve Machado, M.A., (2020). *Markers, Maps, and Marker-Assisted Selection*, ed. *The Citrus Genome*. Springer, 107-139.
- [150] McCouch, S. ve Tanksley, S., (1991). "Development and use of restriction fragment length polymorphism in rice breeding and genetics", *Rice biotechnology*, 6.
- [151] Henry, R.J., (2013). *Evolution of DNA Marker Technology in Plants*, R.J. Henry, ed. *Molecular markers in plants*. Wiley-Blackwell Publication, 3-20.
- [152] Prentis, P.J. Gilding, E.K. Pavasovic, A. Frere, C.H. ve Godwin, I.D., (2013). *Molecular markers in plant improvement: John Wiley & Sons*.
- [153] Ismail, A. Mosa, K.A. Ali, M.A. ve Helmy, M., (2020). "Biochemical and Molecular Markers: Unraveling Their Potential Role in Screening Germplasm for Thermotolerance", *Heat Stress Tolerance in Plants: Physiological, Molecular and Genetic Perspectives*: 47-76.
- [154] Nadeem, M.A. Nawaz, M.A. Shahid, M.Q. Doğan, Y. Comertpay, G. Yıldız, M. Hatipoğlu, R. Ahmad, F. Alsaleh, A. ve Labhane, N., (2018). "DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in

- genomic selection and genome editing", *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 32: 261-285.
- [155] Bohar, R. Chitkineni, A. ve Varshney, R.K., (2020). Genetic molecular markers to accelerate genetic gains in crops, eds.: Future Science.
- [156] Kocaman, B. Sevim, T. ve Marakli, S., (2020). "Application of different molecular markers in biotechnology", *International Journal of Science Letters*, 2: 98-113.
- [157] Singh, A. ve Sengar, R., (2015). "DNA fingerprinting based decoding of indica rice (*Oryza sativa* L) via molecular marker (SSR, ISSR, & RAPD) in aerobic condition", *Adv Crop Sci Tech*, 3: 2.
- [158] Das, G. ve Rao, G., (2015). "Molecular marker assisted gene stacking for biotic and abiotic stress resistance genes in an elite rice cultivar", *Frontiers in plant science*, 6: 698.
- [159] McClintock, B., (1950). "The origin and behavior of mutable loci in maize", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 36: 344-355.
- [160] Finnegan, D.J. Rubin, G.M. Young, M.W. ve Hogness, D.S., (1978). "Repeated gene families in *Drosophila melanogaster*": Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- [161] Cameron, J.R. Loh, E.Y. ve Davis, R.W., (1979). "Evidence for transposition of dispersed repetitive DNA families in yeast", *Cell*, 16: 739-751.
- [162] Barnes, M.A. ve Turner, C.R., (2016). "The ecology of environmental DNA and implications for conservation genetics", *Conservation Genetics*, 17: 1-17.
- [163] Arvas, Y. Abed, M. Zaki, Q. Kocaçalışkan, İ. ve Haji, E., (2021). "The Potential Role of Transposable Elements as Molecular Markers": IOP Publishing.
- [164] Daboussi, M.-J. ve Capy, P., (2003). "Transposable elements in filamentous fungi", *Annual Reviews in Microbiology*, 57: 275-299.
- [165] Baucom, R.S. Estill, J.C. Chaparro, C. Upshaw, N. Jogi, A. Deragon, J.-M. Westerman, R.P. SanMiguel, P.J. ve Bennetzen, J.L., (2009). "Exceptional diversity, non-random distribution, and rapid evolution of retroelements in the B73 maize genome", *PLoS Genet*, 5: e1000732.
- [166] Lander, E.S. Linton, L.M. Birren, B. Nusbaum, C. Zody, M.C. Baldwin, J. Devon, K. Dewar, K. Doyle, M. ve FitzHugh, W., (2001). "Initial sequencing and analysis of the human genome", *Nature*, 409 860-921.
- [167] Carpentier, M.-C. Manfroi, E. Wei, F.-J. Wu, H.-P. Lasserre, E. Llauro, C. Debladis, E. Akakpo, R. Hsing, Y.-I. ve Panaud, O., (2019). "Retrotranspositional landscape of Asian rice revealed by 3000 genomes", *Nature communications*, 10: 24.
- [168] Demirkiran, A. Marakli, S. Temel, A. ve Gozukirmizi, N., (2013). "Genetic and epigenetic effects of salinity on in vitro growth of barley", *Genetics and molecular biology*, 36: 566-570.
- [169] Kidwell, M.G. ve Lisch, D.R., (2000). "Transposable elements and host genome evolution", *Trends in ecology & evolution*, 15: 95-99.
- [170] Deininger, P.L. ve Batzer, M.A., (2002). "Mammalian retroelements", *Genome research*, 12: 1455-1465.
- [171] Cordaux, R. ve Batzer, M.A., (2009). "The impact of retrotransposons on human genome evolution", *Nature Reviews Genetics*, 10: 691-703.
- [172] Feschotte, C. ve Pritham, E.J., (2007). "DNA transposons and the evolution of eukaryotic genomes", *Annu. Rev. Genet.*, 41: 331-368.

