

T.C.
İSTANBUL KÜLTÜR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

ÇELTİKTE TUZ TOLERANS GEN EKSPRESYONLARININ
İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Atila SALMAN

1202060002

Anabilim Dalı: Moleküler Biyoloji ve Genetik

Programı: Moleküler Biyoloji ve Genetik

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Alp AYAN

NİSAN 2022

T.C.
İSTANBUL KÜLTÜR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

ÇELTİKTE TUZ TOLERANS GEN EKSPRESYONLARININ
İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Atila SALMAN
1202060002

Anabilim Dalı: Moleküler Biyoloji ve Genetik
Programı: Moleküler Biyoloji ve Genetik

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Alp AYAN

Jüri Üyeleri: Prof. Dr. Çimen ATAK

Dr. Öğr. Üyesi Orkun YAYCILI (İstanbul Üniversitesi)

NİSAN 2022

ÖNSÖZ

Lisans ve yüksek lisans eğitim süresi boyunca bilgisinden faydalandığım, desteğini esirgemeyen ve bana yardımcı olan değerli hocam ve dekanımız Sayın Prof. Dr. Çimen ATAĞ'a

Yüksek lisans tezimin konu tespiti, tasarımı ve hazırlanmasında engin bilgileri ve tecrübeleri ile bana yardımcı olan tez danışmanlarım Sayın Prof. Dr. Özge ÇELİK ve Sayın Dr. Öğretim Üyesi Alp AYAN'a

Tezimi yazarken bitkilerin yetiştirilmesinde ve laboratuvar çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Sayın Arş. Gör. Dr. Sinan MERİÇ'e ve Arş. Gör. Tamer GÜMÜŞ'e

Tezimin deney aşamasında, benden hiçbir yardımı esirgemeyen, cesaretlendiren, özveri ve yardımseverliği ile her zaman yanımda olan Bengisu YILMAZ, Atahan YILMAZ, Adem Onur KOLAYLI ve Doğan ÇEVİK'e

Hayatım boyunca her zaman yanımda olan, sevgi, destek ve güvenleriyle beni yüreklendiren anneme, babama ve tüm aileme sevgilerimi ve teşekkürlerimi sunarım.

Nisan 2022

Atilla SALMAN

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Çeltik (<i>Oryza sativa</i> L.)	5
2.2. Çeltik Yetiştiriciliğinde İklim ve Toprak Özellikleri	7
2.2.1. İklimsel Özellikler.....	7
2.2.2. Toprak Özellikleri.....	8
2.3 Türkiye Çeltik Verileri	8
2.4. Abiyotik - Biyotik Stres Faktörleri	9
2.5. Tuzluluk Stresi	11
2.6. Topraktaki Tuzluluğun Çeşitleri Ve Nedenleri	13
2.7 Tuz Stresinin Bitkiler Üzerinde Etkisi	14
2.8. Tuz Stresinin Fotosentez Üzerine Etkisi	16
2.9 Bitkilerde Tuz Toleransı	16
2.10 Tuz Stresine Cevap Olarak Biriken Bileşikler Ve Toleranstaki Fonksiyonları	17
2.11. Osmolitler	18
2.12. İyon Taşınması	19
2.13 Çeltikte Tuz Stresi İle Bağlantılı Genler	19
2.13.1 OsTPS1.....	19
2.13.2 OsNHX1.....	21

2.13.3 OsHKT2;1.....	22
2.13.4 OsSOS1.....	23
3. MATERYAL - METOD.....	25
3.1 Bitki Materyali.....	25
3.2 Biyokimyasal Analizler.....	25
3.2.1 Lipid Peroksidasyon Tayini.....	25
3.2.2 Prolin Miktarı Analizi.....	26
3.2.3 Fotosentetik Pigment Fluoresans Ölçümleri	26
3.3 RNA izolasyonu.....	27
3.4 cDNA sentezi.....	27
3.5 Gradient PCR.....	28
3.6 Kantitatif Real-time PCR Analizi (qRT - PCR).....	29
3.7 İstatistiksel Analizler.....	29
4. BULGULAR.....	30
4.1 Bitki Büyüme Parametreleri.....	30
4.1.2 Biyokimyasal Analizler.....	33
4.1.2.1 Fotosentetik Pigment Miktarı Tayini	33
4.1.2.2 Prolin Miktarı Tayini.....	34
4.1.2.3 TBARS Miktarı Tayini.....	35
4.2 Hedef Genlerin Gen İfadesi Analiz Grafikleri.....	36

5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	40
6. KAYNAKÇA.....	45

KISALTMALAR

ACE: Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim

ATP: Adenozin Trifosfat

cDNA: Komplementer Deoksiribo Nükleik Asit

DNA: Deoksiribo Nükleik Asit

FAO: Gıda Ve Tarım Örgütü

Glc6P: Glukoz 6 - Fosfat

mRNA: Mesajcı Ribonükleik Asit

PCR: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

qRT-PCR: Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu

pH: Hidrojen Gücü

RNA: Ribonükleik Asit

ROS: Reaktif Oksijen Türleri

SOS: Salt Overly Sensitive

TPS: Trehaloz - 6 - Fosfat Sentaz

TPP: Trehaloz - 6 - Fosfat Fosfataz

UDPG: UDP Glukoz

UV - A: Ultraviyole - A

UV - B: Ultraviyole - B

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1 Türkiye Pirinç Verileri.....	9
Tablo 2.2 Bitkilerde Tuz Toleransında Rol Alan Bileşikler Ve Görevleri.....	18
Tablo 3.1 cDNA PCR Çoğaltımı Reaksiyon Protokolü.....	27
Tablo 3.2 İlgili genlere ait primer dizileri.....	28
Tablo 3.3 Gradient PCR Protokolü.....	28
Tablo 3.4 Real Time PCR Protokolü.....	29

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1 Çeltik Çiçeği Yapısı.....	6
Şekil 2.2 Çeltik Tohum Yapısı.....	6
Şekil 2.3 Bitkilerin Abiyotik Strese Karşı Olan Cevap Mekanizmaları	10
Şekil 2.4 Tuz Stresi Ve Bitki Biyokimyasal Aktiviteleri.....	12
Şekil 2.5 Tuz Stresi Altındaki Bitkilerde İki Fazlı Etki Modeli	15
Şekil 2.6 Trehaloz Biyosentezi Ve Karbonhidrat Mekanizmasındaki Rolü.....	20
Şekil 2.7 Tuz Stresi Altında Çeltikte SOS Sinyal Yolağı.....	24
Şekil 4.1 Değişen Tuzluluk Stresinin Bitki Kök Uzunlukları Üzerindeki Etkisi.....	30
Şekil 4.2 Değişen Tuzluluk Stresinin Bitki Ağırılıkları Üzerindeki Etkisi.....	31
Şekil 4.3 Değişen Tuzluluk Stresinin Bitki Uzunlukları Üzerindeki Etkisi.....	32
Şekil 4.4 Artan Tuzluluk Stresinin, Osmancık - 97 Çeltik Çeşidi Üzerindeki Pigment Konsantrasyonlarına Etkisi.....	33
Şekil 4.5 Osmancık - 97 Çeşidinde, Artan Tuzluluk Stresi İle Prolin Konsantrasyonları Arasındaki Değişimler.....	34
Şekil 4.6 Osmancık - 97 Çeşidinde, Artan Tuzluluk Stresinin TBARS Konsantrasyonlarına Etkisi.....	35
Şekil 4.7 Osmancık - 97 Çeşidinde, Artan Tuzluluk Oranlarındaki <i>OsTPSI</i> Gen Anlatım Seviyeleri.....	36

Şekil 4.8 Osmancık - 97 Çeşidinde, Artan Tuzluluk Oranlarındaki <i>OsNHX1</i> Gen Anlatım Seviyeleri.....	37
Şekil 4.9 Osmancık - 97 Çeşidinde, Artan Tuzluluk Oranlarındaki <i>OsHKT2;1</i> Gen Anlatım Seviyeleri.....	38
Şekil 4.10 Osmancık - 97 Çeşidinde, Artan Tuzluluk Oranlarındaki <i>OsSOS1</i> Gen Anlatım Seviyeleri.....	39

SEMBOL LİSTESİ

%: Yüzde değeri

Ca: Kalsiyum

CaO: Kalsiyum Oksit

Cl⁻: Klorür

CO₂: Karbondioksit

CO₃⁻²: Karbonat

Cu: Çinko

dS/m: DesiSiemens / metre

Fe: Demir

H⁺: Hidrojen İyonu

H₂O: Su

H₂O₂: Hidrojen Peroksit

HCO₃⁻: Bikarbonat

K:Potasyum

Kg/da: Kilogram / dekar

K₂O: Potasyum Oksit

m³: Metreküp

M: Molar

mg: Miligram

mL: Mililitre

mM: Milimolar

µg: Mikrogram

µL: Mikrolitre

nm: Nanometre

Mg: Magnezyum

MgO: Magnezyum Oksit

Mn: Mangan

N: Azot

Na: Sodyum

Na⁺: Sodyum İyonu

NaCl: Sodyum Klorür

NaClO: Sodyum Hipoklorit

NO₃⁻: Nitrat

O₂: Oksijen

OH⁻: Hidroksit

P: Fosfor

P₂O₅: Fosfor pentoksit

SO₄⁻²: Sülfat

Zn: Bakır

Üniversite	:	T.C. İstanbul Kültür Üniversitesi
Enstitü	:	Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Dalı	:	Moleküler Biyoloji ve Genetik
Programı	:	Moleküler Biyoloji ve Genetik
Tez Danışmanı	:	Dr. Öğretim Üyesi Alp Ayan
Tez Türü ve Tarihi	:	Yüksek Lisans - Nisan 2022

KISA ÖZET

ÇELTİKTE TUZ TOLERANS GEN EKSPRESYONLARININ İNCELENMESİ

Atilla Salman

Çeltik, dünya üretim sıralamasında, mısırdan sonra gelen, tüketim oranı en yüksek bitkilerden biridir. Üretim süresince maruz kaldığı çeşitli biyotik ve abiyotik stres faktörleri sonucunda normal gelişim şartlarından uzaklaşıp, veriminde düşüşler yaşanabilmektedir.

Bitkiler biyotik ve abiyotik stres faktörlerine maruz kaldıklarında, kendi varlıklarını idame ettirebilmek için, moleküler düzeyde hayatta kalma mekanizmaları geliştirmişlerdir. Gen anlatımında yapılan değişiklikler, bu hayatta kalma yöntemlerinden birisidir. Osmancık - 97 çeşidi ile çalışılmış ve 60 mM, 90 mM, 120 mM NaCl ve kontrol olmak üzere bitkiler dört farklı koşulda *in vivo* ortamda yetiştirilmiştir. Hasat edilen bitkilerden, ilgili gen bölgelerindeki anlatım farklılıklarının tespiti için mRNA izolasyonu yapılmış ve cDNA çevrilmiştir. SYBR Green metodu ile Real-Time PCR analizi yapılmıştır.

T.C. İstanbul Kültür Üniversitesi Bitki Biyoteknolojisi Laboratuvarı'nda gerçekleştirilen bu tezde, ülkemizde yoğun şekilde ekimi yapılan Osmancık - 97 çeltik çeşidi kullanılmıştır. Bu türe *in vivo* ortamda uygulanan çeşitli tuz miktarlarıyla, ilgili gen bölgelerinde meydana gelen anlatım farklılıklarının gösterilmesi amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Tuz Stresi, Abiyotik Stres, qRT-PCR, mRNA, Çeltik, *OsTPS1*, *OsNHX1*, *OsHKT2;1*, *OsSOS1*

University : **T.C. Istanbul Kültür University**
Institute : **Institute Of Graduate Studies**
Department : **Molecular Biology And Genetics**
Programme : **Molecular Biology And Genetics**
Supervisor : **Asst. Prof. Dr. Alp Ayan**
Degree Awarded and Date : **MA - April 2022**

ABSTRACT

INVESTIGATION OF SALINITY TOLERANCE GENE EXPRESSION IN RICE

Atilla Salman

Rice is the second most produced but the first most consumed plant in the world. Rice yield alters normal growth rates when it is subjected to various biotic and abiotic stress factors during growth stages. Plants evolved numerous molecular survival mechanisms against biotic and abiotic stress factors in order to maintain their durability. Gene expression alterations is one of these molecular mechanisms.

In this present study, Osmancık - 97 rice variety was subjected to four different salinity conditions as 0, 60, 90 and 120 mM in in vivo conditions. mRNA of harvested plants were translated to cDNA and gene salinity tolerance related gene expression were evaluated through qRT-PCR method.

In this thesis study which was conducted in T.C. Istanbul Kültür University Plant Biotechnology Laboratories, we evaluated Osmancık - 97 rice variety. It was aimed to determine expression profiles of salinity tolerance related genes.

Keywords: Salt Stress, Abiotic Stress, qRT-PCR, mRNA, Rice, *OsTPS1*, *OsNHX1*, *OsHKT2;1*, *OsSOS1*

1. GİRİŞ

Çeltik buğdaygillerden, *Oryzae* ailesinin *Oryza* cinsine ait olan bir bitkidir. Bu cinsin, 2 tane kültürü yapılan, 20 tane de yabani çeşidi vardır. Güney Amerika, Avustralya, Asya ve Afrika'dan yayılan yabani türlerin yanısıra, kültüre alınmış türlerden *Oryzae glaberrima* Afrika'da sınırlı iken, *Oryzae sativa* ise dünyanın yaklaşık 112 ülkesinde yetiştirilen en yaygın çeşittir [1, 2]. Çeltik (*Oryza sativa* L.), kültüre alınmış en eski bitkilerden olup, ilk defa Çin ve Hindistan'da tarımı yapılmaya başlanmıştır [3]. İnsanlar tarafından yaklaşık 5000 yıldır tüketilen çeltik bitkisi, dünyada üretim ve ekimi payı açısından mısırdan sonra ikinci sırada yer alan, monokotil bir bitkidir [2-5]. M.Ö. 3000'li yıllardan beri yetiştirildiği bilinen çeltik bitkisiyle Avrupa, Ortaçağ döneminde tanışmıştır. Sonrasında Kuzey Afrika'ya, ardından da İspanya ve Fransa'ya yayılan çeltik, Hollandalılar ve İngilizler tarafından Amerika'ya taşınmıştır [6]. Anadolu'nun çeltik ile tanışması ise 500 yıl önce, Mısır toprakları üzerinden olduğu ve tarımının ilk defa Kastamonu'nun Tosya ilçesinde gerçekleştiği düşünülmektedir [4].

Çeltik, su içinde, yükselti olarak deniz seviyesi altı, eş yükseklik ve 2500 m irtifaya kadar olan çok çeşitli ve değişken coğrafi arazilerde yetişebilen, suda çözünmüş oksijeni kullanabilen tek tahıl bitkisidir [3]. Sıcaklık değişimlerine ve gün uzunluğuna karşı hassas olan çeltik bitkisi, tek yıllık kültür bitkisi olup, 45° Kuzey ve 35° Güney paralelleri arasında yetiştirilebilmektedir [7]. Çeltik üretiminde, kilogram başına 3000-5000 kg su gerekmekte olup bu suyun %80'i tatlı sudan oluşmaktadır [8].

FAO (Food and Agriculture organization of the United Nations) 2018 verilerine göre, çeltik üretiminin dünyaki yıllık piyasa payı ortalama, 996.1 milyon ton olarak belirlenmiştir. İlk sırada yer alan Çin'de 426.2, ikinci sırada yer alan Hindistan'da 172.6, üçüncü sırada yer alan Endonezya'da ise 83 milyon ton üretim gerçekleşmiştir. Türkiye'de ise 2018 yılı itibariyle, 940 bin ton üretim gerçekleşmiş ve bu değer ülkemizi dünyada 38. sıraya yerleştirmiştir [9].

Çeltiğin, ülkemizde artan nüfusun beslenmesindeki payı yüksek olmasına rağmen, ekim alanları tüm tahıl ekim alanlarına kıyasla sadece % 0.80, dünyadaki karşılığı ise % 0.11'dir [10]. Türkiye'deki kişi başına düşen yıllık pirinç tüketimi yıllara göre 1964'de 3.2 kg, 1970'te 4.4 kg, 2010-2011'de 6.5 kg, 2013 yılında ise 8.3 kg'a yükselmiştir. Üretim açısından bakıldığında ise, 1920'li yıllarda 100000 dekardan az toprak alanındaki verim, 30000 - 40000 ton arasında iken, 1934'te 72154, 1935' te 100000 tonun üzerine çıkmıştır. Ekim alanlarına kısıtlama getiren Çeltik Kanunun 1936 yılında devreye girmesiyle birlikte, üretim 40000-50000 tona düşmüş, 1940 - 1942 dönemi haricinde 60000 ton sınırını aşamamıştır [3, 11]. Doksanlı yıllarda üretim 225 bin tonda iken, 2014 yılındaki üretim 830 bin tona ulaşmıştır [12].

Türkiye, gerek iklim gerekse toprak yapısı bakımından çeltik üretimine oldukça elverişlidir. Bölgesel olarak Doğu - Batı Marmara, Batı Karadeniz, Güneydoğu Anadolu bölgeleri, il bazında ise Balıkesir, Çanakkale, Çorum, Edirne ve Samsun üretim kapasitesi en yüksek yerlerdir [3]. Bölgesel çeltik üretim dağılımı ise Marmara Bölgesi %70, Karadeniz Bölgesi %25, diğer bölgeler ise %5' lik paya sahiptir [13].

Çeltik, hasat edildikten sonra sağladığı birçok yan ürün açısından da kullanıma sahiptir. Bunlar, hasat sürecinde çeltik samanı, hasat sonrasında fabrikalarda işlem gördükten sonra ise pirinç kepeği, kabuğu, yağı, unu ve kırık taneler olarak değerlendirilmektedir. Ortalama 100 kg çeltikten 90 - 110 kg saman [14], 50 - 60 kg pirinç, 18 - 20 kg kabuk, 10 - 13 kg kepek, 10 - 12 kg kırık pirinç ve 3 - 5 kg un elde edilmektedir [15].

Çeltik, sahip olduğu A, E, B1 ve B2 vitaminleri, karbonhidrat, protein, kalsiyum, fosfor, sodyum, magnezyum, çinko gibi zengin mineral içeriğinden ve düşük üretim maliyetlerinden dolayı başta Asya olmak üzere dünyada birçok kıtada yüzyıllardır tarımı yapılmış temel besin kaynaklarının başında yer almıştır [16].

FAO'nun 2015 yılı verilerine göre, 1990'da dünya nüfusu içerisinde yetersiz beslenme oranı % 18,6'ı iken (1,01 milyar insan), 2015'te % 10,9'a (794,6 milyon insan) gerilediği tespit edilmiştir. Bu araştırmanın yapıldığı süre boyunca, gelişmiş ülkelerdeki beslenme alışkanlıkları değişmezken, esas değişimin gelişmemiş ve gelişmekte olan ülkelerde yaşandığı, 1990 yılından 2015 yılına kadar yetersiz beslenme oranının %23.3'den %12.9'a gerilediği görülmüştür. Dünya karasal alanları toplamının (13.4 milyar hektar), %11'inde (1.5 milyar hektar) tarımsal faaliyetler yapılabilmektedir. Bu faaliyet alanları, tarım yapılabilecek verimli arazilerin sadece %36'sına karşılık gelmektedir [17]. Dünya'da besin ihtiyacının %80'i tahıl grubu bitkilerinden karşılanmaktadır. Bu grupta yer alan çeltik, dünya nüfusunun %50'sinin temel besin kaynaklarından olup, sıcak iklim şartlarında yetişen bir bitkidir. Kişi başına düşen günlük enerji ihtiyacının dörtte biri çeltik ile karşılanmakta olup, dünya nüfusunun günümüzde hızla artması halinde, 2030 yılına kadar bu temel besin maddesinin ekim yapılan alanlarının %50 oranında arttırılması gerekecektir [8].

Dünyamızda her geçen gün artan nüfus, iklimsel ve çevresel problemler, yoğun sanayi faaliyetleri, tarımdaki ürün verimliliğini doğrudan olumsuz yönde etkileyen tuzluluk, don, kuraklık ve sıcaklık artışı gibi abiyotik stres faktörlerinin bitkiler üzerindeki olumsuz etkilerini arttırmakta ve yaşamsal fonksiyonlarını bozmaktadır [18, 19]. Bu nedenle tarımsal üretimin arttırılması, dünya nüfusunun kaliteli beslenebilmesi için çok önemli bir faktördür. Bu amaca yönelik uygulanabilecek ilk yöntem üretim alanlarının arttırılması, ikinci yöntem ise birim alandan alınan verimin arttırılmasıdır. Kültürü yapılan bitkinin genotipi ve ekolojik faktörler, birim alandan alınan verimi etkileyen birincil faktörlerdir.

Bitkiler için en önemli abiyotik streslerden biri olan tuzluluk, hücre içi iyon dengesini bozar ve bitkinin optimum düzeyde su almasını engeller [20]. Ortaya çıkan stres sonucu bitkilerde, enerji, karbonhidrat ve lipid metabolizmalarında gerilemeler ve bozulmalar, fotosentetik faaliyetlerde ve protein sentezi mekanizmalarında aksamalar ve yaprak yapısında bozulmalar görülebilir.

Bu durum bitkinin verim kaybetmesine yol açar. Stres miktarı artar ve bitki üzerinde etkisini uzun süre devam ettirir ise bitki kaybına sebep olur [21]. Yıllık yağışın 300 mm' nin altında olduğu yerlerde, yüksek sıcaklıktan kaynaklı aşırı buharlaşmanın olduğu veya kontrolsüz sulama yapılan tarımsal arazilerde tuzluluk stresi görülebilmektedir. Yanlış drenaj uygulamaları, K^{+2} ve Na^{+} gibi iyonların, bitkilerin kök bölgesinde yoğunluğunun artmasına sebep olur. Bu durum, verim düşüşüyle sonuçlanabilmektedir [22].

