



**NOHUT BİTKİSİNDE ARBÜSKÜLER
MİKORİZAL FUNGUS (AMF) UYGULAMASININ
ALKALİ STRESİ ÜZERİNE EPİGENETİK
DEĞİŞİKLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

Azize BUTTANRI

Yüksek Lisans Tezi

Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı

2026

(Her hakkı saklıdır.)

T.C.
ERZURUM TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI



NOHUT BİTKİSİNDE ARBÜSKÜLER MİKORİZAL FUNGUS (AMF)
UYGULAMASININ ALKALİ STRES ÜZERİNE EPİGENETİK
DEĞİŞİKLİKLERİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Azize BUTTANRI

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Ayşe Gül KASAPOĞLU

ERZURUM, 2026

T.C.
ERZURUM TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TEZ KABUL VE ONAY TUTANAĞI

**NOHUT BİTKİSİNDE ARBÜSKÜLER MİKORİZAL FUNGUS (AMF)
UYGULAMASININ ALKALİ STRES ÜZERİNE EPİGENETİK
DEĞİŞİKLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

Dr. Öğr. Üyesi Ayşe Gül KASAPOĞLU danışmanlığında Azize BUTTANRI tarafından hazırlanan bu çalışma 8.01.2026 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak **Oy birliği ile (3/3)** kabul edilmiştir.

Danışman:	Dr. Öğr. Üyesi Ayşe Gül KASAPOĞLU <i>Erzurum Teknik Üniversitesi</i>	<i>İmza</i>
Üye:	Prof. Dr. Emre İLHAN <i>Erzurum Teknik Üniversitesi</i>	<i>İmza</i>
Üye:	Doç. Dr. Esra ARSLAN YÜKSEL <i>Atatürk Üniversitesi</i>	<i>İmza</i>

Yukarıdaki sonucu onaylıyorum.

Prof. Dr. İlker KAZAZ
Enstitü Müdürü

Bu tez çalışması Erzurum Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Koordinatörlüğü tarafından 2025/048 numaralı proje ile desteklenmiştir.

ÜRETKEN YAPAY ZEKÂ VE ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

Erzurum Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki tüm bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etik ilkelere uygun davrandığımı ve tezin hazırlanması sürecinde üretken yapay zekâ programlarından, içeriğin ve sonuçların özgünlük sorumluluğunun tarafıma ait olması ve çalışmanın bilimsel niteliğini etkilemeyecek düzeyde, yalnızca yardımcı bir araç olarak sınırlı düzeyde destek alındığını beyan ederim.

8.01.2026

İmzası

Azize BUTTANRI

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez konumun belirlenmesinden bu çalışmanın tamamlanmasına kadar geçen süreçte, bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşarak her aşamada yol gösteren; karşılaştığım güçlükler karşısında çözüm odaklı yaklaşımıyla beni daima daha iyiye yönlendiren; maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen değerli danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Ayşe Gül KASAPOĞLU'na sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmanın başlangıcından tamamlanmasına kadar geçen süreçte her zaman yanımda olan, sabır ve desteklerini esirgemeyen hocam Prof. Dr. Emre İLHAN'a; Prof. Dr. Adem GÜNEŞ'e, Doç. Dr. Emre DEMİNER DURAK'a, Dr. Selman MUSLU'ya, Doktora Öğrencisi Sümeyra UÇAR'a, Doktora Öğrencisi Esra YAPRAK'a, Doktora Öğrencisi Ahmed Sidar AYGÖREN'e; ayrıca değerli çalışma ekibimden Doktora Öğrencisi Burak Muhammed ÖNER'e, Yüksek Lisans Öğrencisi Cemile GÜNEŞ'e, Yüksek Lisans Öğrencisi Bilgehan YILDIRIM'a ve Yüksek Lisans Öğrencisi Sümeyya İNCE'ye katkı ve desteklerinden dolayı teşekkürü bir borç bilirim.

Hayatım boyunca her koşulda yanımda olan, sabır ve hoşgörülerini benden esirgemeyen, sevgi ve desteklerini daima hissettiren aileme en içten sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Azize BUTTANRI

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NOHUT BİTKİSİNDE ARBÜSKÜLER MİKORİZAL FUNGUS (AMF) UYGULAMASININ ALKALİ STRESİ ÜZERİNE EPİGENETİK DEĞİŞİKLİKLERİNİN İNCELENMESİ.

Azize BUTTANRI

Erzurum Teknik Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Ayşe Gül KASAPOĞLU

Alkali stres, özellikle baklagillerden biri olan nohut (*Cicer arietinum* L.) bitkisinde büyüme, verim ve gelişimi olumsuz yönde etkilemektedir. Literatürde alkali stresin nohut üzerindeki etkileri veya arbusküler mikorizal fungusların (AMF) nohut bitkisindeki rolleri ayrı ayrı ele alınmış olmakla birlikte, alkali stres ve AMF kombinasyonunun epigenetik yaklaşımlar çerçevesinde incelendiği çalışmalara sınırlı sayıda rastlanmaktadır. Bu çalışmada, kontrol (0 mM) ve 100 mM Na₂CO₃ alkali stres konsantrasyonları altında yetiştirilen Damla-89 ve Aydoğan nohut çeşitlerinde AMF uygulamasına bağlı olarak meydana gelen epigenetik değişiklikler ve bu değişikliklerin biyolojik yansımaları araştırılmıştır. Alkali stres koşullarında AMF uygulamasının morfolojik, biyokimyasal, element içeriği ve DNA metilasyon düzeyi üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Sonuçlar, AMF+100 mM Alkali stres kombinasyonunda her iki çeşitte de AMF spor yoğunluğunun ve sürgün ile kök uzunluklarının arttığını göstermiştir. Biyokimyasal analizlerde , AMF+100 mM alkali stres uygulamasında prolin içeriğinde artış gözlenirken, SOD, POD ve APX aktivitelerinin uygulamalara ve genotiplere bağlı olarak değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir. Element analizlerinde Na, Cu, Fe, Ni ve P içeriklerinde artış tespit edilmiştir. CRED–iPBS analizleri kapsamında 11 farklı iPBS primeri değerlendirilmiş ve polimorfizm düzeyleri belirlenmiştir. Analiz sonuçlarına göre, primerlerin neredeyse tamamında polimorfik bant profilleri tespit edilmiştir. Polimorfizmin en belirgin olduğu primerlerin ise iPBS-2083, iPBS-2377 ve iPBS-2400 olduğu saptanmıştır. Ayrıca tüm uygulamalarda DNA metilasyonuna bağlı değişimlerin meydana geldiğini; kontrol grubuna kıyasla *MspI* ve *HpaII* enzimleriyle elde edilen toplam bant sayılarında artış olduğunu ortaya koymuştur. Bunun yanı sıra, yaprak ve kök dokularında özellikle Sınıf IV bant tiplerinde artış gözlenmiş, HMO, FMO ve TMO (%) değerlerinde genel bir yükselme belirlenirken, HMO değerlerinde her iki çeşitte de azalış tespit edilmiştir. Elde edilen bulgular, AMF uygulamasının alkali stres koşullarında nohut bitkisinde epigenetik düzenlemeler yoluyla stres toleransına katkı sağlayabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Alkali stres, *Cicer arietinum*, arbusküler mikorizal fungus, epigenetik, metilasyon, CRED–iPBS

ABSTRACT

MASTER'S THESIS INVESTIGATION OF EPIGENETIC CHANGES IN CHICKPEA PLANTS UNDER ALKALI STRESS BY APPLICATION OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI (AMF)

Azize BUTTANRI

Erzurum Technical University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Molecular Biology And Genetics

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Ayşe Gül KASAPOĞLU

Alkaline stress negatively affects growth, yield, and development, particularly in chickpea (*Cicer arietinum* L.), a legume. While the effects of alkaline stress on chickpea and the roles of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in chickpea plants have been discussed separately in the literature, studies investigating the combination of alkaline stress and AMF within the framework of epigenetic approaches are limited. In this study, epigenetic changes and their biological implications were investigated in Damla-89 and Aydoğın chickpea genotypes grown under control (0 mM) and 100 mM Na₂CO₃ alkaline stress concentrations, following AMF application. The effects of AMF application under alkaline stress conditions on morphological, biochemical, elemental content, and DNA methylation level were evaluated. The results showed that in both varieties, the AMF+100 mM alkali stress combination increased AMF spore density and shoot and root lengths. Biochemical analyses revealed an increase in proline content in AMF+100 mM alkali stress application, while SOD, POD, and APX activities varied depending on the applications and genotypes. Elemental analyses showed an increase in Na, Cu, Fe, Ni, and P content. Within the scope of CRED–iPBS analyses, 11 different iPBS primers were evaluated and their polymorphism levels were determined. According to the analysis results, polymorphic band profiles were detected in almost all primers. The primers with the most pronounced polymorphism were found to be iPBS-2083, iPBS-2377 and iPBS-2400. Furthermore, it revealed that changes related to DNA methylation occurred in all applications; there was an increase in the total number of bands obtained with the *MspI* and *HpaII* enzymes compared to the control group. Furthermore, an increase was observed in leaf and root tissues, particularly in Class IV band types, while a general increase was determined in HMO, FMO, and TMO (%) values; however, a decrease was detected in HMO values in both genotypes. The findings indicate that AMF application can contribute to stress tolerance in chickpea plants under alkali stress conditions through epigenetic modifications.

Keywords: Alkaline stress, *Cicer arietinum*, arbuscular mycorrhizal fungus, epigenetics, methylation, CRED–iPBS

İÇİNDEKİLER

ÜRETKEN YAPAY ZEKÂ VE ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI	i
TEŞEKKÜR	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT	iv
TABLolar DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Kaynak Özetleri.....	6
1.1.1. Nohut ve abiyotik stres ile ilgili çalışmalar	6
1.1.2. Mikoriza ve epigenetik ile ilgili çalışmalar	8
1.1.3. DNA metilasyonu ve CRED-iPBS ile ilgili çalışmalar	10
2. MATERYAL ve YÖNTEM.....	13
2.1. Bitki Materyali ve Arbüsküler Mikorizal Fungusların Temini	13
2.2. Ön Stres Denemesi ve Uygun NaHCO ₃ Dozunun Belirlenmesi.....	13
2.3. Bitkilerin Yetiştirilmesi ve Stres Uygulaması.....	14
2.4. Alkali Stres ve AMF Uygulamalarının Deneysel Tasarımı	15
2.5. Tohum Sterilizasyonu, Yetiştirme Ortamının Hazırlanması, AMF ve Stres Uygulaması	16
2.6. Kök Örneklerinin Hazırlanması ve Fiksasyonu	17
2.7. Köklerde AMF'nin Saptanması.....	17
2.8. Toprakta AMF Spor Yoğunluğunun Belirlenmesi	18
2.9. Morfolojik Analizler.....	19
2.10. Biyokimyasal Analizler	19
2.10.1. Prolin miktarının belirlenmesi	19
2.10.2. Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂) ölçümü	20
2.10.3. Lipit peroksidasyonunun belirlenmesi.....	20
2.10.4. Süperoksit Dismutaz (SOD) enzim aktivitesi ölçümü.....	21
2.10.5. Peroksidaz (POD) enzim aktivitesi ölçümü.....	21
2.10.6. Askorbat Peroksidaz (APX) enzim aktivitesi ölçümü	21
2.10.7. Antioksidan enzim aktivite (SOD, POD ve APX) ölçümü.....	21

2.11. Element Analizi	22
2.12. İstatiksel Veri Analizi.....	22
2.13. Moleküler Analizler	22
2.13.1. DNA izolasyonu	22
2.13.2. CRED-iPBS yönteminin uygulanması	24
2.13.3. CRED-iPBS PCR analizi.....	24
2.13.4. Elektroforez işlemi	25
3. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	26
3.1. AMF Parametrelerinin Değerlendirilmesi.....	26
3.1.1. Toprak ve köklerde AMF tanımlanması.....	26
3.1.2. Alkali stres ve AMF koşullarında pH değişimleri.....	28
3.2. Stres ve AMF Uygulamalarının Bitki Morfolojisi Üzerindeki Etkileri	30
3.2.1. Stres öncesi ve sonrası morfolojik gözlemler	30
3.2.2. Sürgün ve kök uzunluğu (mm)	33
3.2.3. Sürgün yaş ve kuru ağırlığı (g)	34
3.2.4. Kök yaş ve kuru ağırlığı (g).....	35
3.3. Alkali Stres ve AMF Uygulamalarının Biyokimyasal Analizleri	36
3.3.1. Prolin miktarı	37
3.3.2. H ₂ O ₂ ve MDA miktarı	38
3.3.3. SOD, POD ve APX aktivitesi.....	40
3.4. Alkali ve AMF Uygulamalarında Mineral Kompozisyon Değişimi	43
3.5. CRED-iPBS Analizleri.....	50
4. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	61
4.1. Sonuç	61
4.2. Öneri.....	63
KAYNAKÇA	64
EKLER.....	79
EK-1	79

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Çalışmada kullanılan nohut çeşitlerinin temin edildiği kurum.....	13
Tablo 2.2. Ön Stres denemesi.....	14
Tablo 2.3. Uygulama aşamaları.....	15
Tablo 2.4. Örneklerden elde edilen DNA'ların nanodrop spektrofotometre ölçümleri....	23
Tablo 2.5. iPBS çalışmasında kullanılan primerlerin dizi bilgisi ve bağlanma sıcaklığı..	24
Tablo 3.1. Nohut çeşitlerinin topraktaki AMF spor yoğunluğu.....	26
Tablo 3.2. Nohut çeşitlerinde köklerdeki AMF kolonizasyon parametreleri.....	27
Tablo 3.3. Damla-89 ve Aydoğan çeşitlerinin alkali stres sonrası ph değerleri.....	29
Tablo 3.4. Uygulamalara göre çeşitlerin yaprak ve dal sayısı (adet).....	33
Tablo 3.5. Uygulamalara göre çeşitlerin sürgün ve kök uzunlukları (mm).....	34
Tablo 3.6. Uygulamalara göre çeşitlerin sürgün yaş ve kuru ağırlıkları (g).....	35
Tablo 3.7. Uygulamalara göre çeşitlerin kök yaş ve kök kuru ağırlıkları (g).....	36
Tablo 3.8. Uygulamalara göre çeşitlerin Mn (%) ve Na yüzdesi (%).....	43
Tablo 3.9. Uygulamalara göre çeşitlerin Ca (%) ve Cd yüzdeleri (%).....	44
Tablo 3.10. Uygulamalara göre çeşitlerin K (%) ve Mg (%) yüzdeleri.....	45
Tablo 3.11. Uygulamalara göre çeşitlerin Ni (%) ve P (%) yüzdeleri.....	46
Tablo 3.12. Uygulamalara göre çeşitlerin Pb (%) ve S (%) yüzdeleri.....	47
Tablo 3.13. Uygulamalara göre çeşitlerinin Al (%) ve B (%) içeriği.....	48
Tablo 3.14. Uygulamalara göre çeşitlerin Co (%) ve Cr (%) yüzdeleri.....	49
Tablo 3.15. Uygulamalara göre çeşitlerin Cu (%) ve Fe (%) yüzdeleri.....	49
Tablo 3.16. Uygulamalara göre çeşitlerin Zn (%) içeriği.....	50
Tablo 3.17. Damla-89 çeşidinin yaprak dokusunda alkali, AMF ve alkali/AMF uygulamalarının CRED-iPBS bant sayıları ve polimorfizm yüzdeleri.....	55

Tablo 3.18. Damla-89 eşidinin yaprak dokularında alkali, AMF ve alkali/AMF uygulamalarında CRED-iPBS sınıf türlerinin oluşumları ve (%) HMO, FMO ve TMOdeğerleri.....	57
Tablo 3.19. Aydoğan eşidinin yaprak dokusunda alkali, AMF ve alkali/AMF uygulamalarının CRED-iPBS bant sayıları ve polimorfizm yüzdeleri.....	59
Tablo 3.20. Aydoğan eşidinin yaprak dokularında alkali, AMF ve alkali/AMF uygulamalarında CRED-iPSB sınıf türlerinin oluşumları ve (%) HMO, FMO ve TMOdeğerleri.....	61



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Bitkilerde gelişim sürecinde stres yanıtını şekillendiren epigenetik mekanizmalar.....	4
Şekil 1.2. DNA metilasyonun işleyişi.....	5
Şekil 2.1. Farklı nohut çeşitlerinde alkali stres uygulamasının morfojik ve fizyolojik parametreleri.....	15
Şekil 2.2. Nohut tohumlarına AMF inokülasyonu.....	16
Şekil 2.3. AMF kök kolonizasyonunun tespiti için boyama yapılmış kök parçaları.....	18
Şekil 3.1. Aydoğan çeşidi -Alkali stres uygulaması sonrası morfolojik değişimler.....	31
Şekil 3.2. Damla-89 çeşidi -Alkali stres uygulama sonrası morfolojik değişimler.....	32
Şekil 3.3. Nohut çeşitlerinin prolin miktarının değişimi.....	38
Şekil 3.4. Nohut çeşitlerinin H ₂ O ₂ miktarının değişimi.....	39
Şekil 3.5. Nohut çeşitlerinin MDA miktarının değişimi.....	40
Şekil 3.6. Nohut çeşitlerinin SOD miktarının değişimi.....	41
Şekil 3.7. Nohut çeşitlerinin POD miktarının değişimi.....	42
Şekil 3.8. Nohut çeşitlerinin APX miktarının değişimi.....	43
Şekil 3.9. 2377-iPBS primerine ait jel görüntüsü.....	52
Şekil 3.10. 2400-iPBS primerine ait jel görüntüsü.....	52

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

AMF	Arbüsküler Mikorizal Funguslar
APX	Peroksidaz
CO_3^{2-}	Karbonatlar
CRED-RA	Enzimle Kesim-Rastgele Amplifikasyon
DNA	Deoksiriboz nükleik asit
H_2O_2	Hidrojen Peroksit
HCO_3^-	Bikarbonatlar
HMO	Yarı Metilasyon
iPBS	Primerler Arası Bağlanma Bölgesi
MDA	Malondialdehit
Na_2CO_3	Sodyum bikarbonat
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RAPD	Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA
RE	Restriksiyon Enzimi
RNA	Ribonükleik asit
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SOD	Süperoksit Dismutaz
TMO	Toplam Metilasyon Oranı
FMO	Tüm Metilasyon Oranı
C	Santigrat
mg	Miligram
ml	Mililitre
mM	Milimolar
°	Derece
μg	Mikrogram
μL	Mikrolitre
μm	Mikromolar

1. GİRİŞ

Kuru baklagiller, yüksek besin değeri ve tarımsal üretim potansiyelleri nedeniyle hem insan hem de hayvan beslenmesinde önemli bir yere sahiptir. Aynı zamanda oldukça zengin bir familyaya sahiptir. Geniş bir tür çeşitliliğine sahip olan bu bitki grubu, sürdürülebilir tarım sistemlerinin desteklenmesinde ve ülke ekonomisinde de kritik bir rol üstlenmektedir (Çakan ve Turhan 2023; Uskutoğlu ve İdikut 2023). Bu bağlamda Orta Asya ve Afrika'nın birçok bölgesinde başlıca diyet protein kaynaklarından biri ve yenilebilir formlarıyla temel bir beslenme ögesi olarak kuru baklagiller kullanılmaktadır (Atmaca ve Endes 2022). Besin bileşimi açısından değerlendirildiğinde kuru baklagillerden biri olan nohut; özellikle protein, mineral ve vitamin içerikleri bakımından birçok bitkisel ürüne kıyasla daha zengindir. Düşük yağ içeriğiyle de dikkat çeken nohut, dengeli bir beslenme için ideal bir gıda maddesi olarak kabul edilmektedir (Çakan ve Turhan 2023).