- [173] Wicker, T. Sabot, F. Hua-Van, A. Bennetzen, J.L. Capy, P. Chalhoub, B. Flavell, A. Leroy, P. Morgante, M. ve Panaud, O., (2007). "A unified classification system for eukaryotic transposable elements", *Nature Reviews Genetics*, 8: 973-982.
- [174] Tufan, A.F. Ibisoglu, M.S. Yilmaz, S. ve Gozukirmizi, N., (2020). "Investigation of rice (*Oryza sativa* L.) retrotransposons in different taxa", *Genetic resources and crop evolution*: 1-7.
- [175] Kalendar, R. Amenov, A. ve Daniyarov, A., (2018). "Use of retrotransposon-derived genetic markers to analyse genomic variability in plants", *Functional Plant Biology*, 46: 15-29.
- [176] Akakpo, R. Carpentier, M.c. Hsing, Y.I. ve Panaud, O., (2020). "The impact of transposable elements on the structure, evolution and function of the rice genome", *New Phytologist*.
- [177] Flavell, A.J. Knox, M.R. Pearce, S.R. ve Ellis, T.N., (1998). "Retrotransposon-based insertion polymorphisms (RBIP) for high throughput marker analysis", *The Plant Journal*, 16: 643-650.
- [178] Branco, C.J. Vieira, E.A. Malone, G. Kopp, M.M. Malone, E. Bernardes, A. Mistura, C.C. Carvalho, F.I. ve Oliveira, C.A., (2007). "IRAP and REMAP assessments of genetic similarity in rice", *Journal of Applied Genetics*, 48: 107-113.
- [179] Cakmak, B. Marakli, S. ve Gozukirmizi, N., (2015). "SIRE1 retrotransposons in barley (*Hordeum vulgare* L.)", *Russian journal of genetics*, 51: 661-672.
- [180] Kalendar, R. Muterko, A. ve Boronnikova, S., (2021). *Retrotransposable elements: DNA fingerprinting and the assessment of genetic diversity*, ed. Molecular Plant Taxonomy. Springer, 263-286.
- [181] Kalendar, R. Grob, T. Regina, M. Suoniemi, A. ve Schulman, A., (1999). "IRAP and REMAP: two new retrotransposon-based DNA fingerprinting techniques", *Theoretical and applied genetics*, 98: 704-711.
- [182] Kalendar, R. ve Schulman, A.H., (2006). "IRAP and REMAP for retrotransposon-based genotyping and fingerprinting", *Nature Protocols*, 1: 2478.
- [183] Paux, E. Faure, S. Choulet, F. Roger, D. Gauthier, V. Martinant, J.P. Sourdille, P. Balfourier, F. Le Paslier, M.C. ve Chauveau, A., (2010). "Insertion site-based polymorphism markers open new perspectives for genome saturation and marker-assisted selection in wheat", *Plant Biotechnology Journal*, 8: 196-210.
- [184] Voytas, D.F. Cummings, M.P. Koniczny, A. Ausubel, F.M. ve Rodermel, S.R., (1992). "Copia-like retrotransposons are ubiquitous among plants", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89: 7124-7128.
- [185] Bennetzen, J.L., (2000). "Transposable element contributions to plant gene and genome evolution", *Plant molecular biology*, 42: 251-269.
- [186] McCarthy, E.M. Liu, J. Lizhi, G. ve McDonald, J.F., (2002). "Long terminal repeat retrotransposons of *Oryza sativa*", *Genome biology*, 3: research0053. 0051.
- [187] Suoniemi, A. Tanskanen, J. ve Schulman, A.H., (1998). "Gypsy-like retrotransposons are widespread in the plant kingdom", *The Plant Journal*, 13: 699-705.