Önümüzdeki dönemlerde, verimin arttırılmasında gübre, pestisit ve herbisit kullanımından daha çok, yetiştirilecek ürünlerin genetik yapılarının ıslahı ve kullanılan girdilerin bilinçli yapılması önem kazanacaktır [23].

2. GENEL BİLGİLER

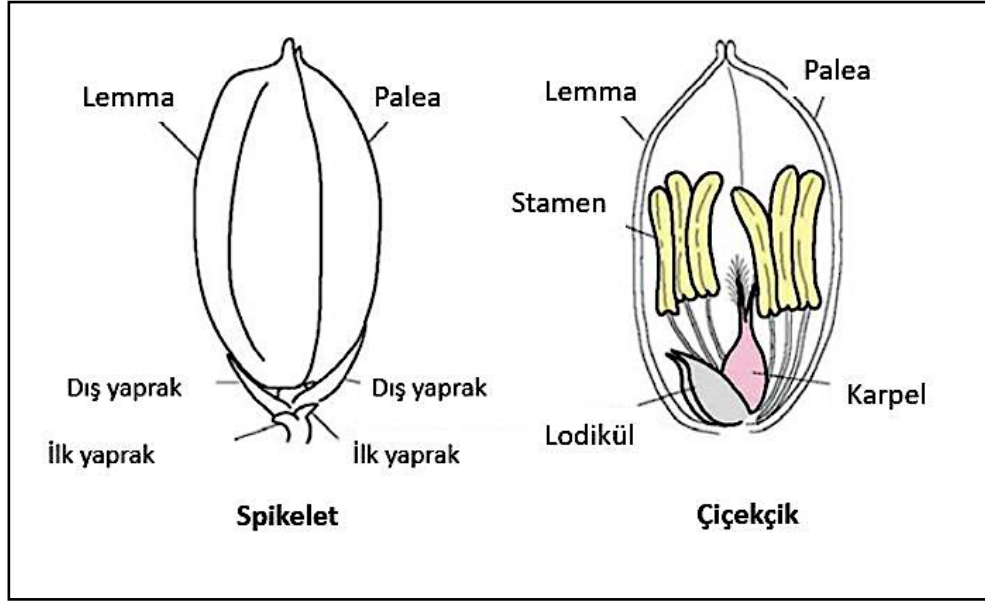
2.1 Çeltik (*Oryza sativa* L.)

Dünya'nın en temel besin ürünleri arasında yer alan çeltik (*Oryza sativa* L.) *Poaceae* ailesine ait olup mısır, buğday ve arpa ile aynı ailenin üyesidir. Yarı kurak topraklarda yetismeye uygun olan çeltik, su altında, ılıman iklim koşullarında yetiştirilmektedir. Aynı aileye mensup olan bitkilere oranla çeltik, çevresel faktörlere daha iyi adapte olabilen bir bitkidir [24]. 22 alt türü bulunan çeltik bitkisi, tek yıllık, kendi kendine döllen, diploid halde 24 kromozomlu bir bitkidir [25]. Genom büyüklüğü 430 Mb olan çeltik bitkisi, genomu ilk dizilenen bitkilerdendir. [26].

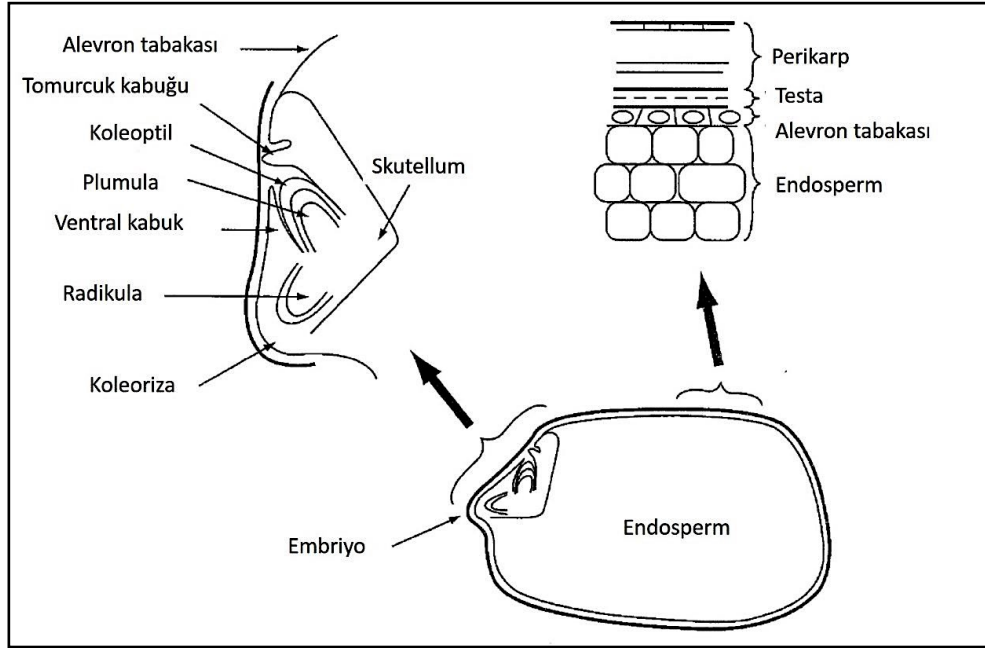
Petal içermeyen çeltik çiçekleri (spikelet), altı stamen ve tek karpelden oluşur. Dışarıda ikişer adet asimetrik kavuz (palea - lemma) ve lodikül bulunan bitkide (Şekil 2.1), çeltik embriyosu (skutellum), endospermi barındıran tek bir kotiledona sahiptir.

Çimlenme esnasında embriyoya enerji sağlayan bu doku, yapısında karbonhidrat içerir. Embriyo geliş esnasında, plumula koleoptil tarafından, radikula koleoriza tarafından muhafaza edilmektedir (Şekil 2.2). Çeltiğin vejetatif olgunlaşma süresi ortalama 180 gündür [27].

Çeltik, yüksek karbonhidrat içeriği, vitamin D, tiamin, riboflavin, niasin vitaminlerini, demir ve kalsiyum başta olmak üzere birçok minerali ve lifleri barındıran, içinde gluten, sodyum, yağ ve kolesterol bulunmayan bir bitkidir. Böylelikle besinsel açıdan, hem tansiyon hastaları hem de glutene duyarlı kişiler tarafından tüketilebilmektedir [28]. Dünya üretiminde ilk sıraları alan Asya ülkelerinde temel besin kaynağı olan çeltiğin çoğu bu ülkelerde tüketilip, ihraç payı yaklaşık % 6.8'dir [17, 29].



Şekil 2.1 Çeltik çiçeği yapısı [30]



Şekil 2.2 Çeltik tohum yapısı [27]

2.2 Çeltik Yetiştiriciliğinde İklim ve Toprak Özellikleri

2.2.1 İklimsel Özellikler

Yetiştirme şartları bakımından yoğun yağış ve yüksek sıcaklık isteyen çeltik, tropikal ve subtropikal bölgelerin temel bitkilerindendir [31, 32]. 18° C - 35° C arası sıcaklıklar, çimlenme ve fide gelişimi için optimum olup, maksimum fide olgunlaşması 25° C - 30° C arasında gerçekleşmektedir [33]. Tohum çimlenmesindeki minimum sıcaklık aralığı 12° C - 15° C olup, 12° C'den düşük sıcaklıklar, tohum gelişimini durdurmaktadır [34, 35]. Ayrıca çeltik tarımı yapılan arazilerdeki su sıcaklığı, hava sıcaklığı kadar önemli olup, düşük su sıcaklığı (<12°C) , bitkideki metabolik faaliyetleri yavaşlatıp, bitkinin çimlenme süresini uzatabilmektedir [33, 35]. Toprağın sıcaklığı ise en az 13°C olması gerekmektedir [36].

Çeltik bitkisinin gelişimini, düşük sıcaklıklar, yüksek sıcaklıklara oranla daha olumsuz etkilemektedir. Salkım oluşumu ve salkım çıkarma dönemleri arasındaki süreç, çeltiğin sıcaklık konusundaki en hassas olduğu dönemlerdir. Eğer bitki bu dönemde düşük sıcaklıklara maruz kalırsa, tohum bağlama miktarı düşer. Çeltik, su içinde yetişen bir bitki olduğu için hava sıcaklıklarının yüksek olması, aşırı yükselmediği takdirde bitkiye zarar vermez. Ancak, hava sıcaklığı, 35°C ' nin üzerine çıkarsa, bitki bu durumdan zarar görmeye başlar ve boş tane oluşumu gözlemlenebilir [37].

Çeltik, deniz seviyesinden 2500 m irtifaya kadar olan yükseltilerde ve sıcak iklimlerde yetişmekle birlikte, yıllık yağış 2500 mm oranında ise sulama yapılmasına ihtiyaç duyulmamaktadır. Türkiye'de, Edirne, çeltik tarımının en çok yapıldığı il olup, yıllık 580 mm, ardından ikinci sırada Balıkesir 544 mm, üçüncü olarak da Samsun 692 mm yağış almaktadır [4, 35, 36]. Çeltik yetiştiriciliğinde diğer önemli iki faktör ise nem ve rüzgar etmenleridir.

Nispi nemin çok yoğun olduğu arazilerde eltik tarımı zorlaşmakta [34], mantar kaynaklı hastalıkların bulaşğını arttırabilmektedir. Rüzgar etmeni ise, bitkiyi yatırmakta ve hasat dönemine gelmiş olan tanelerini dökerek verim kaybına sebep olmaktadır [4].

2.2.2 Toprak Özellikleri

Çeltik bitkisi, toprak bakımından çok seçici bitkiler arasında yer almaz. En verimli gelişim, besin maddesi bakımından yüksek, killi, yumuşak ve su geçirmeyen topraklardan alınmaktadır. Fakat kumlu - tınlı topraklardan, kil bakımından yoğun topraklara kadar birçok yerde tarımı yapılabilir. Topraktaki kireç - kum miktarı arttıkça, verim düşer [37]. Bitkinin köklerinin gelişmesi için 4.5 - 7.5 pH ve 20 - 25 cm derinlik yeterli olacaktır [31]. orak, kireç bakımından zengin, tuzlu topraklarda gelişimi azalan eltik bitkisi, bu topraklarda orta verimde yetişebilmektedir. Kontrolsüz sulama yapılmış topraklarda, olması gerekenden daha fazla tuz birikimi söz konusudur. Bu durumun giderilmesi için, bu topraklar su altında bırakılmakta ve bu uygulama ile tarıma tekrar kazandırılma amaçlanmaktadır. Bu sebeple tuza dirençli eltik eşitleri bu tarz arazilerde tekrar yetiştirme imkanı bulabilmektedir [35]. Bu uygulama sonucunda, eltik tavaları fosfor, azot, demir ve magnezyum açısından zenginleştirilirken, aynı zamanda toprağın tuzluluğı azaltılmış olmaktadır.

2.3 Türkiye eltik Verileri

2019 - 2020 yılları arasında, iklim ve su koşullarının olumlu olması, bir önceki döneme oranla %5' lik üretim artışına yol açmıştır. 126000 hektar alanda eltik ekimi yapılmış ve verim, %1' lik artış ile 791 kg' a yükselmiştir. anakkale verim sıralamasında 844 kg/da ile ilk sırada, Edirne ise 842 kg/da ile ikinci sırada yer almaktadır. Aynı döneme ait üretim rakamlarında ise, geçen seneye göre % 6,4'lük artış kaydedilip, 1 milyon ton eltik üretimi gerçekleştirilmiştir. Türkiye'de 2014'den 2019'a kadar pirinç verileri Tablo 2.1'de görölmektedir [38].

Tablo 2.1 Türkiye Pirinç Verileri (bin ton)

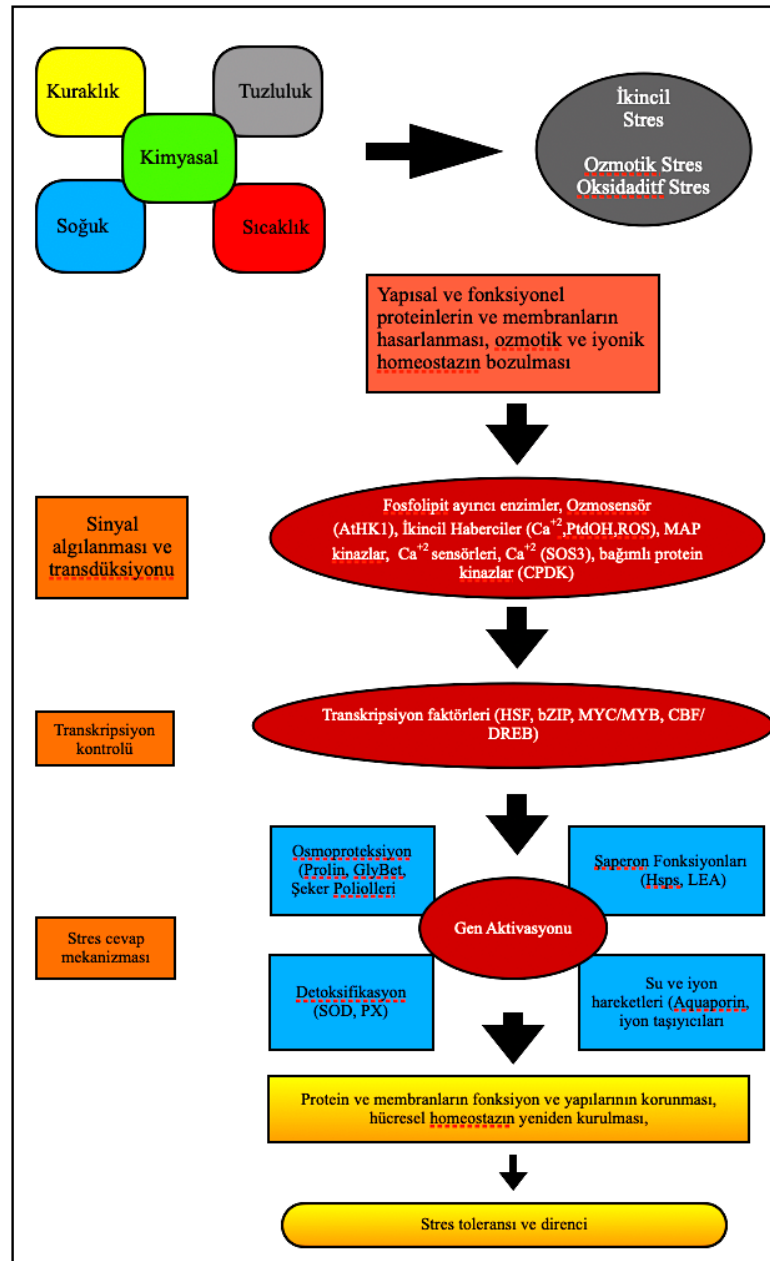
	2014/15	2015/16	2016/17	2017/18	2018/19	Değişim (%) ¹
Alan (1000 ha)	111	116	116	110	120	9,1
Verim (kg/da)	749	794	793	821	782	-4,8
Üretim	498	552	552	540	564	4,4
Yurt İçi Kullanım	754	782	782	795	807	1,5
İthalat	293	199	244	327	387	18,3
İhracat	40	61	68	59	203	244,1
Stok Değişimi	-8	-98	-59	8	-65	912,5

Kaynak: Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü (Erişim:24/01/2022) / Çeltik verileri¹ / Son iki yılın değişimini göstermektedir (Eylül - Ağustos dönemi)

2.4 Abiyotik - Biyotik Stres Faktörleri

Bitkilerin verimini ve biyokütlesini azaltan veya kısıtlayan faktörlere çevresel stres faktörleri denir [39]. Kökenlerine göre stres faktörleri iki ana grupta toplanır. Bunlar biyotik ve abiyotik stres faktörleridir [40]. Biyotik stres faktörleri bakteri, böcek, fungus, virüs, nematod ve allelopati gibi canlı organizmaların, bitkilerde meydana getirdiği hasarlanmaları ifade etmektedir [41, 42]. Abiyotik stres faktörleri ise, yüksek veya düşük sıcaklık, tekli veya çoklu çevre kirleticileri, kuraklık, radyasyon (UV-A - UV-B), ı ışık (düşük - yüksek ı ışık), besin elementi yetersizliği veya fazlalığı, pestisit, tuzluluk, mekanik faktörler (rüzgar), hava kirliliği, su baskınları ve ağır metaller sonucu oluşmaktadır [43-46]. Bitkiler, bu faktörlerden birine veya birkaçına eş zamanlı maruz kalabilir. Bunlar arasında etkisi en geniş alana yayılan faktör küresel ısınma ile giderek artan ve kuraklığın beraberinde getirdiği tuzluluktur [43, 44].

Bitkiler, abiyotik stres koşullarına karşı, yaşamsal faaliyetlerini devam ettirebilmek için adaptasyon ve tolerans mekanizmaları geliştirmişlerdir. Zorlu çevre koşullarından kendilerini korumak için geliştirdikleri yöntemler, moleküler ağ kaskadlarıyla regüle edilirler. Bunun sonucunda, strese karşı hücre homeostazı tekrar sağlanarak, zararlanmış hücre membranları ile proteinlerin onarımı gerçekleşebilir. Bitkilerdeki abiyotik strese karşı cevap, multigenik olup, karmaşık mekanizmalara sahip olduğu için kontrolü oldukça zordur (Şekil 2.3) [47-51].



Şekil 2.3 Bitkilerin abiyotik strese karşı olan cevap mekanizmaları (Wang v.d., 2003)

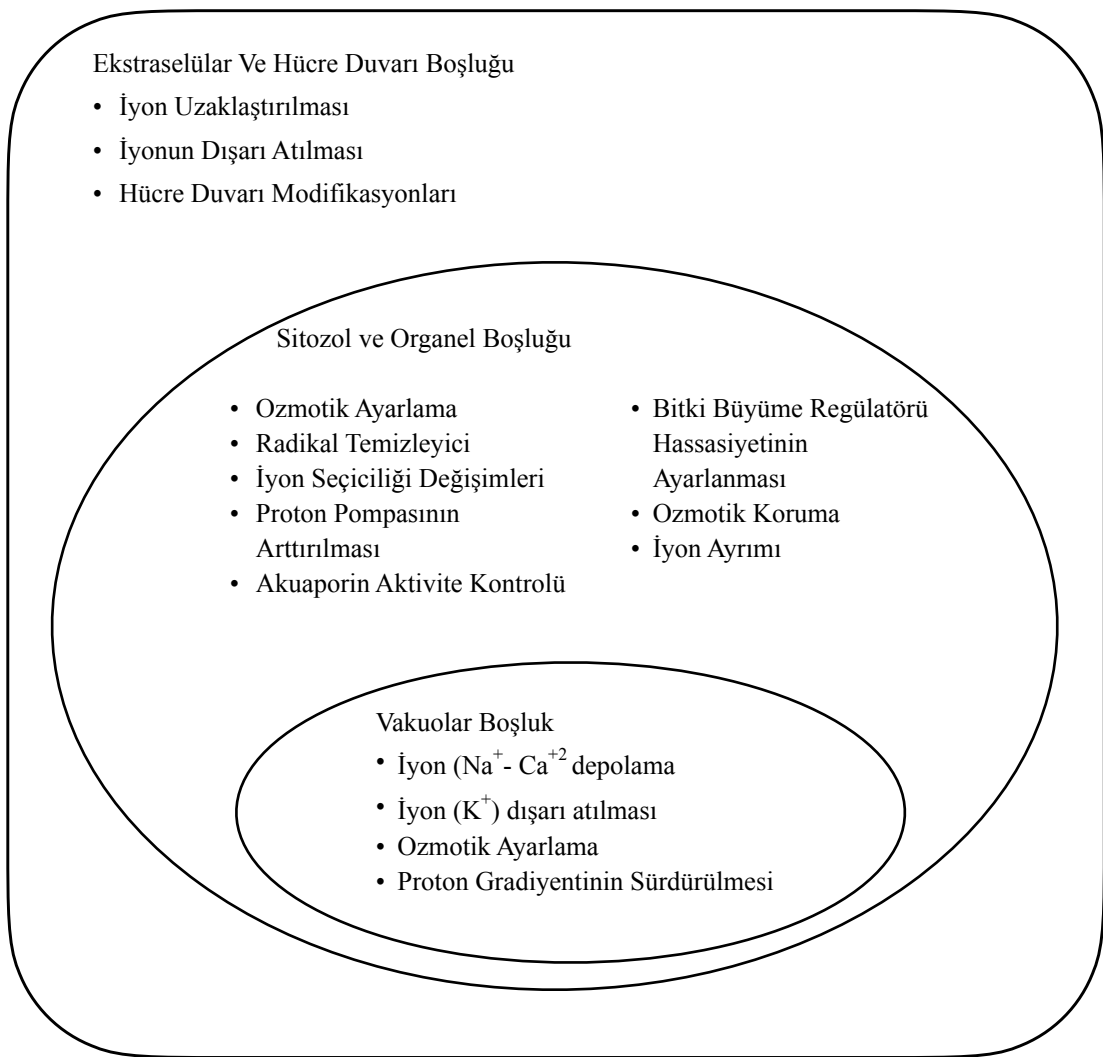
2.5 Tuzluluk Stresi

Bitkilerde büyüme ve gelişmeyi olumsuz yönde etkileyen en önemli abiyotik stres faktörlerinden biri tuzluluktur [52]. Dünyada, nemli tropik bölgelerden kutuplara kadar çok çeşitli iklim şartlarına sahip geniş alanlarda, hatta Ölüdeniz gibi deniz seviyesinin altındaki (-350 m) ve Tibet gibi 4.500 metre yükseltideki bölgelerde bile tuzluluk stresine rastlanabilmektedir [53]. Rusya, Meksika, Avustralya, Çin, Hindistan, Irak, Mısır, Suriye ve Pakistan gibi birçok ülke ve Türkiye, tuz stresini tehlikesi ile karşı karşıyadır [54]. Birleşmiş Milletler Çevre Programı, dünyadaki tarım alanlarının %20'sinin ve ekim alanlarının %50'sinin tuzluluk stresine maruz kaldığını rapor etmektedir [55]. FAO'nun 2005 yılı verilerine göre dünyada 397 milyon hektar alan tuzluluktan, 434 milyon hektar alan sodiklikten olmak üzere toplam 800 milyon hektarın üzerindeki toprak alanı elverişsiz hale gelmiştir. Bu alanlar dünya karasal yüzölçümünün %6'sına karşılık gelmektedir [56].