Nohut (*Cicer arietinum* L.), dünya genelinde en eski kültüre alınmış ve en yaygın şekilde tüketilen baklagil türlerinden biridir. Özellikle tropikal ve subtropikal bölgelerde temel bir gıda maddesi olarak öne çıkmaktadır (Alajaji and El-Adawy 2006). Botanik yapısı incelendiğinde nohut tanesi, tohum kabuğu ve kotiledonlardan oluşan bir yapıya sahiptir. Kotiledonlar içerisinde yer alan nişasta granülleri, protein matrisi ile çevrilidir. Bu yapı, nişastanın fiziksel stabilitesini ve besinsel yararlılığını belirlemede önemli bir rol oynamaktadır (Sayar vd 2001, 2003). Nohut, özellikle gelişmekte olan ülkeler için önemli bir protein, karbonhidrat, B grubu vitaminleri ve bazı temel minerallerin kaynağını oluşturmaktadır (Chavan et al. 1987). Yüksek besin içeriği sayesinde bu baklagil, bitkisel kökenli gıdalar arasında değerli bir protein kaynağı olarak kabul edilmekte ve bu özelliğiyle insan beslenmesinde yaygın bir şekilde tercih edilmektedir (Frias et al. 2000).

Küresel iklim değişikliğinin meydana getirdiği çeşitli çevresel stres faktörleri dünyada tarımsal üretimi etkiler, bitkilerin üretim ve verim kalitesini kısıtlar (Doğan ve Doğan 2023). Çevresel stresler doğada abiyotik (sıcaklık, kuraklık, tuzluluk, alkali vb.) veya biyotik (patojenler, böcek, mikroorganizmalar vb.) şeklinde bulunmaktadır (Stevens et al. 2006). Bu stres etkenleri bitkilerin büyüme ve gelişmelerini engeller ve mahsul

verimliliğini azaltır (Zhang et al. 2022). Günümüzde en ciddi ekolojik ve tarımsal sorunlardan biri toprak alkaliliğidir. Yüksek pH'a sahip olan toprak alkaliliği, kurak ve yarı kurak iklimlerde oldukça yaygındır (Slama et al. 2015; Li et al. 2018; Yang et al. 2020). Alkali topraklar, bitki büyümesini ve ürün üretimini etkileyen zayıf fiziksel özelliklerinden dolayı verimlilik sorunlarına neden olmaktadır. Bikarbonatlar (HCO_3^-) ve karbonatlar (CO_3^{2-}) alkaliliğin başlıca nedenleridir. Dolayısıyla toprakta daha fazla HCO_3^- veya CO_3^{2-} bulunursa pH artacak ve bitkiler hem tuzluluk hem de alkalilik stresinden olumsuz yönde etkilenecektir. Toprak alkalileşmesinin artmasıyla toprak bozulması ve ürün veriminde azalma meydana gelmektedir (Zhang et al. 2011; Kızılkaya et al. 2024).

Alkali stres, tuzluluk stresinden daha zararlı bir etkiye sahiptir ve yüksek pH seviyeleri, iyon alımını engelleyerek ve sodyum (Na^+) dışlama mekanizmalarını etkileyerek bitkilerin büyümesini olumsuz yönde etkiler (Yang et al. 2024). Tuzluluk ve alkali stresi altında, bitkiler reaktif oksijen türleri (ROS) üretir. Bu ROS'lar, hücre zarlarını bozar ve fotosentetik pigmentler ile proteinler gibi önemli makromolekülleri tahrip eder (Abdulmajeed 2023).

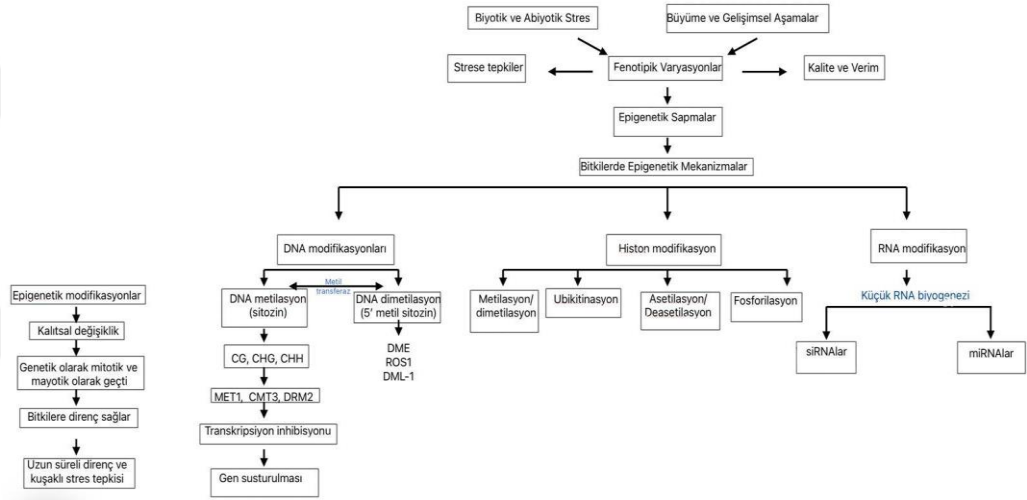
Son yıllarda, stres kaynaklı faktörlerin etkilerini azaltmaya yönelik çalışmalarda öne çıkan yaklaşımlardan biri de mikroorganizmaların kullanımıdır. Hem doğal bir yöntem olması hem de verim için uzun vadeli olması nedeniyle tercih edilmektedir (Çelik vd 2019). Bitkiler özellikle strese karşı koruyucu bir sisteme sahip olmakla birlikte, stres semptomlarını hafifletebilecek bazı toprak mikroorganizmaları ile büyümektedir. Mikorizal fungus, ilk kez Frank (1885) tarafından bitki kökleri ile bazı fungusların arasındaki simbiyotik ilişkiyi tanımlamada kullanılmıştır (Moser and Haselwandter 1975). Bu ilişkide konukçu bitki, mikorizaya karbonhidrat ve bazı organik maddeleri sağlarken, mikoriza da bitkiye besin ve su alımı sağlamaktadır (Rhodes 1980; Bolan et al. 1987; Li et al. 1991). Fungal miselyum, kök yapılarına ve simbiyotik ilişkilerine göre ikiye ayrılmaktadır. Endomikoriza, mantarın kök hücrelerine girerek dallı yapılar oluşturduğu bir ilişkiyi ifade ederken, ektomikoriza, mantarın kök yüzeyini sararak dışsal bir yapı oluşturur. Bu iki mikorizal tip, bitkilerin besin alımını ve stres toleransını farklı şekillerde etkiler (Marschner 1995; Çelik vd 2019). Arbusküler mikorizal funguslar (AMF), en yaygın görülen endomikorizal yaşam şekillerinden biridir ve hemen hemen bütün kara bitkilerinde görülmektedir (Gerdemann 1968; Mosse 1973; Demir 2002).

AMF, çoğu bitkinin kökleriyle simbiyotik bir ilişki kurarak yalnızca bitki büyümesini etkilemekle kalmaz, aynı zamanda kuraklık (Navarro-Fernández et al. 2011), sıcaklık (Xian-can et al. 2010), tuzluluk (Abbaspour 2010) ve alkali stres (Farghaly et al. 2022) gibi abiyotik stres koşullarına karşı bitki toleransını artırır ve konukçu bitki ile mantar arasında bir iletişim ağı oluşturarak daha verimli büyümesini sağlar (Harrier 2001; Porcel et al. 2006). Toprakların fiziksel ve kimyasal yapısını doğrudan etkileyen AMF'ler, bu özellikler üzerinden bitki performansı ile simbiyotik mikroorganizma popülasyonlarını ve genel toprak mikrobiyomunu önemli ölçüde şekillendirmektedir (Pagano 2013; Karipçin ve Şatır 2016). Ayrıca, bazı mikorizal türlerin miselyumlarının toprak agregatlarını bir araya getirerek toprağın yapısal bütünlüğünü koruması, toprak erozyonunun önlenmesine ve kayıpların azaltılmasına katkıda bulunur (Tisdall 1994; Gholamhoseini et al. 2013).

AMF, bitkilerle simbiyotik ilişkiler kurarak, özellikle kök patojenlerine karşı savunma mekanizmalarını güçlendirir. AMF kolonizasyonu, bitki dokularında kimyasal bileşiklerin üretimini artırarak patojenlerin sporulasyonunu engeller ve hastalık gelişimini baskılar (Song et al. 2015; Farhaoui et al. 2025). Ayrıca, mikorizal simbiyotik yaşamda fitoaleksin ve fenolik bileşiklerin miktarı da artmaktadır (Morandi 1996). AMF bitkilerdeki stres toleransı üzerindeki olumlu etkileri, özellikle alkalın topraklarda belirginleşmektedir. AMF, bitkilerin ozmotik dengesini düzenleyerek, yüksek pH ve iyonik dengesizlikleri kontrol altında tutar ve bu da bitkilerin strese karşı dayanıklılığını artırır (Lin et al. 2012; Huang et al. 2024). Ayrıca, AMF'ler sodyum ve klorür gibi toksik iyonların bitki hücrelerine girişini engelleyerek iyon toksisitesini azaltır ve bitkilerin su dengesini korur (Gul et al. 2023).

Stres etmenlerinin bitkilerde neden olduğu zarar, bitkinin türüne, stres toleransına ve uyum sağlama kapasitesine bağlı olarak değişkenlik gösterir (Kadıoğlu 2004; Rao et al. 2006). Bitkilerin yaşam döngüleri boyunca çeşitli stres faktörlerine maruz kaldığı düşünüldüğünde, bu streslere ilişkin mekanizmaların aydınlatılması ve dayanıklı türlerin geliştirilmesi büyük önem arz etmektedir (Büyük vd 2012). Bitkilerin strese karşı moleküler tepkileri, genetik ve epigenetik mekanizmalar olmak üzere iki ana kategoride incelenmektedir. Epigenetik düzenleme, stres kaynaklı gen ifadesini kontrol eden mekanizmaları içerirken, bu süreçler genellikle küçük RNA'lar ve kromatinin yeniden modellenmesi ile gerçekleşir (Bannister and Kouzarides 2011; Covelo-Molares et al. 2018;

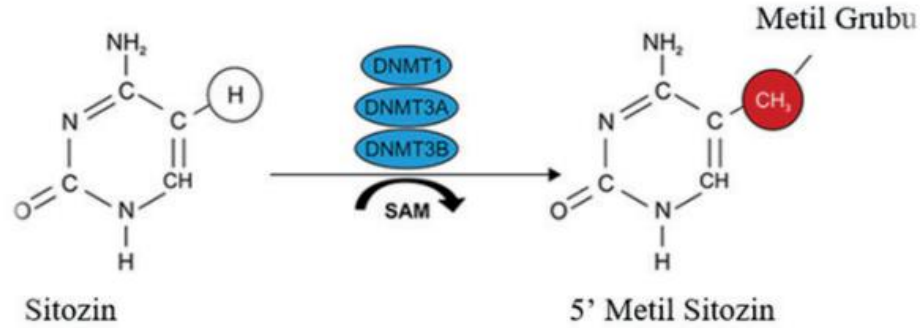
Aydınyurt 2023). Epigenetik mekanizmalar, DNA metilasyonu, histon modifikasyonları ve kromatin düzenlemeleri gibi unsurları kapsamaktadır (Şekil 1.1). DNA metilasyonu gen susturulmasını ve genom kararlılığının korunmasını sağlar. Bitkilerde 5-metilsitozin eklenmesi CG, CHG ve CHH dizilerinde gerçekleşir ve metiltransferazlar tarafından korunur (Martienssen and Colot 2001; Zemach et al. 2013; da Costa et al. 2024). Histonlar DNA'yı paketleyip erişimi düzenlediğinden, histon modifikasyonları DNA'nın erişilebilirliğini doğrudan etkiler. Bu histonların modifikasyonları genellikle H3 ve H4 histonlarının asetilasyon veya metilasyonudur. Kodlamayan RNA'lar arasında yer alan siRNA ve miRNA'lar, hedef mRNA'ları keserek veya translasyonu baskılayarak gen ifadesini düzenler (Liu et al. 2018; Agarwal et al. 2020; da Costa et al. 2024).



Şekil 1.1. Bitkilerde gelişim sürecinde stres yanıtını şekillendiren epigenetik mekanizmalar (Abdulraheem et al. 2024)

Özellikle DNA metilasyonu, bitkilerde gen ifadesini baskılayarak önemli bir rol oynamaktadır (Feng and Jacobsen 2011; Vanyushin and Ashapkin 2011). DNA metilasyonu, sitozin bazının 5. karbonuna metil grubu (CH₃) eklenmesiyle oluşur (Şekil 1.2). Bu değişiklik, genlerin çalışmasını etkiler. Metilasyon genellikle CpG bölgelerinde görülür; özellikle promotör bölgelerindeki metillenme, genin aktif olmasını engeller. Bu işlem, DNA metiltransferaz adı verilen enzimler sayesinde gerçekleşir (Mandal et al. 2017; Aydınur vd 2023). Genlerin düzenleyici bölgelerinde DNA metilasyonu, transkripsiyonun engellenmesine neden olabilir. Ayrıca, intron içindeki transpozonlar ve tekrarlayan dizilerdeki metilasyon, mRNA'nın alternatif eklenmesi ve poliadenilasyonu gibi işleme aşamalarını etkileyebilmektedir (Karaca et al. 2016). Bitkilerde stres

faktörlerine bağlı epigenetik değişiklikler, özellikle genomdaki metilsitozin düzeyindeki farklılıklar, güncel tekniklerle analiz edilebilmektedir (Altunkaynak et al. 2016).



Şekil 1.2. DNA metilasyonun işleyişi (Bae et al.2020)

Model organizma dışındaki türlerde epigenomik yapılar büyük çeşitlilik gösterebilmekte ve genom verilerinin sınırlı olması bu alandaki çalışmaları güçleştirmektedir (Springer et al. 2016). Bununla birlikte, epigenom düzeni ile gözlenen fenotipik tepkiler arasındaki olası bağlantıların ortaya çıkarılması hem evrimsel süreçlerin anlaşılmasında hem de değişen iklim koşullarına uyum sağlayabilecek bitki ıslah stratejilerinin daha doğru öngörülmesinde büyük önem taşımaktadır (Gallusci et al. 2017; Richards et al. 2017; Alonso et al. 2019). Abiyotik stresler, DNA metilasyon kalıplarında değişikliklere yol açarak bitkilerin çevresel uyaranlara yanıt verme süreçlerini etkiler (Kuhlmann et al. 2023). Bitkilerde stres altında oluşan epigenetik değişiklikler, zamanla gelişen çeşitli yöntemlerle incelenmektedir. İlk dönemde Rastgele Çoğaltılmış Polimorfik DNA (RAPD) yöntemi yaygın olarak kullanılmıştır. Daha sonra, genomdaki DNA metilasyonunu analiz etmek için İkili Kesim Enzimi ve Kesim-Rastgele Amplifikasyon (CRED-RA) tekniği geliştirilmiştir. CRED-RA, özellikle 5'-CCGG-3' dizisini tanıyan *MspI* ve *HpaII* enzimleri ile metilasyon durumunu belirler. Bu enzimler, metil grubunun konumuna bağlı olarak DNA'yı kesme özelliği gösterir (Cai et al. 1996). CRED-RA yöntemiyle elde edilen DNA parçaları, PCR tabanlı marker teknikleriyle çoğaltılarak analiz edilir (Altunkaynak et al. 2016; Rai et al. 2018). CRED-iPBS (CRED-Inter Priming Binding Sites) yöntemi, bitkilerde genetik çeşitliliği ve epigenetik mekanizmaları araştırmak için geliştirilmiş yenilikçi bir tekniktir (Kalender et al. 2010). iPBS, intergenik DNA bölgelerini hedef alan primerler kullanarak birbirine yakın iki Primer Bağlanma Bölgesi (PBS) alanının PCR ile çoğaltılmasına olanak tanır. Ayrıca retrotranspozonların hareketini tespit etmek için kullanılır. Retrotranspozonlar, genomda

hareket edebilen ve genlerin ifadesini değiştirme potansiyeli olan mobil genetik elemanlardır. Bu elemanlar, epigenetik mekanizmaları etkileyerek genom yapısını ve fonksiyonlarını değiştirebilirler. Böylece, genetik çeşitlilik ve popölasyon yapısı hakkında veri toplamak mümkün olmaktadır (Karık et al. 2019; Karagoz et al. 2020; Aydınıurt 2023). Birçok bitkide arpa, buğday, armut, mısıır ve kayısı gibi türlerde genom değişkenliğini ve stabilitesini değerlendirmek için başarıyla uygulanmıştır (Nemli et al. 2015; Türkoğlu et al. 2023). CRED-iPBS tekniği, DNA metilasyon durumunu incelemek için de kullanılmaktadır (Rai et al. 2018; Aydınıurt 2023). Böylelikle, metilasyon kalıplarının analizi geręekleřtirilebilir ve epigenetik düzenlemelerin bitkilerin stres yanıtlarındaki rolü daha iyi anlaşılabilir.

Literatürde yapılan çalışmaların çoğunda tuz stresinin bitkiler üzerindeki toksik etkileri vurgulanmış, ancak alkali tolerans mekanizmaları hâlâ tam olarak anlaşılamamıştır. Tuz toleransı veya tuz-alkali stresine karşı tolerans mekanizmaları hakkında çeşitli bilgiler bulunmasına rağmen, alkali stres konusundaki bilgiler yetersiz olup özellikle de nohut üzerine yapılan çalışmaların sayısı oldukça azdır. Ayrıca, alkali stres faktörünün ve bu stres faktörüne karşı farklı AMF türlerinin (*Glomus intraradices*, *Glomus aggregatum*, *Glomus mosseae*, *Glomus clarum*, *Glomus monosporus*, *Glomus deserticola*, *Glomus etunicatum*, *Paraglomus brasilianum*, *Gigaspora margarita*) nohut bitkisinin büyümesi üzerindeki etkisi hakkında yeteri kadar çalışma bulunmamaktadır. Alkali stres, epigenetik modifikasyonları tetikleyerek bitki büyümesini olumsuz etkilemektedir. Bu alışma, farklı alkali stres ve AMF konsantrasyonlarında yetiştirilen nohut çeşitlerinde meydana gelen epigenetik değişiklikleri ve bu değişikliklerin morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal etkilerini değerlendirmeyi amaçlamaktadır. Ayrıca, AMF uygulamasının, alkali stres altındaki nohut bitkilerinde stresin oluşturduğu tahribatı hafifletip hafifletmediği incelenmiştir.

1.1. Kaynak Özetleri

1.1.1. Nohut ve abiyotik stres ile ilgili alışmalar

Nohut (*Cicer arietinum* L.), yüksek oranda (%17-22) protein içeren önemli bir besin kaynağıdır. Nohut proteinlerinin gıda uygulamaları henüz gelişme aşamasında olmakla birlikte, yumuşak aroma, nötr tat ve açık renk özellikleri nedeniyle çeşitli

ürünlerde kullanım potansiyeli taşımaktadır. Ayrıca, nohut proteinleri ve hidrolizatları işlevsel bileşen olarak umut vaat etmektedir (Boukid 2021).

Nohut, yüksek protein içeriğiyle küresel ölçekte önemli bir baklagildir. Potansiyel verimi hektar başına 6 ton olmasına rağmen, yağmurla beslenen alanlarda ortalama verim 1 ton civarındadır. Sıcaklık, soğuk, kuraklık ve tuzluluk gibi abiyotik stresler verimliliği sınırlamaktadır. Bu streslere tolerans kazandırmak amacıyla fizyolojik, biyokimyasal, moleküler ve genetik mekanizmalar üzerine çalışmalar yürütülmektedir. Geniş nohut germplazm koleksiyonları, klasik ıslah, ön ıslah ve yabancı türlerden gen/alel introgresyonu ile çeşit geliştirmede kullanılmaktadır. Moleküler markörler, omik teknolojiler ve gen düzenleme yöntemleri, stres toleransı ve verim bileşenlerinin iyileştirilmesine katkı sağlamaktadır. İklim değişikliği koşullarında, dar genetik tabanın genişletilmesi ve geleneksel-moleküler yaklaşımların entegrasyonu, yüksek verimli ve abiyotik streslere dayanıklı nohut çeşitlerinin geliştirilmesinde kritik öneme sahiptir (Arriagada et al. 2022).