- [188] Manninen, O. Kalendar, R. Robinson, J. ve Schulman, A., (2000). "Application of BARE-1 retrotransposon markers to the mapping of a major *resistance gene for net blotch in barley*", *Molecular and General Genetics MGG*, 264: 325-334.
- [189] Baumel, A. Ainouche, M. Kalendar, R. ve Schulman, A.H., (2002). "Retrotransposons and genomic stability in populations of the young allopolyploid species *Spartina anglica* CE Hubbard (Poaceae)", *Molecular Biology and Evolution*, 19: 1218-1227.
- [190] Natali, L. Giordani, T. Buti, M. ve Cavallini, A., (2007). "Isolation of Ty1-Copia putative LTR sequences and their use as a tool to analyse genetic diversity in *Olea europaea*", *Molecular Breeding*, 19: 255-265.
- [191] Kalendar, R., (2011). "The use of retrotransposon-based molecular markers to analyze genetic diversity", *Ratarstvo i povrtarstvo*, 48: 261-274.
- [192] Doungous, O. Kalendar, R. Filippova, N. ve Ngane, B.K., (2020). "Utility of iPBS retrotransposons markers for molecular characterization of African *Gnetum* species", *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 154: 587-592.
- [193] Badr, A. El-Sherif, N. Aly, S. Ibrahim, S.D. ve Ibrahim, M., (2020). "Genetic Diversity among Selected *Medicago sativa* Cultivars Using Inter-Retrotransposon-Amplified Polymorphism, Chloroplast DNA Barcodes and Morpho-Agronomic Trait Analyses", *Plants*, 9: 995.
- [194] Saika, H. Mori, A. Endo, M. ve Toki, S., (2019). "Targeted deletion of rice retrotransposon Tos17 via CRISPR/Cas9", *Plant cell reports*, 38: 455-458.
- [195] Guner, B.C. ve Gozukirmizi, N., (2018). "Origin and distribution of different retrotransposons in different taxa", *Genetics & Applications*, 2: 13-19.
- [196] Antonius-Klemola, K. Kalendar, R. ve Schulman, A.H., (2006). "TRIM retrotransposons occur in apple and are polymorphic between varieties but not sports", *Theoretical and applied genetics*, 112: 999-1008.
- [197] Turhan, S. Taspinar, M.S. Yigider, E. Aydin, M. ve Agar, G., (2021). "The Role of Long Terminal Repeat (LTR) Responses to Drought In Selenium-Treated Wheat", *Environmental Engineering & Management Journal (EEMJ)*, 20: 917-925.
- [198] Ogasawara, M. Miyazaki, N. Monden, G. Taniko, K. Lim, S. Iwata, M. Ishii, T. Ma, J.F. ve Ishikawa, R., (2021). "Role of qGZn9a in controlling grain zinc concentration in rice, *Oryza sativa* L", *Theoretical and applied genetics*: 1-10.
- [199] Hasan, N. Choudhary, S. Naaz, N. Sharma, N. ve Laskar, R.A., (2021). "Recent advancements in molecular marker-assisted selection and applications in plant breeding programmes", *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19: 1-26.
- [200] Mosleh, M.K. Hassan, Q.K. ve Chowdhury, E.H., (2015). "Application of remote sensors in mapping rice area and forecasting its production: A review", *Sensors*, 15: 769-791.
- [201] Project, R.G.A., (2014). Available at: <http://rice.uga.edu/> [Erişim Tarihi: 24.10.2021].

- [202] Kawahara, Y. de la Bastide, M. Hamilton, J.P. Kanamori, H. McCombie, W.R. Ouyang, S. Schwartz, D.C. Tanaka, T. Wu, J. ve Zhou, S., (2013). "Improvement of the *Oryza sativa* Nipponbare reference genome using next generation sequence and optical map data", *Rice*, 6: 1-10.
- [203] McCarthy, E.M. ve McDonald, J.F., (2003). "LTR_STRUC: a novel search and identification program for LTR retrotransposons", *Bioinformatics*, 19: 362-367.
- [204] Hirochika, H. Sugimoto, K. Otsuki, Y. Tsugawa, H. ve Kanda, M., (1996). "Retrotransposons of rice involved in mutations induced by tissue culture", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93: 7783-7788.
- [205] Komatsu, M. Shimamoto, K. ve Kyojuka, J., (2003). "Two-step regulation and continuous retrotransposition of the rice LINE-type retrotransposon Karma", *The Plant Cell*, 15: 1934-1944.
- [206] Moon, S. Jung, K.-H. Lee, D.-e. Jiang, W.-Z. Koh, H.J. Heu, M.-H. Lee, D.S. Suh, H.S. ve An, G., (2006). "Identification of active transposon dTok, a member of the hAT family, in rice", *Plant and cell physiology*, 47: 1473-1483.
- [207] Tsugane, K. Maekawa, M. Takagi, K. Takahara, H. Qian, Q. Eun, C.H. ve Iida, S., (2006). "An active DNA transposon nDart causing leaf variegation and mutable dwarfism and its related elements in rice", *The Plant Journal*, 45: 46-57.
- [208] Jiang, N. Bao, Z. Zhang, X. Hirochika, H. Eddy, S.R. McCouch, S.R. ve Wessler, S.R., (2003). "An active DNA transposon family in rice", *Nature*, 421: 163-167.
- [209] Vitte, C. Panaud, O. ve Quesneville, H., (2007). "LTR retrotransposons in rice (*Oryza sativa*, L.): recent burst amplifications followed by rapid DNA loss", *BMC genomics*, 8: 218.
- [210] Pan, Y. Wu, L.J. ve Yu, Z.L., (2006). "Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch)", *Plant Growth Regulation*, 49: 157-165.
- [211] Bradford, M.M., (1976). "A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding", *Analytical biochemistry*, 72: 248-254.
- [212] Cakmak, I. ve Marschner, H., (1992). "Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, and glutathione reductase in bean leaves", *Plant Physiology*, 98: 1222-1227.
- [213] Cho, Y.-W. Park, E.-H. ve Lim, C.-J., (2000). "Catalase, glutathione S-transferase and thioltransferase respond differently to oxidative stress in *Schizosaccharomyces pombe*", *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 33: 344-348.
- [214] Livak, K.J. ve Schmittgen, T.D., (2001). "Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta CT$ method", *methods*, 25: 402-408.