TÜİK'in 2004 verilerine göre, Türkiye'deki toplam 1.5 milyon hektar alanı kapsayan tuzlu toprakların oransal dağılımı; 599 bin hektar hafif tuzlu, 508 bin hektar tuzlu, 15 bin hektar sodik, 127 bin hektar hafif tuzlu – sodik, 268 bin hektar tuzlu – sodik toprak olarak belirlenmiştir [56].

Günümüzde ve ilerleyen dönemlerde, tarımsal alanlarda tuzluluk birikimi, ürün verimi ve kalitesindeki azalmanın yanısıra, ekonomik kayıpları ve açlığı da beraberinde getirecektir. Tuzluluk toleransı, bitkiden bitkiye olduğu gibi, aynı türe ait farklı genotiplerde de değişkenlik gösterebilmektedir.

Bir bitkinin tuz stresine karşı dayanıklılığı belirlenirken, büyüme ve fotosentez hızı [57-60], dokulardaki su oranı [61], yapraklarda Na^+ veya Cl^- birikiminin oranı, yapraklarda meydana gelen zararlanma derecesi, çimlenme yüzdesi [62, 63], yaprak yüzey alanı [64], çözünebilir şekerlerin konsantrasyonu [65], çözünebilir proteinlerin birikimi [66], ozmoprotektan olarak fonksiyon gören prolin ve glisin– betain birikimi [67, 68], iyon [69], lipid [70] ve hormon miktarları [71-77], poliaminlerin birikimi [78] ile antioksidant enzim aktivitelerindeki [79] değişimler gibi birçok faktör, belirleyici kriter olarak kullanılmaktadır [56, 60] (Şekil 2.4).



Şekil 2.4 Tuz stresi ve bitki biyokimyasal aktiviteleri (J. Bohnert, 1996)

Yoğun tuz stresi altında bitkilerin, gövde yüksekliği, kök uzunlukları, fotosentez, çimlenme ve dölleme faaliyetleri önemli oranda azalır [80, 81]. Ayrıca genç yaprak kayıplarına sebep olarak verimde ciddi düşüöşlere yol açar [82]. Bitkilerin tuz stresine uzun süre maruz kalmaları, meristematik dokulardaki hücrelerin mitoz bölünme hızını azaltmakta ve generatif - vejetatif gelişimi de olumsuz anlamda etkilemektedir [83]. İyon konsantrasyonunun artması ve suyun azalması ile zar geçirgenliği azalmakta, protein sentezi yavaşlamakta, enzim aktivitesi gerileyerek, tüm organeller önemli ölçüde zarar görmektedir. İyonik dengenin bozulmasından dolayı bitki için gerekli mineraller ile tuzu oluşturan iyonlar arasında dengesizlik oluşmaktadır. Sonuç olarak bitkiler, kendilerine gerekli mineralleri topraktan yeterli miktarda sağlayamayarak, gelişimsel gerilikler sergilemektedir. Bitki protoplazmasında, ihtiyaçtan çok daha fazlası alınmış Na^+ ve Cl^- iyonları, iyonlar arası dengeyi bozup, K^+ , Mg^{+2} , Ca^{+2} alımını engellemektedir. Buna ek olarak bitki hücresinde, süperoksit (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), singlet oksijen ($^1\text{O}_2$) ve hidroksil (OH^-) gibi reaktif oksijen türevlerinin oluşumuna neden olmaktadır. Reaktif oksijen türevleri, nükleik asitlerin, lipidlerin, proteinlerin yapısına zarar vererek hücreyi ölüme götürebilmektedir [84-89].

2.6 Topraktaki Tuzluluğun Çeşitleri Ve Nedenleri

Toprak çözeltisinin elektriksel iletkenlik değeri, toprağın tuz konsantrasyonunu belirlemektedir. Ekim alanlarının elektriksel iletkenlik değeri en az 4 dS/m (yaklaşık 40 mM) eşik değerini aşarsa tuzlu kabul edilmektedir [90]. Uzun süre boyunca toprakta ve yeraltı sularında birikim gösteren tuzluluğa primer tuzluluk adı verilir. Primer tuzluluğun ilk sebebi, ana kaya materyallerinin aşınması sonucu içeriğinde bulunan karbonat, klorür ve sülfat bileşiklerinin toprağa karışmasıdır. NaCl, bu bileşikler içerisinde çözünürlüğü en yüksek olandır. İkinci sebep, yağmur ve rüzgarlar aracılığıyla, deniz - okyanus sularının içerisindeki tuzun, karaya ulaşarak toprağın yapısına karışmasıdır.

Yağmur suları, 6 - 50 ppm arası tuz içerebilmektedir. Ortalama 10 ppm tuz içeren yağmur suyu, toprağa yılda yaklaşık 10 kg/ha tuz eklemektedir [60].

Yağış ile bitkilerin kullandığı su miktarı arasındaki dengenin, insanlar aracılığıyla değişmesi sonucu ortaya çıkan tuzlanmaya sekonder tuzlanma denir. Sulama suyu içerisindeki tuzlar, yetersiz drenaj ve çok yıllık bitkiler yerine tek yıllık bitkilerin ekimi, sekonder tuzlanmayı oluşturan en önemli etkenlerdir. Çok yıllık bitkilerin kök yapısı, toprağın taban suyunun yükselmesini engeller. Ekim alanlarına, çok yıllık bitkiler yerine tek yıllık bitkilerin ekimi, taban suyunun çok yükselmesi nedeniyle toprağın alt tabakalarındaki tuzların, hem kök vasıtasıyla bitkiye ulaşarak tuz stresinin oluşmasına hem de bitkilerin bu suyu yaşamsal faaliyetleri için kullandıklarında, toprakta su kalmadığı için tuzluluk seviyesinin artmasına sebep olmaktadır [60]. Tuzlu topraklarda, Cl^- , SO_4^{2-} , CO_3^{2-} , NO_3^- , HCO_3^- anyonlarıyla birlikte Na^+ , Mg^{+2} , K^+ ve Ca^{+2} katyonları bulunmaktadır [91].

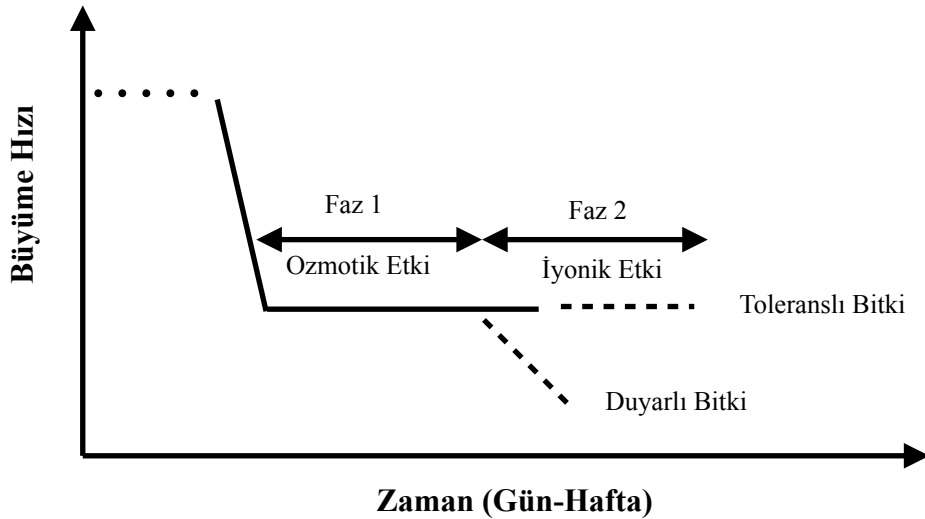
Çok yıllık ve tek yıllık bitkilerin topraktaki etkilerinin yanısıra sulama suyunun kalitesi, miktarı ve zayıf drenaj da, topraktaki tuzluluk miktarını etkileyen önemli faktörlerdendir. Sulama suları ortalama 200 - 500 ppm tuz içerir. Toprağın 400 ppm tuz içeren su ile bir yıl boyunca sulandığı düşünülürse, 1000 m³ su ile ekim alanlarına yılda 0,4 ton tuz aktarılmaktadır. Hektar başına yıllık 6000 - 10000 m³ suya ihtiyaç duyan tarımsal bitkilerin sulanması ile hektar başına toprağa yılda 2,4 - 4 ton tuz ilavesi olmaktadır. Bu durumda, bitkilerin kök bölgesinde devamlı artan bir tuzluluk durumu oluşmaktadır. Tuzluluğun seyreltilmesi için daha fazla sulamayı gerektiren bu durum, drenajın kötü olması ve bitkilerin suya doyması halinde, su baskınlarına sebep olabilmektedir [60].

2.7 Tuz Stresinin Bitkiler Üzerinde Etkisi

Tuz stresi, bitkilerde iki fazlı etkiye sahiptir. İlk faz ozmotik, ikinci faz ise iyonik etkidir [60] (Şekil 2.5). Ozmotik faz, hücrenin sahip olduğu su potansiyelinin, yoğun tuz çözeltisinin etkisiyle dehidratasyona uğramasıdır [81, 92].

Bu faz, kök çevresinde, bitki için gereken suyun, topraktaki tuzlanma sebebiyle kullanılamaması ve bunun sonucunda gövdenin gelişmemesine veya büyümemesine sebep olur. Bitkilerin bu duruma verdiği ilk cevap stomaların kapatılmasıdır. Bu stres cevabı uzun süreli olmamakla birlikte fiksasyonunun devamına ve yaprak hücreleri ile atmosfer arasındaki su potansiyelinin bozulmasına yol açar [93].

İyonik faz, bitkilerde transpirasyon gerçekleştikten sonra Na^+ iyonlarının yapraklara taşınıp, bu bölgede birikim göstermesi ile oluşur [83]. Yaşlı yapraklar, hücre öz suyundaki tuz konsantrasyonunu seyreltme yeteneklerini kaybettikleri için toksik etkiye maruz kalırlar. Bitkilerde, tuz stresinden dolayı, genç yaprakların oluşumu, yaşlı yaprakların ölüm oranından daha aşağıda kalır ise, fotosentetik aktivite sonucu oluşan karbonhidratlar, genç yaprakların ihtiyacını karşılayamaz ve büyüme durur [94]. Ayrıca bitkilerin, fotosentez işleminin gerçekleştiği kısımlarında Na^+ birikiminin olması, keratenoid - klorofil sentezi ve karbon fiksasyonu reaksiyonlarında aksamaya yol açmaktadır [95]. Fotosentetik aktivitenin aksaması, glikofit bitkilerde reaktif oksijen türevlerinin oluşmasına ve hücresel yapılarında bozulmaya sebep olmaktadır [96].



Şekil 2.5 Tuz stresi altındaki bitkilerde iki fazlı etki modeli (R. Munns, 1995)

2.8 Tuz Stresinin Fotosentez Üzerine Etkisi

Bitkilerin büyüme ve gelişmesi, fotosentez ile doğrudan bağlantılıdır. Tuzluluk stresi büyüme ve gelişmeyi olumsuz yönde etkilediği gibi, fotosentetik faaliyetleri de aynı şekilde etkilemektedir. Strese maruz kalmış bitkilerde gözlenen fotosentez aktiviteleri, bitkinin genel fizyolojik durumu hakkında bilgi vermektedir.

Tüm stres etmenleri, bitkilerde, fotosentetik pigmentlerin miktarındaki azalmaya [97], tilakoid membranların yapısında ve bu membranlarda görevli birimlerin organizasyonundaki farklılaşmaya, CO₂ fiksasyon ve elektron taşınım reaksiyonlarının hızlarındaki değişimlere [98], protein konsantrasyonunda azalmaya [99], iyon konsantrasyonlarında değişimlere [100] ve hücre içi CO₂ yoğunluğunu artırarak stomaların kapanmasına yol açmaktadır [99]. Bitkilerdeki fotosentez yapabilme kapasitesi, hücre içi su potansiyeli ile doğrudan bağlantılıdır [101]. Stromada bulunan fruktoz-1,6-bifosfat substratının, düşük su yoğunluğu altında miktarı artarken, fruktoz-1,6-bifosfataz ürünü olan fruktoz -6- fosfat azalmaktadır. Bunun sonucunda fotosentez aktivasyonunu, fruktoz-1,6-bifosfataz enzimi sınırlamış olur [102]. Fotosentez faaliyetlerine etki eden bir diğer etmen, iyonik kompozisyon ve tuz yoğunludur. Tuz yoğunluğu arttıkça, su potansiyeli azalarak ozmotik strese sebep olacaktır. Bunun sonucunda, elektron taşınması kısıtlanmaktadır [103]. Yüksek konsantrasyondaki tuz yoğunluğu, sitosolde biriken Na⁺ iyonlarına sebep olur. Biriken Na⁺ iyonları, solunum ve fotosentez aktiviteleri sırasında gerçekleşen elektron taşınmasını engeller [104].

2.9 Bitkilerde Tuz Toleransı

Tuz yoğunluğunun yüksek olduğu topraklarda bitkiler, gösterdikleri toleransa göre iki ana grup altında toplanır. İlk grup glikofitlerdir. Glikofit grubu, tuza direnci az olan bitkilerin bulunduğu grubu temsil etmektedir. Bitkilerin çoğu glikofit grubuna dahil olup, topraktaki tuzun yoğunluğu, eşik değeri aştığında, büyüme ve gelişmelerinde durma gözlemlenmektedir. İkinci grubu oluşturan halofitler, yüksek tuz yoğunluklarında yaşamsal faaliyetlerini sürdürebilmektedir [105].

Tarım alanlarının tuzluluk miktarı, toprağın elektrik iletkenliği özelliğiyle ölçülebilmektedir. Tuza hassas bitkiler, 1.5 - 3 dS/m (15 - 30 mM NaCl konsantrasyon) elektrik iletkenliğine sahip olan topraklarda hayatta kalabilirken, tuza yüksek derecede toleranslı bitkiler, 5 - 10 dS/m (50 - 100 mM, NaCl konsantrasyon) elektrik iletkenliğine sahip olan topraklarda hayatta kalabilirler [88, 106-109] .

2.10 Tuz Stresine Cevap Olarak Biriken Bileşikler Ve Toleranstaki Fonksiyonları

Osmoprotektan moleküller, biyokimyasal reaksiyonları aksatmayan, düşük molekül ağırlığa sahip, reaksiyonlarda su ile yer değiştiren ve vakuollerdeki iyonik dengeyi sağlayan bileşiklerdir. Bunlar çözünebilir şekerler, polioller ve bazı azotlu bileşiklerdir [93, 110-119].

Azotlu bileşikler proteinler, amino asitler, kuaterner amonyum bileşikleri, amidler, poliaminler ve imino asitler sayılabilir. Tuz stresi altında, bitki savunma mekanizmasında görev alan bu bileşiklerin, serbest radikallerin temizlenmesine, osmotik regülasyona, hücresel pH'nın düzenlenmesine, makromoleküllerin korunmasına, azotun depolanmasına, ve hücrelerin detoksifikasyonuna olan etkileri, bitkinin türüne, çeşidine, tuza olan dayanıklılığına ve aynı bitki üzerindeki farklı organlara göre değişim gösterir (Tablo 2.2) [74, 120].

Tablo 2.2 Bitkilerde tuz toleransında rol alan bileşikler ve görevleri (A. Parida, 2004)

Grup	Spesifik Bileşikler	Fonksiyonu
Proteinler	Ozmotin Süperoksit Dismutaz Katalaz	Patojenez İlişkili Proteinler Ozmoprotektan Radikal detoksifikasyonu
Şekerler	Glukoz, Fruktoz, Sukroz Fruktanlar, Trehaloz	O z m o t i k D ü z e n l e m e , Ozmoprotektan, Karbon Kaynağı
Amino asitler	Prolin	O z m o t i k D ü z e n l e m e Ozmoprotektan
Kuaterner aminler	Glisinbetain	Ozmoprotektan Tilakoid Ve Plazma Membran Bütünlüğünün Korunması
Poliaminler	Spermin, Spermidin	İyon Dengesi, Kromatinin Korunması
Polioller	Mannitol Pinitol	Karbon Kaynağı, Ozmotik Düzenleme Ozmoprotektan, Ozmotik D ü z e n l e m e , F S I I ' n i n Fotokimyasal Etkinliği, Radikal Temizleyici
Pigmentler	Karotenoidler, Antosiyaninler	Fotoinhibisyona Karşı Koruma
İyonlar	Sodyum, Klor	Ozmotik Düzenleme Potasyum Çıkışı

2.11 Osmolitler

Moleküler ağırlığı düşük, yüksek konsantrasyonlarda olsa bile toksik olmayan, bitkilerde osmotik düzenlemede, membran, enzim ve protein stabilizasyonunun korunmasında, şaperon olarak ve reaktif oksijen türlerinin detoksifikasyonunda rol alan bileşiklerdir. Bitki hücrelerini dehidrasyon zararlanmasından korudukları için ozmoprotektan olarak da isimlendirilirler.

Ozmoprotektanlar, hücre içi osmotik potansiyelin azaltılması ile su alımının geri kazanılmasını gerçekleştirirler. Bunun sonucunda bitkiler, köklerinden daha fazla su çekerek, gerçekleşen su açığını giderirler ve yoğun stres anında, fizyolojik faaliyetlerini daha verimli şekilde gerçekleştirirler. Osmolitler üçe ayrılır. Şekerler ve şeker alkolleri (mannitol), amino asitler (prolin) ve kuarterner aminlerdir (poliaminler, glisin betain) [47-49, 121-126]

2.12 İyon Taşınması

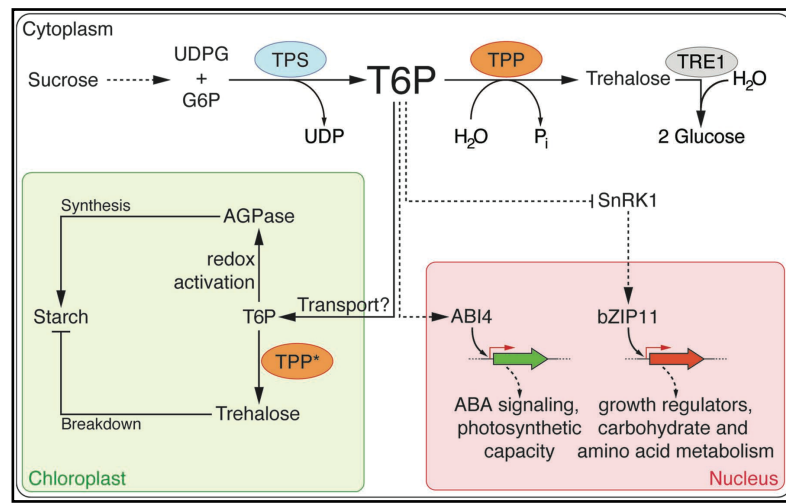
Bitkiler, yoğun tuz stresi altındayken, osmotik ve iyonik dengeyi sağlamak için iyon taşıyıcılarını kullanırlar. Hücre içi iyonik dengenin sağlanmasında, Na^+/H^+ antiporterlarının rolü çok önemlidir. Na^+ ve H^+ iyonlarının değişimini katalize edip, hücre içi turgorun, pH ve sodyum miktarının düzenlenmesinde görev alırlar. *Arabidopsis* bitkisinin, yoğun tuz stresi altındayken, *AtNHX1* geninin ekspresyonunu arttırarak, Na^+/H^+ antiporterları sayesinde, büyüme ve gelişmesini devam ettirdiği tespit edilmiştir. Yine aynı gene sahip, tuz stresine maruz bırakılmış transgenik domateslerde, *AtNHX1* geninin anlatımı artmış ve bitkinin meyvelerindeki ve çiçeklerindeki gelişim stressiz ortam koşulları ile eşdeğer devam etmiştir [47, 49, 127]. Bitkiler, hücre içi iyon dengesinin sağlanması için hücre membranındaki proton pompalarını kullanırlar. Bu elektrokimyasal gradientin sağlanması için üç proton pompası kullanılır. Bunlar, pirofosfat pompası (H-PPaz), vakuolar tipi H-ATPaz pompası (V-ATPaz) ve plazma membranı pompasıdır (PM H-ATPaz). Vakuolar tip H-ATPaz pompası ve pirofosfat pompası, membran içi bileşenleri ve vakuolar lümeni asidikleştirirken, plazma membranı pompası, +1 yüklü hidrojen atomlarını hücreden geçirerek, protonların hareketini aktive eder [47, 124, 127, 128].

2.13 Çeltikte Tuz Stresi İle Bağlantılı Genler

2.13.1 OsTPS1

Birçok bitki türünde bulunan trehaloz, indirgenmeyen bir disakkarittir. Trehaloz, hidrofilik bir çözünen olup, tuzluluk, kuraklık ve yüksek sıcaklık gibi abiyotik streslerden hücresel proteinleri ve zarları koruyan enerji taşıyıcısıdır [129, 130].