Kuraklık, nohut üretimini sınırlayan başlıca abiyotik stres olup, nohut genotipleri bu stresle kaçış, kaçınma ve tolerans stratejileriyle mücadele etmektedir. Melezleme, mutasyon, markör destekli ıslah, genom dizilimi ve omiks yaklaşımları gibi modern ıslah yöntemleri, nohutun kuraklığa dayanıklılığını artırmak için kullanılmaktadır (Asati et al. 2022).

Literatürde yapılan bir çalışmada (Khan et al. 2015), tuza duyarlılığı farklı üç nohut çeşidinin hafif ve orta düzey tuzluluk koşullarına verdikleri fizyolojik tepkileri incelemiştir. Çalışmada, yüksek tuzluluk düzeyinde hassas genotipin erken dönemde öldüğü, toleranslı genotipin ise daha uzun süre yaşamını sürdürdüğü ve yalnızca düşük seviyede tuzlulukta sınırlı bakla oluşturabildiği bildirilmiştir. Tuz uygulamaları fotosentezi genotiplere göre değişen düzeylerde azaltmış, ancak bu azalışın esas olarak stoma dışı sınırlamalardan kaynaklandığı belirtilmiştir.

Samini et al. (2011), farklı NaCl düzeylerinin nohudun hem vejetatif hem de üreme evresinde belirgin duyarlılık oluşturduğunu bildirmiştir. Çalışmada, dayanıklı olarak kabul edilen JG11'in bile yüksek tuzlulukta ciddi verim kaybı yaşadığı, 40–60 mM NaCl'de bitkilerin erken öldüğü, düşük tuzlulukta ise bakla sayısının önemli ölçüde azaldığı belirtilmiştir. Tuz uygulamalarında sürgünlerde klor (Cl^-) birikiminin baskın

olduğu ve iyonların çiçek dokularına kadar taşındığı ifade edilmiştir. Ayrıca bakla oluşumunun tuzluluğa en hassas süreç olduğu, tuzun kaldırılmasıyla bitkilerin yeniden çiçek ve bakla üretebildiği rapor edilmiştir.

Kumar et al. (2024) tarafından yapılan çalışmada, alkali stresin nohut fidelerinin büyüme ve kök yapısını olumsuz etkileyerek bitki gelişimini sınırlandırdığı rapor edilmiştir. Na_2CO_3 ve NaHCO_3 uygulamaları, sürgün ve kök uzunlukları ile taze ve kuru ağırlıklarda belirgin azalmaya yol açmış; ayrıca köklerde hasar ve yan kök sayısında düşüş olduğu tespit edilmiştir. Stres koşullarında hücre canlılığı azalırken, hidrojen peroksit seviyesi ve membran hasarının arttığı ortaya konulmuştur. Bu bulgular, alkali strese dayanıklı nohut çeşitlerinin geliştirilmesinde genetik iyileştirmenin önemini vurgulamaktadır.

1.1.2. Mikoriza ve epigenetik ile ilgili çalışmalar

Bitki kökleri, büyüme için su ve besin alımının yanı sıra toprak mikroorganizmalarıyla simbiyotik ilişkiler kurar, bunlar arasında azot sabitleyen bakterilerle kök nodülü ve arbusküler mikoriza simbiyozu bulunur. Cardarelli et al. (2010), *Glomus intraradices* içeren AMF inokülasyonunun, kabak bitkilerinde alkali pH koşullarında (pH 8,1) mineral ve organik gübreleme altında verim ve besin elementlerinin alımını olumlu etkilediği incelenmiştir. Alkali stresteki +AM bitkiler, –AM bitkilere göre özellikle P, K, Fe, Mn, Zn alımı daha iyi korunduğu ve organik gübreleme altında kök kolonizasyon oranı (%35,7) mineral gübrelemeye (%11,7) kıyasla çok daha yüksek olduğu ortaya konulmuştur. Son yıllarda yapılan genetik çalışmalar, bu süreçler için gerekli genlerin ve ortak mekanizmaların belirlenmesine katkı sağlamaktadır. Kök hücrelerindeki dinamik epigenetik değişikliklerin incelenmesi, bu süreçlerin daha iyi anlaşılmasını sağlayarak tarım ve ekoloji alanında yeni yaklaşımlar geliştirilmesine olanak tanır (Zanetti et al. 2024).

Farhad et al. (2024) çalışması, çeltik sapı biyokömürü ile arbusküler mikoriza mantarı uygulamasının, atık suyla sulanan topraklardaki kurşun, kadmiyum, nikel, bakır, kobalt ve çinko'nun biyo-yararlanabilirliğini %22-52, bitkideki metal birikimini ise %57-93 oranında anlamlı biçimde azalttığını ortaya koymaktadır. Ayrıca bu kombine uygulama; bezelyede sürgün kuru ağırlığı (%66), kök kuru ağırlığı (%48) ve tohum

verimini (%56) artırmış, toprak enzim aktivitelerinde ise (üreaz, katalaz, peroksidaz, fosfataz, β -glukozidaz, fluorescein diasetat) %78–235 aralığında iyileşme sağlamıştır.

Huang et al. (2024), tarafından toprakta %0,2 ile %0,8 arasında değişen EDTA şelatlı biyokömür (ECB) seviyeleri ve AMF uygulamalarının, mısırın sürgün ve kök morfolojisi, klorofil içeriği, gaz değişim özellikleri ve antioksidan aktivite gibi biyokimyasal parametrelerdeki değişiklikleri incelemiştir. Bunun sonucunda, %0,8 ECB ve AMF uygulamasının, sürgün uzunluğunu yaklaşık %22, sürgün kuru ağırlığını %51, kök uzunluğunu %46 ve kök kuru ağırlığını %27 oranında artırdığını göstermektedir. Ayrıca, bu kombinasyon klorofil a, b ve toplam klorofil içeriği ile fotosentez hızı, terleme hızı ve stomatal iletkenlikte de önemli artışlar sağlamaktadır. Bu bulgular, tuzlu topraklarda mısır üretiminin artırılmasında %0,8 ECB ve AMF uygulamasının etkili bir strateji olabileceğini göstermektedir.

Karipçin ve Şatır (2016), %100 ve %50 su düzeyi altında *Glomus* türü AMF inokülasyonu yapılan marul bitkilerinde, tam sulama koşullarının kanopi çapı, baş ağırlığı, baş çapı, baş boyu, pazarlanabilir yaprak sayısı/ağırlığı gibi verim bileşenlerini olumlu etkilediğini, yapraklardaki azot içeriğinin artış eğiliminde olduğunu ve demir içeriğinin en yüksek değere ulaştığını tespit etmiştir. Ayrıca, yarı sulama (%50) uygulamasında kök bölgesinde ortalama 86,7 adet spor ve %56,7 AMF enfeksiyon oranı gözlemlenerek, su stresi altında mikorizal etkinliğin belirgin şekilde arttığı saptanmıştır.

Glomus mosseae (AMF) aşılması, kadmiyuma duyarlı *Medicago sativa*'da biyokütle artırdığı Cd birikimini azalttığını ortaya koymaktadır. Bu etkinin, AMF ile indüklenen kök eksüdatlarının Cd'yi pasifleştiren ve bitki büyümesini destekleyen bakterileri harekete geçirmesiyle ilgili olduğu tespit edilmiştir. Mikrokozmos ve sera deneylerinde rosmarinik asit, miristik asit ve indol-3-asetik asidin (IAA) bitki büyümesini artırdığı özellikle rosmarinik asidin rizosferde Cd bulunabilirliğini azaltarak AMF etkisine benzer sonuçlar verdiği de tespit edilmiştir. Rosmarinik asit, işlevsel bakterilerin zenginleşmesinde güçlü kemotaksi ve biyofilm oluşturma kapasitesi göstermektedir (Zhang et al. 2025).

Fasani et al. (2023), ağır metaller ve metaloidlerin neden olduğu toprak kirliliğine karşı bitkilerin epigenetik tepkilerini incelemiştir. Bitkilerin, çevresel streslere uyum sağlamak ve bu adaptasyonları nesiller boyu aktarmak için epigenetik

modifikasyonlardan yararlandığını bildirmiştir. Ayrıca, rizosferdeki mikrobiyal toplulukların, özellikle bitki büyümesini teşvik eden bakteriler (PGPB) ve arbusküler mikoriza mantarlarının, bitkilerin epigenetik durumunu düzenlemede ve bu değişikliklerin kalıtımında önemli rol oynadığı belirtilmiştir. Çalışma, mikroorganizma kaynaklı moleküller ve sinyal ileticilerin bitki üzerindeki etkilerinin daha ayrıntılı araştırılması gerektiğini ortaya koymaktadır. Bu yaklaşımlar, metal açısından zengin topraklarda bitki adaptasyonunu artırmak için yeni stratejiler geliştirilmesine olanak sağlamaktadır.

1.1.3. DNA metilasyonu ve CRED-iPBS ile ilgili çalışmalar

Bitkiler, stres koşullarına karşı hayatta kalma şanslarını artırmak ve çevresel uyumlarını geliştirmek amacıyla, antioksidan savunma sistemlerinin yanı sıra son dönemlerde üzerinde yoğun şekilde araştırılan epigenetik mekanizmaları da kullanmaktadırlar (Sun et al. 2022). Epigenetik düzenlemeler, stres altındaki bitkilerde verimliliği artırmak için umut vadeden bir yetiştirme stratejisi olarak öne çıkmaktadır. Abiyotik stresler, bitkilerde epigenetik değişimlere yol açabilmekte olup, DNA metilasyonu ve histon modifikasyonları bu alandaki en yaygın ve önemli mekanizmalar arasında yer almaktadır (Liu and He 2020; Gupta and Garg 2023).

Tritikale bitkisinde alüminyum (Al) stresi, *ALMT* geni ve bazı QTL'ler aracılığıyla kısmen kalıtsal bir dayanıklılık gösterdiğine, epigenetik düzenlemelerin de etkisi olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmada, Al stresine bağlı DNA metilasyon değişikliklerinin farklı analiz yöntemleriyle incelenmesi sonucunda önemini ortaya koymaktadır. Kök ve yaprak dokularındaki metilasyon desenlerinin karşılaştırılmasıyla, epigenetik işaretlerin farklı yoğunluklarda olmasına rağmen benzer dağılım kalıplarına sahip olduğunu göstermektedir (Niedziela et al. 2025).

iPBS markörleri, bitki DNA profillerindeki değişimleri izlemek için de kolaylıkla uygulanabilen yöntemler arasında yer almaktadır (Nemli et al. 2015). Son çalışmalar, CRED-iPBS yönteminin farklı bitki türlerinde metilasyon desenlerinin tespiti için başarılı şekilde kullanıldığını göstermektedir (Demirel et al. 2023). Bu teknikler, özellikle tuzluluk, kuraklık ve ağır metal gibi abiyotik streslerin yol açtığı epigenetik toksisiteyi değerlendirmede önemli araçlar olarak öne çıkmaktadır.

Işık et al. (2025) tarafından Türk yem bezelyesi çeşitlerinin genetik çeşitliliği ve popülasyon yapısı, 61 genotip üzerinde iPBS retrotranspozon markörleri kullanılmıştır. Toplam 37 primer ile yüksek polimorfizm ve ortalama polimorfizm bilgi içeriğinin (PIC) 0,345 olarak hesaplanıldığı ortaya konulmuştur. Moleküler varyans analizi (AMOVA), genetik çeşitliliğin %74'ünün popülasyon içi varyasyondan kaynaklandığını bildirmiştir. Çalışma, iPBS markörlerinin yem bezelyesi genetik çeşitliliği araştırmalarında etkinliğini ortaya koyduğu ve farklı coğrafi kaynaklı koleksiyonların karakterizasyonunda kullanılabileceğini göstermektedir.

Bolukbasi and Aras (2016), çinko kaynaklı ağır metal stresinin ayçiçeğinde büyüme gelişimi ve DNA metilasyonu üzerindeki etkilerini incelemiştir. Farklı çinko konsantrasyonlarında yetiştirilen fidelerde 80 ppm ve üzerindeki uygulamaların gelişimi belirgin şekilde baskıladığı rapor edilmiştir. RAPD ve CRED-RA analizleri, çinko stresinin genomik şablon stabilitesini azalttığını ve metilasyon desenlerinde önemli değişiklikler oluşturduğunu göstermiştir. Metilasyon seviyeleri düşük çinko konsantrasyonlarında azalırken, yüksek dozlarda yeniden arttığı belirtilmiştir. Çalışma, çinko stresinin ayçiçeğinde hem DNA polimorfizmi hem de metilasyon düzeylerini önemli ölçüde etkilediğini ortaya koymuştur.

Akhter et al. (2021) ise DNA metilasyonunun, abiyotik stres altında bitkilerde gen ifadesini düzenleyerek fenotipik değişikliklerin ortaya çıkmasında temel epigenetik mekanizmalardan biri olduğunu vurgulamaktadır. Ek olarak, enzimle kesim ve rastgele amplifikasyon temeline dayanan CRED-RA yöntemi ile retrotranspozon bazlı iPBS markörlerinin birleşimiyle oluşturulan CRED-iPBS tekniği, metilasyon düzeylerinin belirlenmesinde hem pratik hem de hızlı bir yaklaşım sunmaktadır (Hosseinpour et al. 2022).

Kuraklık stresinin Siyez buğdayında (*Triticum monococcum* L.) antioksidan enzim aktivitelerini azalttığı, ancak putresin uygulamasının katalaz aktivitesini artırarak savunmada rol aldığı rapor edilmiştir. CRED-iPBS analizleri, kuraklığın sitozin metilasyonunu yükselttiğini, putresin uygulamasının ise metilasyon seviyelerini azalttığını göstermiştir. Ayrıca in silico analizler, putresinin *DNA metiltransferaz 2* ile etkileşebileceğini ve bu durumun metilasyon azalmasıyla ilişkili olabileceğini ortaya koymuştur (Demirel et al. 2025).

Pour et al. (2019), asitli topraklarda önemli bir verim kısıtı olan Al toksisitesinin üç buğday çeşidinde iPBS polimorfizmi, genomik stabilite ve DNA metilasyonu üzerindeki etkilerini incelemiştir. Yüksek Al konsantrasyonlarının polimorfizmi artırdığı, genomik şablon stabilitesini düşürdüğü ve DNA metilasyonunu artırdığı belirlenmiştir. CRED-iPBS analizleri, Al stresine bağlı hem hipermetilasyon hem de hipometilasyon olaylarının ortaya çıktığını göstermiştir. Çalışma genel olarak Al'nin epigenetik düzenlemeleri etkileyerek genomik instabiliteye yol açtığını ve CRED-iPBS profilindeki değişimlerin bu epigenetik yanıtların değerlendirilmesinde kullanılabileceğini ortaya koymuştur.

Farklı sulama seviyelerine maruz kalan altı kinoa çeşidinde (Titicaca, Rainbow, Moqu Arrochilla, Cherry Vanilla, China ve White) genomik ve epigenetik değişiklikler iPBS ve CRED-iPBS teknikleri ile analiz edildiği ortaya koymuştur. Genotip-spesifik polimorfizm ve genomik kalıp stabilitesi (GTS) varyasyonlarının gözlemlendiği ve Moqu Arrochilla en yüksek, White ise en düşük GTS değerlerine sahip olduğu bildirilmiştir. Bulgular, kuraklığın kinoa genomunda genotipe özgü epigenetik ve genomik farklılıklar oluşturduğunu ve iPBS/CRED-iPBS yöntemlerinin stres toleransına yönelik genotip taramasında etkin olduğunu göstermektedir (Türkoğlu et al. 2025).

Aydinyurt et al. (2025) tarafından incelenen *Phaseolus vulgaris* L. bitkisinde kuraklık ve tuz stresi altında melatonin uygulamasının biyokimyasal ve epigenetik etkileri Serra ve Elkoca 05 çeşitlerinde CRED-iPBS yöntemiyle incelenmiştir. Stres koşulları MDA ve H₂O₂ seviyelerinde artış olduğuna, melatonin özellikle tuz stresi altında bu değerleri düşürdüğünü ortaya koymaktadır. Antioksidan enzim aktiviteleri (SOD, POD, CAT) genotip ve uygulamalara göre değişim olduğu bildirilmiştir. CRED-iPBS analizleri, stres ve melatonin uygulamalarının DNA metilasyonu ve polimorfizm oranlarında belirgin değişikliklere neden olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen bulgular, melatoninin DNA metilasyonu yoluyla fasulyenin tuz ve kuraklık stresine karşı dayanıklılığını artırdığını rapor etmiştir.

2. MATERYAL ve YÖNTEM

2.1. Bitki Materyali ve Arbüsküler Mikorizal Fungusların Temini

Bu araştırmada kullanılan nohut çeşitleri ve bu çeşitlerin temin edildiği kaynaklara ilişkin bilgiler Tablo 2.1’de sunulmuştur. Mikoriza uygulaması için ticari bir ürün olan ‘ERS Mikoriza’ tercih edilmiştir. Bu ürün, *Glomus* türlerini içermektedir (Bioglobal, 2025). Denemeler, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü’ne ait sera koşullarında ve Erzurum Teknik Üniversitesi YÜTAM birimine bağlı bitki büyütme kabinlerinde yürütülmüştür.

Tablo 2.1. Çalışmada kullanılan nohut çeşitlerinin temin edildiği kurum

Çeşit Adı	Temin Edildiği Kuruluş
Arda	GAP Uluslararası Tarımsal Araştırma ve Eğitim Merkezi Müdürlüğü
ILC482	GAP Uluslararası Tarımsal Araştırma ve Eğitim Merkezi Müdürlüğü
Azkan	Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü
Çakır	Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü
Yaşa-05	Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü
Atabey	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü
Bahadır	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü
Gökçe	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü
Aydoğan	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü
Tunç	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü
Damla-89	Atatürk Üni. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Bölümü

2.2. Ön Stres Denemesi ve Uygun NaHCO₃ Dozunun Belirlenmesi

Bu tez çalışmasında alkali stres koşullarını oluşturmak amacıyla sodyum bikarbonat (NaHCO₃) kullanılmıştır. Ön stres denemesi kapsamında, farklı nohut çeşitlerine farklı NaHCO₃ dozları uygulanarak optimal NaHCO₃ dozuna karar verilmiştir. Deneme planı, literatürde son yıllarda yapılan çalışmalar dikkate alınarak hazırlanmıştır. Toprak alkaliliği yüksek pH’a sahiptir ve alkali stres için pH değeri 8,0’den fazla olmalıdır (Rengasamy 2010). Bu doğrultuda, nohut bitkilerine 0 mM, 100 mM ve 150 mM NaHCO₃ (Lin et al. 2017) konsantrasyonları uygulanmıştır (Tablo 2.2).