- [215] Kidwell, K.K. ve Osborn, T.C., (1992). Simple plant DNA isolation procedures, ed. *Plant genomes: methods for genetic and physical mapping*. Springer, 1-13.
- [216] Yuzbasioglu, G. Marakli, S. ve Gözükmizi, N., (2017). "Screening of *Oryza sativa* L. for Hpt Gene and Evaluation of Hpt Positive Samples Using Houba Retransposon-Based IRAP Markers", *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 4: 59-64.
- [217] Jaccard, P., (1908). "Nouvelles recherches sur la distribution florale", *Bull. Soc. Vaud. Sci. Nat.*, 44: 223-270.
- [218] Ardıc, M. Sekmen, A. Tokur, S. Ozdemir, F. ve Turkan, I., (2009). "Antioxidant responses of chickpea plants subjected to boron toxicity", *Plant Biology*, 11: 328-338.
- [219] Mostofa, M.G. Hossain, M.A. Fujita, M. ve Tran, L.-S.P., (2015). "Physiological and biochemical mechanisms associated with trehalose-induced copper-stress tolerance in rice", *Scientific reports*, 5: 1-16.
- [220] Chunthaburee, S. Dongsansuk, A. Sanitchon, J. Pattanagul, W. ve 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: 467-477.
- [221] Ramesh, R. Ramesh, T. Rao, P. Shankar, V. ve Bhawe, M., (2017). "High Temperature Stress Effected the Biochemical Parameters of Rice (*Oryza sativa* L.) Varieties and Hybrids", *Int. J. Pure App. Biosci*, 5: 1478-1490.
- [222] Monsur, M.B. Ivy, N.A. Haque, M.M. Hasanuzzaman, M. El Sabagh, A. ve Rohman, M.M., (2020). "Oxidative Stress Tolerance Mechanism in Rice under Salinity", *Phyton*, 89: 497.
- [223] Hariadi, Y.C. Nurhayati, A.Y. Soeparjono, S. ve Arif, I., (2015). "Screening six varieties of rice (*Oryzasativa*) for salinity tolerance", *Procedia Environmental Sciences*, 28: 78-87.
- [224] Ologundudu, A.F. Adelusi, A.A. ve Akinwale, R.O., (2014). "Effect of Salt Stress on Germination and Growth Parameters of Rice (*Oryza sativa* L.)", *Notulae Scientia Biologicae*, 6.
- [225] Kong-Ngern, K. Daduang, S. Wongkham, C. Bunnag, S. Kosittrakun, M. ve Theerakulpisut, P., (2005). "Protein profiles in response to salt stress in leaf sheaths of rice seedlings", *Science Asia*, 31: 403-408.
- [226] Amirjani, M.R., (2010). "Effect of NaCl on some physiological parameters of rice", *European Journal of Biological Sciences*, 3: 6-16.
- [227] Dubey, R., (1999). "Protein synthesis by plants under stressful conditions", *Handbook of plant and crop stress*, 2: 365-397.
- [228] Sharma, P. ve Dubey, R., (2019). Protein synthesis by plants under stressful conditions, ed. *Handbook of Plant and Crop Stress, Fourth Edition*. CRC Press, 405-449.

- [229] Kumar, V. Shriram, V. Nikam, T. Jawali, N. ve Shitole, M.G., (2009). "Antioxidant enzyme activities and protein profiling under salt stress in indica rice genotypes differing in salt tolerance", *Archives of Agronomy and Soil Science*, 55: 379-394.
- [230] Kızıldaş, H. Gören, A.C. Bingöl, Z. Alwasel, S.H. ve Gülçin, İ., (2021). "Anticholinergic, Antidiabetic and Antioxidant Activities of *Ferula orientalis* L. Determination of Its Polyphenol Contents by LC-HRMS".
- [231] Sharma, P.K. Raghubanshi, A.S. ve Shah, K., (2021). "Examining the uptake and bioaccumulation of molybdenum nanoparticles and their effect on antioxidant activities in growing rice seedlings", *Environmental Science and Pollution Research*, 28: 13439-13453.
- [232] Zhang, D. Duan, X. Wang, Y. Shang, B. Liu, H. Sun, H. ve Wang, Y., (2021). "A comparative investigation on physicochemical properties, chemical composition, and in vitro antioxidant activities of rice bran oils from different japonica rice (*Oryza sativa* L.) varieties", *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15: 2064-2077.
- [233] Hunsakul, K. Laokuldilok, T. Prinyawiwatkul, W. ve Utama-ang, N., (2021). "Effects of thermal processing on antioxidant activities, amino acid composition and protein molecular weight distributions of jasmine rice bran protein hydrolysate", *International Journal of Food Science & Technology*.
- [234] Arora, A. Sairam, R. ve Srivastava, G., (2002). "Oxidative stress and antioxidative system in plants", *Current Science*: 1227-1238.
- [235] Motohashi, T. Nagamiya, K. Prodhan, S.H. Nakao, K. Shishido, T. Yamamoto, Y. Moriwaki, T. Hattori, E. Asada, M. ve Morishima, H., (2007). "Production of salt stress tolerant rice by overexpression of the catalase gene, *katE*, derived from *Escherichia coli*".
- [236] Guan, Q. Takano, T. ve Liu, S., (2012). "Genetic transformation and analysis of rice *OsAPx2* gene in *Medicago sativa*", *PloS one*, 7: e41233.
- [237] Ayan, A., (2019). *Inducing Salt Tolerance in Rice (*Oryza sativa* L.) Varieties by Gamma Radiation*, eds. İstanbul- Turkey: İstanbul University.
- [238] Yu, X. Yang, T. Qi, Q. Du, Y. Shi, J. Liu, X. Liu, Y. Zhang, H. Zhang, Z. ve Yan, N., (2021). "Comparison of the contents of phenolic compounds including flavonoids and antioxidant activity of rice (*Oryza sativa*) and Chinese wild rice (*Zizania latifolia*)", *Food Chemistry*, 344: 128600.
- [239] Nugraheni, M. Purwanti, S. ve Ekawatiningsih, P., (2021). "Bioactive compound content and antioxidant activities of analog rice enriched with the germinated of white corn (*zea mays*) and the germinated of mung bean (*vigna radiata*)": IOP Publishing.
- [240] Ali, L.G. Nulit, R. Ibrahim, M.H. ve Yien, C.Y.S., (2021). "Efficacy of KNO₃, SiO₂ and SA priming for improving emergence, seedling growth and antioxidant enzymes of rice (*Oryza sativa*), under drought", *Scientific reports*, 11: 1-11.
- [241] Mishra, R.K. Mishra, G. Singh, R. Parihar, P. Kumar, J. Srivastava, P.K. ve Prasad, S.M., (2021). "Managing arsenic (V) toxicity by phosphate supplementation in rice seedlings: modulations in AsA-GSH cycle and other antioxidant enzymes", *Environmental Science and Pollution Research*: 1-12.