Bitkilerde strese karşı dayanıklılığı arttırmak için trehaloz metabolizması, önemli bir etkiye sahiptir [131]. Trehaloz üretimi, bitkilerde genel olarak Trehaloz-6-fosfat sentaz (TPS) / Trehaloz-6-fosfat fosfataz (TPP) olmak üzere iki enzimsel reaksiyon sonucu sentezlenir. İlk aşamada TPS, UDP-glukoz (UDPG) ve glukoz 6-fosfat (Glc6P)'ı, Trehaloz-6-fosfat (T6P) oluşturmak üzere katalizler. Bunun ardından, TPP, T6P'yi fosforile ederek trehalozu üretmiş olur. Trehaloz-6-fosfat sentaz, metabolik ve gelişimsel süreci etkileyen Trehaloz-6-fosfatın üretim seviyesini regüle ettiği için, trehaloz sentezi açısından kilit enzimdir [132] (Şekil 2.6).



Şekil 2.6 Trehaloz biyosentezi ve karbonhidrat mekanizmasındaki rolü (J.Ponnu, 2011).

TPS1 geni, ilk olarak *A. Thaliana* bitkisinde tespit edilmiştir [133]. Ardından genom sekanslama çalışmaları ile birlikte, *Selaginella lepidophylla* [134], *Nicotiana tabacum* L. [135], *Oryza sativa* L. [136], *Glycine max* (L.) Merr. [137], *Triticum aestivum* L. [138] ve *Solanum tuberosum* L. [139] bitkilerinde de TPS ve benzeri genler tespit edilmiştir. Gelişmiş bitkilerde trehalozun sentezi ile ilgili genler birbirlerinden oldukça farklıdır ancak fonksiyonları benzerdir. *A. thaliana* bitkisinde 11 TPS ve 10 TPP geni mevcutken, *Oryza sativa* L. bitkisinde 11 TPS ve 9 TPP geni bulunmaktadır [136, 140]. *A. thaliana* bitkisindeki *AtTPS1* geninin yüksek miktardaki anlatımı, kuraklık stresi ile ilişkilendirilirken [141], çeltik bitkisindeki *OsTPS1* geninin anlatımının artışı, tuzluluk, kuraklık ve düşük sıcaklığa karşı tolerans geliştirmede önemli rolü olduğunu göstermiştir [142].

Ayrıca glikolitik denge ve embriyo gelişimi için *T6P*'nin gerekli olduğu tespit edilmiştir [143]. Buğday bitkisinde eksojen trehaloz uygulaması, bitkinin metabolik ve morfolojik değişimlerine sebep olmaktadır. Trehaloz, *Arabidopsis* bitkilerinde kök uzaması üzerine de etki etmektedir. Böylelikle trehaloz, sadece stres koruyucu olarak değil, aynı zamanda metabolik faaliyetler, embriyo olgunlaşması, şeker ve absisik asit sinyalizasyonu, fotosentez ve daha birçok aktivitenin düzenlenmesine katkı sağlamaktadır [144].

2.13.2 OsNHX1

Bitkiler tuzluluk stresi altında için üç temel mekanizma geliştirmişlerdir. Bunlardan ilki hormonal sinyallerle kontrol edilen ozmotik stres toleransıdır. İkincisi köklerde ve yapraklarda birikim gösteren yüksek Na^+ iyonlarının atılmasına yönelik yöntemdir. Üçüncüsü ise yapraklarda yüksek seviyede Na^+ birikimi sonucu hücre içerisinden vakuollere tuz taşınımını sağlayarak, sitosolü toksik tuz seviyesinden arındırmaktır [94]. NHX tipi antiporterlar, katyon/ H^+ değişimini membran boyunca katalize ederler [145, 146]. Bunu yaparak hücre hacmi, hücre içi pH ve tuz seviyesinin regülasyonunu sağlarlar. Bitki hücrelerinde H^+ -ATPase ve H^+ inorganik pirofosfataz, H^+ iyonunun aktif hareketini sağlayan öncül taşıyıcılar, Na^+ iyonunun aktif taşıyıcısı ise Na^+/H^+ antiporterlarıdır [147].

Hücre içindeki iyon konsantrasyonu, iyon dengesinin sağlanmasında en önemli yeri tutar. Tuz stresine maruz kalmış bitkilerde, Na^+ hücre içine çeşitli yollarla girerek sitosolde bulunan enzimler için toksik etki yaratabilmektedir. Bu sebeple bitki hücreleri sitosollerini düşük Na^+ ve yüksek K^+ konsantrasyonu ile muhafaza etmeli, fazla Na^+ hücre dışına çıkartılmalı ve vakuollere göndermelidir. Çeltik bitkisinde 4 tane vakuolar Na^+/H^+ antiporter (*OsNHX1-4*) ve bir tane endozomal Na^+/H^+ antiporter (*OsNHX5*) bulunmaktadır [148]. Vakuolar Na^+ , K^+/H^+ antiporter geninin (*OsNHX1*) anlatımı arttıkça, transgenik çeltik bitkilerinin tuza toleransında artış kaydedilmiştir.

OsNHX1 geninin fazla miktardaki Na^+ ve K^+ iyonlarının vakuollere gönderilmesinde rol aldığı, antiporter miktarı ile çeltikteki tuza tolerans arasında bağlantı olduğu bilinmektedir [149]. Bitkilerde tuza karşı tolerans üzerine yapılan çalışmalarda, transgenik mısır bitkilerindeki *OsNHX1* geninin anlatımının artması sonucu Na^+ 'un vakuollere taşınımı artmış ve sonuç olarak bitkide strese karşı tolerans kaydedilmiştir [150]. *A.thaliana*, *Lycopersicon esculentum* ve *Brassica napus* bitkileri ile yapılan çalışmalarda ise *NHXL* geninin anlatımındaki artış, bitkilerdeki tuza toleransın artışına sebep olmuştur [151-153].

2.13.3 OsHKT2;1

Potasyum iyonu (K^+), bitki hücre sitozolünde en çok bulunan makro besin olup, tek değerlikli katyon özelliği taşımaktadır. Bitki beslenmesinde üç temel bileşenden biridir [154, 155]. Azot ve fosfor gibi proteinlerin ve nükleik asitlerin temel yapılarında bulunmamasına rağmen K^+ , hücresel faaliyetlerin ve metabolik ortamın homeostasisinde önemli görevler üstlenir [156, 157]. Bitkiler K^+ birikimini, sürgünlerde, köklere oranla iki kat fazla yaparlar. Bu sebeple sürgün oluşumu ve gelişimi, mahsul verimi üzerinde büyük bir etkiye sahiptir [158]. Bunun yanında, Na^+ , bitkinin gelişimi açısından toksik etkiye sahip olduğu için, K^+ alımı bitki açısından hayati bir öneme sahiptir [159].

Yüksek Na^+ konsantrasyonu, su alımını engelleyerek hücre içi su potansiyelini azaltır, fotosentetik faaliyetleri bozar, reaktif oksijen türlerinin birikime sebep olur ve K^+ iyonu ile rekabete girerek K^+ alımını engeller [94, 159-161]. Yapraklardaki yüksek K^+ ve daha düşük Na^+ dengesinin, bitkilerdeki tuzluluk direnci için önemli bir faktör olduğu gösterilmiştir [94, 157, 162]. Yapılan çalışmalarda, buğday ve arpanın tuza tolerans sağlamak amacıyla yaprak mezofil ve kök hücrelerinin sitozolünde K^+ tutma yeteneğinin önemli bir savunma sistemi olduğu gösterilmiştir [163-167]. *HKT* taşıyıcıları, birçok bitki türünde yer alan, iyon dengesi ve Na^+ - K^+ taşınımı görevini üstlenen bir gen ailesidir [94, 157, 162].

HKT sınıf 1 taşıyıcılarının, Na^+ seçiciliği daha fazladır. *Arabidopsis*, pirinç ve buğdayda yapılan çalışmalarda, yapraklardaki Na^+ uzaklaştırılmasını ve ksilemden dışlanmasını teşvik ederek tuzluluğa karşı bir stres toleransı oluşturduğu tespit edilmiştir [168-177].

2.13.4 OsSOS1

Glikofit bitkilerin hücre içindeki iyon dengesi ve tuza karşı toleransı için, kök-toprak arayüzündeki Na^+ 'un dışarı atılması kritik bir öneme sahiptir. Sodyum iyonunun tek yönlü içeri akışı çok hızlı olduğundan, Na^+ 'un toprak yüzeyine etkili bir şekilde dışarı çıkarılması, kökler tarafından yapılmalıdır [178]. Salt Overly Sensitive (SOS) sinyal yolağının üç bileşeni olup (*SOS1-2-3*) , bitkilerde tuz stresine karşı önemli roller üstlenirler [179]. Na^+/H^+ antiporter *SOS1* geni, bitki plazma membranında yer alan, Na^+ iyonunun sitoplazmadan hücre dışına çıkartan proteini kodlar [180]. *SOS2*, bir serin/treonin protein kinazı kodlarken, *SOS3* ise bir Ca^{2+} bağlayıcı proteini kodlar [181, 182]. Bitkiler tuza maruz kaldığında, Ca^{2+} konsantrasyonu sitoplazmada giderek artış gösterir. Bu durum *SOS3* tarafından tespit edildikten sonra Ca^{2+} etkileşime geçerek, *SOS2* protein kinazın daha fazla aktive edilmesini sağlar. *SOS2*, *SOS3* ile etkileşime geçerek kompleks oluşturup, *SOS1*'in anlatımını fosforilasyon yoluyla regüle eder. Sonuç olarak *SOS1*'in taşıma aktivitesi, *SOS2* ve *SOS3* tarafından kontrol edilerek, Na^+ 'un hücre içerisinden uzaklaştırılması sağlanır [127, 182, 183]. *Arabidopsis* mutantları *sos1*, *sos2*, *sos3*, Na^+ ve Li^+ iyonlarına karşı oldukça duyarlıdır. Bu durum, bitkilerde tuzluluk toleransında SOS proteinlerinin önemini göstermektedir [184]. Transgenik *Arabidopsis* fideleri ile yapılan bir çalışmada, tuzluluk uygulaması sonucu kontrol bitkilerine oranla transgenik olanlarda, tuza karşı toleransın arttığı tespit edilmiştir. Bunun sebebi olarak *SOS1* geninin anlatımındaki artış gösterilmiştir [185]. Çeltikte, tuz stresi sinyal yolları Şekil 2.7'de gösterilmiştir.

3. MATERYAL - METOD

3.1 Bitki Materyali

Çalışmada kullanılan Osmancık-97 çeltik çeşidi, T.C. İstanbul Kültür Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Bitki Biyoteknolojisi laboratuvarında yetiştirilmiştir.

Kontrol ve her bir tuzluluk konsantrasyonuna ait tohumlar dolgu maddesi olarak perlit kullanılan plastik bitki büyütme kaplarına ekilmiştir. Ekimler plastik kap başına 10 tohum olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Ekimi yapılan tohumlar bir hafta boyunca, içi distile su dolu plastik kaplarda çimlendirilmiştir. Birinci haftanın sonunda Yoshida besin solüsyonu ile sulamaya devam edilmiştir. Üç hafta boyunca Yoshida solüsyonu ile sulanan çeltik fidelerine, çimlenmenin 28. gününde 60, 90 ve 120 mM NaCl uygulanmıştır. 10 günlük stres uygulamasının ardından yapraklar hasat edilmiştir.

Hasat edilen bitkilerin gelişimsel farklılıkları ortalama bitki boyu, ortalama kök uzunluğu, ortalama yaş ve kuru ağırlık parametreleri üzerinden değerlendirilmiştir.

3.2 Biyokimyasal Analizler

Tuzluluk stresinin Osmancık - 97 çeşidi üzerinde yarattığı etkiler, lipid peroksidasyon tayini, prolin ve fotosentetik pigment konsantrasyonlarının belirlenmesi ile değerlendirilmiştir.

3.2.1 Lipid Peroksidasyon Tayini

Tuz stresinin, çeltik bitkilerinde oksidatif stres sonucu oluşturduğu lipid peroksidasyon ürünü olan tiobarbitürik asit ile reaksiyona giren bileşenlerin (TBARS) miktarları Stewart ve Bewley (1980) metoduna göre kolorimetrik olarak saptanmıştır. 0,1 gr çeltik yaprakları, steril havanlarda 1ml steril su - 1ml %0,5 (v/w) tiobarbitürik asit + % 20'lik trikloroasetik asit yardımı ile homojenize edilmiştir. Örnekler, 30 dakika 95 °C'de inkübe edildikten sonra, 5 dakika boyunca buz banyosunda tutularak reaksiyon durdurulmuştur.

Ardından +4 °C’de, 10000 × g hızda 30 dakika santrifüj yapılmış ve örneklerin süpernatantları alınarak, 532 ve 600 nm dalga boylarında absorbans değerleri ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar µmol MDA/g.TA cinsinden hesaplanmıştır.

3.2.2 Prolin Miktarı Analizi

Tuz stresinin, çeltik bitkilerinde meydana getirdiği prolin birikimi Bates ve diğ. (1973) metoduna göre hesaplanmıştır. 2 mL %3’lük (w/v) sülfosalisilik asit yardımıyla, 0,1 g çeltik yaprak dokusu homojenize edilmiştir. 10000 × g hızda, +4 °C, 15 dakika santrifüj işleminden sonra her birinden 2 ml alınarak cam tüplere aktarılmıştır. Örnekler ninhidrin belirteci eklenerek inkübatörde 1 saat 100 °C’de reaksiyon gerçekleştirilmiştir. Örnekler süre sonunda, buzda bekletilerek tepkimeler sonlandırılmıştır. Tüplere 4 mL toluen eklenerek, vortekslenmiştir. Faz ayrımı oluştuktan sonra üst fazdan alınan örnekler, 520 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Sonuçlar standart kalibrasyon eğrisine göre µg/µL proline g .TA cinsinden hesaplanmıştır.

3.2.3 Fotosentetik Pigment Floresans Ölçümleri

Tuz stresinin, çeltik bitkilerinde meydana getirdiği fotosentetik pigmentler konsantrasyonu değişiklikleri Arnon metoduna göre belirlenmiştir. 0,1 g çeltik yaprağı, % 80’ lik (v/v) soğuk aseton ile ekstrakte edilmiştir. Ardından, 4°C’de, 10.000 × g, 15 dakika santrifüj edilen örnekler, 470, 645 ve 663 nm dalga boylarında ölçülmüştür. Değerler µg/g.TA cinsinden hesaplanmıştır. Hesaplamalarda aşağıda belirtilen formülasyon kullanılmıştır:

$$\text{Toplam Klorofil (mg / g x taze ağırlık)} = 7,05 \times A_{663} + 13,09 \times A_{645}$$

$$\text{Klorofil a konsantrasyonu (mg / g x taze ağırlık)} = 11,24 \times A_{663} - 2,04 \times A_{645}$$

$$\text{Klorofil b konsantrasyonu (mg / g x taze ağırlık)} = 20,13 \times A_{645} - 4,19 \times A_{663}$$

$$\text{Karotenoid (mg / g x taze ağırlık)} = (1000 \times A_{470} - 1,9 \times \text{Klfl a} - 63,14 \times \text{Klfl b}) /$$

3.3 RNA izolasyonu

Total RNA izolasyonu için 0,3 g bitki yaprağı sıvı azot ile steril havanlar içerisinde ezilerek 2 mL'lik eppendorflara aktarılmıştır. Üzerlerine 1mL TRIzol eklenmiştir. Örnekler 20 sn hafifçe çalkalandıktan sonra 5 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bekleme aşamasından sonra üzerlerine 0,2 mL kloroform eklenen örnekler, 20 saniye çalkalama işleminden sonra 4 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Ardından 4°C'de, $12.000 \times g$ hızda, 15 dakika santrifüj yapılmıştır. Yeni steril eppendorflara aktarılan 450 µl süpernatantın üzerine eşit hacimde 450 µL izopropanol eklenmiştir. 10 dakika oda sıcaklığında bekletilen örnekler 4°C'de, $12.000 \times g$ hızda, 10 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatant kısmı atılan eppendorflara, 1mL %75'lik RNAase-free etanol eklenmiş ve 4°C'de, $7500 \times g$ hızda, 5 dakika santrifüj yapılmıştır. Süpernatant kısmı atılan eppendorflar, etanol buharlaşana kadar bekletilmiştir. Son olarak 40 µL RNAase free-water eklenerek RNA çözme işlemi gerçekleştirilmiştir. Total RNA izolasyonu yapıldıktan sonra, Nanodrop Implen NP80 cihazında, elde edilen RNA'ların konsantrasyon ve saflıkları ölçülmüştür.

3.4 cDNA sentezi

cDNA sentezi iScript cDNA Isolation Kit'i kullanılarak yapılmıştır. cDNA sentezi için kullanılan bileşenler üreticinin tavsiye ettiği şekilde: 4 µL 5X iScript cDNA, 1 µL iScript Reverse Transcriptase, 14 µL Nuclease-free later ve 1 µL RNA (300 µg) örneği olacak şekilde 20 µL total hacimde gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon Tablo 3.1'de belirtilen süre ve sıcaklıklarda gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3.1 cDNA PCR çoğaltımı reaksiyon protokolü

Aşama	Süre	Sıcaklık
Priming	5 dakika	25 °C
Reverse Transcription	20 dakika	46 °C
RT inactivation	1 dakika	95 °C
Hold	-	4 °C

3.5 Gradient PCR

Hedef genlere ait tasarlanan primer dizileri Tablo 3.2’de verilmiştir. Gradient PCR aşaması için Thermo Scientific PCR Master Mix (2X) kullanılmıştır. 0,2 mL’ lik PCR tüpleri, 12,5 µL mix, 9,5 µL Thermo Fisher DEPC treated water, 1 µL cDNA, 1µl Forward Primer, 1 µl Reverse Primer olacak şekilde hazırlanıp, vortekslenmiştir. Protokol, Prima - DuoTM Hi - Media PCR Cihazı ile, Tablo 3.3’ de verilen süre ve sıcaklıklarda yürütülmüştür. Agaroz jel elektroforezi ile, primerlerin ortak optimum bağlanma sıcaklıkları belirlenmiştir.

Tablo 3.2 İlgili genlere ait primer dizileri

Genler	Forward Primer (5'-3')	Reverse Primer (5'-3')	Accession No:	Ürün Boyutu (bp)
<i>OsTPS1</i>	CTGATGAGAGA GAAAAGCGACA T	GACTAGGGAGA TCAGGTGGAAC T	HM050424	153
<i>OsNHX1</i>	CTGGATTGCTCA GTGCATACATA	ACCACAGAAGA ATACGGTGAGA A	XM_015789089	155
<i>OsHKT2;1</i>	GTCAACCTCTGC TCTGACACTTT	GAAAACTCTGG GTTGTGCTTA TG	AJ491852	168
<i>OsSOS1</i>	GGCTTCCTTCTT CTGCTCTATGT	ACTGCATCACTA GCACGCTTAAC	KY752550	185

Kısaltmalar: *OsTPS1*: Trehalose 6 Phosphate Synthase 1, *OsNHX1*: Na⁺/H⁺ antiporter, *OsHKT2;1*: High Affinity K⁺ transporters, *OsSOS1*: Salt Overly Sensitive 1

Tablo 3.3 Gradient PCR Protokolü

Aşamalar	Sıcaklık (C°)	Süre	Döngü Sayısı
Başlangıç Denatürasyonu	95	3 dk	1
Denatürasyon	95	30 sn	35
Bağlanma	54-56-58-60-62-64-66- -68	30 sn	
Uzama	72	1 dk	
Son uzama	72	10 dk	1

3.6 Kantitatif Real-time PCR Analizi (qRT - PCR)

BIO-RAD iQTM SYBR[®] Green Supermix protokolü ile gen anlatım analizi yapılmıştır. BIO-RAD iQTM SYBR[®] Green Supermix (2X) 10 µL, 1 µL Forward Primer, 1 µL Reverse Primer, 1 µL cDNA ve 7 µL Thermo Fisher DEPC treated water içeren reaksiyon karışımı, BIO - RAD CFX Connect Real-Time PCR cihazı ile, endojen kontrol Ubiquitin 5 primeri seçilerek gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon süre ve sıcaklıkları Tablo 3.4'te verilmiştir.