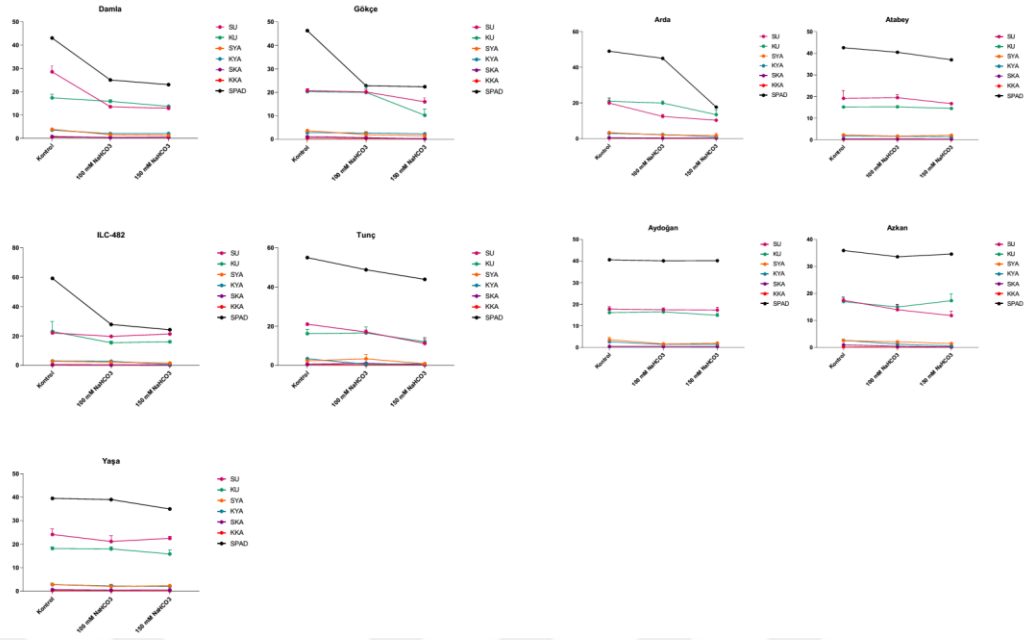
Tablo 2.2. Ön Stres denemesi

Uygulama grubu	NaHCO ₃ Konsantrasyonu	pH
Kontrol (K)	0 mM	7
Alkali Stres (AS1)	100 mM	8,30
Alkali Stres (AS2)	150 mM	8,30

2.3. Bitkilerin Yetiştirilmesi ve Stres Uygulaması

Tohumlar 5 dk boyunca %1'lik sodyumhipoklorid (NaOCl) çözeltisinde inkübe edildikten sonra steril saf su ile yıkanmıştır. Sterilizasyondan sonra tohumlar perlit bulunan saksılara her bir çeşitten 5 tohum ve her bir çeşitten 3 saksı olacak şekilde tüm nohut çeşitleri 25°C'de, 16/8 saatlik fotoperiyotta ve %60 nem ayarlanmış bitki kabininde çimlendirilmiştir. Tohumlar çimlendikten 1 hafta sonra elde edilen fideler torflu-tınlı toprak içeren saksılara aktarılmış ve büyütülmeye devam edilmiştir. Fideler yaklaşık 15–20 cm boyuna ulaştığında, stres uygulaması 7 gün boyunca gerçekleştirilmiştir. Bu aşamada kontrol grubundaki bitkilere eşit hacimde saf su verilirken, stres grubuna 100 mM ve 150 mM NaHCO₃ konsantrasyonlarında hazırlanmış alkali çözeltiler uygulanmıştır. Uygulama sonrasında morfolojik parametrelerin değerlendirilmesine yönelik ölçümler yapılmıştır. Bu kapsamda sürgün uzunluğu (SU), kök uzunluğu (KU), sürgün yaş (SYA) ve kuru ağırlığı (SKA), kök yaş (KYA) ve kuru ağırlığı (KKA) ve SPAD parametreleri ölçülmüştür (Şekil 2.1).

Ön stres denemesinde çeşitler arasında sürgün uzunluğu, kök uzunluğu, sürgün yaş ve kuru ağırlığı, kök yaş ve kuru ağırlığı ve SPAD değerleri bakımından belirgin farklılıklar saptanmıştır. Bu sonuçlara göre alkali stres altındaki Aydoğan çeşidinin fizyolojik ve morfolojik parametreleri kontrol uygulamasına yakın değerler sergilemiştir. Alkali stres altındaki Damla-89 ve ILC-482 çeşitlerinin fizyolojik ve morfolojik parametreleri kontrol uygulamasına kıyasla oldukça fazla değişkenlik göstermiştir. Aydoğan çeşidi alkali stresine karşı yüksek duyarlılık gösterirken, Damla-89 çeşidi göreceli tolerans sergilemiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda, esas denemede stres-duyarlı ve stres-tolerans çeşitleri temsil etmeleri nedeniyle Damla-89 ve Aydoğan çeşitleri seçilmiştir. Ayrıca alkali stres dozu olarak hem 100 mM NaHCO₃ uygulaması hem de 150 mM NaHCO₃ uygulaması birbirine yakın sonuçlar göstermiştir. Bu nedenle alkali stres oluşturmak için 100 mM NaHCO₃ dozu yeterli olmaktadır.



Şekil 2.1. Farklı nohut çeşitlerinde alkali stres uygulamasının morfojik ve fizyolojik parametreleri

2.4. Alkali Stres ve AMF Uygulamalarının Deneysel Tasarımı

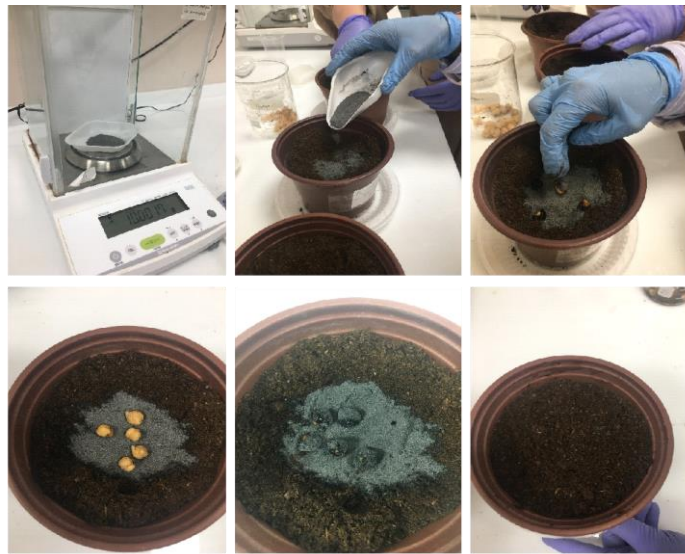
Ön stres denemesinin sonuçlarına göre stres denemesinde kullanılacak olan genotipler ‘Damla-89’ ve ‘Aydoğın’ ve alkali stres dozu 100 mM NaHCO₃ olarak belirlenmiştir. Ticari firmanın belirttiği talimatlar doğrultusunda, uygulama sonrası her bir tohumdan 10⁵ spor elde edilmesi beklenilmektedir. Her bir nohut çeşidi için kontrol, 100 mM alkali stres, AMF ve AMF + 100 mM alkali stres olmak üzere dört farklı deney grubu oluşturulmuştur (Tablo 2.3).

Tablo 2.3. Uygulama aşamaları

Çeşit	Deney Grubu	AMF Konsantrasyonu	NaHCO ₃ Konsantrasyonu	Uygulama Türü
Damla-89	Kontrol (K)	0 mM	0 mM	AMF’siz
Damla-89	Alkali stres (A)	0 mM	100 mM	AMF’siz
Damla-89	AMF (X)	10 ⁵ spor	0 mM	AMF
Damla-89	AMF + Alkali (XA)	10 ⁵ spor	100 mM	AMF
Aydoğın	Kontrol (K)	0 mM	0 mM	AMF’siz
Aydoğın	Alkali stres (A)	0 mM	100 mM	AMF’siz
Aydoğın	AMF (X)	10 ⁵ spor	0 mM	AMF
Aydoğın	AMF + Alkali (XA)	10 ⁵ spor	100 mM	AMF

2.5. Tohum Sterilizasyonu, Yetiştirme Ortamının Hazırlanması, AMF ve Stres Uygulaması

Tohumlar, %20 sodyum hipoklorit (NaOCl) çözeltisi ile 10 dakika boyunca manyetik karıştırıcıda bekletilmiş ardından 3 kez saf su ile durulanmıştır. Daha sonra %70'lik etanolde 5 dakika bekletildikten sonra üç kez saf su ile iyice durulanarak ekime hazır hâle getirilmiştir (Liu et al. 2019; Dadaşoğlu et al. 2020). Uygulamada kullanılan toprak torflu-tınlı olup 121°C'de 15 dk boyunca otoklavda sterilize edilmiştir. Ardından AMF uygulanacak ve uygulanmayacak gruplar için farklı toprak karışımları hazırlanmıştır. Kontrol ve alkali stres grupları için 250 g torflu-tınlı toprak ile 50 g kum, AMF uygulanacak gruplar için 200 g torflu tınlı toprak ile 100 g kum karıştırılmıştır. Kontrol ve stres gruplarının saksılarına tohumlar ekildikten sonra üzerine 1–2 cm steril toprak serilmiş ve her saksıya başlangıç olarak 30 ml can suyu uygulanmıştır. Bu aşama, tohumların uniform şekilde yerleşmesini ve kök gelişimi için uygun ortamın sağlanmasını amaçlamaktadır. AMF uygulamaları için, ERS Mikoriza 10⁵ spor içeren mikorizal karışımı kullanılmıştır. Her bir saksı için 10 g AMF tartılarak hazırlanmıştır. Hazırlanan AMF, tohumların üzerine eşit şekilde serpiştirilmiştir ve tohumların tamamını kaplayacak şekilde uygulanmıştır. Daha sonra üzeri kalan toprak ile örtülerek saksılarda ekim işlemi tamamlanmıştır (Şekil 2.2). Her bir uygulamada 5 tohum ve her bir uygulama 3 tekerrürlü olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Saksılara 3 hafta boyunca su ve haftada iki kere Hoagland solüsyonu verilmiştir (Hoagland and Arnon 1950). Bitkiler, 25°C'de, 16/8 saatlik fotoperiyotta ve %60 nem koşullarının ayarlandığı iklim odasında büyütülmüştür.



Şekil 2.2. Nohut tohumlarına AMF inokülasyonu

Üç hafta sonra uygun büyüklüğe gelen bitkilerden benzer gelişim gösteren 3 bitki seçilerek saksılarda seyreletme yapılmıştır. 1 L saf su içerisinde 8.40 g NaHCO₃ çözülerek 100 mM derişiminde alkali çözelti hazırlanmıştır. Çözeltinin pH değeri 8,65 olacak şekilde ayarlanmıştır. 100 mM Alkali stres ve AMF+100 mM Alkali stres uygulamaları 7 gün boyunca 100 mM alkali çözeltisi ile sulanmıştır. Kontrol ve AMF uygulamaları için su kullanılmıştır. Hazırlanan çözeltiler, bitkilere her gün aynı saatte uygulanarak stres koşullarının sürekliliği sağlanmıştır. 7. günün sonunda tüm uygulamalardan kök ve yaprak örnekleri alınarak aşağıda ayrıntılı olarak verilen AMF saptanması, morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler analizler gerçekleştirilmiştir.

2.6. Kök Örneklerinin Hazırlanması ve Fiksasyonu

Mikoriza kolonizasyonunun belirlenebilmesi amacıyla, mikorizal popülasyonun ve kolonizasyon indeksinin istenilen seviyeye ulaştığı dönemde (30 gün) bitki kök örnekleri alınmıştır. Bunun için, bitki kökleri musluk suyu altında dikkatlice yıkanarak topraktan arındırılmıştır. Ardından köklerden 1 mm uzunluğunda parçalar kesilmiştir. Hazırlanan kök parçaları, AFA fiksasyon çözeltisine (100 ml için: %70'lik etanol 90 ml, formaldehit 5 ml, asetik asit 5 ml) konularak boyama aşamasına kadar bu çözelti içerisinde muhafaza edilmiştir. Böylece kök dokularının yapısı korunmuş ve ileride yapılacak mikroskopik analizler için hazır hale getirilmiştir.

2.7. Köklerde AMF'nin Saptanması

Kök temizleme ve boyama işlemi Koske and Gemma (1989)'a göre yapılmıştır. Hazırlanan kök örnekleri 15 ml'lik falkon tüpleri içerisine konulmuştur. Köklerin yumuşaması için tüplere AFA solüsyonu ilave edilmiştir. Bu işlem tamamlandıktan sonra KOH uzaklaştırılarak kökler, saf sudan geçirilip süzölmüştür. Daha sonra aynı tüplere yeterli miktarda %0,1'lik Trypan mavisi eklenerek bir süre bekletilmiştir. Tüplerin içerisinden Trypan mavisi uzaklaştırıldıktan sonra, laktik asit eklenerek kökler bir gece bekletilmiştir (Şekil 2.3).

Bu aşamadan sonra, grid-line intersection yöntemi (Giovannetti and Mosse 1980) kullanılarak kök sayısı ve mikorizalı kök sayısı belirlenmek üzere, 1 cm²'lik bölümlere işaretlenmiş 9 cm çaplı plastik petri kaplarına alınmıştır.



Şekil 2.3. AMF kök kolonizasyonunun tespiti için boyama yapılmış kök parçaları

Mikroskopik gözlemler sırasında, fungusun herhangi bir üreme yapısının (hif, klamidospore, vesikül, arbuskül) yer aldığı her bir kök parçası, fungus tarafından kolonize edilmiş olarak değerlendirilmiştir. Sayımlar sonucu elde edilen değerler aşağıda verilen formül (2.1) ile köklerdeki kolonizasyon oranı Mikorizal frekans (F%) olarak hesaplanmıştır (Giovannetti and Mosse 1980).

Fungal kolonizasyon yüzdesi;

$$\%F = \frac{\text{AMF ile kolonize olmuş kök sayısı}}{\text{Toplam kök sayısı}} \times 100 \quad (2.1)$$

2.8. Toprakta AMF Spor Yoğunluğunun Belirlenmesi

AMF uygulanan deneme topraklarında, topraktaki AMF sporlarını belirlemek için ‘ultrason santrifüj tekniği’ kullanılmıştır (Boyno et al. 2023). Örnek olarak alınan 1g rizosfer toprağı, 20 mL distile su ile manyetik karıştırıcı kullanılarak 4-5 rpm hızında 5 dakika boyunca karıştırılmıştır.

Karışım, 30 saniye boyunca 28 kHz frekansta ultrason ile muamele edilmiştir (UltraClean12 Model, Hydraultrasonic Cop., İstanbul, Türkiye). Sonrasında karışım falcon tüpüne aktarılmış ve 3000 rpm hızında 3 dakika santrifüj edilmiştir.

Süpernatant, 1 mm çapında bir süzgeçten geçirilerek yeni bir falcon tüpüne aktarılmıştır. Bu karışımdan alınan 1 ml, petri kabının merkezine aktararak AMF spor

yoğunluğu stereomikroskop (Leica, Almanya) ile sayılmıştır. Daha sonra, 1 g topraktaki AMF spor sayısı Eşitlik (2.2)'te ki formülle hesaplanmıştır (Boyno et al. 2023).

$$TSN = \frac{SN \times W}{S} \quad (2.2)$$

TSN= 1 g rizosferdeki toplam AMF spor sayısı,

SN= 1 mL spor süspansiyonundaki AMF spor sayısı,

W= Kullanılan su miktarı (mL)

S= Kullanılan toprak miktarı (g).

2.9. Morfolojik Analizler

AMF'nin kök gelişimine destek olması ve simbiyotik ilişki için kök hiflerinin kullanılması, bu tez kapsamında özellikle önem taşımaktadır. Bu nedenle, çalışmada morfolojik olarak kök gelişimine odaklanılmıştır. Deneme sonlandırıldıktan sonra tüm bitkilerin sürgün ve kök uzunluğu (cm) bir cetvel yardımıyla, sürgün yaş ve kuru ağırlığı (g), kök yaş ve kuru ağırlığı (g) gibi parametreler alınarak ölçüm yapılmıştır. Kuru ağırlıkların ölçümü için bitkiler 60°C'de etüvde 2 gün boyunca kurutulmuştur (Soylemez 2021).

2.10. Biyokimyasal Analizler

Her bir saksıdan biyokimyasal analizler için örnekler alınmıştır. Örneklerin toplanması sırasında, bitkilerin kök ve yaprak kısımları dikkatlice ayrılarak ve her bir örnek, belirtilen protokollere uygun olarak hazırlanan çözeltilerle işleme tabi tutulmuştur.

2.10.1. Prolin miktarının belirlenmesi

Prolin analizi, Xiang et al. (2013) metoduna göre gerçekleştirilmiştir. Yaprak ve kök örnekleri, %3 sülfosalisilik asit içinde homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenatlar, 4°C'de 15 dakika süreyle 6000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminin ardından, örneklerden alınan süpernatant ependorf tüplerine aktarılacak ve her bir tüpe 2 ml ninhidrin solüsyonu ile 2 ml glasiyal asit eklenerek reaksiyon karışımı hazırlanmıştır.

Reaksiyon karışımı, 95°C'de 40 dakika bekletilerek ve ardından hemen buz üzerinde soğutulmuştur. Soğutma işleminin ardından, karışıma 4 ml toluen eklendi ve

vortekslenerek homojen hale getirilmiştir. Örneklerin absorbens değeri, 520 nm dalga boyunda ölçüldü ve prolin miktarı, aşağıda verilen formül yardımıyla hesaplanmıştır (2.3).

$$\text{Prolin Miktarı} = [\mu\text{g Prolin/ml} \times \text{toluen(ml)} / 115,5(\mu\text{g}/\mu\text{mol})\text{örnek(g)}/5](2.3)$$

2.10.2. Hidrojen peroksit (H₂O₂) ölçümü

Tekerrür örneklerinden 0,2 g bitki örnekleri alınarak soğuk porselen havanda 2 ml %5'lik Trikloroasetik Asit (TCA) çözeltisi ile homojenize edilmiştir. Sıvı hale gelen homojenatlar, 2 ml'lik steril ependorf tüplere aktararak homojenizasyon işlemi tamamlanıncaya kadar -20°C'de muhafaza edilmiştir. Tüm örneklerin homojenizasyon işlemi bitirildikten sonra, örnekler oda sıcaklığında çözdürülerek +4°C'de 15 dakika süreyle 15000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Santrifüjlenen örneklerin süpernatantı, yeni ependorf tüplere aktararak ölçüm için +4°C'de bekletilmiştir. Daha sonra, plate kuyularına 50 µl süpernatant ve 150 µl H₂O₂ reaksiyon çözeltisi (0,0272 g KH₂PO₄, pH: 7,0 + 3,32 g KI) eklenilmiştir. Plate sonuna blank olarak hazırlanmıştır. 290, 580 ve 870 µM H₂O₂ çözeltilerinden 3 tekerrür 200 µl yüklenerek 390 nm dalga boyunda absorbens değerleri ölçülmüştür. Blank çözeltileriyle standart eğri oluşturulup değerlendirme yapılarak sonuçlar µMol/g TA şeklinde verilmiştir (Shams et al. 2019).

2.10.3. Lipit peroksidasyonunun belirlenmesi

Bitkideki stres oluşumu belirtilerini tespit etmek amacıyla MDA (Malondialdehit) miktarının ölçümü ile lipid peroksidasyonu belirlenmiştir. Ölçüm öncesinde, H₂O₂ ölçümü için elde edilen süpernatant, ön işleme tabi tutulmuştur. Bu işlem için, cam kapaklı tüplere alınan 1 ml süpernatantın üzerine 1 ml %0,5 Tiyobarbitürik Asit (TBA) ve %20 Trikloroasetik Asit (TCA) çözeltisi eklenerek 95°C'de 45 dakika süreyle su banyosunda bekletilmiştir. Bekleme süresinin ardından, tüpler su banyosundan çıkarılarak 1-2 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra buzlu soğuk su banyosunda soğutulmuştur. Soğutulan örnekler, ependorf tüplere aktararak TBA ile TCA karışımını içeren örnek numuneleri yatay olarak her plate kuyusuna 200 µl miktarında yüklenerek sırasıyla 440, 532 ve 600 nm dalga boyunda absorbens değerleri ölçülmüştür. Ayrıca, %5 TBA ve %20 TCA çözeltisinden 200 µl alınarak blank yüklemesi yapılmıştır (Shams et al. 2019).