- [242] Mishra, P. Bhoomika, K. ve Dubey, R., (2013). "Differential responses of antioxidative defense system to prolonged salinity stress in salt-tolerant and salt-sensitive Indica rice (*Oryza sativa* L.) seedlings", *Protoplasma*, 250: 3-19.
- [243] Xiong, D. Luo, B. Liu, C. Zhou, T. Wang, F. Luo, Y. Wu, C. Li, W. Hartley, W. ve Rao, L., (2021). "Development and Optimization of Rabbit Polyclonal Antibodies for Cu/ZnSOD detection in Rice (*Oryza sativa* L.)".
- [244] Jalali, P. Navabpour, S. Yamchi, A. Soltanloo, H. ve Bagherikia, S., (2019). "Differential responses of antioxidant system and expression profile of some genes of two rice genotypes in response to salinity stress", *Biologia*: 1-9.
- [245] Zafar, S.A. Hameed, A. Ashraf, M. Khan, A.S. Li, X. ve Siddique, K.H., (2020). "Agronomic, physiological and molecular characterisation of rice mutants revealed the key role of reactive oxygen species and catalase in high-temperature stress tolerance", *Functional Plant Biology*, 47: 440-453.
- [246] Sharma, I. ve Ahmad, P., (2014). *Catalase: a versatile antioxidant in plants*, ed. Oxidative damage to plants. Elsevier, 131-148.
- [247] Yaghubi, M. Nematzadeh, G. Pirdashti, H. Modarresi, M. ve Motaghian, A., (2014). "The effects of salinity on antioxidant enzymes activity in the leaves of two contrast rice (*Oryza sativa* L.) cultivars", *International Journal of Biosciences*, 4: 116-125.
- [248] Sushmita, S. Priyanka, D. Mamata, R. ve Surendra Chandra, S., (2010). "Osmolyte modulated enhanced rice leaf catalase activity under salt-stress", *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 2010.
- [249] Ramachandran, M. Arulbalachandran, D. Dilipan, E. ve Ramya, S., (2021). "Comparative analysis of abscisic acid recovery on two varieties of rice (*Oryza sativa* L.) under drought condition", *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, 33: 102006.
- [250] Jalali, P. Navabpour, S. Yamchi, A. Soltanloo, H. ve Bagherikia, S., (2020). "Differential responses of antioxidant system and expression profile of some genes of two rice genotypes in response to salinity stress", *Biologia*, 75: 785-793.
- [251] Khan, S. Basit, A. Hafeez, M.B. Irshad, S. Bashir, S. Bashir, S. Maqbool, M.M. Saddiq, M.S. Hasnain, Z. ve Aljuaid, B.S., (2021). "Moringa leaf extract improves biochemical attributes, yield and grain quality of rice (*Oryza sativa* L.) under drought stress", *PloS one*, 16: e0254452.
- [252] Farinelli, M.P. Fry, D.W. ve Richardson, K.E., (1983). "Isolation, purification, and partial characterization of formate dehydrogenase from soybean seed", *Plant Physiology*, 73: 858-859.
- [253] David, P. des Fracs-Small, C.C. Sévignac, M. Thareau, V. Macadré, C. Langin, T. ve Geffroy, V., (2010). "Three highly similar formate dehydrogenase genes located in the vicinity of the B4 resistance gene cluster are differentially expressed under biotic and abiotic stresses in *Phaseolus vulgaris*", *Theoretical and applied genetics*, 121: 87-103.
- [254] Shiraishi, T. Fukusaki, E.-I. ve Kobayashi, A., (2000). "Formate dehydrogenase in rice plant: growth stimulation effect of formate in rice plant", *Journal of bioscience and bioengineering*, 89: 241-246.
- [255] Sadykhov, E. Serov, A. Voinova, N. Uglanova, S. Petrov, A. Alekseeva, A. Kleimenov, S.Y. Popov, V. ve Tishkov, V., (2006). "A comparative study of