Tablo 3.4 Real Time PCR Protokolü

Aşamalar	Sıcaklık (C°)	Süre	Döngü Sayısı
Polimeraz Aktivasyonu ve DNA Denatürasyonu	95	3 dk	1
Denatürasyon	95	15 sn	39
Bağlanma/Uzama + Optimize Sıcaklıkta Plate Okuma	60	45 sn	
Erime Eğrisi Analizi	65-95 (0,5 artış)	5 sn	1

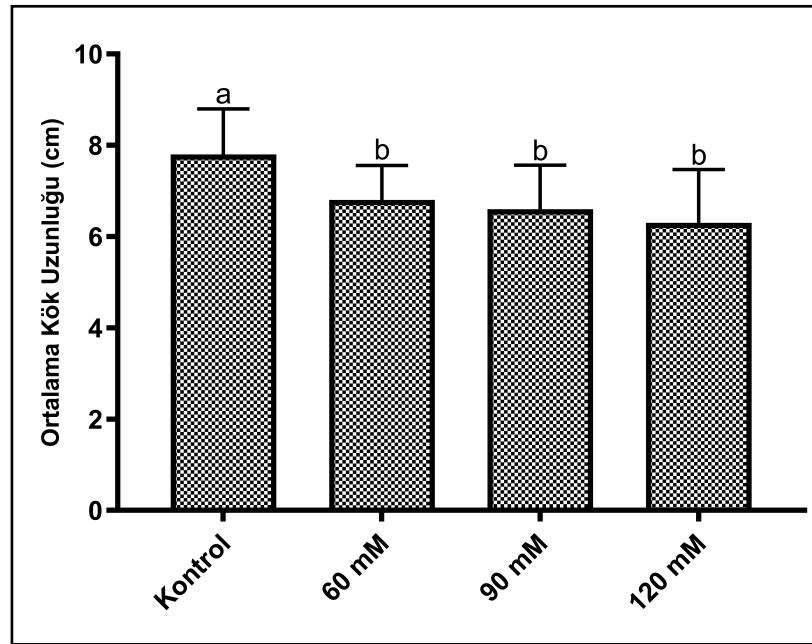
3.7 İstatistiksel Analizler

Çeltik bitkilerine ait kontrol ve farklı konsantrasyonlarda NaCl uygulanmış deneysel grupların büyüme parametrelerinden bitki boy uzunluğu, kök uzunluğu, taze ağırlık ve yaş ağırlıkları morfolojik zararlanma değerlendirilmesinden elde edilen veriler ile biyokimyasal analizlerinin (lipid peroksidasyon, prolin birikimi, fotosentetik pigment) değerlendirilmeleri GraphPad Prism 8 (<https://www.graphpad.com>) istatistik programı kullanılarak yapılmıştır. Programda tek yönlü ANOVA testi yapılmış ve testte istatistiksel olarak anlamlı bulunan grupların karşılaştırması Student- Newman Keuls testi ile gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR

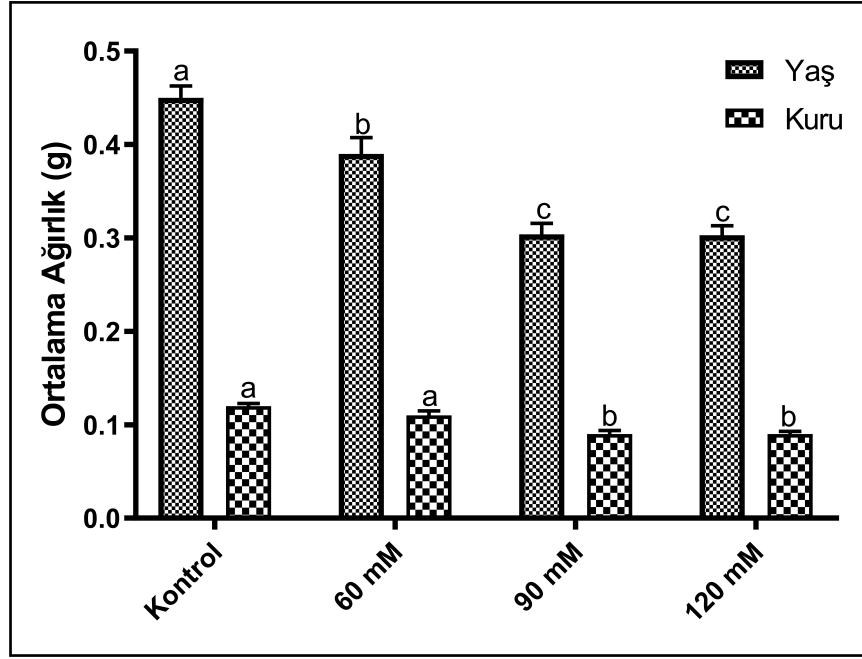
4.1 Bitki Büyüme Parametreleri

Tuzluluk stresinin, Osmancık - 97 üzerindeki olumsuz etkilerinin tespiti amacıyla ortalama kök uzunlukları, ortalama bitki ağırlıkları ve ortalama bitki uzunlukları ölçülmüştür. Osmancık - 97 çeşidinde bitki kök - ağırlık - uzunlukları, kontrol, 60, 90 ve 120 mM NaCl stresinin etkileriyle değişimleri, sırasıyla Şekil 4.1, Şekil 4.2 ve Şekil 4.3’de gösterilmiştir. Tuzluluk stresi arttıkça, üç parametredeki değişim azalma yönünde olmuştur.



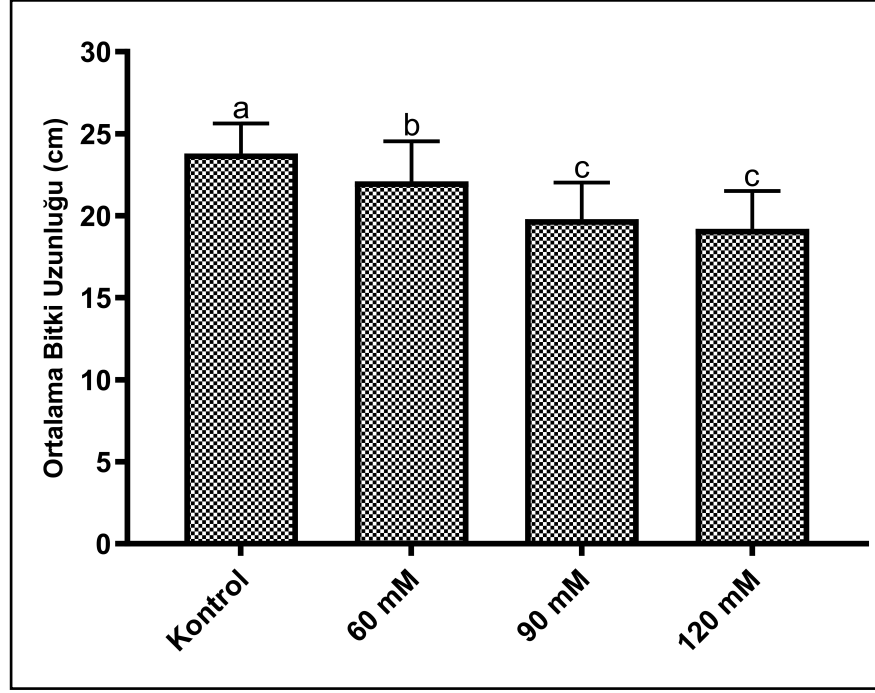
Şekil 4.1 Değişen tuzluluk stresinin bitki kök uzunlukları üzerindeki etkisi

Osmancık - 97 çeşidinde kontrol grubundaki ortalama bitki kök boyu uzunluğu 7.80 cm iken, 60 mM tuzluluk stresine maruz kalan bitkilerin kök boyu, 1cm kısalarak 6.80 cm değerine gerilemiştir. 90 mM tuzluluğa maruz kalan bitkilerin ortalama kök boyu 6.60 cm’ye düşüş göstermiştir. 120 mM NaCl stresine maruz kalan bitkilerdeki ortalama kök boyu ise 6.30 cm olarak bulunmuştur. 60 - 120 mM tuzluluk stresi altındaki bitkilerde ortalama kök boyu uzunlukları istatistiksel olarak anlamlı fark sergilememiştir



Şekil 4.2 Değişen tuzluluk stresinin bitki ağırlıkları üzerindeki etkisi

Osmancık - 97 çeşidinde kontrol grubundaki ortalama bitki yaş ağırlığı 0,45 g iken, kuru ağırlık 0,12 g'dır. 60 mM tuzluluk stresine maruz kalan bitkilerin ortalama yaş ağırlıkları 0,39 g iken, kuru ağırlıkları 0,11 g olmuştur. 90 mM tuzluluk uygulanan çeltik bitkilerinin yaş ağırlıkları 0,30 g, kuru ağırlıkları ise 0,09'a düşüş göstermiştir. Uygulanan en yüksek konsantrasyon olan 120 mM' da, bitkilerdeki yaş ağırlık 0,30 g, kuru ağırlık 0,09 g olarak ölçülmüştür. Osmancık - 97 çeşidinde, kontrol grubu ile tuzluluk uygulanmış çeltikler arasında, kuru ağırlıklar karşılaştırıldığında oluşan farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Tuzluluk stresi arttıkça kuru ağırlıklarda düşüşler gözlemlenmiştir. Yaş ağırlıklar değerlendirildiğinde, kontrol grubu ile 60 mM tuzluluk uygulanmış çeltik bitkileri arasında, 0,6 g' lık düşüş gözlemlenmesine rağmen en büyük fark, 60 mM ile 90 mM tuzluluk uygulanmış çeltik bitkileri arasında, 0,9 g değişimle kaydedilmiştir.



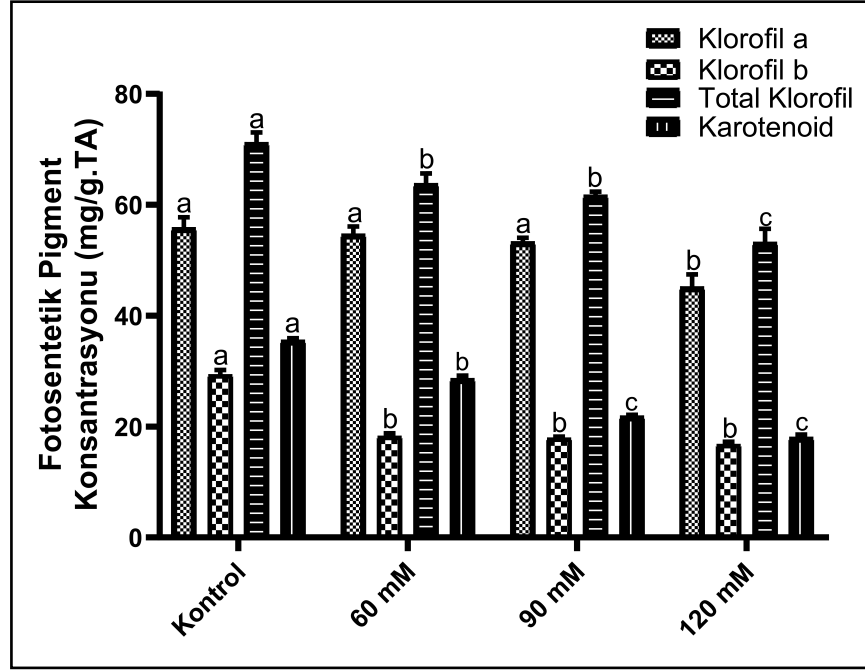
Şekil 4.3 Değişen tuzluluk stresinin bitki uzunlukları üzerindeki etkisi

Osmancık - 97 çeşidinde kontrol grubuna ait ortalama bitki uzunluğu 23.8 cm iken, 60 mM tuzluluk stresine maruz kalan bitkilerin uzunluğu 22.1 cm'e gerilemiştir. 90 mM tuzluluğa maruz kalan bitkilerin ortalama uzunluğu 19.8 cm iken, 120 mM NaCl stresine maruz kalan bitkilerdeki ortalama bitki uzunluğu 19.2 cm olmuştur. 90 mM ile 120 mM tuzluluk uygulanmış bitkiler arasında istatistiksel bitki uzunluk değişimleri olmasına rağmen, en büyük fark 2.3 cm'lik azalış ile 60 - 90 mM tuzluluk uygulanmış bitkiler arasında tespit edilmiştir.

4.1.2 Biyokimyasal Analizler

4.1.2.1 Fotosentetik Pigment Miktarı Tayini

Osmancık - 97 çeşidinde, artan tuzluluk stresinin (0 - 60 - 90 - 120 mM NaCl), fotosentetik pigment konsantrasyonlarına etkileri, spektrofotometrik olarak kaydedilmiştir. Bitkilerde, artan tuzluluk stresiyile birlikte, klorofil a, klorofil b, total klorofil ve karotenoid miktarlarında düşüş kaydedilmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4 Artan tuzluluk stresinin, Osmancık - 97 çeltik çeşidi üzerindeki pigment konsantrasyonlarına etkisi

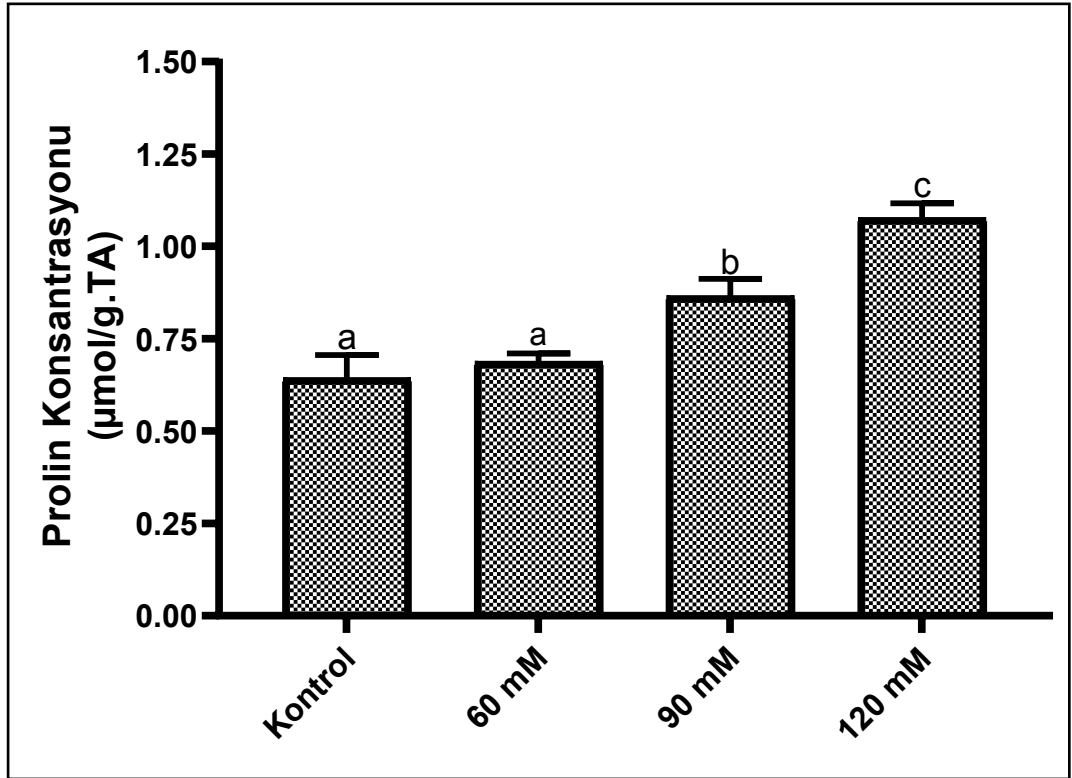
Osmancık - 97 çeşidinde klorofil a pigmenti, artan tuzluluk oranları ile düşüş göstermiştir. Kontrol, 60, 90 mM tuzluluk uygulanmış bitkiler arasında istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlemlenirken en büyük azalma, 90 - 120 mM tuzluluk stresi uygulanmış bitkiler arasında tespit edilmiştir.

Klorofil b pigmenti, benzer şekilde artan stres miktarı ile ters orantılı olarak düşüş göstermiştir. 60 - 90 - 120 mM tuzluluk uygulanmış bitkilerde düşüşler gözlemlenmiş olmasına rağmen en büyük fark, kontrol grubu ile 60 mM tuzluluk uygulanmış çeltik bitkileri arasında gerçekleşmiştir.

Karotenoid miktarlarının, artan tuzluluk ile değişim oranları değerlendirildiğinde, kontrol ve 60 mM deney grubu arasında 35,56 mg / g.TA'dan 28 mg / g.TA' ya, 60 ve 90 mM grubu arasında 28,64 mg / g.TA'dan 21,87 mg / g.TA' ya, 90 ve 120 mM grupları arasında 21,87 mg / g.TA' dan 18,02 mg / g.TA' ya düşüşler kaydedilmiştir. Kontrol, 60 ve 90 mM arasında farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunurken, 90 ve 120 mM arasında fark anlamsız bulunmuştur.

4.1.2.2 Prolin Miktarı Tayini

Osmancık - 97 çeşidinde, kontrol, 60, 90 ve 120 mM NaCl stresinin, prolin birikimi üzerindeki etkileri Şekil 4.5 üzerinde gösterilmiştir.



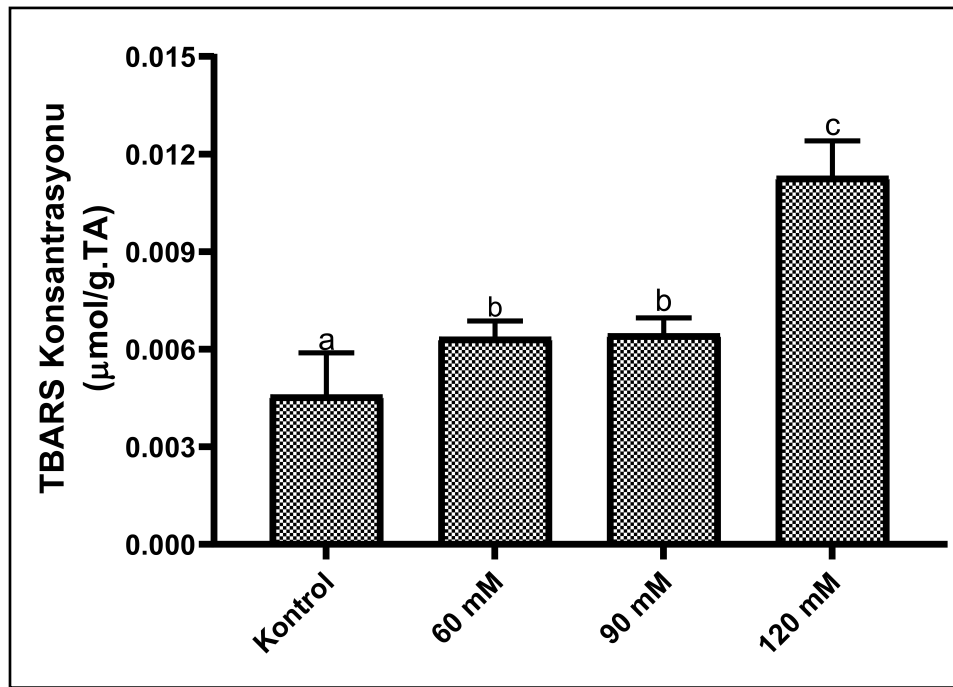
Şekil 4.5 Osmancık - 97 çeşidinde, artan tuzluluk stresi ile prolin konsantrasyonları arasındaki değişimler

Kontrol grubu ile 60 mM arasındaki fark, istatistiksel olarak anlamsızken, diğer gruplar anlamlı farklar sergilemiştir. Kontrol grubu (0,64 µmol / g.TA) ile 60 mM tuzluluk uygulanmış Osmancık - 97 çeltik çeşitleri (0,68 µmol / g.TA) arasında istatistiksel artış gözlemlenmiştir.

Tuzluluk stresinin artması ile doğru orantılı olarak büyük değişimler, 60 mM - 90 mM tuzluluk grubu (0,68 μmol / g.TA - 0,86 μmol / g.TA) ile 90 mM - 120 mM tuzluluk grubu (0,86 μmol / g.TA - 1,07 μmol / g.TA) arasında gerçekleşmiştir.

4.1.2.3 TBARS Miktarı Tayini

Artan tuzluluk miktarı ile doğru orantılı olarak Osmancık - 97 çeltik çeşitlerinde, TBARS konsantrasyonlarında artış kaydedilmiştir (Şekil 4.6).

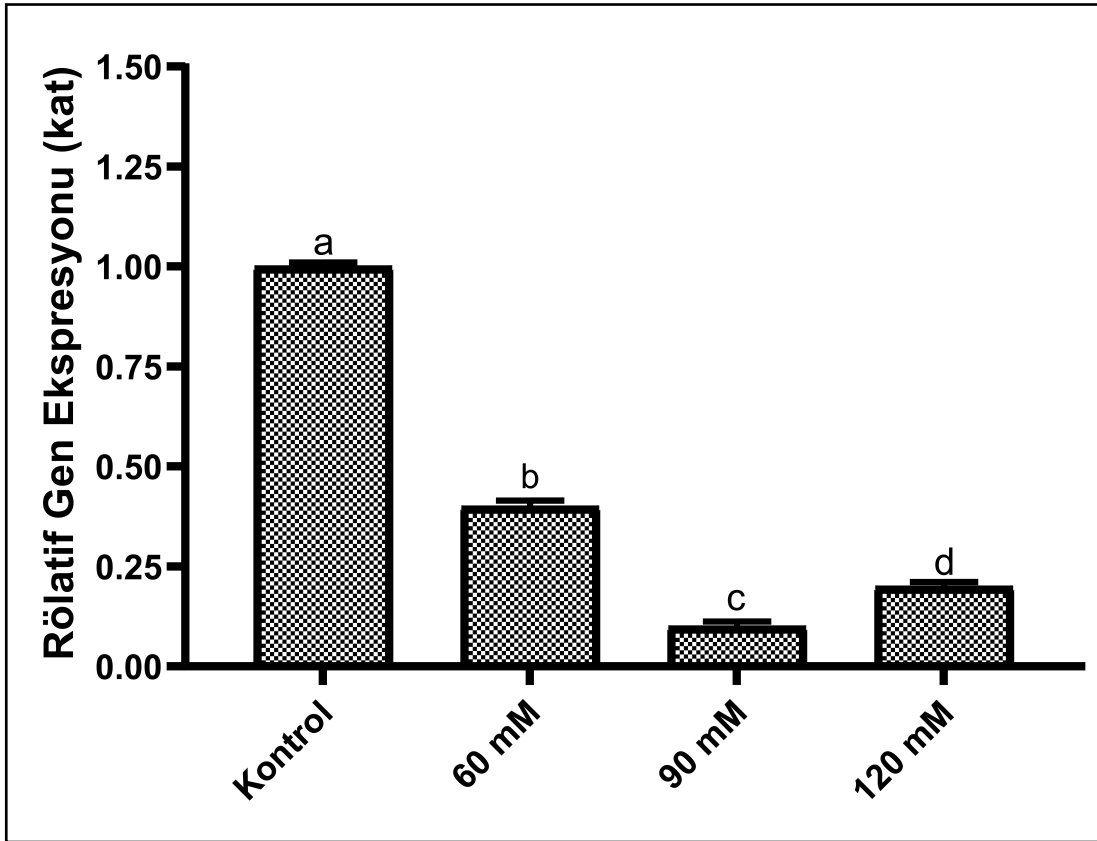


Şekil 4.6 Osmancık - 97 çeşidinde, artan tuzluluk stresinin TBARS konsantrasyonlarına etkisi

Artış 60 ve 90 mM grupları arasında istatistiksel olarak anlamsız bulunurken, diğer tüm gruplar arasındaki farklar anlamlı bulunmuştur.