2.10.4. Süperoksit Dismutaz (SOD) enzim aktivitesi ölçümü

SOD aktivitesi, Nitrobluetetrazolium (NBT) fotokimyasal reaksiyonunun inhibisyonunun izlenmesi ile analiz edilmiştir. SOD enzim aktivitesi için reaksiyon çözeltisi ve 100 µM riboflavin çözeltisi ölçüm amacıyla kullanılmıştır. Örnek kuyularına 20 µl örnek, 170 µl SOD reaksiyon çözeltisi ve 10 µl Riboflavin çözeltisi yüklendi; blank kuyularına ise 190 µl SOD reaksiyon çözeltisi ve 10 µl Riboflavin çözeltisi eklenmiştir. Riboflavin çözeltisi eklendikten sonra, plate 10 dakika süreyle 40W beyaz (floresans) ışık kaynağında tutularak 560 nm dalga boyunda absorbans değeri okunmuştur. 1 Ünite SOD enzim miktarı, 560 nm absorbans değerinde %50 NBT indirgenmesini sağlayan miktar olarak değerlendirilerek sonuçlar U/g cinsinden verilmiştir (Shams et al. 2019).

2.10.5. Peroksidaz (POD) enzim aktivitesi ölçümü

POD enzim aktivitesi ölçümü için 0,1 M Na₂HPO₄, 4 mM H₂O₂, 6 mM guaikol derişimli hazırlanan çözelti kullanılmıştır. Ölçüm öncesinde 0,1 M Na₂HPO₄ çözeltisi hazırlanarak %35'lik 21 µl H₂O₂ ve 30 µl guaikol ilave edilmiştir. POD aktivitesi guaikol ve H₂O₂'nin substrat olarak kullanılarak indirgenmesi esasına dayalı olarak 470 nm absorbans değerinde 1 dk boyunca 15 sn aralıklarla ölçülmüştür. Reaksiyon ölçümü yapıldığından 5 µl örnek ve 145 µl POD reaksiyon çözeltisi 3'erli olarak ayrı ayrı yükleme yapılmıştır. 470 nm dalga boyunda 1 dakika boyunca, 15 saniye aralıklarla ölçüm gerçekleştirilmiştir. 1 enzim ünitesi 1 dk boyunca absorbansı 0,01 artıran miktar olarak değerlendirilerek sonuçlar U/g olarak hesaplanmıştır (Shams et al. 2019).

2.10.6. Askorbat Peroksidaz (APX) enzim aktivitesi ölçümü

APX enzim aktivitesi ölçümü için 100 mM K₂HPO₄, 0,5 mM AsA (askorbik asit), 0,1 mM EDTA ve 2,5 mM %35'lik H₂O₂ içeren APX reaksiyon çözeltisi hazırlanmıştır. Plate kuyucuklarına 20 µl örnek ve 180 µl reaksiyon çözeltisi eklenerek, absorbans 290 nm'de 1 dakika aralıklarla 3 dakika boyunca ölçülmüştür. 3 dakika süresince 1 dakikada bir elde edilen absorbans değerlerindeki azalma, askorbatın ekstinksiyon katsayısı (2,8 mM cm⁻¹) kullanılarak hesaplan sonuçlar U/g olarak ifade edilmiştir (Shams et al. 2019).

2.10.7. Antioksidan enzim aktivite (SOD, POD ve APX) ölçümü

SOD, POD ve APX enzim aktivite ölçümleri için 0,2 g bitki örneği, önceden soğutulmuş havanda 2 ml 0,1 M KH₂PO₄ çözeltisi ile homojenize edilmiştir. Homojenize

edilen örnekler ependorf tüplere alındıktan sonra, +4°C’de 15 dakika boyunca 15.000 rpm’de santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra elde edilen süpernatantlar, yeni tüplere aktararak ve +4°C’de saklanmıştır. Üç enzim aktivitesinin tayini için her bir protokol, bu süpernatantlar kullanılarak uygulanmıştır (Shams et al. 2019).

2.11. Element Analizi

Bitki örneklerinde mineral bileşim analizleri yapılmıştır. Bitki örnekleri P, K, Ca, Mg, Na, Fe, Cu, Mn, Zn, B, Cd, Pb, Ni ve Cr analizlerine tabi tutulmuştur. Yaklaşık 0,5 g bitki örneğine 10 ml nitrik+perklorik asit karışımı eklenmiştir. Bir gece sonra, karışımlar 1 ml örnek elde edilecek şekilde sıcak plaka üzerinde ıslak sindirime tabi tutulmuştur. Islak sindirimden sonra, son hacim 25 ml’ye tamamlanmış ve mineral okumaları bir ICP-OES (Perkin-Elmer, Optima 4300 DV, ICP / OES, Shelton, CT 06484-4794, ABD) cihazında yapılmıştır (Mertens 2005).

2.12. İstatiksel Veri Analizi

Biyokimyasal parametrelere ait veriler tam şansa bağlı deneme planına göre 2 (çeşit (Damla-89 ve Aydoğan)) x 2 (alkali stres konsantrasyonu (0 ve 100 Mm)) x 2 (AMF konsantrasyonu (0 ve 10⁵)) faktöriyel düzende varyans analizine tabi tutularak ortalamalar arasındaki farklılıklar %5 önem seviyesinde Tukey testi ile belirlenmiştir. İstatistik analizler Minitab (Minitab Inc., v19, USA) programı ile yapılmıştır.

2.13. Moleküler Analizler

2.13.1. DNA izolasyonu

Uygulama sonrasında toplanan bitki örneklerinden 0,3 g alınarak porselen havanda sıvı azot ile toz haline gelene kadar öğütülmüş, ardından steril 1,5 ml’lik mikrosantrifüj tüplerine aktarılmıştır. Çalışmadan önce hazırlanmış olan DNA ekstraksiyon tamponundan her bir örneğe 1 ml eklenerek örnekler 65°C’de su banyosunda 1 saat inkübe edilmiştir (her 10 dakikada bir örnekler alt üst edilmiştir). Tüpler oda sıcaklığında 10 dakika bekletilmiştir. Sonrasında, her bir tüpe 750 µL kloroform alkol karışımı eklenerek 15 dakika boyunca yavaşça alt üst edilerek 24°C’de 14.000 rpm’de 20 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası oluşan üst faz, steril yeni bir 1,5 ml’lik mikrosantrifüj tüpüne aktararak, üzerine tekrar 750 µL kloroform alkol karışımı eklenerek 4°C’de 14.000 rpm’de 20 dakika süreyle santrifüj

edilmiştir. Santrifüj sonrası üst faz yeni tüpe alınarak, üzerine 8 µL proteinaz K ve 5 µL RNaz eklenerek 37°C’de 45 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası her tüpe 100 µL sodyum asetat, 100 µL amonyum asetat ve 750 µL izopropanol eklenerek, ardından 4°C’de 14.000 rpm’de 20 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi sonrası üst faz uzaklaştırılarak pelet 37°C’de 15 dakika boyunca kurumaya bırakılmış ve kurutulduktan sonra 100 µL 1× Tris–EDTA Tamponu (TE) tamponu eklenerek çözdürülmüştür. DNA örnekleri -20°C’de saklanmıştır. DNA’ların konsantrasyonu, nanodrop spektrofotometrede $A_{260/280}$ dalga boylarında absorbans değerleri ile belirlenmiştir ve Tablo 2.4’te verilmiştir.

Tablo 2.4. Örneklerden elde edilen DNA’ların nanodrop spektrofotometre ölçümleri

Örnek Adı	Kod Adı	Konsantrasyon ng/ µL
Damla-89-Kontrol	DK-1	530,4
	DK-2	381,7
	DK-3	424,1
Damla-89-Alkali	DA-1	406,2
	DA-2	435
	DA-3	450
Damla-89-AMF	DX-1	337,3
	DX-2	688,7
	DX-3	340
Damla-89-AMF+Alkali	DXA-1	533,5
	DXA-2	866
	DXA-3	863
Aydoğan-Kontrol	AK-1	304,8
	AK-2	293,05
	AK-3	271,5
Aydoğan-Alkali	AA-1	342,8
	AA-2	385,25
	AA-3	427,9
Aydoğan-AMF	AX-1	608,4
	AX-2	696,5
	AX-3	799,1
Aydoğan-AMF+Alkali	AXA-1	321,5
	AXA-2	815
	AXA-3	610,3

2.13.2. CRED-iPBS yönteminin uygulanması

CRED-iPBS yöntemi ile metilasyonun belirlenmesinde *HpaII* (R0171S) ve *MspI* (R0106S) kesim enzimleri kullanılmıştır. Bunun için, 43 µL steril saf su, 5 µL Restriksiyon Enzimi (RE) 10X NEBuffer, 1 µL DNA (1 µg/µL), 0,5 µL *MspI* ve 0,5 µL *HpaII* restriksiyon enzimleri tüplere eklenerek 37°C’de 15 dakika süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda *HpaII*’nin enzim aktivitesinin durdurulması için tüpler 80°C’de 20 dakika bekletilmiştir. Çalışmada CRED-iPBS çalışmasında kullanılan örneklerle ait sıralar EK1’de verilmiştir.

2.13.3. CRED-iPBS PCR analizi

CRED-iPBS analizinde PCR işlemleri için *MspI* ve *HpaII* enzimleriyle kesilen DNA örnekleri kalıp olarak kullanılmıştır. Her bir iPBS primeri için; kalıp DNA (10 ng/µL): 2 µL, 10X Taq Buffer: 2 µL, MgCl₂ (25 mM): 1 µL, dNTP (100 mM): 0,5 µL, İPBS primeri (1 µM/µL): 1 µL, Taq DNA Polimeraz (5 U/µL): 0,3 µL ve son hacim 20 µL olacak şekilde PCR reaksiyonu kurulmuştur. PCR şartları ise 95°C’de 5 dk boyunca ön denatürasyon, 35 döngü boyunca 94°C’de 1 dk ayrışma, 54-63°C’de 1 dk bağlanma ve 72°C’de 1 dk uzama olacak şekilde ayarlanmıştır. Döngülerin ardından, sentezlenen ürünlerin tamamlanması amacıyla 72°C’de 7 dk son uzama gerçekleştirilmiştir. CRED-iPBS çalışmasında kullanılan primerlere ait dizi bilgisi ve bağlanma sıcaklığı Tablo 2.5’de gösterilmiştir.

Tablo 2.5. iPBS çalışmasında kullanılan primerlerin dizi bilgisi ve bağlanma sıcaklığı

Primer	Baz Dizisi 5’-3’	Bağlanma Sıcaklığı (°C)
2400	CCCCTCCTTCTAGCGCCA	54
2075	CTCATGATGCCA	46
2083	CTTCTAGCGCCA	50
2271	GGCTCGGATGCCA	46
2394	GAGCCTAGGCCA	50
2276	ACCTCTGATACCA	46
2081	GCAACGGCGCCA	50
2239	ACCTAGGCTCGGATGCCA	56
2226	CGGTGACCTTTGATACCA	48,7
2377	ACGAAGGGACCA	50
2295	AGAACGGCTCTGATACCA	50

2.13.4. Elektroforez işlemi

1,2 g agaroz tartılarak üzerine 200 ml 1X TBE (Tris–Borik asit–EDTA) tamponu eklendikten sonra mikrodalgada 4 dakika boyunca çözdürülmüştür. Ardından 7 µl EtBr (etidyum bromür) eklenerek karıştırıldıktan sonra jel tankına dökülmüştür. Jel polimerize olduktan sonra, elde edilen PCR ürünleri 3 µl yükleme tamponu ile karıştırılıp kuyucuklara yüklenmiştir. İlk kuyucuğa DNA ladder yüklendikten sonra 120 voltta 2 saat yürütülmüştür.

2.14. Verilerin Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analizi

PCR ürünlerinin incelenmesi ve değerlendirilmesi her bir uygulama için primerlerdeki bant varlığı (1) ve yokluğu (0) şeklinde nitelendirilmiştir. Jel görüntüsünde bant varlığı, primerin hibridize olduğu ve incelenen uygulamada bulunduğu bir göstergesi olarak kabul edilmiştir. Elde edilen jel görüntülerinin bant profilleri, TotalLab TL120 yazılım paketi (Nonlinear Dynamics, UK) kullanılarak analiz edilmiştir. Her bir deney grubu için ortalamalar hesaplandı ve bu değerlerdeki her bir parametre ve değişimler, kontrollerin yüzdesi olarak hesaplanarak değerlendirilmiştir. DNA metilasyon sınıflandırması Zhang et al. (2016) yöntemine göre yapılarak, metilasyon oranları ise Orhan vd (2020)'ye göre toplam metilasyon (TMO) (%), yarı metilasyon (HMO) (%), ve tam metilasyon (FMO) (%) olarak değerlendirilmiştir.

3. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında, ‘Damla-89’ ve ‘Aydoğan’ çeşitleri üzerinde 0 mM (kontrol) ve 100 mM Na₂CO₃ uygulamaları ile oluşturulan alkali stres koşullarında, AMF uygulamasının yaprak ve kök dokuları üzerindeki etkileri; alkali stres koşulları altında yaprak dokularında ortaya çıkan morfolojik ve biyokimyasal değişimler ile birlikte epigenetik düzeyde değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular, AMF parametreleri, alkali stres ve AMF uygulamalarına bağlı pH değişimleri, stres sonrası morfolojik değişimler, biyokimyasal analizler, mineral kompozisyonundaki değişimler ve CRED-iPBS analiz sonuçları aşağıda sunulmuştur.

3.1. AMF Parametrelerinin Değerlendirilmesi

3.1.1. Toprak ve köklerde AMF tanımlanması

AMF’nin toprak ve bitki köklerindeki varlığının belirlenmesinde, toprak örneklerinden sporların izole edilmesi ve sayılması ile kök dokularında mikorizal kolonizasyonun incelenmesi temel yöntemler olarak kullanılmaktadır (Gerdemann and Nicolson 1963; Giovannetti and Mosse 1980). Kök kolonizasyon düzeyini belirleyen temel faktörlerden biri olan AMF’nin spor yoğunluğu, hiflerin büyüme hızı ve dallanma derecesi üzerinde doğrudan etkili olmaktadır (Schalamuk and Cabello 2010; Verzeaux et al. 2017). Bu tez çalışmasında, uygulamalar sonrasında AMF ve AMF+100 mM Alkali stres koşullarında yetiştirilen bitkilerden hem kök hem de toprak örnekleri alınmış ve bu örnekler üzerinden topraktaki AMF spor yoğunluğu değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular Tablo 3.1’de sunulmuştur.

Tablo 3.1. Nohut çeşitlerinin topraktaki AMF spor yoğunluğu

Çeşit	Uygulama	1.ölçüm	2.ölçüm	3.ölçüm	Ortalama
Damla-89	AMF+ 100 mM Alkali stres	133,3	140	126,7	133,3
Damla-89	AMF	46,7	66,7	42	51,8
Aydoğan	AMF+ 100 mM Alkali stres	66,7	80	86,7	77,8
Aydoğan	AMF	40	46,7	53,3	46,6

Topraktaki AMF analiz sonuçlarına göre, Damla-89 ve Aydoğın çeşitlerinde hem AMF+100 mM Alkali stres hem de AMF uygulamasının etkileri, her uygulama için üç tekerrürün ortalaması alınarak değerlendirilmiştir. Damla-89 çeşidinde, AMF+100 mM Alkali stres uygulamasında topraktaki spor yoğunluğunun daha yüksek olduğu görülmüştür. Bunun yanı sıra tek başına AMF uygulamalarında Damla-89 ve Aydoğın çeşitlerinde diğer uygulamalara göre toprakta daha az spor yoğunluğu tespit edilmiştir. Damla-89 çeşidinde AMF+100 mM Alkali stres uygulamasında 130–140 aralığında iken Aydoğın çeşidi için de 65-90 arasındadır. AMF+100 mM Alkali stres uygulamaları AMF tek başına uygulamalara kıyasla daha yüksek değerler vermiştir. Genel olarak değerlendirildiğinde, ortama verilen stres topraktaki AMF yoğunluğunda olumsuz bir etki oluşturmamıştır. Literatürle karşılaştırıldığında, Amani Machiani et al. (2021), kuraklık stresi altında kekik bitkisinde AMF kök kolonizasyon oranının önemli ölçüde azaldığını rapor etmiştir.

Bitkilerde mikorizal fungusların gelişim üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla, köklenme döneminde alınan kök örnekleri boyanarak mikroskop altında incelenmiş ve böylece bitki–fungus ilişkisine ait kolonizasyonun gerçekleştiği doğrulanmıştır. Mikorizal frekans kolonizasyonun varlığını ortaya koyarken mikorizal yoğunluk ise kök içinde mikorizanın kapladığı alanı temsil etmektedir. Bu parametrelere ilişkin bulgular ise Tablo 3.2’de sunulmuştur.

Tablo 3.2 Nohut çeşitlerinde köklerdeki AMF kolonizasyon parametreleri

Çeşit	Mikorizal frekans (%F)	Mikorizal yoğunluk (%M)	Mikorizal Spor Sayısı (spor/g toprak)
Damla-89-AMF	18,5	0,52	51,78
Damla-89-AMF+100 mM Alkali stres	40,7	0,40	133,33
Aydoğın-AMF	25,9	0,26	46,67
Aydoğın-AMF+100 mM Alkali stres	55,5	1,62	71,11

AMF kolonizasyon sonuçlarına göre, Damla-89 çeşidinde ortalama değerlere bakıldığında yalnızca AMF uygulanan grupta mikorizal frekansın %18,5 ve köklerdeki mikorizal yoğunluğun %0,52 olduğu görülmüştür (Tablo 3.2). Kök kolonizasyon yoğunluğu düşük-orta düzeylerde (0,40-0,52%) olmasına rağmen topraktaki AMF spor

sayısında (51,78–133,33 spor/g toprak) artış gözlenmiştir. En yüksek mikorizal frekans AMF+100 mM Alkali stres uygulamasında görülmüş ama kök içindeki mikorizal alan tek başına AMF uygulamasında daha fazla saptanmıştır. Bu bulgular, Damla-89 çeşidinde AMF kolonizasyonunun var olduğunu, ancak henüz köklerde güçlü bir simbiyotik gelişim göstermediğini göstermektedir. Szada-Borzyszkowska et al. (2022) tarafından toprakta pH değişikliği ve ağır metal mevcudiyetinin AMF frekansı (%F), yoğunluğu (%M) ve arbusküler yapı (%A) üzerinde etkili olduğu rapor edilmiştir. Özellikle pH artırıldığında %F değerinin düştüğü ancak %M açısından bazı yapıların farklı şekilde tepki verdiği tespit edilmiştir.

Aydoğan çeşidinde, AMF uygulamasına bağlı olarak mikorizal yaygınlık (25,9%) ve yoğunluk (0,26%) oldukça düşük iken, AMF+100 mM Alkali Stres uygulamasında mikorizal kolonizasyon daha yüksektir (1,62%). Toprakta spor sayısı düşük–orta düzey (46,67–71,11 spor/g toprak) arasında görülmüştür (Tablo 3.2). Bu sonuçlar, Aydoğan çeşidinin alkali stres koşullarında Damla-89 çeşidine göre daha dirençli olduğunu ve mikorizal kolonizasyonunu koruyabildiğini göstermektedir. AMF'nin stres koşullarını hafifletici bu rolünün, farklı bitki türlerinde de geçerli olduğu; tatlı patates yetiştiriciliğinde AMF uygulamasının asidik toprak stresinin olumsuz etkilerini azalttığı rapor edilmiştir (Yano and Takaki 2005). Aydoğan çeşidi alkali stres altında hem kolonizasyon frekansı hem yoğunluğu açısından Damla-89'dan daha iyi performans göstermiştir. Benzer şekilde, farklı ekolojik koşullarda yürütülen bir çalışmada nohut bitkisinde AMF'nin kök kolonizasyon düzeylerinin lokasyona bağlı olarak değiştiği ve bu farklılığın özellikle fosfor alımı üzerinde etkili olduğu rapor edilmiştir. Moleküler analizler sonucunda *Glomus* ve *Acaulospora* cinslerinin baskın AMF grupları olduğu belirlenmiş; yüksek kök kolonizasyonuna sahip örneklerde bitkinin fosfor beslenmesinin daha etkin olduğu gösterilmiştir (Akbar et al. 2025). Bu çalışmada da *Glomus* içeren AMF inokulasyonu kullanılmış; ancak alkali stres koşullarında çeşitler arasında kolonizasyon yanıtlarının farklılaştığı ve özellikle Aydoğan çeşidinin bu simbiyotik ilişkiyi Damla-89 çeşidine göre daha iyi sürdürebildiği belirlenmiştir.