- the thermal stability of formate dehydrogenases from microorganisms and plants", *Applied Biochemistry and Microbiology*, 42: 236-240.
- [256] Kargov, I. Kleimenov, S. Savin, S. Tishkov, V. ve Alekseeva, A., (2015). "Improvement of the soy formate dehydrogenase properties by rational design", *Protein Engineering, Design and Selection*, 28: 171-178.
- [257] Alekseeva, A.A. Serenko, A.A. Kargov, I.S. Savin, S.S. Kleymenov, S.Y. ve Tishkov, V.I., (2012). "Engineering catalytic properties and thermal stability of plant formate dehydrogenase by single-point mutations", *Protein Engineering, Design & Selection*, 25: 781-788.
- [258] Kurt-Gür, G. ve Ordu, E., (2018). "Characterization of a novel thermotolerant NAD⁺-dependent formate dehydrogenase from hot climate plant cotton (*Gossypium hirsutum* L.)", *3 Biotech*, 8: 1-11.
- [259] Koc, A. Gasch, A.P. Rutherford, J.C. Kim, H.-Y. ve Gladyshev, V.N., (2004). "Methionine sulfoxide reductase regulation of yeast lifespan reveals reactive oxygen species-dependent and-independent components of aging", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101: 7999-8004.
- [260] Sreekumar, P.G. Hinton, D.R. ve Kannan, R., (2011). "Methionine sulfoxide reductase A: Structure, function and role in ocular pathology", *World journal of biological chemistry*, 2: 184.
- [261] Kryukov, G.V. Kumar, R.A. Koc, A. Sun, Z. ve Gladyshev, V.N., (2002). "Selenoprotein R is a zinc-containing stereo-specific methionine sulfoxide reductase", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99: 4245-4250.
- [262] Xiao, T. Mi, M. Wang, C. Qian, M. Chen, Y. Zheng, L. Zhang, H. Hu, Z. Shen, Z. ve Xia, Y., (2018). "A methionine-R-sulfoxide reductase, OsMSRB5, is required for rice defense against copper toxicity", *Environmental and Experimental Botany*, 153: 45-53.
- [263] Mary, J. Vouquier, S. Picot, C.R. Perichon, M. Petropoulos, I. ve Friguet, B., (2004). "Enzymatic reactions involved in the repair of oxidized proteins", *Experimental gerontology*, 39: 1117-1123.
- [264] Siddiqui, Z.S. Oh, S.-D. Kim, E.-J. Jang, Y.-J. Lee, S.-K. Yun, D.-W. Kwon, T.-R. Wajid, D. Ansari, H.H. ve Park, S.-C., (2021). "Physiological and photochemical evaluation of pepper methionine sulfoxide reductase B2 (CaMSrB2) expressing transgenic rice in saline habitat", *Plant Physiology and Biochemistry*, 167: 198-209.
- [265] Guo, X. Wu, Y. Wang, Y. Chen, Y. ve Chu, C., (2009). "OsMSRA4. 1 and OsMSRB1. 1, two rice plastidial methionine sulfoxide reductases, are involved in abiotic stress responses", *Planta*, 230: 227-238.
- [266] Zhu, J. Ding, P. Li, Q. Gao, Y. Chen, F. ve Xia, G., (2015). "Molecular characterization and expression profile of methionine sulfoxide reductase gene family in maize (*Zea mays*) under abiotic stresses", *Gene*, 562: 159-168.
- [267] Bechtold, U. Murphy, D.J. ve Mullineaux, P.M., (2004). "Arabidopsis peptide methionine sulfoxide reductase2 prevents cellular oxidative damage in long nights", *The Plant Cell*, 16: 908-919.
- [268] Romero, H.M. Berlett, B.S. Jensen, P.J. Pell, E.J. ve Tien, M., (2004). "Investigations into the role of the plastidial peptide methionine sulfoxide reductase in response to oxidative stress in Arabidopsis", *Plant Physiology*, 136: 3784-3794.