4.2 Hedef Genlerin Gen İfadesi Analiz Grafikleri

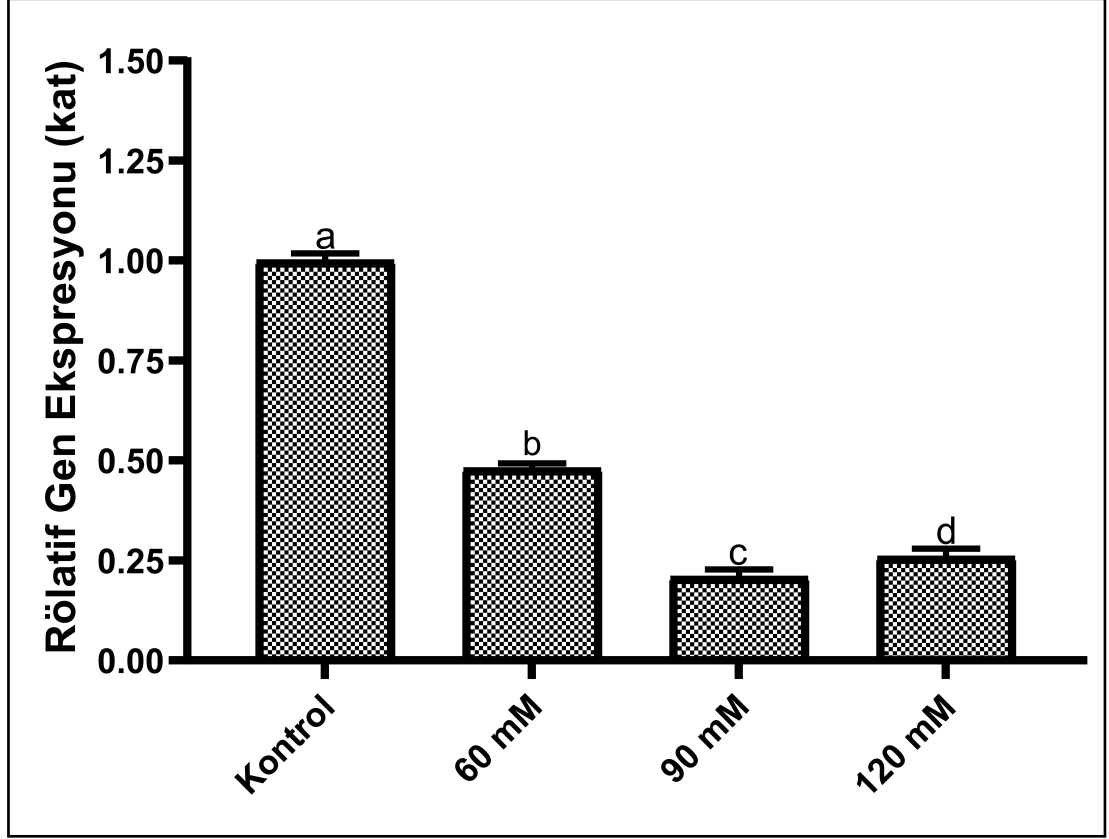
Hedef genlerin gen anlatım seviyeleri, qRT-PCR ile tespit edilmiştir. İfade değişimleri üç teknik tekrar yapılarak belirlenen cT değerleri üzerinden hesaplanarak elde edilmiştir. Osmancık - 97 çeşidinde, 60, 90 ve 120 mM tuzluluk koşulları altında *OsTPSI* geninin anlatımı kontrole göre karşılaştırılmıştır (Şekil 4.7).



Şekil 4.7 Osmancık - 97 çeşidinde, artan tuzluluk oranlarındaki *OsTPSI* gen anlatım seviyeleri

Osmancık - 97 çeşidinde 60 mM tuzluluk uygulanmış çeltiklerdeki *OsTPSI* gen anlatımı kontrole oranla % 63,3 oranında azalış göstermiştir. 90 mM tuzluluk uygulanmış çeltiklerde *OsTPSI* gen anlatımı %85 oranında azalma gösterirken, 120 mM tuzluluk grubunda % 78,2'lik bir azalış kaydedilmiştir.

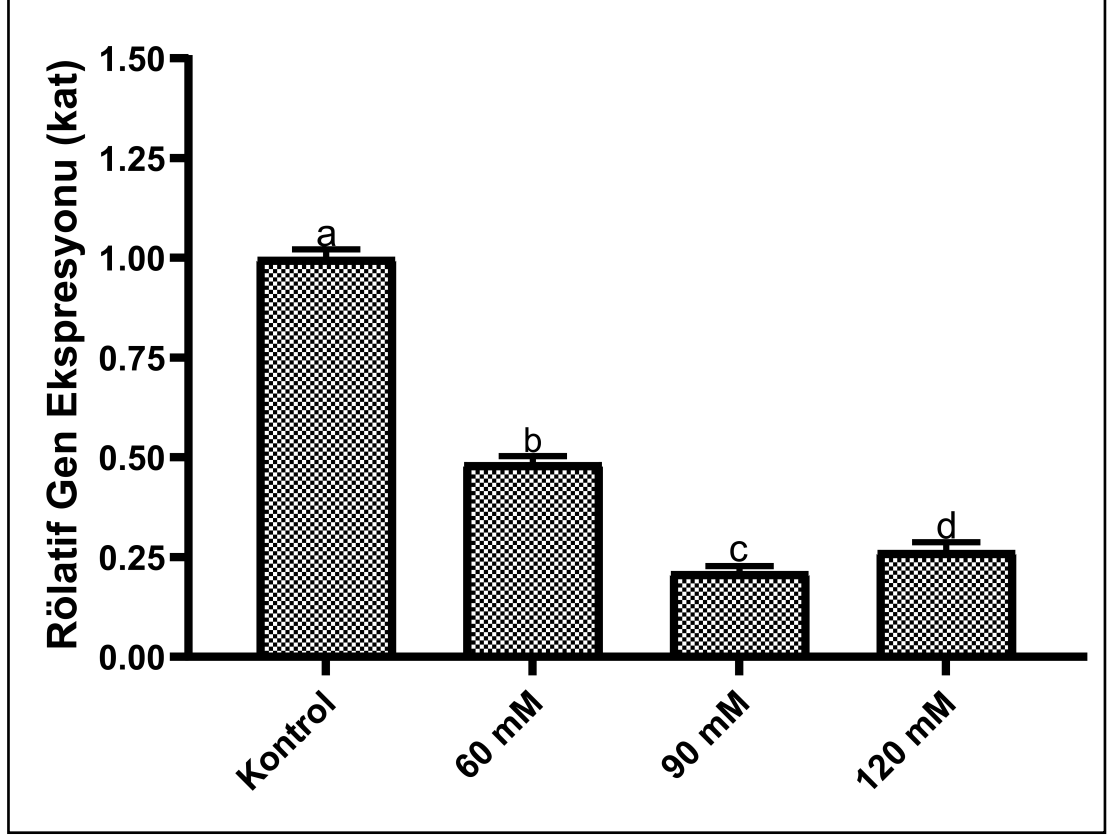
Osmancık - 97 çeşidinde, 60, 90 ve 120 mM tuzluluk koşulları altında *OsNHX1* geninin anlatımı kontrole göre değerlendirilmiştir (Şekil 4.8).



Şekil 4.8 Osmancık - 97 çeşidinde, artan tuzluluk oranlarındaki *OsNHX1* gen anlatım seviyeleri

Osmancık - 97 çeşidinde 60 mM tuzluluk uygulanmış çeltiklerdeki *OsNHX1* gen anlatımı kontrole oranla % 51,9 oranında azalış göstermiştir. 90 mM tuzluluk uygulanmış çeltiklerde *OsNHX1* gen anlatımı %79,1 oranında azalma gösterirken, 120 mM tuzluluk grubunda % 74'lük bir azalış kaydedilmiştir.

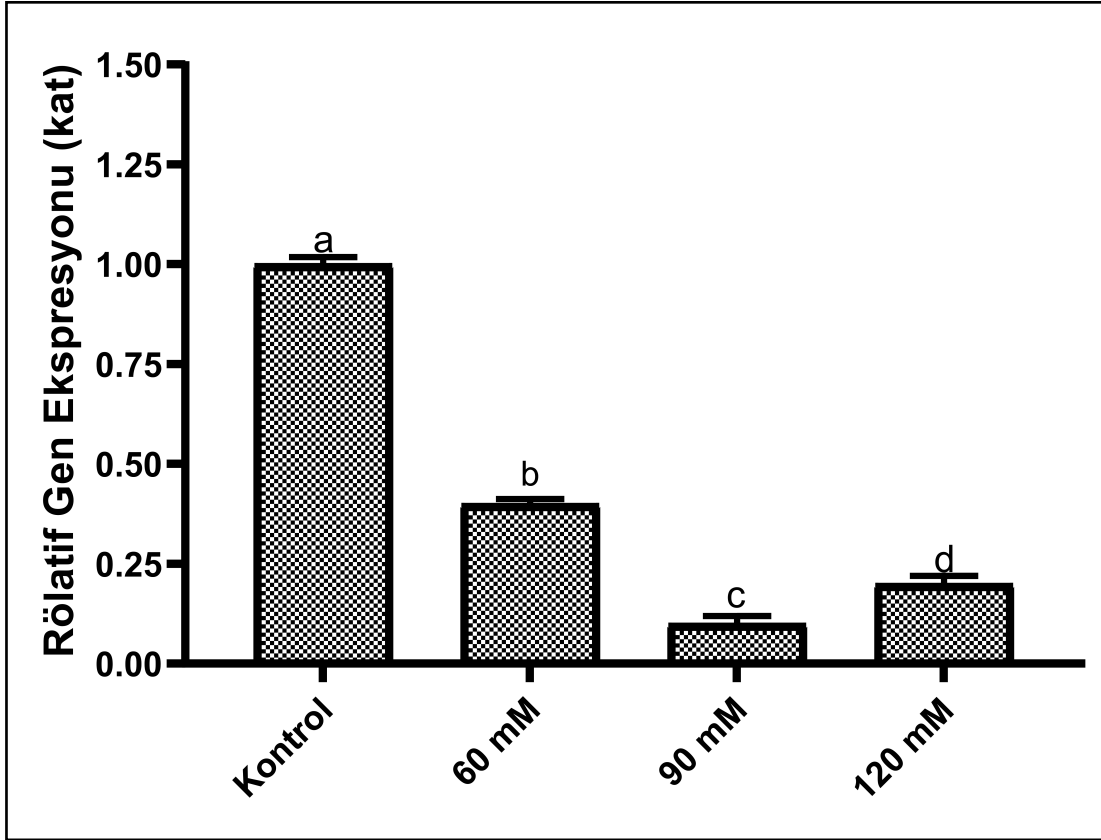
Osmancık - 97 çeşidinde, 60, 90 ve 120 mM tuzluluk koşulları altında *OsHKT2;1* geninin anlatımı kontrole göre karşılaştırılmıştır (Şekil 4.9).



Şekil 4.9 Osmancık - 97 çeşidinde, artan tuzluluk oranlarındaki *OsHKT2;1* gen anlatım seviyeleri

60 mM tuzluluk uygulanmış çeltiklerdeki *OsHKT2;1* gen anlatımı kontrole oranla % 51,4 oranında azalış göstermiştir. 90 mM tuzluluk uygulanmış çeltiklerde *OsHKT2;1* gen anlatımı %78,8 oranında azalma gösterirken, 120 mM tuzluluk grubunda % 73,5'lik bir azalış hesaplanmıştır.

Osmancık - 97 çeşidinde, 60, 90 ve 120 mM tuzluluk koşulları altında *OsSOS1* geninin ifadesi kontrole göre hesaplanmıştır (Şekil 4.10).



Şekil 4.10 Osmancık - 97 çeşidinde, artan tuzluluk oranlarındaki *OsSOS1* gen anlatım seviyeleri

60 mM tuzluluk uygulanmış çeltiklerdeki *OsSOS1* gen anlatımı kontrole oranla % 63,3 oranında azalış göstermiştir. 90 mM tuzluluk uygulanmış çeltiklerde *OsSOS1* gen anlatımı %85,1 oranında azalma gösterirken, 120 mM tuzluluk grubunda % 78,3'lük bir azalış kaydedilmiştir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez çalışması, İstanbul Kültür Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Bitki Biyoteknolojisi Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiş ve artan tuzluluk stresi altında Osmancık - 97 çeltik çeşidinde bulunan dört farklı genin, gen ifade seviyelerinde meydana gelen değişimlerin gösterilmesiyle birlikte prolin birikim miktarları, lipid peroksidasyon miktarları, fotosentetik pigment konsantrasyonları ve bitkilerin gelişimsel parametreleri değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda kullanılan çeltiklerimize, çimlenmenin 28. gününde 60, 90 ve 120 mM NaCl stresi uygulanmaya başlamış ve 10 gün boyunca sürdürülmüştür. Uygulanan stres doğrultusunda, tüm tuzluluk gruplarının stresle orantılı olarak bitki boyları, ağırlıkları ve kök uzunluklarında azalmalar meydana getirdiği gösterilmiştir. Bitki boyları karşılaştırıldığında kontrol grubuna oranla 120 mM tuzluluk uygulanmış gruptaki azalma % 19 olmuştur. Tuzluluk stresinin bitki yaş ağırlıklarına etkisi ise kontrol grubuna oranla 120 mM tuz uygulanmış olan grupta %33'lük bir azalma ile ortaya çıkmıştır. Kök uzunlukları değerlendirildiğinde, 120 mM tuz uygulanmış olan grup, benzer şekilde kontrole oranla %19'luk bir azalış göstermiştir.

Tuzluluk toleransına sahip Pokkali ve duyarlı IR-28 çeltik çeşitleri ile yapılan bir çalışmada, kısa süreli tuz stresinin tüm çeşitler üzerinde kök uzunluklarını olumsuz yönde etkilediği fakat Pokkali' ye oranla IR-28 çeşidinin stres faktöründen çok daha fazla etkilendiği görülmüştür [186].

Pokkali ve duyarlı IR-28 ile yapılan başka bir çalışmada, artan tuzluluk stresinin, IR-28 kök uzunlukları üzerinde olumsuz etkilerinin olduğu fakat iki çeşit için de bu değişimin önemli olmadığı vurgulanmıştır [187].

Mekongga, Banyuasin, Madura, Ciherang, Inpara-3 ve Inpari 13 çeltik çeşitleri ile yapılan bir çalışmada, kontrol grubu ile birlikte çeşitlere 50, 100, 150 ve 200 mM NaCl uygulaması yapılmıştır.

21 günlük bitkilere, dört hafta boyunca tuz stresi uygulaması yapılmış ve çeşitler arasında bitki boyu ve yaprak yüzeyi değişimleri belirlenmiştir. Araştırma sonucunda, tüm çeltik çeşitlerinin bitki boylarında düşüş görüldüğü rapor edilmiştir [188].

Çalışmamızda uygulanan tuz konsantrasyonları, artan strese bağlı olarak klorofil a, klorofil b, total klorofil ve karotenoid konsantrasyonunda düşüslere sebep olmuştur. Yapılan çalışmalarda, bitkilere uygulanan tuz stresi miktarına bağlı olarak, klorofil konsantrasyonunda ciddi düşüsler bildirilmiştir [189, 190].

300 mM tuz stresi uygulanmış çeltik bitkilerinde, klorofil a, klorofil b, toplam klorofil ve karotenoid konsantrasyonlarına incelenmiştir. Gala, Edirne ve Şumnu çeşitlerinde fotosentetik pigment konsantrasyonlarında azalma rapor edilmiştir [191].

Tuzluluk, klorofilaz enziminin aktivitesini arttırarak, klorofilin yıkımını tetikler. Bitkiler için en önemli enerji kaynağı fotosentezdir. Bitkilerin tuz stresine karşı toleransı değişmekle birlikte, fotosentetik pigment tayini, biyokimyasal belirteç olarak abiyotik stres faktörlerinin etkilerini göstermede kullanılmaktadır [192].

Bitki hücresinin membranında bulunan doymamış lipidler, abiyotik ve biyotik stres sonucu oluşan ROS tarafından lipit peroksidasyonuna uğratılır. Bunun sonucunda iyon taşınım sistemlerine zarar gelir. Membranda bulunan proteinler ve hücre zarı yapısı zarar görür [193]. Bu zararlanmanın ürünü olan TBARS miktarının ölçülmesi, membranlardaki oksidatif hasarın indikatörü olarak kullanılmıştır [194].

Çalışmamızda, artan tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak Osmancık - 97 çeşidinde kontrol grubu ile 120 mM tuzluluk grubunu karşılaştırdığımızda TBARS konsantrasyonunda %60' lık bir artış tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalar, artan tuzluluk stresi ile doğru orantılı olarak bitkilerde TBARS konsantrasyonlarının arttığını rapor etmektedir [195-197]. Çeltik bitkisi ile yapılan bir çalışmada, tuza duyarlı çeşitte TBARS konsantrasyonu çok yüksek bulunurken, toleranslı çeşitte TBARS konsantrasyonu düşük olarak tespit edilmiştir [198].

Yüksek tuz konsantrasyonu, bitkilerin su alımını zorlaştırır ve bunun sonucunda osmotik stres meydana gelir. Bitkiler, osmotik stresten kendilerini korumak amacıyla prolin vb. gibi uyumlu çözünenleri depolarlar [199, 200]. Çalışmamızda, 60, 90 ve 120 mM tuzluluk uygulanmış çeltiklerde, artışa bağlı prolin birikimleri gözlemlenmiştir. Kontrol grubu ile 120 mM tuzluluk uygulanmış çeltikler arasında prolin konsantrasyonları incelendiğinde, yaklaşık %40'lık bir artış saptanmıştır.

Hassas IR-29, tolerant Pokkali ve 12 çeltik çeşidi ile yapılan bir çalışmada, tüm tuzluluk konsantrasyonlarında, kontrole oranla diğer tüm grupların prolin konsantrasyonlarında artış rapor edilmiştir [201].

Yapılan başka bir çalışmada, tuz tolerant Hamilton - SR26B ile hassas Ratna çeltik çeşitleri ile çalışılmış, 100 mM tuzluluk uygulaması ardından tuza dayanıklı olan Hamilton ve SR26B çeşitlerinde prolin konsantrasyonlarının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir [202].

Trehaloz, abiyotik stres faktörlerine karşı hücrel proteinleri ve zarları koruyan, indirgenmeyen bir disakkarittir. Bitkilerdeki trehaloz üretimi ise Trehaloz-6-fosfat sentaz (TPS) / Trehaloz-6-fosfat fosfataz (TPP) aracılığı ile gerçekleşir. Trehaloz, *Arabidopsis* bitkilerinde kök uzamasını teşvik etmektedir. ADP - glukoz pirofosforilaz aktivitesini değiştirerek ve nişastanın ABA-INSENSITIVE 4 (ABI4) tarafından parçalanmasını engelleyerek kotiledonlarda nişasta birikmesine neden olmaktadır [203].

Çalışmamızda, Osmancık - 97 çeltik çeşidinde, artan tuzluluk miktarlarına bağlı olarak *OsTPS1* geninin anlatımı incelenmiş, kontrol ile 120 mM arasında %80'lik gen anlatım farklılığı hesaplanmıştır. Bunun sonucunda, diğer analiz edilen hedef genler ile birlikte değerlendirildiğinde çeşidimizin tuzluluğa hassas olduğu sonucuna varılmıştır.

A. thaliana bitkisiyle yapılan bir çalışmada, kuraklık stresi ile *AtTPS1* geninin yüksek miktardaki anlatımı ilişkilendirilmiştir [141].

Yapılan başka çalışmada, çeltik bitkisindeki *OsTPSI* geninin anlatımının artışıının, tuzluluk, kuraklık ve düşük sıcaklığa karşı tolerans geliştirmede önemli rolü olduğunu gösterilmiştir [142].

NHX antiporterları, hücre içindeki katyon/ H^+ dengesini sağlayarak, tuz ve pH seviyesini düzenler. Çalışmamızda, Osmancık - 97 çeltik çeşidinde, 60, 90 ve 120 mM tuzluluk stresinin, *OsNHX1* geninin anlatımına etkisi incelenmiştir. Kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, 120 mM tuzluluk uygulanmış grupta, %70'lik gen anlatım düşüşü tespit edilmiştir.

Trangenik çeltik bitkileri ile yapılan bir çalışmada Na^+ , K^+ / H^+ antiporter gen (*OsNHX1*) anlatımının artması sonucu, tuza toleransın arttığı gösterilmiştir [149]. Yapılan diğer çalışmalarda, *Saccharomyces cerevisiae*'de bulunan *ScNHX1* geninin ürünlerinin memeli NHE' sine homolog olduğu, prevakoular yapılarda yer aldığı ve hücre içindeki yapılar arasında Na^+ iyonunun dağılımını kontrol ettiği gösterilmiştir [204, 205]. *OsNHX* geninin transgenik mısır bitkilerinde hücre içi Na^+ dengesini sağladığı, Na^+ iyonunun vakuollere taşınımını sağlayarak tuza tolerans oluşturduğu gösterilmiştir [150].

K^+ , hücre sitozolünde bulunan temel makro besinlerdendir. Na^+ iyonunun hücre içinde yoğun şekilde bulunması, hücre iç su dengesini bozar ve K^+ iyonu ile rekabete girerek hücre iyon yükü dengesini değiştirir. Çalışmamızda, Osmancık - 97 çeltik çeşidinde *OsHKT2;1* geninin, artan tuzluluk stresi ile anlatım değişimi incelenmiştir. Kontrol bitkileri ile karşılaştırıldığında, gen anlatımının, en yüksek tuzluluk konsantrasyonunda %70 azaldığı bulunmuştur.