3.1.2. Alkali stres ve AMF koşullarında pH değişimleri

Alkali topraklar, zayıf fiziksel özellikleri ve yüksek pH düzeyleri nedeniyle bitki büyümesi ve ürün verimi açısından önemli kısıtlar oluşturmaktadır (Farghaly et al.2022). Bu koşullarda, abiyotik ve biyotik çevresel faktörler, bitki–AMF etkileşimlerinin işlevsel

düzeyini belirleyen temel unsurlar arasında yer almaktadır. Özellikle toprak pH'ı, besin elementlerinin toprakta çözünürlüğünü ve iyon değişim mekanizmalarını etkileyerek bitkiler tarafından kullanılabilirliğini doğrudan düzenleyen temel bir faktör olarak öne çıkmaktadır (Helgason and Fitter 2009; Ouzounidou et al. 2015). Toprak pH'sında meydana gelen değişimlerin, AMF topluluklarının tür çeşitliliği ve kompozisyonu üzerinde belirleyici rol oynadığı bildirilmektedir (Ouzounidou et al. 2015). Bu tez çalışmasında farklı genotipler için kontrol, AMF, 100 mM Alkali Stres ve AMF+100 mM Alkali stres gruplarında toprak pH değerleri ölçülmüştür (Tablo 3.3).

Tablo 3.3. Damla-89 ve Aydoğan çeşitlerinin alkali stres sonrası pH değerleri

Çeşit	Uygulama	1.ölçüm	2.ölçüm	3.ölçüm	Ortalama pH
Damla-89	Kontrol	5,86	6,13	6,15	6,05
Damla-89	100 mM Alkali Stres	8,79	8,87	8,2	8,62
Damla-89	AMF	6,16	6,58	5,94	6,23
Damla-89	AMF+100 mM Alkali stres	7,91	7,66	8,25	7,94
Aydoğan	Kontrol	6,11	5,77	5,94	5,94
Aydoğan	100 mM Alkali Stres	8,39	8,81	8,37	8,52
Aydoğan	AMF	6,11	5,95	6,37	6,14
Aydoğan	AMF+100 mM Alkali stres	7,31	6,77	6,79	6,96

Kontrol gruplarında pH değerleri her iki genotip için de 5,7–6,3 arasında değişmiş ve nötre yakın hafif asidik özellik göstermiştir. 100 mM NaHCO₃ ile oluşturulan alkali stres koşullarında ise pH değerlerinin belirgin şekilde arttığı gözlenmiştir. Damla-89 çeşidinde pH 8,2–8,9 aralığında, Aydoğan çeşidinde ise 8,3–8,8 aralığında ölçülmüştür (Tablo 3.3). AMF uygulanan gruplarda pH değerleri kontrol koşullarına yakın seyretmiş, bu da mikorizal uygulamanın toprak pH dengesini korumada etkili olabileceğini düşündürmektedir. Bu durum, tuzlu-alkali topraklarda AMF'nin yaygın olarak bulunmasının toprak özelliklerini iyileştirerek bitki gelişimini desteklediği ve ekosistem işleyişine olumlu katkılar sağladığı bildirilmektedir (Coutinho et al 2019; Fang et al. 2023). AMF+100 mM Alkali stres uygulanan gruplarda ise pH değerlerinin yalnızca alkali stres grubuna kıyasla daha düşük olduğu, fakat kontrol grubuna göre halen yüksek seyrettiği belirlenmiştir. Bu bulgular, AMF uygulamasının alkali stres koşullarında pH yükselmesini kısmen dengeleyebildiğini ve çeşitler arasında pH değişimlerine verilen

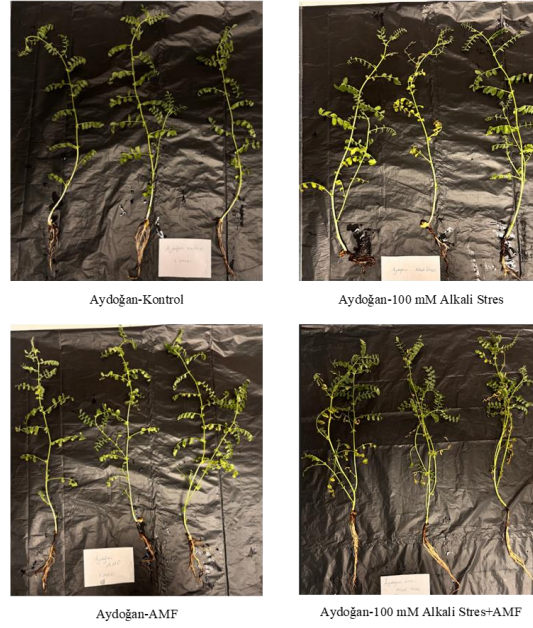
yanıtların farklılık gösterebileceğini ortaya koymaktadır. Benzer bir çalışmada, NaHCO_3 uygulamasının toprak pH ve EC değerlerini artırdığı ve AMF'nin bu parametreleri düşürdüğü ve iyon dengesini iyileştirdiği bildirilmiştir (Sharma et al. 2010; Farghaly et al. 2022).

3.2. Stres ve AMF Uygulamalarının Bitki Morfolojisi Üzerindeki Etkileri

3.2.1. Stres öncesi ve sonrası morfolojik gözlemler

Alkali stres, bitkilerde temel büyüme süreçlerini olumsuz etkileyen önemli bir çevresel faktördür. Özellikle tohum çimlenmesi, sürgün gelişimi ve organ oluşumu üzerinde ciddi olumsuz etkiler göstererek, bitkinin morfolojik ve fizyolojik bütünlüğünü bozabilir ve dolayısıyla ürün veriminde düşüşe yol açabilir (Ma et al. 2023). Bununla birlikte, AMF aracılığıyla kurulan bitki-mantar simbiyozu, tarımsal uygulamaların olumsuz etkilerini hafifletebilir veya önleyebilir ve böylece bitki büyüme ve gelişimini destekleyici bir rol oynayabilir (Verzeaux et al. 2017). Aydoğan ve Damla-89 nohut çeşitlerinin alkali stres ve AMF uygulamalarına verdikleri morfolojik tepkiler 7 gün boyunca gözlemlenmiş ve kayıt altına alınmıştır. Uygulamanın ilk günü bitkilerde belirgin bir görsel değişim saptanmamıştır. 100 mM Alkali stres ve AMF+100 mM Alkali stres uygulamasında çeşitler arasında stresin ilerleyen günlerinde farklı yanıtlar ortaya çıkmıştır. Bunun yanı sıra, AMF uygulanmış tohumlarda, uygulama yapılmayan gruplara kıyasla büyüme açısından farklılıkların ortaya çıktığı görülmüştür. Stres öncesi dönemde Aydoğan çeşidinin sürgün boyu ve yaprak sayısının Damla-89 çeşidine göre daha iyi olduğu gözlenmiştir. Fakat yalnızca alkali stres uygulamasında Aydoğan'da büyüme hızında daha belirgin bir azalma, yaprak dokusunda sararma ve sürgün gelişiminde gerileme görülmüştür. Damla-89 çeşidinde ise sürgün boyunun stres koşullarında Aydoğan'a göre nispeten daha stabil kaldığı belirlenmiştir. Dördüncü gün itibarıyla özellikle alkali stres uygulanan Aydoğan bitkilerinde sararma ve gelişim geriliği daha baskın hale gelmiştir (Şekil 3.1). Literatürde alkali stresin yapraklarda klorofil kaybı, sürgün ve kök gelişiminde zayıflamaya neden olduğu belirtilmektedir (Yang et al. 2024).

Yedinci gün sonunda ise kontrol bitkilerine kıyasla Aydoğan çeşidinin stres grubunda yapraklarda sararmalar ve solgunluk gözlenmiş (Şekil 3.1), Damla-89 çeşidinde ise yapraklarda hafif sararmalar görülmüştür (Şekil 3.2).

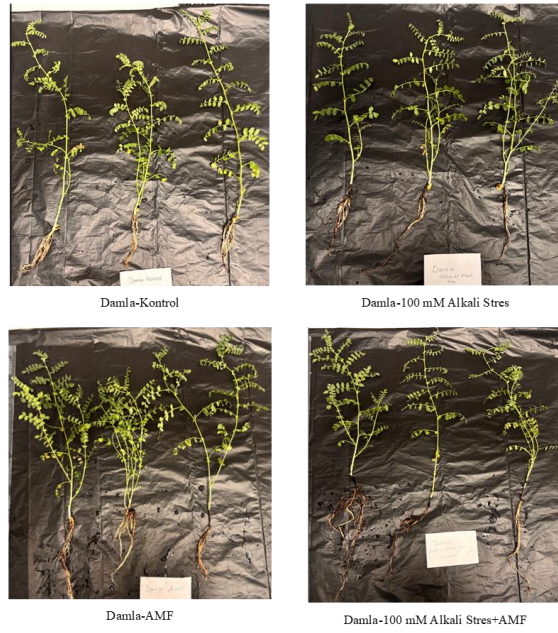


Şekil 3.1. Aydoğın çeşidi-Alkali stres uygulama sonrası morfolojik değişimler

Her iki çeşitte de özellikle AMF uygulanan stres gruplarında, yaprakların daha canlı kaldığı ve sararma ile solgunluk belirtilerinin stres gruplarına göre daha az olduğu kaydedilmiştir. Bu durum AMF'nin kök gelişimini destekleyerek bitkinin alkali stresine karşı dayanıklılığını artırabileceğini göstermektedir. Benzer şekilde, alkali stres koşulları altında, AMF ile inokule edilen bitkilerde, mantarların salgıladığı organik asitler toprak yapısını iyileştirerek köklerin simbiyotik olarak gelişmesini desteklemekte ve bitkinin stres toleransını artırmaktadır (Chen et al. 2023). Boorboori and Lackóová (2025), AMF uygulamasının bitkilerde tuzluluk stresini hafiflettiğini bildirmiştir.

Bu tez çalışmasında, alkali stresinin bitki gelişimi üzerinde hem orta düzeyde hem de belirgin olumsuz etkiler oluşturduğu görülmüştür. Ancak, AMF+100 mM Alkali stres uygulanan grupların morfolojik açıdan daha iyi gelişim gösterdiği ve strese karşı dayanıklılık eğilimi gösterdiği saptanmıştır.

Alkali stres uygulaması sonrası Damla-89 ve Aydoğın çeşitlerinde 7 gün boyunca morfolojik değişimler (sürgün, dal sayısı ve yaprak sayısı) gözlemlenmiş ve kayıt altına alınmıştır (Tablo 3.4). Her iki çeşitte de alkali stres koşulları altında, kontrol grubuna kıyasla yaprak ve dal sayısında uygulamalar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiş, ancak sayısal olarak bir artış tespit edilmiştir.



Şekil 3.2. Damla-89 çeşidi-Alkali stres uygulama sonrası morfolojik değişimler

Kontrole grubuna (K) göre, her iki çeşitte de alkali stres (A) uygulamasının yaprak sayısı üzerindeki etkisi genotip (G), uygulama (U) ve genotip x uygulama (GxU) etkileşimlerinde önemlilik ($p>0,05$) göstermemiştir. Bununla birlikte, Aydoğan çeşidinde yaprak sayısındaki artışın AMF (X) ve AMF+100 mM Alkali stres (XA) uygulamalarında kontrol grubuna göre belirgin olduğu görülmüştür. Damla-89 çeşidinde ise AMF+100 mM Alkali stres (XA) uygulamasında yaprak sayısında bir azalma olduğu görülmektedir. Benzer şekilde, biber bitkilerini mikorizalı ve mikorizasız koşullarda farklı sulama seviyelerinde yetiştirerek yaprak sayısını incelemiş ve yüksek su ile mikoriza uygulamalarının yaprak sayısını artırdığını bildirmiştir (Ulukapı et al. 2020).

Dal sayısı bakımından değerlendirildiğinde, her iki çeşitte de uygulamalar arasında istatistiksel olarak G ve GxU etkileşimlerinde çok önemli ($p<0,01$), U'da ise önemli ($p<0,05$) düzeyde olduğu görülmüştür. Damla-89 çeşidinin Aydoğan çeşidine kıyasla daha yüksek dal sayısı gösterdiği saptanmıştır (Tablo 3.4). AMF uygulaması her iki çeşitte de dal sayısında artışa yol açmakla birlikte, bu artışın Damla-89 çeşidinde daha belirgin olduğu saptanmıştır. Bu bulgular, AMF uygulamasının dal oluşumunu teşvik ederek bitki gelişimine katkı sağladığını ve bu etkinin çeşitten genotipe değişmekle birlikte özellikle Damla-89 çeşidinde daha güçlü şekilde ortaya çıktığını göstermektedir. Şen (2019) tarafından, mürdümük Çeşitlerinin alkali stresi altında ortalama dal sayısı en yüksek 2.52 adet/bitki ile İptaş, en düşük 1.74 adet/bitki ile 1603 yerel popülasyonlarında belirlenmiştir. Bu durum, alkali stres koşullarında uygulanan iyileştirici uygulamaların

stresin olumsuz etkilerini azaltarak bitki gelişimini desteklediğini göstermektedir. AMF'nin özellikle farklı pH'ya sahip topraklarda yetişen bitkilerin büyümesini teşvik ettiği ve stres toleransını artırdığını bildirmiştir (Alotaibi et al. 2021).

Tablo 3.4. Uygulamalara göre çeşitlerin yaprak ve dal sayısı (adet)

Uygulama (mM + mg.L ⁻¹)	Yaprak Sayısı (adet)			Dal Sayısı (adet)		
	Aydoğan	Damla-89	Ortalama	Aydoğan	Damla-89	Ortalama
K	119,00a	146,67a	132,83a	12,33b	15,56ab	13,94b
A	135,78a	138,00a	136,89a	13,33b	24,67a	19,00a
X	152,00a	160,00a	156,00a	15,56ab	18,89a	17,22ab
XA	179,56a	124,00a	151,78a	17,67ab	14,67	16,17ab
Ortalama	146,58A	142,17A	144,38A	14,72B	18,44A	16,58AB
F Değeri (Genotip) (G)			0,10öd			10,36**
F Değeri (Uygulama) (U)	2,79öd	0,45öd	0,68öd	6,16*	4,63*	3,34*
F Değeri (GxU)			1,72öd			6,45**
VK (%)						

¹: Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar Tukey testine göre % 5 önem seviyesinde önemsizdir.

**, * ve öd: Sırasıyla çok önemli (p<0,01), önemli (p<0,05) ve önemsiz (p>0,05)

²: (K)-Kontrol, (A)-100 mM Alkali Stres, (X)- AMF ve (XA)- AMF+100 mM Alkali Stres

3.2.2. Sürgün ve kök uzunluğu (mm)

Nohut çeşitlerinde uygulanan K, A, X ve XA uygulamalarının sürgün ve kök boyu üzerindeki etkilerine ait ortalama değerler Tablo 3.5’de yer almaktadır. Sürgün uzunluğu (SU) açısından tüm ektileşimlerde değişimin önemsiz (p>0,05) düzeyde olduğu saptanmıştır. Buna karşılık, kök uzunluğunda (KU) genotip ve uygulama faktörlerinin etkisi çok önemli (p<0,01) düzeyde, genotip × uygulama etkileşiminin de önemli (p<0,05) olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.5).

Bu sonuçlar doğrultusunda, sürgün uzunluğu (SU) bakımından çeşit ortalamaları Aydoğan için 30,75 cm, Damla-89 için ise 27,94 cm olarak belirlenmiştir (Tablo 3.5). Kontrol grubu dışında her iki çeşitte de en yüksek sürgün uzunluğu değerlerinin A ve XA uygulamalarında ortaya çıktığı görülmüştür. Aynı doğrultuda, mürdümük üzerinde yapılan bir çalışmada da sürgün uzunluğu üzerine alkali uygulamalarının etkisi değerlendirilmiş ve çeşit ortalamaları bakımından K ve A uygulamalarında sürgün boylarının en yüksek değerlere sahip olduğu bildirilmiştir (Şen 2019). Bu sonuçlar, tez çalışmasında nohut çeşitlerinin sürgün uzunluğu yanıtlarıyla hemen hemen aynı ölçüde uyumlu olduğu görülmektedir. Bu tez çalışmasında da alkali stresinin artması sürgün gelişimini baskımlarken, AMF uygulaması bu olumsuz etkiyi belirli düzeyde tutmayı sağlamıştır. Sonuç olarak AMF ve alkali stres uygulamaları sürgün uzunluğu üzerinde

sayısal olarak değişkenliğe neden olmuş olsa da bu değişiklik anlamlı düzeyde olmamıştır.

Tablo 3.5. Uygulamalara göre çeşitlerin sürgün ve kök uzunlukları (cm)

Uygulama (mM + mg.L ⁻¹)	SU (cm)			KU (cm)		
	Aydoğan	Damla-89	Ortalama	Aydoğan	Damla-89	Ortalama
K	34,94a	29,11a	32,03a	9,56b	9,50c	9,53c
A	30,56a	28,61a	29,58a	10,61b	12,22bc	11,42bc
X	26,94a	26,39a	26,67a	12,44a	14,56b	13,50b
XA	30,56a	27,67a	29,11a	14,33ab	20,28a	17,31a
Ortalama	30,75A	27,94A	29,35A	11,74B	14,14A	12,94A
F Değeri (Genotip) (G)			3,55öd			15,94**
F Değeri (Uygulama) (U)	2,43öd	0,32öd	2,17öd	9,70**	21,16**	30,67**
F Değeri (GxU)			0,56öd			4,44*
VK (%)	9,5	11,7	11,9	14,0	9,0	14,9

¹: Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar Tukey testine göre %5 önem seviyesinde önemsizdir.

**, * ve öd: Sırasıyla çok önemli (p<0,01), önemli (p<0,05) ve önemsiz (p>0,05)

²: (K)-Kontrol, (A)-100 mM Alkali Stres, (X)- AMF ve (XA)- AMF+100 mM Alkali Stres

Kök uzunluğu (KU) açısından uygulama ortalamaları değerlendirildiğinde, Aydoğan çeşidinde 11,74 cm, Damla-89 çeşidinde ise 12,94 cm değerleri elde edilmiştir (Tablo 3.5). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında her iki çeşitte de A ve X uygulamalarının kök gelişimini artırdığı görülmüştür. Ayrıca, XA uygulamasında Damla-89 çeşidinin kök uzunluğu, Aydoğan çeşidine göre daha yüksek bir artış göstermiştir. Damla-89 çeşidi bu koşullara daha iyi yanıt vermiştir. Özellikle AMF uygulamalarının, kök gelişimini destekleyici etkisi nedeniyle belirgin bir iyileşme sağladığı dikkat çekmektedir. Benzer çalışmada, çeşitli AMF aşılama türleri tuzlu-alkali stres altında pamuk bitkisinin boyu, kök uzunluğu ve biyokütlesi üzerinde belirgin iyileştirici etkiler gösterdiğini ortaya koymaktadır. AMF kolonizasyonu, köklerde arbusküler yapılar oluşturarak besin alımını artırmakta, kök büyümesini desteklemekte ve kök sisteminin erişim alanını genişleterek bitki gelişimini olumlu yönde etkilemektedir (Guo et al. 2020; Peng et al. 2024).