- [269] Ding, P. Gao, Y. Zhu, J. Chen, F. ve Xia, G., (2016). "Wheat methionine sulfoxide reductase genes and their response to abiotic stress", *Molecular Breeding*, 36: 1-12.
- [270] Ding, P. Fang, L. Wang, G. Li, X. Huang, S. Gao, Y. Zhu, J. Xiao, L. Tong, J. ve Chen, F., (2019). "Wheat methionine sulfoxide reductase A4. 1 interacts with heme oxygenase 1 to enhance seedling tolerance to salinity or drought stress", *Plant molecular biology*, 101: 203-220.
- [271] Taiz, L. ve Zeiger, E., (2010). "Responses and adaptations to abiotic stress", *Plant Physiology*, Fifth Edition. Sunderland, MA: Sinauer Associates, Inc: 755-778.
- [272] Hanif, S. Saleem, M.F. Sarwar, M. Irshad, M. Shakoor, A. Wahid, M.A. ve Khan, H.Z., (2021). "Biochemically triggered heat and drought stress tolerance in rice by proline application", *Journal of Plant Growth Regulation*, 40: 305-312.
- [273] Nguyen, H.T.T. Das Bhowmik, S. Long, H. Cheng, Y. Mundree, S. ve Hoang, L.T.M., (2021). "Rapid Accumulation of Proline Enhances Salinity Tolerance in Australian Wild Rice *Oryza australiensis* Domin", *Plants*, 10: 2044.
- [274] Mattioli, R. Falasca, G. Sabatini, S. Altamura, M.M. Costantino, P. ve Trovato, M., (2009). "The proline biosynthetic genes P5CS1 and P5CS2 play overlapping roles in *Arabidopsis* flower transition but not in embryo development", *Physiologia plantarum*, 137: 72-85.
- [275] Kamrava, S. Babaeian Jelodar, N. ve Bagheri, N., (2021). "The effect of salinity stress on the amount of proline, chlorophyll and sodium and potassium ions in different rice cultivars in hydroponic environment", *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 14: 805-821.
- [276] Kishor, P.K. Sangam, S. Amrutha, R. Laxmi, P.S. Naidu, K. Rao, K.S. Rao, S. Reddy, K. Theriappan, P. ve Sreenivasulu, N., (2005). "Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance", *Current Science*: 424-438.
- [277] Kant, S. Kant, P. Raveh, E. ve Barak, S., (2006). "Evidence that differential gene expression between the halophyte, *Thellungiella halophila*, and *Arabidopsis thaliana* is responsible for higher levels of the compatible osmolyte proline and tight control of Na⁺ uptake in *T. halophila*", *Plant, Cell & Environment*, 29: 1220-1234.
- [278] Strizhov, N. Ábrahám, E. Ökrész, L. Blickling, S. Zilberstein, A. Schell, J. Koncz, C. ve Szabados, L., (1997). "Differential expression of two P5CS genes controlling proline accumulation during salt-stress requires ABA and is regulated by ABA1, ABI1 and AXR2 in *Arabidopsis*", *The Plant Journal*, 12: 557-569.
- [279] Ginzberg, I. Stein, H. Kapulnik, Y. Szabados, L. Strizhov, N. Schell, J. Koncz, C. ve Zilberstein, A., (1998). "Isolation and characterization of two different cDNAs of Δ 1-pyrroline-5-carboxylate synthase in alfalfa, transcriptionally induced upon salt stress", *Plant molecular biology*, 38: 755-764.
- [280] Fujita, T. Maggio, A. Garcia-Rios, M. Bressan, R.A. ve Csonka, L.N., (1998). "Comparative analysis of the regulation of expression and structures of two evolutionarily divergent genes for Δ 1-pyrroline-5-carboxylate synthetase from tomato", *Plant Physiology*, 118: 661-674.

- [281] Armengaud, P. Thiery, L. Buhot, N. Grenier-de March, G. ve Savouré, A., (2004). "Transcriptional regulation of proline biosynthesis in *Medicago truncatula* reveals developmental and environmental specific features", *Physiologia plantarum*, 120: 442-450.
- [282] Hien, D.T. Jacobs, M. Angenon, G. Hermans, C. Thu, T.T. ve Roosens, N.H., (2003). "Proline accumulation and $\Delta 1$ -pyrroline-5-carboxylate synthetase gene properties in three rice cultivars differing in salinity and drought tolerance", *Plant Science*, 165: 1059-1068.
- [283] Hur, J. Jung, K.-H. Lee, C.-H. ve An, G., (2004). "Stress-inducible *OsP5CS2* gene is essential for salt and cold tolerance in rice", *Plant Science*, 167: 417-426.
- [284] Fariduddin, Q. Khalil, R.R. Mir, B.A. Yusuf, M. ve Ahmad, A., (2013). "24-Epibrassinolide regulates photosynthesis, antioxidant enzyme activities and proline content of *Cucumis sativus* under salt and/or copper stress", *Environmental monitoring and assessment*, 185: 7845-7856.
- [285] Somboonwatthanaku, I. Dorling, S. Leung, S. ve McManus, M., (2010). "Proline biosynthetic gene expression in tissue cultures of rice (*Oryza sativa* L.) in response to saline treatment", *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 103: 369-376.
- [286] Novoselskaya-Dragovich, A.Y. Fisenko, A.V. Konovalov, F.A. Mitrofanova, O.P. Shishkina, A.A. ve Kudryavtsev, A.M., (2018). "Analysis of genetic diversity and evolutionary relationships among hexaploid wheats *Triticum* L. using LTR-retrotransposon-based molecular markers", *Genetic resources and crop evolution*, 65: 187-198.
- [287] Taheri, M.T. Alavi-Kia, S.S. Mohammadi, S.A. ve Vahed, M.M., (2018). "Assessment of genetic diversity and relationships among *Triticum urartu* and *Triticum boeoticum* populations from Iran using IRAP and REMAP markers", *Genetic resources and crop evolution*, 65: 1867-1878.
- [288] Yilmaz, S. Marakli, S. Yuzbasioglu, G. ve Gozukirmizi, N., (2018). "Short-term mutagenicity test by using IRAP molecular marker in rice grown under herbicide treatment", *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 32: 923-928.
- [289] Lee, S.-I. Kim, J.-H. Park, K.-C. ve Kim, N.-S., (2015). "LTR-retrotransposons and inter-retrotransposon amplified polymorphism (IRAP) analysis in *Lilium* species", *Genetica*, 143: 343-352.
- [290] Carvalho, A. Guedes-Pinto, H. Martins-Lopes, P. ve Lima-Brito, J., (2010). "Genetic variability of Old Portuguese bread wheat cultivars assayed by IRAP and REMAP markers", *Annals of Applied Biology*, 156: 337-345.
- [291] Yetgin, Ö., (2019). *Bor Stresi Altinda Yetistirilen Çeltik ve Türk Kir Çeltiği Bitkilerinde Retrotranspozon Analizleri*, ed^eds. Samsun: Samsun Ondokuz Mayıs University.
- [292] Yuzbasioglu, G. Yilmaz, S. Marakli, S. ve Gozukirmizi, N., (2016). "Analysis of *Hopi/Osr27* and *Houba/Tos5/Osr13* retrotransposons in rice", *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 30: 213-218.
- [293] Yuzbasioglu, G. Yilmaz, S. ve Gözükmizi, N., (2016). "Houba retrotransposon-based molecular markers: a tool for variation analysis in rice", *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 40: 456-464.