Yapılan çalışmalarda, NHX1 tipi taşıyıcılarının, buğday, çeltik ve *Arabidopsis* bitkilerinde, ksilemden Na^+ iyonunun uzaklaştırılarak tuz stresine karşı tolerans oluşturduğu bildirilmiştir [168-177].

Na^+ iyonunun hücre içine geçişi çok hızlı gerçekleşmektedir. Bu durum hücre için iyon homeostasisini bozarak, bitkilere zarar vermektedir. *SOS1* antiporterları, hücre içi Na^+/H^+ dengesini sağlayarak, Na^+ un hücre dışına çıkartılmasını sağlamaktadır.

Çalışmamızda, 60, 90 ve 120 mM tuzluluk uygulanmış çeltik bitkilerimizde, artan stres miktarı ile *OsSOS1* gen anlatımı %80 oranında azalmıştır. Bu sonuç, Osmancık - 97 çeşidinin, tuza duyarlı olduğunu göstermektedir.

Yapılan çalışmalarda, *SOS1* anlatımı olmayan *Arabidopsis* mutantlarında, Na^+ iyonunun dışarı atılımında eksiklik yaşandığı için tuza karşı hassasiyet görüldüğü ve köklerden sürgünlere iyon taşınımında kusurlar meydana geldiği tespit edilmiştir [183, 206]. 25 mM tuzluluk uygulanan *SOS1* mutanları ve yabancı tip çeltikler arasında, yabancı tipler, mutantlara oranla daha fazla Na^+ birikimi göstermiştir. Bu durum, sodyum iyonunun ksileme geçişi ve sürgünlere aktarımının kontrol altında tutulmasında, *SOS1*'in görev aldığını göstermiştir. Bunun aksine 100 mM tuzluluk uygulanmış kontrol ve mutant bitkilerinde, kontrole oranla mutantlarda daha fazla sodyum iyonu birikimi gözlemlenmiştir. Bunun sebebinin ise kök epidermisindeki Na^+ iyonunun dışarı çıkarılamaması ve ksilem simplast sınırı boyunca Na^+ elektrokimyasal gradientinin bozulmasından kaynaklanabileceği bildirilmiştir [206, 207]. Yüksek tuzluluk stresi altındayken, ksilem parankima ve özsuu arasındaki Na^+ iyon konsantrasyonu farkının pH gradientinden daha yüksek olabileceği ve sonuç olarak da *SOS1* aktivitesinin tersine dönerek ksilemden sodyum iyon alımı ile sonuçlanabileceği öne sürülmüştür [178, 206].

Yapılan bu tez çalışmasında, Osmancık - 97 çeşidinde strese bağlı olarak TBARS ve prolin konsantrasyonlarında artış gözlemlenirken, fotosentetik pigment konsantrasyonlarında düşüş tespit edilmiştir. Belirlenen dört farklı gen için, artan stresle birlikte gen anlatım miktarlarının azalışı, Osmancık - 97 çeşidinin tuzluluk stresine karşı duyarlı olduğu ve ıslah programlarına alınması gereken bir çeşit olduğu sonucunu çıkarmıştır.

KAYNAKÇA

1. Bardenas, E.A., Morphology and Varietal Characteristics of the Rice Plant, The. Vol. 4. 1965: Int. Rice Res. Inst.
2. Elmacı, A., Güney Marmara Çeltik Alanlarında Çeltik Yanıklık Hastalığının (Pyricularia Oryzae Cavara) Yaygınlık Ve Yakalanma Oranları İle Hastalık Şiddetinin Belirlenmesi, in FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ. 2012, EGE ÜNİVERSİTESİ: EGE ÜNİVERSİTESİ.
3. Yılmaz, K., et al., *Kır çeltik bitkisi*. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi, 2017. **27**(1): p. 151-156.
4. TAŞLIGİL, N. and G. Şahin, *Türkiye’de çeltik (Oryza sativa L.) yetiştiriciliği ve coğrafi dağılımı*. Adıyaman Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi, 2011(6): p. 182-203.
5. Bölük, E., Çeltiklerde Bakteriyel Hastalık Etmenlerinin Tespiti, Tanısı, Bazı Çeltik Çeşitlerindeki Reaksiyonları Ve Transpozon Gen Hareketlerinin Belirlenmesi, in Bitki Koruma Anabilim Dalı. 2020, T.C.Ondokuz Mayıs Üniversitesi: tez.yok.gov.tr.
6. Göney, S., *Sıcak Bölgelerde Ziraat Hayatı*. Vol. 4. 1980, Edebiyat Fakültesi Matbaası: İstanbul Üniversitesi Coğrafya Enstitüsü.
7. Kün, E., *Tahıllar II (Sıcak iklim tahılları)*. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayın, 1997(1452).
8. SEZER, İ., et al., *Çeltik üretim sistemleri*. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, 2012. **5**(2): p. 06-11.
9. Öztürk, D. and Y. Akçay, Güney Marmara Bölgesinde çeltik üretiminin genel bir degerlendirmesi. 2010.
10. Mohanty, S., Trends in Global Rice Consumption. Rice Today, 12, 44-45. 2013.
11. Doğan, H.G., A.Z. Gürler, and B. AYYILDIZ, Üretim fiyat ilişkisinde almon polinomial tekniği yaklaşımı (Samsun İli çeltik örneği). Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 2014. **31**(3): p. 49-55.
12. Sürek, H., *Ülkemizde sorun olabilen önemli çeltik hastalıkları*. Çeltik tarımı, Hasad Yayıncılık, İstanbul, Turkey, 2002: p. 116-123.

13. Bölükbaş, B. and K. İsmail, Çeltik Samanının Besin Madde Bileşimi ve Yem Değerini Artırma Yöntemleri. Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi. **58**(2): p. 99-107.
14. Kahlon, T.S., Rice bran: production, composition, functionality and food applications, physiological benefits, in Fiber ingredients. 2009, CRC Press. p. 319-336.
15. Elmacı, A., Güney Marmara Çeltik Alanlarında Çeltik Yanıklık Hastalığının (*Pyricularia Oryzae* Cavarra) Yaygınlık Ve Yakalanma Oranları İle Hastalık Şiddetinin Belirlenmesi, in Bitki Koruma Anabilim Dalı. 2012, EGE ÜNİVERSİTESİ: tez.yok.gov.tr.
16. Ayan, A., Gama Radyasyonu İle Çeltik (*Oryza Sativa* L.) Çeşitlerinde Tuzluluk Toleransının Teşviki, in Radyobiyooloji Programı. 2019, İstanbul Üniversitesi: tez.yok.gov.tr. p. 201.
17. Baulcombe, D., et al., Reaping the benefits: science and the sustainable intensification of global agriculture. 2009: The Royal Society.
18. Dobermann, A., et al., *Solutions for sustainable agriculture and food systems*. United Nations Sustainable Development Solutions Network, Paris, France, 2013.
19. Cardon, G.E., et al., *Managing saline soils*. 2003: Colorado State University Cooperative Extension Fort Collins, CO, USA.
20. Parida, A.K. and A.B. Das, Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and environmental safety*, 2005. **60**(3): p. 324-349.
21. Rozema, J. and T. Flowers, *Crops for a salinized world*. Science, 2008. **322**(5907): p. 1478-1480.
22. Sürmen, T., Bazı Patates (*Solanum tuberosum* L.) Çeşitlerinin In Vitro Şartlarda Tuzluluğa Toleransının Belirlenmesi, in Fen Bilimleri Enstitüsü / Tarla Bitkileri Anabilim Dalı. 2016, Iğdır Üniversitesi: Iğdır. p. 59.
23. Kadam, N.N., et al., Does morphological and anatomical plasticity during the vegetative stage make wheat more tolerant of water deficit stress than rice? *Plant physiology*, 2015. **167**(4): p. 1389-1401.
24. Guimaraes, E.P., *Rice breeding*, in *Cereals*. 2009, Springer. p. 99-126.

25. Li, J.-Y., J. Wang, and R.S. Zeigler, The 3,000 rice genomes project: new opportunities and challenges for future rice research. *Gigascience*, 2014. **3**(1): p. 2047-217X-3-8.
26. Izawa, T. and K. Shimamoto, Becoming a model plant: the importance of rice to plant science. *Trends in Plant Science*, 1996. **1**(3): p. 95-99.
27. Dahiya, A. and R. Saini, *Diversity of Rice: In aspects of Nutritional, Medicinal and Water saving Agriculture*. IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science (IOSR-JAVS) e-ISSN, 2016: p. 2319-2380.
28. Awika, J.M., Major cereal grains production and use around the world, in *Advances in cereal science: implications to food processing and health promotion*. 2011, ACS Publications. p. 1-13.
29. Yamaguchi, T. and H.-Y. Hirano, Function and diversification of MADS-box genes in rice. *TheScientificWorldJOURNAL*, 2006. **6**: p. 1923-1932.
30. Göney, S., *Sıcak bölgelerde ziraat hayatı*. 1980: İstanbul Üniversitesi Companyğrafya Enstitüsü.
31. Sauer, J.D., *Historical geography of crop plants: a select roster*. 1993: CRC press.
32. Ögütçü, Z., Ş. Elçi, and H. Geçit, *Tarla Bitkileri*. Ankara Üniv. Ziraat Fak., Ders Kitabı, 1984. **910**(4): p. 323.
33. Tosun, O., et al., Bitki Yetiştirme ve Islahı. Ders Notu, 1979(33).
34. Sürek, H., *Çeltik tarımı kitabı*. Hasad yayıncılık, İstanbul, 2002.
35. Kün, E., et al., *Tahıl ve yemelik dane baklagiller üretimi*. Türkiye Tarım Mühendisliği VI. Teknik Kongresi, 2005: p. 3-7.
36. Doğanay, H., *Ziraat Coğrafyası-Ekonomik Coğrafya 3*. Bizim Büro Basımevi Yayın Dağıtım, Ankara, 2007.
37. (TEPGE), T.E.V.P.G.E., *Çeltik*, T.C.T.V.O. Bakanlığı and T.E.V.P.G.E. Müdürlüğü, Editors. 2021, T.C. Tarım Ve Orman Bakanlığı: T.C. Tarım Ve Orman Bakanlığı.
38. Ashraf, M. and P. Harris, Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant science*, 2004. **166**(1): p. 3-16.

39. Mahajan, S. and N. Tuteja, Cold, salinity and drought stresses: an overview. Archives of biochemistry and biophysics, 2005. **444**(2): p. 139-158.
40. Atkinson, N.J. and P.E. Urwin, The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. Journal of experimental botany, 2012. **63**(10): p. 3523-3543.
41. Gürsoy, M., A. Balkan, and H. Ulukan, *Bitkisel üretimde allelopati*. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 2013. **27**(2): p. 115-122.
42. Singh, A.K., et al., Raising salinity tolerant rice: recent progress and future perspectives. Physiology and Molecular Biology of Plants, 2008. **14**(1): p. 137-154.
43. Pereira, A., Plant abiotic stress challenges from the changing environment. Frontiers in plant science, 2016. **7**: p. 1123.
44. Rao, N.S., R. Laxman, and K. Shivashankara, Physiological and morphological responses of horticultural crops to abiotic stresses, in Abiotic stress physiology of horticultural crops. 2016, Springer. p. 3-17.
45. Kaplan, E., *Patateste Kuraklık Ve Yüksek Sıcaklık Streslerine Tepkide Rol Oynayan miRNA'ların Yeni Nesil Dizileme Yöntemi İle Belirlenmesi*, in *Tarımsal Genetik Mühendisliği Anabilim Dalı*. 2017, T.C. Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü: Yükseköğretim Kurulu Yayın ve Dokümantasyon Daire Başkanlığı Ulusal Tez Merkezi.
46. Wang, W., B. Vinocur, and A. Altman, Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. Planta, 2003. **218**(1): p. 1-14.
47. Vinocur, B. and A. Altman, Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievements and limitations. Current opinion in biotechnology, 2005. **16**(2): p. 123-132.
48. Bhatnagar-Mathur, P., V. Vadez, and K.K. Sharma, Transgenic approaches for abiotic stress tolerance in plants: retrospect and prospects. Plant cell reports, 2008. **27**(3): p. 411-424.
49. Hirayama, T. and K. Shinozaki, Research on plant abiotic stress responses in the post-genome era: Past, present and future. The Plant Journal, 2010. **61**(6): p. 1041-1052.

50. Cramer, G.R., et al., Effects of abiotic stress on plants: a systems biology perspective. BMC plant biology, 2011. **11**(1): p. 1-14.
51. Allakhverdiev, S.I., et al., Ionic and osmotic effects of NaCl-induced inactivation of photosystems I and II in *Synechococcus* sp. Plant physiology, 2000. **123**(3): p. 1047-1056.
52. Reynolds, M., K.N. Singh, and C. Chatrath, *Application of physiology in wheat breeding*. Salinity Tolerance, ed. M.P. Reynolds, J.I. Ortiz-Monasterio, and A. McNab. 2001, Mexico: Cimmyt.
53. Rhodes, D. and P.J. Rich, Preliminary genetic studies of the phenotype of betaine deficiency in *Zea mays* L. Plant physiology, 1988. **88**(1): p. 102-108.
54. Flowers, T. and A. Yeo, Breeding for salinity resistance in crop plants: where next? Functional Plant Biology, 1995. **22**(6): p. 875-884.
55. YILDIZ, M., et al., *BİTKİLERDE TUZLULUĞA TOLERANSIN FİZYOLOJİK VE BİYOKİMYASAL MARKÖRLERİ*. Anadolu University of Sciences & Technology-C: Life Sciences & Biotechnology, 2010. **1**(1).
56. Doğru, A., FARKLI MISIR GENOTİPLERİNDE TUZ STRESİNİN ANTİOKSİDANT SİSTEM ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ.
57. Parida, A.K., A.B. Das, and P. Mohanty, Investigations on the antioxidative defence responses to NaCl stress in a mangrove, *Bruguiera parviflora*: differential regulations of isoforms of some antioxidative enzymes. Plant Growth Regulation, 2004. **42**(3): p. 213-226.
58. Hasanuzzaman, M., et al., Performance of four irrigated rice varieties under different levels of salinity stress. International Journal of Integrative Biology, 2009. **6**(2): p. 85-90.
59. DOĞRU, A. and S. CANAVAR, Bitkilerde tuz toleransının fizyolojik ve biyokimyasal bileşenleri. Akademik Platform Mühendislik ve Fen Bilimleri Dergisi, 2020. **8**(1): p. 155-174.
60. Ahmad, P. and S. Sharma, Physio-biochemical attributes in two cultivars of mulberry (*Morus alba* L.) under NaHCO₃ stress. International Journal of Plant Production, 2012. **4**(2): p. 79-86.

61. Munns, R., D. Schachtman, and A. Condon, The significance of a two-phase growth response to salinity in wheat and barley. *Functional Plant Biology*, 1995. **22**(4): p. 561-569.
62. Ahmad, M., et al., Varietals differences in agronomic performance of six wheat varieties grown under saline field environment. *International Journal of Environmental Science & Technology*, 2005. **2**(1): p. 49-57.
63. Franco, J., C. Esteban, and C. Rodriguez, Effects of salinity on various growth stages of muskmelon cv. Revigal. *Journal of Horticultural Science*, 1993. **68**(6): p. 899-904.
64. Cram, W., Internal factors regulating nitrate and chloride influx in plant cells. *Journal of Experimental Botany*, 1973. **24**(2): p. 328-341.
65. Wimmer, M., et al., The interaction between salinity and boron toxicity affects the subcellular distribution of ions and proteins in wheat leaves. *Plant, Cell & Environment*, 2003. **26**(8): p. 1267-1274.
66. Clark, A.J., K.J. Blissett, and R.P. Oliver, Investigating the role of polyols in *Cladosporium fulvum* during growth under hyper-osmotic stress and in planta. *Planta*, 2003. **216**(4): p. 614-619.
67. Misra, N. and A.K. Gupta, Effect of salt stress on proline metabolism in two high yielding genotypes of green gram. *Plant science*, 2005. **169**(2): p. 331-339.
68. Aziz, I. and M.A. Khan, Experimental assessment of salinity tolerance of *Cerriops tagal* seedlings and saplings from the Indus delta, Pakistan. *Aquatic Botany*, 2001. **70**(3): p. 259-268.
69. Kerkeb, L., J.P. Donaire, and M.P. Rodríguez-Rosales, Plasma membrane H⁺-ATPase activity is involved in adaptation of tomato calli to NaCl. *Physiologia Plantarum*, 2001. **111**(4): p. 483-490.
70. Ribaut, J. and P. Pilet, Water stress and indol-3yl-acetic acid content of maize roots. *Planta*, 1994. **193**(4): p. 502-507.
71. Hare, P., W. Cress, and J. Van Staden, The involvement of cytokinins in plant responses to environmental stress. *Plant Growth Regulation*, 1997. **23**(1): p. 79-103.

72. Hisamatsu, T., et al., The role of gibberellin biosynthesis in the control of growth and flowering in *Matthiola incana*. *Physiologia Plantarum*, 2000. **109**(1): p. 97-105.
73. Mansour, M., Nitrogen containing compounds and adaptation of plants to salinity stress. *Biologia Plantarum*, 2000. **43**(4): p. 491-500.
74. Cramer, G.R. and S.A. Quarrie, Absciscic acid is correlated with the leaf growth inhibition of four genotypes of maize differing in their response to salinity. *Functional Plant Biology*, 2002. **29**(1): p. 111-115.
75. Chakrabarti, N. and S. Mukherji, Alleviation of NaCl stress by pretreatment with phytohormones in *Vigna radiata*. *Biologia Plantarum*, 2003. **46**(4): p. 589-594.
76. Pedranzani, H., et al., Salt tolerant tomato plants show increased levels of jasmonic acid. *Plant Growth Regulation*, 2003. **41**(2): p. 149-158.
77. Kasukabe, Y., et al., Overexpression of spermidine synthase enhances tolerance to multiple environmental stresses and up-regulates the expression of various stress-regulated genes in transgenic *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Cell Physiology*, 2004. **45**(6): p. 712-722.
78. Garg, N. and G. Manchanda, ROS generation in plants: boon or bane? *Plant Biosystems*, 2009. **143**(1): p. 81-96.
79. Liang, W., et al., *Plant salt-tolerance mechanism: A review*. *Biochemical and biophysical research communications*, 2018. **495**(1): p. 286-291.
80. Munns, R., et al., Energy costs of salt tolerance in crop plants. *New Phytologist*, 2020. **225**(3): p. 1072-1090.
81. Flowers, T.J., R. Munns, and T.D. Colmer, Sodium chloride toxicity and the cellular basis of salt tolerance in halophytes. *Annals of botany*, 2015. **115**(3): p. 419-431.
82. Munns, R., Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, cell & environment*, 2002. **25**(2): p. 239-250.
83. Halliwell, B. and J.M. Gutteridge, *Free radicals in biology and medicine*. 1985.
84. Elstner, E.F., Metabolism of activated oxygen species, in *Biochemistry of metabolism*. 1987, Elsevier. p. 253-315.

85. Aoki, A., et al., Molecular cloning and characterization of a novel soybean gene encoding a leucine-zipper-like protein induced to salt stress. *Gene*, 2005. **356**: p. 135-145.
86. Eryilmaz, F., The relationships between salt stress and anthocyanin content in higher plants. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 2006. **20**(1): p. 47-52.
87. Byun, M.-O., H.-B. Kwon, and S.-C. Park, Recent advances in genetic engineering of potato crops for drought and saline stress tolerance. *Advances in molecular breeding toward drought and salt tolerant crops*, 2007: p. 713-737.
88. Uddin, M.I., et al., Selection of promising salt tolerant rice mutants derived from cultivar 'Drew' and their antioxidant enzymes activity under salt stress. *Sabarao Journal of Breeding and Genetics*, 2007. **39**(2): p. 89-98.
89. Chinnusamy, V., A. Jagendorf, and J.K. Zhu, Understanding and improving salt tolerance in plants. *Crop science*, 2005. **45**(2): p. 437-448.
90. Tanji, K.K., Salinity in the soil environment, in *Salinity: Environment-plants-molecules*. 2002, Springer. p. 21-51.
91. Zhu, J.-K., *Plant salt tolerance*. *Trends in plant science*, 2001. **6**(2): p. 66-71.
92. Hasegawa, P.M., et al., Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual review of plant biology*, 2000. **51**(1): p. 463-499.
93. Munns, R. and M. Tester, Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 2008. **59**: p. 651-681.
94. Davenport, R., et al., Control of sodium transport in durum wheat. *Plant physiology*, 2005. **137**(3): p. 807-818.
95. Foyer, C.H. and G. Noctor, Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. *Physiologia plantarum*, 2003. **119**(3): p. 355-364.
96. Sultana, N., T. Ikeda, and R. Itoh, Effect of NaCl salinity on photosynthesis and dry matter accumulation in developing rice grains. *Environmental and Experimental Botany*, 1999. **42**(3): p. 211-220.
97. Mittal, S., N. Kumari, and V. Sharma, Differential response of salt stress on *Brassica juncea*: photosynthetic performance, pigment, proline, D1 and antioxidant enzymes. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2012. **54**: p. 17-26.