3.2.3. Sürgün yaş ve kuru ağırlığı (g)

Aydoğan ve Damla-89 çeşitlerine uygulanan K, A, X ve XA uygulamalarının sürgün yaş ve kuru ağırlığına ait ortalama değerler Tablo 3.6'da sunulmuştur. Sürgün yaş ağırlığı (SYA) üzerine G ve GxU interaksiyon etkisinde önemsiz (p>0,05), U'da ise önemli (p<0,05) olduğu belirlenmiştir. Sürgün kuru ağırlığında (SKA) da G ve GxU interaksiyon etkisinde önemsiz (p>0,05), U'da ise çok önemli (p<0,01) olduğu saptanmıştır.

Tablo 3.6. Uygulamalara göre çeşitlerin sürgün yaş ve kuru ağırlıkları (g)

Uygulama (mM + mg.L ⁻¹)	SYA (g)			SKA (g)		
	Aydoğan	Damla-89	Ortalama	Aydoğan	Damla-89	Ortalama
K	2,10a	2,07a	2,09a	0,19b	0,21b	0,20b
A	1,35b	1,20b	1,28b	0,19b	0,21b	0,20b
X	1,49a	1,55ab	1,52ab	0,21b	0,15b	0,18b
XA	1,50a	1,64a	1,57ab	0,71a	0,50a	0,61a
Ortalama	1,61A	1,62A	1,61A	0,33A	0,27A	0,30A
F Değeri (Genotip) (G)			0,00öd			0,69öd
F Değeri (Uygulama) (U)	1,24öd	2,52öd	3,30*	6,69*	3,25*	9,69**
F Değeri (GxU)			0,11öd			0,68öd
VK (%)						

¹: Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar Tukey testine göre % 5 önem seviyesinde önemsizdir.

**, * ve öd: Sırasıyla çok önemli (p<0,01), önemli (p<0,05) ve önemsiz (p>0,05)

²: (K)-Kontrol, (A)-100 mM Alkali Stres, (X)- AMF ve (XA)- AMF+100 mM Alkali Stres

Uygulama ortamlarının sonuçlarına göre, SYA değerleri Aydoğan çeşidinde 1,61 g, Damla-89 çeşidinde ise 1,62 g olarak belirlenmiştir (Tablo 3.6). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, her iki çeşitte de SYA değerlerinde düşüş meydana gelmiştir. Ayrıca, her iki çeşitte de en düşük SYA değerinin A uygulamasında ortaya çıktığı tespit edilmiştir. Önceki çalışmalara benzer olarak Ertekin vd. (2017), artan tuz konsantrasyonlarının fiğ çeşitlerinde çimlenmeyi olumsuz etkilediğini ve buna bağlı olarak sürgün yaş ağırlığı ile kök gelişiminin gerilediğini bildirmiştir. Bu çalışmada da alkali stres uygulamasının SYA değerlerini düşürdüğü görülmüştür. Bu durum, stres koşullarının bitki büyüme performansını sınırlandırdığı ve biyokütle üretimini olumsuz etkilediği yönündeki literatür bilgileriyle uyumludur.

SKA değerleri Aydoğan çeşidinde 0,33 g, Damla-89 çeşidinde ise 0,27 g olarak belirlenmiştir (Tablo 3.6). Kontrol grubu ile kıyaslandığında, her iki çeşitte de SKA değerlerinde artış meydana gelmiştir. Özellikle XA uygulamasının, her iki çeşitte de en yüksek SKA değerlerine sahiptir. Ayrıca Aydoğan çeşidinde uygulama interaksiyon etkisi önemli (p<0,05) düzeyde olduğu görülmüştür. Literatürde de benzer şekilde, AMF uygulamasının tuzluluk ve alkali stresi altındaki karpuz fidelerinde kök ve sürgün büyümesini, gövde kalınlığını ve kuru ağırlığı artırdığı bildirilmektedir. Bu etkilerin, hifal ağ yapısının gelişmesiyle köklerin su ve mineral alımının güçlenmesine bağlı olduğu ifade edilmiştir (Ye et al. 2019).

3.2.4. Kök yaş ve kuru ağırlığı (g)

Nohut Çeşitlerine uygulanan K, A, X ve XA uygulamalarının kök yaş ve kuru ağırlığı üzerindeki etkilerine ait ortalama değerler Tablo 3.7’de yer almaktadır. Kök yaş

ağırlığı (KYA) üzerinde G ve G×U etkileşiminin önemsiz ($p>0,05$) olduğu, U'nın ise çok önemli ($p<0,01$) düzeyde etkili bulunduğu belirlenmiştir. Kök kuru ağırlığı (KKA) açısından da G ve G×U etkileşimi önemsiz ($p>0,05$) iken, U'nın etkisi önemli ($p<0,05$) olarak saptanmıştır. Özellikle Aydoğan çeşidinde KYA değerinin çok önemli ($p<0,01$), KKA değerinin ise önemli ($p<0,05$) düzeyde etkilendiği gözlemlenmiştir.

Tablo 3.7. Uygulamalara göre çeşitlerin kök yaş ve kök kuru ağırlıkları (g)

Uygulama (mM + mg.L ⁻¹)	KYA (g)			KKA (g)		
	Aydoğan	Damla-89	Ortalama	Aydoğan	Damla-89	Ortalama
K	1,09a	1,18a	1,13a	0,04	0,05	0,05
A	0,83ab	0,96ab	0,89ab	0,03	0,03	0,03
X	0,81ab	0,69b	0,75ab	0,03	0,03	0,03
XA	0,20b	0,82ab	0,51b	0,10	0,04	0,07
Ortalama	0,73AB	0,91AB	0,82AB	0,05	0,04	0,04
F Değeri (Genotip) (G)			2,47öd			1,87öd
F Değeri (Uygulama) (U)	17,94**	1,04öd	5,39**	3,31*	0,70öd	2,84*
F Değeri (GxU)			1,93öd			2,03öd
VK (%)						

¹: Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar Tukey testine göre % 5 önem seviyesinde önemsizdir.

**, * ve öd: Sırasıyla çok önemli ($p<0,01$), önemli ($p<0,05$) ve önemsiz ($p>0,05$)

²: (K)-Kontrol, (A)-100 mM Alkali Stres, (X)- AMF ve (XA)- AMF+100 mM Alkali Stres

Uygulama ortalamalarına göre, kök yaş ağırlığı Aydoğan çeşidinde 0,73 g, Damla-89 çeşidinde ise 0,91 g olarak belirlenmiştir. Kontrol grubu ile kıyaslandığında, her iki çeşitte de KKA değerlerinde bir azalma gözlenmiştir. Ayrıca, A uygulamasının her iki genotip üzerinde hafif bir etkisi olduğu tespit edilmiştir. Kök kuru ağırlığı bakımından Aydoğan genotipi 0,05 g, Damla-89 genotipi ise 0,04 g olarak ölçülmüştür. Benzer şekilde Ahmad et al. (2014) sodyum karbonat kaynaklı alkalilik iki dut çeşidinde sürgün taze ve kuru ağırlık ile sürgün uzunluğunu azalttığını bildirmiştir.

3.3. Alkali Stres ve AMF Uygulamalarının Biyokimyasal Analizleri

Bitkiler, zorlu çevresel koşullara maruz kaldıklarında, hayatta kalabilmek için hücresel yapılarında ve metabolizmalarında bir dizi uyum mekanizması geliştirirler (Dos Santos et al. 2022; Mondal et al. 2023). Bu tür stres durumlarında, süperoksit ve hidrojen peroksit gibi ROT üretimi artar ve bu bileşikler hücredeki lipidler, proteinler, karbonhidratlar ve DNA üzerinde zararlı etkilere neden olabilir (Juan et al. 2021). Bitki hücreleri oluşan oksidatif hasarı azaltmak amacıyla süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), peroksidaz (POD) ve askorbat peroksidaz (APX) gibi antioksidan enzimleri aktive ederken; fenolik bileşikler, askorbik asit, karotenoidler ve glutatyon gibi enzimatik olmayan savunma bileşenlerinin de düzeyini artırır (Nahar et al. 2022). Dolayısıyla,

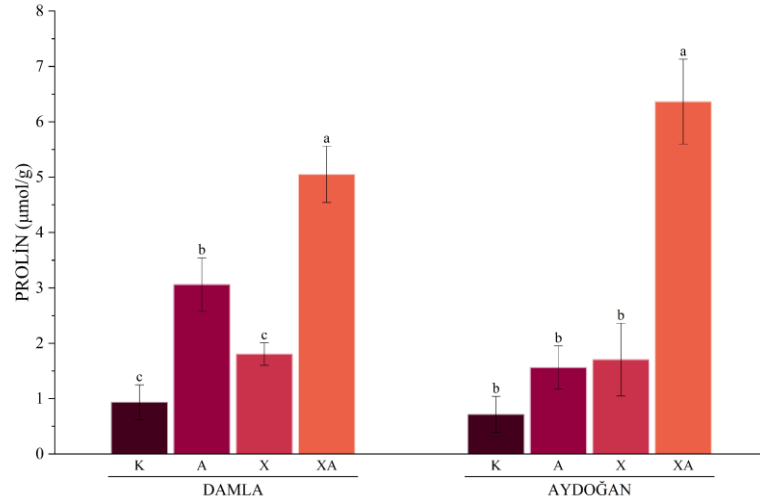
bitkide ROT üretimi ile antioksidan savunma sistemi arasındaki denge, oksidatif stresin hücresel boyutta vereceği zararların önlenmesinde belirleyici bir role sahiptir (Hasanuzzaman et al. 2020; Machado et al.2023).

3.3.1. Prolin miktarı

Alkali stres, toprak pH'ının yükselmesine bağlı olarak bitkilerde mineral alımını zorlaştırabilir. Bu durumda bazı bitkiler, kök çevresindeki mineralleri mobilize etmek ve strese karşı koymak için organik asitler salgılar; Prolin de bu asitler arasında yer alır ve alkali koşullarda içeriği artabilir (Chen et al. 2017; Guo et al. 2020).

Çalışmada prolin miktarındaki değişimler Şekil 3.3'te sunulmuştur. Kontrol grubu (K) ile karşılaştırıldığında, her iki çeşitte de 100 mM Alkali Stres (A) ve AMF+100 mM Alkali stres (XA) uygulamalarında prolin miktarında anlamlı bir artış gözlemlenmiştir (Şekil 3.3). Tek başına alkali uygulamasında Damla-89 çeşidindeki artış anlamlıyken, Aydoğan çeşidinde anlamlı bir artış gözlenmemiştir. Bu durum, AMF'nin prolin birikiminin çeşidin fizyolojik duyarlılığına bağlı olarak farklılaştığını gösterdiğini düşündürmektedir. Soya fasulyesi ve çeltik genotipleri üzerinde yapılan çalışmalarda da prolin birikiminin genotipe göre değiştiği ve bu farklılığın stres toleransı ile ilişkili olduğu ortaya konmuştur (Chen et al. 2001; Alotaibi et al.2021). Prolin, stres koşullarında hem osmotik potansiyeli düzenleyen bir osmolit olarak görev yapar hem de ROT'u temizleyerek hücresel yapıları koruyan önemli bir uyum molekülüdür (Ghosh et al. 2022). Benzer şekilde, AMF inokulasyonunun, alkali stres uygulanan *Leymus chinensis* bitkilerinde prolin düzeyini artırdığı ve bu yolla osmotik dengeyi desteklediği rapor edilmiştir (Wang et al. 2022).

Alkali stres koşullarında Damla-89 çeşidinin prolin birikimine daha hızlı tepki verdiği, Aydoğan çeşidinin ise bu yanıtı ancak AMF ile simbiyotik etkileşimiyle gerçekleştiğinde yükselttiği görülmüştür. Bu farklılıklar, çeşitler arasında AMF kolonizasyon verimliliği, kök morfolojisi ve strese duyarlılık düzeylerinin değişken olabileceğini düşündürmektedir. Farghaly et al (2022), alkali toprakta yetişen buğdayda prolin birikimi en yüksek düzeye ulaştığına ve stres yanıtının bir göstergesi olduğunu tespit etmiştir. Mikorizal aşılama ise yaprak ve köklerde prolin birikiminin azaldığını ve bu durumun bitkilerin stresle daha etkin başa çıkmasını sağladığını ortaya koymaktadır.

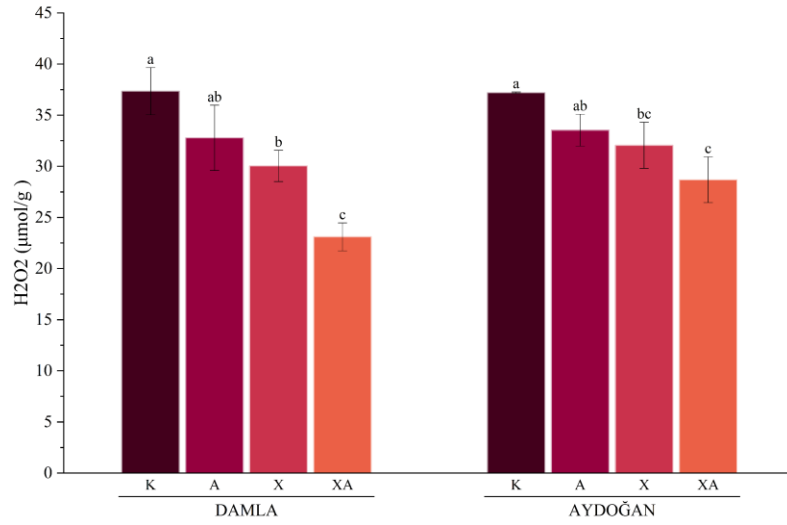


Şekil 3.3. Nohut çeşitlerinin prolin miktarının değişimi

3.3.2. H₂O₂ ve MDA miktarı

Bitkilerde ROT, farklı kimyasal formlarda bulunur; iyonik türler süperoksit anyonu (O₂⁻) ve hidroksil radikalleri (•OH) gibi yüksek reaktif parçacıkları içerirken, moleküler türler başlıca hidrojen peroksit (H₂O₂) ve singlet oksijen (¹O₂) gibi daha stabil bileşenlerden oluşur (Blokina 2003; Apel and Hirt 2004; Mittler et al. 2004). AMF ve alkali stres uygulamalarındaki H₂O₂ miktarındaki değişimler Şekil 3.4’te sunulmuştur. Her iki çeşitte de uygulamalar arasında farklılıklar gözlemlenmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında genel olarak bir azalma meydana gelmiştir. Bununla birlikte, kontrole en yakın değerler A ve X uygulamalarında elde edilmiştir. Ayrıca, Aydoğan çeşidinde Damla-89 çeşidine kıyasla daha olumlu sonuçlar gözlenmiş ve kontrole yakın değerler elde edilmiştir. Bu durum, Aydoğan’ın alkali stres ve AMF uygulamalarına karşı daha iyi bir redoks dengesi ve stres toleransı gösterdiğini düşündürmektedir.

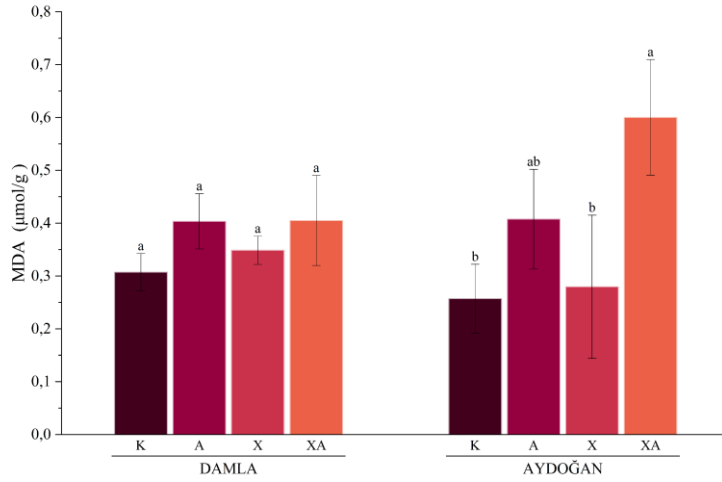
XA kombinasyonunda da Aydoğan çeşidinde Damla-89’ya kıyasla daha olumlu etkiler gözlemlenmiştir. Bu durum, söz konusu uygulamaların bitkilerin antioksidan sistemlerini aktive ederek oksidatif stresi kısmen kontrol altına aldığını göstermektedir. Bu doğrultuda benzer çalışmada, AMF uygulaması, kuraklık stresi altında *BcRboh* genlerinin ifadesini azaltarak H₂O₂ birikimini düşürmüştür. Bu durum, mikorizanın kuraklık toleransında RBOH aracılı H₂O₂ üretimini sınırlayarak rol oynayabileceğini göstermektedir (Li et al. 2022).



Şekil 3.4. Nohut çeşitlerinin H₂O₂ miktarının değişimi

MDA seviyesi, oksidatif stres altında lipid peroksidasyonunun şiddetini gösteren bir göstergedir (Chaoui et al. 1997). Lipid peroksidasyonu, biyolojik membranların yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünü bozarak plazma zarının geçirgenliğini artırır, K⁺ kaybına yol açar, amino asitlerin oksidasyonunu tetikler ve sonuçta hücre ölümüne neden olabilir (Tewari et al. 2008; Li et al. 2013). AMF ve alkali stres uygulamalarındaki MDA miktarındaki değişimler Şekil 3.5'te gösterilmiştir. Aydoğan çeşidinde uygulamalar arasında anlamlı farklılıklar gözlemlenmezken Damla-89 çeşidinde uygulamalar arasında belirgin farklılıklar gözlemlenmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, tüm uygulamalarda her iki çeşitte de MDA seviyelerinde genel bir artış meydana gelmiştir. Bu durum, tüm uygulamalarda MDA seviyelerinin kontrole göre artması, uygulamaların lipid peroksidasyonunu artırdığını ve dolayısıyla bitkilerde bir miktar oksidatif stres oluşturduğunu göstermektedir. Özellikle XA uygulamasında, Aydoğan çeşidinde yüksek bir artış saptanmıştır. Tek başına AMF uygulamasında her iki çeşitte kontrole yakın değerlere sahiptir. Bu durum, AMF'nin lipid peroksidasyonu dengelediğini göstermektedir. Önceki çalışmalar, olumsuz çevresel koşulların ROT birikimi yoluyla hücre zarlarında lipid peroksidasyonunu artırarak yapraklardaki MDA düzeylerinin yükselmesine neden olduğunu göstermiştir (Pan et al. 2006; Xun et al. 2015). Bu çalışmada da A ve XA uygulamaları altında MDA içeriğinin artması, stresin oksidatif hasarı indüklediğini doğrulamakta; Aydoğan çeşidinde daha yüksek MDA birikimi ise bu çeşidin Damla-89'a kıyasla alkali strese daha hassas olduğunu göstermektedir. Benzer şekilde, PGPR ve AMF ile aşıl原因an yulaf bitkilerinde MDA içeriğinin kontrol bitkilerine

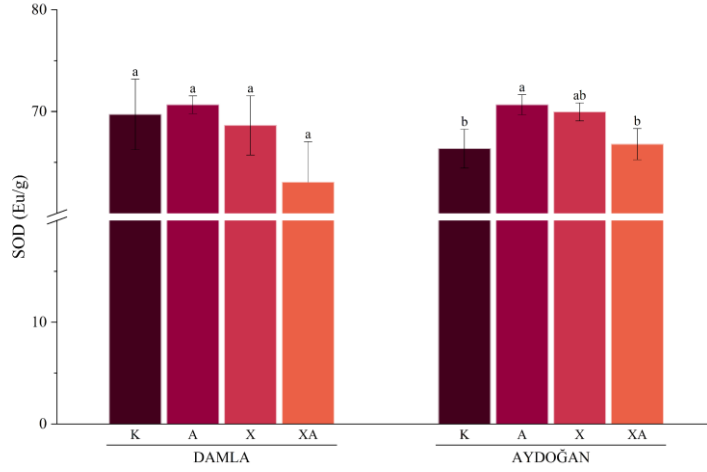
kıyasla azaldığı, bu sayede oksidatif stresin ve hücre zarındaki hasarın hafiflediği rapor edilmiştir (Xun et al. 2015).