- [294] Aydin, M. Arslan, E. Agar, G. ve Taspinar, M.S., (2021). "Overexpression of Some Stress Tolerance Genes Confers Enhanced Pesticide Tolerance in 5-Aminolevulinic Acid Treated Bean Seedlings".
- [295] Yigider, E. Taspinar, M.S. Aydin, M. ve Agar, G., (2021). "Humic acid effects on retrotransposon polymorphisms caused by zinc and iron in the maize (*Zea mays* L.) genome", *Cereal Research Communications*, 49: 193-198.
- [296] Noormohammadi, Z. Torabizadeh, E. Farahani, F. Alishah, O. ve Sheidai, M., (2020). "Genetic and physiological analysis of cotton cultivars under salt stress", *Genetika*, 52: 751-764.
- [297] Nair, A.S. Teo, C.H. Schwarzacher, T. ve Harrison, P.H., (2005). "Genome classification of banana cultivars from South India using IRAP markers", *Euphytica*, 144: 285-290.
- [298] Leigh, F. Kalendar, R. Lea, V. Lee, D. Donini, P. ve Schulman, A., (2003). "Comparison of the utility of barley retrotransposon families for genetic analysis by molecular marker techniques", *Molecular genetics and genomics*, 269: 464-474.
- [299] Muhammad, A.J. ve Othman, F.Y., (2005). "Characterization of *Fusarium* wilt-resistant and *Fusarium* wilt-susceptible somaclones of banana cultivar Rastali (*Musa* AAB) by random amplified polymorphic DNA and retrotransposon markers", *Plant Molecular Biology Reporter*, 23: 241-249.
- [300] Pereira, H.S. Barão, A. Delgado, M. Morais-Cecílio, L. ve Viegas, W., (2005). "Genomic analysis of grapevine retrotransposon 1 (Gret1) in *Vitis vinifera*", *Theoretical and applied genetics*, 111: 871-878.
- [301] Saeidi, H. Rahiminejad, M.R. ve Heslop-Harrison, J., (2008). "Retroelement insertional polymorphisms, diversity and phylogeography within diploid, D-genome *Aegilops tauschii* (Triticeae, Poaceae) sub-taxa in Iran", *Annals of Botany*, 101: 855-861.
- [302] Evrensel, C. Yilmaz, S. Temel, A. ve Gozukirmizi, N., (2011). "Variations in BARE-1 insertion patterns in barley callus cultures", *Genet Mol Res*, 10: 980-987.
- [303] Temel, A. Kartal, G. ve Gozukirmizi, N., (2008). "Genetic and epigenetic variations in barley calli cultures", *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 22: 911-914.

Bildiriler

1. Yunus Emre Arvas, Mohamed Abed, Q. A. Zaki, İsmail Kocaçalışkan, Esmael Kelil Haji, The Potential Role of Transposable Elements as Molecular Markers. International Collaborative Conference of Modern Agricultural Technologies. (ICCMAT2021) 24-25 March, 2021. Erbil – Iraq. Bu bildiri "IOP Conference Series: Earth and Environmental Science" tam metin olarak yayınlanmıştır.

doi:10.1088/1755-1315/761/1/012031

Makaleler

1. Yunus Emre Arvas, İsmail Kocaçalışkan, Emel Ordu, Semiha Erişen. "Comparative retrotransposon analysis of mutant and non-mutant rice varieties grown at different salt concentrations". Biotechnology & Biotechnological Equipment (SCI kapsamında uluslararası dergi). doi: <http://dx.doi.org/10.1080/13102818.2022.2043777>

2. Yunus Emre Arvas, İsmail Kocaçalışkan, Semiha Erişen, Emel Ordu. ""Comparison of salinity stress response of mutant and native Rice (Oryza sativa L.) varieties on the scope of formate dehydrogenase and Methionine sulfoxide reductase". Biologia (Hakem değerlendirmesinde)