98. Sibole, J.V., et al., Role of sodium in the ABA-mediated long-term growth response of bean to salt stress. *Physiologia Plantarum*, 1998. **104**(3): p. 299-305.
99. Khan, M.A. and I.A. Ungar, Effects of thermoperiod on recovery of seed germination of halophytes from saline conditions. *American Journal of Botany*, 1997. **84**(2): p. 279-283.
100. Iyengar, E. and M. Reddy, *Photosynthesis in highly salt tolerant plants*. Handbook of photosynthesis. Marshal Dekar, Baten Rose, USA, 1996. **909**.
101. Heuer, B., 40 Photosynthetic Carbon Metabolism of Crops under Salt Stress. 2005.
102. Allakhverdiev, S.I., et al., Inactivation of photosystems I and II in response to osmotic stress in *Synechococcus*. Contribution of water channels. *Plant Physiology*, 2000. **122**(4): p. 1201-1208.
103. Allakhverdiev, S.I., et al., Genetic engineering of the unsaturation of fatty acids in membrane lipids alters the tolerance of *Synechocystis* to salt stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1999. **96**(10): p. 5862-5867.
104. Yayıcı, O., *Patates (Solanum Tuberosum L.) Doku Kültüründe Somatik Mutasyonların Gama Radyasyonu İle Teşviki*, in *Biyoloji Anabilim Dalı Radyobiyoloji Programı*. 2009, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü: Yükseköğretim Kurulu Yayın ve Dokümantasyon Daire Başkanlığı Ulusal Tez Merkezi. p. 26-29.
105. Sairam, R. and A. Tyagi, Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Current science*, 2004: p. 407-421.
106. Şen, A., Buğday (*Triticum aestivum* L.) Doku Kültüründe Tuz Stresinin Etkileri. İÜ Biyoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, 72s, İstanbul, 2005.
107. Lee, H.E., et al., Ethylene responsive element binding protein 1 (STEREBP1) from *Solanum tuberosum* increases tolerance to abiotic stress in transgenic potato plants. *Biochemical and biophysical research communications*, 2007. **353**(4): p. 863-868.
108. Mba, C., et al., Induced mutations for enhancing salinity tolerance in rice, in *Advances in molecular breeding toward drought and salt tolerant crops*. 2007, Springer. p. 413-454.

109. Orthen, B., M. Popp, and N. Smirnoff, *Hydroxyl radical scavenging properties of cyclitols*. Proceedings of the Royal Society of Edinburgh, Section B: Biological Sciences, 1994. **102**: p. 269-272.
110. Bohnert, H.J., D.E. Nelson, and R.G. Jensen, *Adaptations to environmental stresses*. The plant cell, 1995. **7**(7): p. 1099.
111. Bohnert, H.J. and R.G. Jensen, Strategies for engineering water-stress tolerance in plants. Trends in biotechnology, 1996. **14**(3): p. 89-97.
112. Ashihara, H., et al., Compatible solutes and inorganic ions in the mangrove plant *Avicennia marina* and their effects on the activities of enzymes. Zeitschrift für Naturforschung C, 1997. **52**(7-8): p. 433-440.
113. Kerepesi, I. and G. Galiba, Osmotic and salt stress-induced alteration in soluble carbohydrate content in wheat seedlings. Crop science, 2000. **40**(2): p. 482-487.
114. Khan, M.A., I.A. Ungar, and A.M. Showalter, Effects of sodium chloride treatments on growth and ion accumulation of the halophyte *Haloxylon recurvum*. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 2000. **31**(17-18): p. 2763-2774.
115. Khatkar, D. and M. Kuhad, Short-term salinity induced changes in two wheat cultivars at different growth stages. Biologia Plantarum, 2000. **43**(4): p. 629-632.
116. Singh, S., et al., In vitro growth and leaf composition of grapevine cultivars as affected by sodium chloride. Biologia plantarum, 2000. **43**(2): p. 283-286.
117. Wang, Y. and N. Nii, Changes in chlorophyll, ribulose biphosphate carboxylase-oxygenase, glycine betaine content, photosynthesis and transpiration in *Amaranthus tricolor* leaves during salt stress. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 2000. **75**(6): p. 623-627.
118. Zhifang, G. and W. Loescher, Expression of a celery mannose 6-phosphate reductase in *Arabidopsis thaliana* enhances salt tolerance and induces biosynthesis of both mannitol and a glucosyl-mannitol dimer. Plant, Cell & Environment, 2003. **26**(2): p. 275-283.
119. Ashraf, M. and L. Wu, *Breeding for salinity tolerance in plants*. Critical Reviews in Plant Sciences, 1994. **13**(1): p. 17-42.

120. Chen, T.H. and N. Murata, Enhancement of tolerance of abiotic stress by metabolic engineering of betaines and other compatible solutes. *Current opinion in plant biology*, 2002. **5**(3): p. 250-257.
121. Ashraf, M. and M.R. Foolad, Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and experimental botany*, 2007. **59**(2): p. 206-216.
122. Giri, J., Glycinebetaine and abiotic stress tolerance in plants. *Plant signaling & behavior*, 2011. **6**(11): p. 1746-1751.
123. Ekşioğlu, A., *Kuraklık Stresine miRNA Cevaplarının Domateste Araştırılması*, in *Moleküler Biyoloji ve Genetik*. 2016, İstanbul Kültür Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü: <https://openaccess.iku.edu.tr/>.
124. Singh, J., V. Singh, and P. Sharma, Elucidating the role of osmotic, ionic and major salt responsive transcript components towards salinity tolerance in contrasting chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes. *Physiology and molecular biology of plants*, 2018. **24**(3): p. 441-453.
125. Aydoğan, Ç., *Patates (Solanum tuberosum L.) Çeşitlerinde Tuz Stresi ve Rhizoctonia solani Kühn İnteraksiyonunun Moleküler Düzeyde İncelenmesi*, in *Moleküler Biyoloji*. 2020, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü: Yükseköğretim Kurulu Yayın ve Dokümantasyon Daire Başkanlığı Ulusal Tez Merkezi.
126. Zhu, J.-K., Regulation of ion homeostasis under salt stress. *Current opinion in plant biology*, 2003. **6**(5): p. 441-445.
127. Zhu, J.-K., Salt and drought stress signal transduction in plants. *Annual review of plant biology*, 2002. **53**(1): p. 247-273.
128. Pampurova, S. and P. Van Dijck, The desiccation tolerant secrets of *Selaginella lepidophylla*: what we have learned so far? *Plant Physiology and Biochemistry*, 2014. **80**: p. 285-290.
129. Hu, X., et al., Genome-wide analysis of the trehalose-6-phosphate synthase (TPS) gene family and expression profiling of ScTPS genes in sugarcane. *Agronomy*, 2020. **10**(7): p. 969.

130. Figueroa, C.M. and J.E. Lunn, A tale of two sugars: trehalose 6-phosphate and sucrose. *Plant physiology*, 2016. **172**(1): p. 7-27.
131. Lunn, J.E., et al., Trehalose metabolism in plants. *The Plant Journal*, 2014. **79**(4): p. 544-567.
132. Blazquez, M.A., et al., Isolation and molecular characterization of the *Arabidopsis* TPS1 gene, encoding trehalose-6-phosphate synthase. *The Plant Journal*, 1998. **13**(5): p. 685-689.
133. Zentella, R., et al., A *Selaginella lepidophylla* trehalose-6-phosphate synthase complements growth and stress-tolerance defects in a yeast *tps1* mutant. *Plant Physiology*, 1999. **119**(4): p. 1473-1482.
134. Wang, Y.-J., et al., Isolation of trehalose-6-phosphate phosphatase gene from tobacco and its functional analysis in yeast cells. *Journal of Plant Physiology*, 2005. **162**(2): p. 215-223.
135. Zang, B., et al., Analysis of trehalose-6-phosphate synthase (TPS) gene family suggests the formation of TPS complexes in rice. *Plant molecular biology*, 2011. **76**(6): p. 507-522.
136. Ling, X., W. Zhang-xun, and H. Bo, Genome-wide identification, classification and expression of TPS family genes in soybean. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2014. **36**(2): p. 160.
137. Xie, D., et al., Identification of the trehalose-6-phosphate synthase gene family in winter wheat and expression analysis under conditions of freezing stress. *Journal of genetics*, 2015. **94**(1): p. 55-65.
138. Xu, Y., et al., Genome-wide analysis of the *Solanum tuberosum* (potato) trehalose-6-phosphate synthase (TPS) gene family: evolution and differential expression during development and stress. *BMC genomics*, 2017. **18**(1): p. 1-15.
139. Habibur Rahman Pramanik, M. and R. Imai, Functional identification of a trehalose 6-phosphate phosphatase gene that is involved in transient induction of trehalose biosynthesis during chilling stress in rice. *Plant molecular biology*, 2005. **58**(6): p. 751-762.

140. Avonce, N., et al., The Arabidopsis trehalose-6-P synthase AtTPS1 gene is a regulator of glucose, abscisic acid, and stress signaling. *Plant physiology*, 2004. **136**(3): p. 3649-3659.
141. Li, H.-W., et al., Overexpression of the trehalose-6-phosphate synthase gene OsTPS1 enhances abiotic stress tolerance in rice. *Planta*, 2011. **234**(5): p. 1007-1018.
142. Schluepmann, H., et al., Trehalose 6-phosphate is indispensable for carbohydrate utilization and growth in *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2003. **100**(11): p. 6849-6854.
143. Islam, M.O., et al., Functional identification of a rice trehalase gene involved in salt stress tolerance. *Gene*, 2019. **685**: p. 42-49.
144. Jiang, X., E.O. Leidi, and J.M. Pardo, How do vacuolar NHX exchangers function in plant salt tolerance? *Plant signaling & behavior*, 2010. **5**(7): p. 792-795.
145. Bassil, E. and E. Blumwald, The ins and outs of intracellular ion homeostasis: NHX-type cation/H⁺ transporters. *Current opinion in plant biology*, 2014. **22**: p. 1-6.
146. Fukuda, A., et al., Molecular and functional analyses of rice NHX-type Na⁺/H⁺ antiporter genes. *Planta*, 2011. **233**(1): p. 175-188.
147. Bassil, E., A. Coku, and E. Blumwald, Cellular ion homeostasis: emerging roles of intracellular NHX Na⁺/H⁺ antiporters in plant growth and development. *Journal of experimental botany*, 2012. **63**(16): p. 5727-5740.
148. Fukuda, A., et al., Function, intracellular localization and the importance in salt tolerance of a vacuolar Na⁺/H⁺ antiporter from rice. *Plant and cell physiology*, 2004. **45**(2): p. 146-159.
149. Chen, M., et al., Expression of OsNHX1 gene in maize confers salt tolerance and promotes plant growth in the field. *Plant Soil and Environment*, 2007. **53**(11): p. 490.
150. Apse, M.P., et al., Salt tolerance conferred by overexpression of a vacuolar Na⁺/H⁺ antiport in *Arabidopsis*. *Science*, 1999. **285**(5431): p. 1256-1258.
151. Zhang, H.-X. and E. Blumwald, Transgenic salt-tolerant tomato plants accumulate salt in foliage but not in fruit. *Nature biotechnology*, 2001. **19**(8): p. 765-768.

152. Zhang, H.-X., et al., Engineering salt-tolerant Brassica plants: characterization of yield and seed oil quality in transgenic plants with increased vacuolar sodium accumulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2001. **98**(22): p. 12832-12836.
153. Lebaudy, A., A.-A. Véry, and H. Sentenac, K⁺ channel activity in plants: genes, regulations and functions. *FEBS letters*, 2007. **581**(12): p. 2357-2366.
154. Suzuki, K., et al., OsHKT2; 2/1-mediated Na⁺ influx over K⁺ uptake in roots potentially increases toxic Na⁺ accumulation in a salt-tolerant landrace of rice Nona Bokra upon salinity stress. *Journal of plant research*, 2016. **129**(1): p. 67-77.
155. Gierth, M. and P. Mäser, Potassium transporters in plants—involvement in K⁺ acquisition, redistribution and homeostasis. *FEBS letters*, 2007. **581**(12): p. 2348-2356.
156. Hauser, F. and T. Horie, A conserved primary salt tolerance mechanism mediated by HKT transporters: a mechanism for sodium exclusion and maintenance of high K⁺/Na⁺ ratio in leaves during salinity stress. *Plant, cell & environment*, 2010. **33**(4): p. 552-565.
157. Flowers, T., Sodium versus potassium: substitution and compartmentation. *Encyclopedia of plant physiology*, 1983. **15**: p. 651-681.
158. Deinlein, U., et al., Plant salt-tolerance mechanisms. *Trends in plant science*, 2014. **19**(6): p. 371-379.
159. Blumwald, E., Sodium transport and salt tolerance in plants. *Current opinion in cell biology*, 2000. **12**(4): p. 431-434.
160. Horie, T., I. Karahara, and M. Katsuhara, Salinity tolerance mechanisms in glycophytes: An overview with the central focus on rice plants. *Rice*, 2012. **5**(1): p. 1-18.
161. Horie, T., F. Hauser, and J.I. Schroeder, HKT transporter-mediated salinity resistance mechanisms in Arabidopsis and monocot crop plants. *Trends in plant science*, 2009. **14**(12): p. 660-668.
162. Chen, Z., et al., Screening plants for salt tolerance by measuring K⁺ flux: a case study for barley. *Plant, Cell & Environment*, 2005. **28**(10): p. 1230-1246.

163. Chen, Z., et al., Root plasma membrane transporters controlling K⁺/Na⁺ homeostasis in salt-stressed barley. *Plant physiology*, 2007. **145**(4): p. 1714-1725.
164. Cuin, T.A., et al., A root's ability to retain K⁺ correlates with salt tolerance in wheat. *Journal of experimental botany*, 2008. **59**(10): p. 2697-2706.
165. Wu, H., et al., Durum and bread wheat differ in their ability to retain potassium in leaf mesophyll: implications for salinity stress tolerance. *Plant and Cell Physiology*, 2014. **55**(10): p. 1749-1762.
166. Wu, H., et al., K⁺ retention in leaf mesophyll, an overlooked component of salinity tolerance mechanism: a case study for barley. *Journal of integrative plant biology*, 2015. **57**(2): p. 171-185.
167. Mäser, P., et al., Altered shoot/root Na⁺ distribution and bifurcating salt sensitivity in *Arabidopsis* by genetic disruption of the Na⁺ transporter AtHKT1. *FEBS letters*, 2002. **531**(2): p. 157-161.
168. Horie, T., et al., Enhanced salt tolerance mediated by AtHKT1 transporter-induced Na⁺ unloading from xylem vessels to xylem parenchyma cells. *The Plant Journal*, 2005. **44**(6): p. 928-938.
169. Ren, Z.-H., et al., A rice quantitative trait locus for salt tolerance encodes a sodium transporter. *Nature genetics*, 2005. **37**(10): p. 1141-1146.
170. Huang, S., et al., A sodium transporter (HKT7) is a candidate for Nax1, a gene for salt tolerance in durum wheat. *Plant physiology*, 2006. **142**(4): p. 1718-1727.
171. Byrt, C.S., et al., HKT1; 5-like cation transporters linked to Na⁺ exclusion loci in wheat, Nax2 and Kna1. *Plant Physiology*, 2007. **143**(4): p. 1918-1928.
172. Davenport, R.J., et al., The Na⁺ transporter AtHKT1; 1 controls retrieval of Na⁺ from the xylem in *Arabidopsis*. *Plant, cell & environment*, 2007. **30**(4): p. 497-507.
173. Møller, I.S., et al., Shoot Na⁺ exclusion and increased salinity tolerance engineered by cell type-specific alteration of Na⁺ transport in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 2009. **21**(7): p. 2163-2178.
174. Munns, R., et al., Wheat grain yield on saline soils is improved by an ancestral Na⁺ transporter gene. *Nature biotechnology*, 2012. **30**(4): p. 360-364.

175. Schroeder, J.I., et al., Using membrane transporters to improve crops for sustainable food production. *Nature*, 2013. **497**(7447): p. 60-66.
176. Hamamoto, S., et al., HKT transporters mediate salt stress resistance in plants: from structure and function to the field. *Current opinion in biotechnology*, 2015. **32**: p. 113-120.
177. Tester, M. and R. Davenport, Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. *Annals of botany*, 2003. **91**(5): p. 503-527.
178. Cheng, C., et al., Genome-wide identification and gene expression analysis of SOS family genes in tuber mustard (*Brassica juncea* var. *tumida*). *Plos one*, 2019. **14**(11): p. e0224672.
179. Shi, H., et al., The *Arabidopsis thaliana* salt tolerance gene SOS1 encodes a putative Na⁺/H⁺ antiporter. *Proceedings of the national academy of sciences*, 2000. **97**(12): p. 6896-6901.
180. Liu, J., et al., The *Arabidopsis thaliana* SOS2 gene encodes a protein kinase that is required for salt tolerance. *Proceedings of the national academy of sciences*, 2000. **97**(7): p. 3730-3734.
181. Gong, D., et al., The SOS3 family of calcium sensors and SOS2 family of protein kinases in *Arabidopsis*. *Plant physiology*, 2004. **134**(3): p. 919-926.
182. Qiu, Q.-S., et al., Regulation of SOS1, a plasma membrane Na⁺/H⁺ exchanger in *Arabidopsis thaliana*, by SOS2 and SOS3. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2002. **99**(12): p. 8436-8441.
183. Zhu, J.-K., J. Liu, and L. Xiong, Genetic analysis of salt tolerance in *Arabidopsis*: evidence for a critical role of potassium nutrition. *The Plant Cell*, 1998. **10**(7): p. 1181-1191.
184. Shi, H., et al., Overexpression of a plasma membrane Na⁺/H⁺ antiporter gene improves salt tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Nature biotechnology*, 2003. **21**(1): p. 81-85.
185. Vaidyanathan, H., et al., Scavenging of reactive oxygen species in NaCl-stressed rice (*Oryza sativa* L.)—differential response in salt-tolerant and sensitive varieties. *Plant Science*, 2003. **165**(6): p. 1411-1418.

186. Demiral, T. and I. Türkan, Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. *Environmental and experimental botany*, 2005. **53**(3): p. 247-257.
187. Hariadi, Y.C., et al., Screening six varieties of rice (*Oryzasativa*) for salinity tolerance. *Procedia Environmental Sciences*, 2015. **28**: p. 78-87.
188. Sivritepe, N., Asmalarda tuza dayanıklılık testleri ve tuza dayanımda etkili bazı faktörler üzerinde araştırmalar. 1995.
189. Jamil, M., et al., Effect of salinity on physiological and biochemical characteristics of different varieties of rice. *Pak. J. Bot*, 2012. **44**(1): p. 7-13.
190. ORCAN, P., Tuz Stresine Maruz Bırakılan Çeltik (*Oryza Sativa* L.) Çeşitlerinde Radikal Söndürme Ve Antioksidan Enzim Aktiviteleri, in *Fen Bilimleri Enstitüsü*. 2017, Dicle Üniversitesi: Ulusal Tez Merkezi.
191. Gong, D., et al., Effects of salt stress on photosynthetic pigments and activity of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase in *Kalidium foliatum*. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2018. **65**(1): p. 98-103.
192. Awasthi, J.P., et al., Morpho-physiological analysis of tolerance to aluminum toxicity in rice varieties of North East India. *PloS one*, 2017. **12**(4): p. e0176357.
193. Li, N., et al., mTOR-dependent synapse formation underlies the rapid antidepressant effects of NMDA antagonists. *Science*, 2010. **329**(5994): p. 959-964.
194. Khan, M. and S. Panda, Alterations in root lipid peroxidation and antioxidative responses in two rice cultivars under NaCl-salinity stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2008. **30**(1): p. 81-89.
195. Savicka, M. and N. Škute, Effects of high temperature on malondialdehyde content, superoxide production and growth changes in wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.). *Ekologija*, 2010. **56**(1): p. 26-33.
196. Zhang, L., et al., EFFECT OF DROUGHT STRESS ON LIPID PEROXIDATION AND PROLINE CONTENT IN COTTON ROOTS. *JAPS: Journal of Animal & Plant Sciences*, 2014. **24**(6).
197. Lutts, S., J. Kinet, and J. Bouharmont, NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa*L.) cultivars differing in salinity resistance. *Annals of botany*, 1996. **78**(3): p. 389-398.

198. Holmström, K.O., et al., Improved tolerance to salinity and low temperature in transgenic tobacco producing glycine betaine. *Journal of experimental botany*, 2000. **51**(343): p. 177-185.
199. Qureshi, M., et al., Potential of *Rhizobium* species to enhance growth and fodder yield of maize in the presence and absence of l-tryptophan. *J Anim Plant Sci*, 2013. **23**(5): p. 1448-1454.
200. Chunthaburee, S., et al., Physiological and biochemical parameters for evaluation and clustering of rice cultivars differing in salt tolerance at seedling stage. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2016. **23**(4): p. 467-477.
201. Bhattacharjee, S. and A. Mukherjee, Salt stress-induced cytosolute accumulation, antioxidant response and membrane deterioration in three rice cultivars during early germination. *Seed Science and Technology*, 2002. **30**(2): p. 279-287.
202. Ramon, M., et al., ABI4 mediates the effects of exogenous trehalose on *Arabidopsis* growth and starch breakdown. *Plant molecular biology*, 2007. **63**(2): p. 195-206.
203. Nass, R., K.W. Cunningham, and R. Rao, Intracellular sequestration of sodium by a novel Na⁺/H⁺ exchanger in yeast is enhanced by mutations in the plasma membrane H⁺-ATPase: insights into mechanisms of sodium tolerance. *Journal of Biological Chemistry*, 1997. **272**(42): p. 26145-26152.
204. Nass, R. and R. Rao, Novel localization of a Na⁺/H⁺ exchanger in a late endosomal compartment of yeast: implications for vacuole biogenesis. *Journal of Biological Chemistry*, 1998. **273**(33): p. 21054-21060.
205. Shi, H., et al., The putative plasma membrane Na⁺/H⁺ antiporter SOS1 controls long-distance Na⁺ transport in plants. *The plant cell*, 2002. **14**(2): p. 465-477.
206. Pardo, J.M., et al., Alkali cation exchangers: roles in cellular homeostasis and stress tolerance. *Journal of experimental botany*, 2006. **57**(5): p. 1181-1199.
207. Yin, C.C., et al., RNA extraction and preparation in rice (*Oryza sativa*). *Current Protocols in Plant Biology*, 2016. **1**(2): p. 411-418.