Şekil 3.5. Nohut çeşitlerinin MDA miktarının değişimi

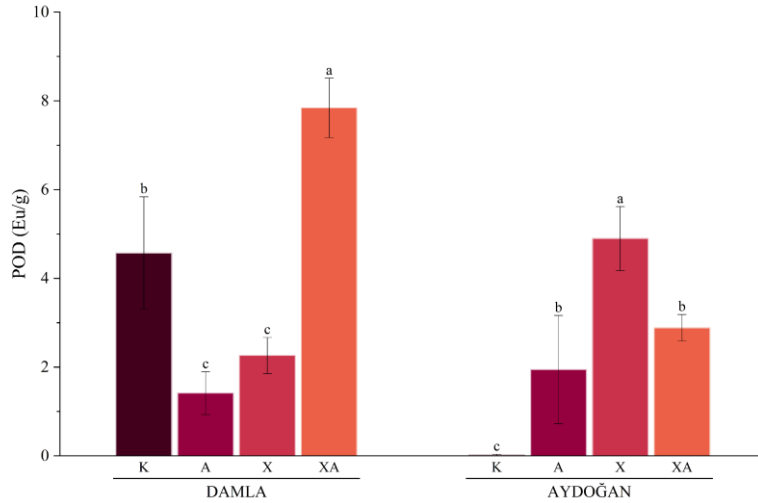
3.3.3. SOD, POD ve APX aktivitesi

Bitkiler, oksidatif stres sırasında SOD, POD ve APX başta olmak üzere enzimatik antioksidanlarla ROS seviyelerini kontrol ederek hücre hasarını sınırlar (Caverzan et al. 2016; Ali et al. 2021). Bu çalışmada SOD aktivitesindeki değişimler Şekil 3.6'da gösterilmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, her iki çeşitte uygulamalara bağlı olarak hem artış hem de azalışlar gözlenmiştir. Damla-89 çeşidinde uygulamalar arasındaki değişimler anlamlı değil ve kontrole yakın değerlerdedir. Özellikle X ve XA uygulamalarında azalma eğilimi sergilemiştir. Aydoğan çeşidinde ise A ve X uygulamaları aktivitelere artış sağlarken, XA kombinasyonunda değişim sınırlı kalmıştır (Şekil 3.6). Bu doğrultuda, Aydoğan çeşidinde AMF uygulamasının SOD aktivitesi üzerinde daha dengeli bir antioksidan etki sağladığı gözlenmektedir. Bu sonuçlar, çeşit ve uygulamaya bağlı olarak bitkilerin antioksidan yanıtının değiştirdiğini ortaya koymaktadır. Ayrıca, AMF ile enfekte bitkilerde artan SOD aktivitesinin, oksidatif stres kaynaklı zararın azaltılması ve hücre zarının daha kararlı yapıda kalması ile ilişkili olduğu vurgulanmaktadır (Saluja et al. 2025).



Şekil 3.6. Nohut çeşitlerinin SOD miktarının değişimi

POD aktivitesindeki değişimler Şekil 3.7’de gösterilmiştir. Her iki çeşitte uygulamalar arasında belirgin farklılıklar gözlemlenmiştir. Damla-89 çeşidinde, tüm uygulamalar incelendiğinde en düşük POD aktivitesi A uygulamasında, en yüksek aktivite ise XA kombinasyonunda gözlenmiştir; kombine uygulama kontrole kıyasla da daha yüksek aktivite sergilemiştir (Şekil 3.7).

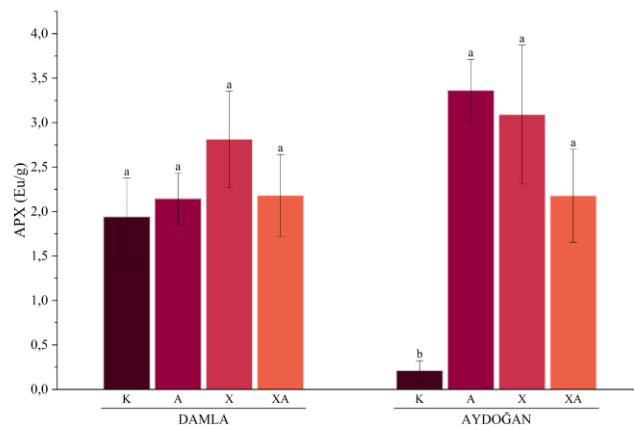


Şekil 3.7. Nohut çeşitlerinin POD miktarının değişimi

Bu da alkali stres ile bitkide oksidatif stresin arttığını ve AMF ile savunma mekanizmasının desteklendiğini göstermektedir. Aydoğın çeşidinde durum farklılık göstermiştir; kontrol grubunda neredeyse POD aktivitesi gözlenmezken, tek başına AMF uygulaması en yüksek aktiviteyi sağlamıştır. Ayrıca diğer iki uygulamada da artış kaydedilmiştir. Bu bulgular, AMF’nin bitkilerde antioksidan savunmasında olumlu

yönde güçlendirdiğini göstermektedir. Buna paralel olarak, yapılan bir çalışmada artan tuzlu su konsantrasyonu SOD ve POD aktivitelerini düşürürken, biyokömür ve/veya AMF uygulamaları özellikle birlikte kullanıldığında bu enzim aktivitelerini anlamlı şekilde artırmıştır (Ndiaye et al. 2021).

APX aktivitesindeki değişimler Şekil 3.8’de gösterilmiştir. Damla-89 çeşidinde, anlamsız olsa da kontrol grubuna kıyasla APX aktivitesinde artış gözlenmiş olup, tek başına Alkali stres uygulaması AMF ve AMF+100 mM Alkali Stres uygulamalarına göre daha yüksek aktivite sağlamıştır (Şekil 3.8). Aydoğan çeşidinde ise kontrol grubundaki aktivite düşük kalırken, tek başına alkali stres diğer uygulamalara göre daha yüksek APX aktivitesi göstermiştir. Bu durum, alkali stresinin Aydoğan’da oksidatif hasar oluşturduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, tek başına AMF uygulaması her iki çeşitte de APX aktivitesini artırmış ve olumlu bir etki ortaya koymuştur. Bu sonuçlar hem çeşit hem de uygulama tipine bağlı olarak APX aktivitelerinin değiştiğini, ancak AMF’nin tek başına uygulandığında her iki çeşitte de oksidatif hasarı sınırlayarak hücrel savunmayı desteklediğini göstermektedir. Benzer şekilde, Yılmaz et al. (2023) tatlı fesleğende (*Ocimum basilicum*) AMF uygulamasının tuz stresine karşı APX aktivitesini %25 oranında artırdığını bildirmiştir. Wu et al. (2023) ise beyaz yoncada (*Trifolium repens*) AMF (*Funneliformis mosseae*) inokülasyonunun AsA-GSH çevrim bileşenlerini güçlendirerek APX-2 gen ifadesini ve APX aktivitesini artırdığını rapor etmiştir.



Şekil 3.8. Nohut çeşitlerinin APX miktarının değişimi

3.4. Alkali ve AMF Uygulamalarında Mineral Kompozisyon Değişimi

Doğada birçok element farklı formlarda bulunur ve çeşitli biyolojik işlevleri yerine getirir. Özellikle iz veya eser elementler, hücresel yapının dengelenmesi ve stabil kalması için kritik öneme sahiptir. (Filiz 2007; Gümrükçü 2024). Bu tez çalışmasında, nohut çeşitleri arasında besin elementleri bakımından belirgin farklılıklar bulunduğunu ortaya koymaktadır. Nohut çeşitlerinin Manganez (Mn) ve Sodyum (Na) elementleri ile ilgili bulguları Tablo 3.8’te sunulmuştur. Mn birikimi açısından, genotip, uygulama ve genotip×uygulama interaksiyon etkisinin önemsiz ($p>0,05$) olduğu belirlenmiştir. Buna karşılık, Na birikiminde genotip ve genotip × uygulama interaksiyon etkisinin önemsiz ($p>0,05$), uygulama interaksiyon etkisinin önemli ($p<0,05$) olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.8).

Tablo 3.8. Uygulamalara göre çeşitlerin Mn (%) ve Na yüzdesi (%)

Uygulama (mM + mg.L ⁻¹)	Mn (%)			Na (%)		
	Aydoğan	Damla-89	Ortalama	Aydoğan	Damla-89	Ortalama
K	6,40a	3,86a	5,13a	1,66a	1,21a	1,43a
A	3,76a	4,53a	4,15a	5,11a	4,63a	4,87a
X	3,98a	4,35a	4,17a	4,13a	3,41a	3,77a
XA	2,99a	3,25a	3,12a	5,45a	4,51a	4,98a
Ortalama	4,28A	4,00A	4,14A	4,09A	3,44A	3,76A
F Değeri (Genotip) (G)			0,10öd			0,50öd
F Değeri (Uygulama) (U)	1,09öd	0,26öd	0,83öd	1,74öd	1,52öd	3,25*
F Değeri (GxU)			0,71öd			0,02öd
VK (%)						

¹: Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar Tukey testine göre % 5 önem seviyesinde önemsizdir.

**, * ve öd: Sırasıyla çok önemli ($p<0,01$), önemli ($p<0,05$) ve önemsiz ($p>0,05$)

²: (K)-Kontrol, (A)-100 mM Alkali Stres, (X)- AMF ve (XA)- AMF+100 mM Alkali Stres

Her iki çeşitte de Mn ve Na alımına ilişkin farklılıklar gözlenmiştir. Ortalama Mn içeriği Aydoğan çeşidinde 4,28 iken, Damla-89 çeşidinde 4,00 olarak belirlenmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, Aydoğan çeşidinde Mn alımında bir azalma meydana gelirken, Damla-89 çeşidinde A ve X uygulamalarında artış gözlenmiş; ancak XA uygulamasında her iki çeşitte de Mn alımının azaldığı saptanmıştır (Tablo 3.8). Literatürde, AMF uygulamasının (*Glomus mosseae*), yüksek Mn stresine maruz kalan bitkilerde biyokütlenin korunmasına katkı sağladığı; Mn’nin hücre içi alt birimlere yeniden dağıtımını kolaylaştırarak toksik formlardan daha az zararlı formlara dönüşümünü desteklediği bildirilmektedir (Pan et al. 2024). Ortalama Na alımına bakıldığında, Aydoğan çeşidinde 4,09, Damla-89 çeşidinde ise 3,44 değerleri kaydedilmiştir. Her iki çeşitte de Na içeriğinin kontrol grubuna kıyasla arttığı belirlenmiş, bu artışın alkali koşullarda iyon dengesinin bozulmasına bağlı olarak geliştiği

düşünülmektedir. Alkali stresin neden olduğu yüksek pH, toprak yapısını ciddi biçimde etkileyerek mineral elementlerin emilimini engeller ve buna bağlı olarak iyon dengesinin bozulmasına yol açar (Yang et al. 2007, 2009).

Nohut çeşitlerinin Kalsiyum (Ca) ve Kadmiyum (Cd) elementleri ile ilgili bulguları Tablo 3.9'da sunulmuştur. Ca içeriği açısından, genotip, uygulama ve genotip $\times$ uygulama etkileşiminin önemsiz ($p>0,05$) olduğu belirlenmiştir. Buna karşılık, Cd içeriğinde genotip ve uygulama önemsiz ($p>0,05$) bulunurken, G $\times$ U etkileşimi çok önemli ($p<0,01$) düzeyde etkili olmuştur (Tablo 3.9).

Tablo 3.9. Uygulamalara göre çeşitlerin Ca (%) ve Cd yüzdeleri (%)

Uygulama (mM + mg.L ⁻¹)	Ca (%)			Cd (%)		
	Aydoğan	Damla-89	Ortalama	Aydoğan	Damla-89	Ortalama
K	6,17	3,82	5,00	3,17	2,66	2,92
A	5,04	5,28	5,16	4,37	2,47	3,42
X	4,11	4,71	4,41	1,88	5,35	3,61
XA	4,02	4,35	4,19	1,77	5,33	3,55
Ortalama	4,84A	4,54A	4,69A	2,80A	3,95A	3,38A
F Değeri (Genotip) (G)			0,18öd			4,70öd
F Değeri (Uygulama) (U)	1,60öd	0,29öd	0,45öd	5,11*	3,06öd	0,35öd
F Değeri (GxU)			0,98öd			6,83**
VK (%)						

¹: Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar Tukey testine göre % 5 önem seviyesinde önemsizdir.

**, * ve öd: Sırasıyla çok önemli ($p<0,01$), önemli ($p<0,05$) ve önemsiz ($p>0,05$)

²: (K)-Kontrol, (A)-100 mM Alkali Stres, (X)- AMF ve (XA)- AMF+100 mM Alkali Stres

Ca ve Cd içerikleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, Aydoğan çeşidinde her iki elementte de azalma, Damla-89 çeşidinde ise artış gözlenmiştir. Ca içeriği Aydoğan çeşidinde 4,84 iken Damla-89 çeşidinde 4,54 olarak belirlenmiştir (Tablo 3.9). Cd içeriği ise Aydoğan çeşidinde 2,80, Damla-89 çeşidinde 3,95 değerine ulaşmıştır. Bu sonuçlar, özellikle Damla-89 çeşidinde Ca ve Cd birikiminin daha yüksek olduğunu göstermektedir. AMF inokulasyonu ve biyokömür uygulamasının bitki gelişimi ile Cd alımı üzerindeki etkilerini inceleyen bir çalışmada, Cd ilavesinin biyokömür bulunmayan koşullarda mikorizal kolonizasyonu, biyokütleyi ve bitki dokularındaki N, P, Ca ve Mg içeriklerini azalttığı bildirilmiştir. Biyokömür uygulaması mikorizal kolonizasyonu artırmazken, AMF inokulasyonu Cd ile kirlenmiş topraklarda bitki sürgünlerinde N ve P içeriğini artırmıştır (Zhang et al. 2019).

Nohut çeşitlerinin Potasyum (K) ve Magnezyum (Mg) elementleri ile ilgili bulguları Tablo 3.10’da sunulmuştur. K ve Mg alımı açısından, genotip, uygulama ve genotip × uygulama etkileşiminin önemsiz ($p>0,05$) olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.10).

Tablo 3.10. Uygulamalara göre çeşitlerin K (%) ve Mg (%) yüzdeleri

Uygulama (mM + mg.L ⁻¹)	K (%)			Mg (%)		
	Aydoğan	Damla-89	Ortalama	Aydoğan	Damla-89	Ortalama
K	3,67a	3,61a	3,64a	4,91a	3,35a	4,13a
A	3,60a	4,17a	3,89a	4,20a	4,02a	4,11a
X	4,47a	4,17a	4,32a	3,89a	4,17a	4,03a
XA	4,08a	2,59a	3,33a	3,27a	2,42a	2,85a
Ortalama	3,95A	3,63A	3,79A	4,07A	3,49A	3,78A
F Değeri (Genotip) (G)			0,57öd			1,46öd
F Değeri (Uygulama) (U)	0,41öd	1,76öd	0,97öd	1,02öd	1,36öd	1,68öd
F Değeri (GxU)			1,04öd			0,70öd
VK (%)						

¹: Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar Tukey testine göre % 5 önem seviyesinde önemsizdir.

²*,* ve öd: Sırasıyla çok önemli ($p<0,01$), önemli ($p<0,05$) ve önemsiz ($p>0,05$)

²: (K)-Kontrol, (A)-100 mM Alkali Stres, (X)- AMF ve (XA)- AMF+100 mM Alkali Stres

K ve Mg alımı açısından her iki çeşitte farklılıklar gözlenmiştir. Aydoğan çeşidinde K ve Mg alımı sırasıyla 3,95 ve 4,07 olarak belirlenirken, Damla-89 çeşidinde K alımı 3,63 ve Mg alımı 3,49 olarak saptanmıştır (Tablo 3.10). Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, AMF uygulaması her iki çeşitte K alımını artırmış, Mg alımında ise Aydoğan çeşidinde azalma, Damla-89 çeşidinde artış görülmüştür. Bu sonuç, Akbar et al. (2025) tarafından farklı nohut çeşitleri üzerinde yürütülen çalışmanın bulgularıyla uyumludur. Söz konusu çalışmada 150 g AMF aşılmasının magnezyum konsantrasyonunu artırdığı bildirilmiştir. Bulgular, AMF kolonizasyon yoğunluğunun bitkilerde Mg alımını düzenlemede önemli bir rol oynadığını göstermektedir.

Nohut çeşitlerinin Nikel (Ni) ve Fosfor (P) elementleri ile ilgili bulguları Tablo 3.11’de sunulmuştur. Ni ve P alımı açısından, genotip ve genotip × uygulama interaksiyon etkisi önemsiz ($p>0,05$), uygulama interaksiyon etkisi ise çok önemli ($p<0,01$) olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.11).

Araştırma sonuçlarına göre, her iki çeşitte de Ni ve P alımı açısından belirgin farklılıklar ortaya çıkmıştır. Ni elementi bakımından, özellikle AMF uygulaması her iki çeşitte de anlamlı bir artışa neden olmuştur (Tablo 3.11). Literatürde de benzer şekilde, *Cajanus cajan* bitkisinde AMF ve poliamin uygulamalarının Ni stresini hafifleterek bitki gelişimini desteklediği ve Ni birikimini düzenlediği bildirilmektedir (Garg and Saroy 2020).

Tablo 3.11. Uygulamalara göre çeşitlerin Ni (%) ve P (%) yüzdeleri

Uygulama (mM + mg.L ⁻¹)	Ni (%)			P (%)		
	Aydoğan	Damla-89	Ortalama	Aydoğan	Damla-89	Ortalama
K	2,84b	1,66b	2,25b	5,10a	3,71ab	4,41a
A	2,93b	1,80b	2,36b	4,12a	3,83ab	3,98ab
X	10,62a	15,36a	12,99a	4,42a	5,02a	4,72a
XA	7,51b	6,05b	6,78b	3,54ab	2,17b	2,85b
Ortalama	5,97B	6,22B	6,10B	4,30A	3,68AB	3,99AB
F Değeri (Genotip) (G)			0,04öd			3,25öd
F Değeri (Uygulama) (U)	3,19öd	19,78**	15,52**	1,64öd	6,61öd	5,74**
F Değeri (GxU)			1,37öd			1,97öd
VK (%)						

¹: Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar Tukey testine göre % 5 önem seviyesinde önemsizdir.

**, * ve öd: Sırasıyla çok önemli (p<0,01), önemli (p<0,05) ve önemsiz (p>0,05)

²: (K)-Kontrol, (A)-100 mM Alkali Stres, (X)- AMF ve (XA)- AMF+100 mM Alkali Stres

P alımı açısından değerlendirildiğinde, Aydoğan çeşidinde kontrol grubuna kıyasla bir azalma görülürken, Damla-89 çeşidinde AMF uygulaması P alımını artırmıştır. Bu durum, AMF'nin geniş hifal ağı sayesinde bitkinin fosfora erişimini artırdığı yönündeki mevcut bilgilerle uyumludur (Schnepf et al. 2008). Ayrıca, AMF uygulamasının nohut bitkisinin besin elementi içerikleri üzerinde olumlu etkiler oluşturduğu ve aşılanan bitkilerde P, Na ve K konsantrasyonları kontrol gruplarına göre anlamlı düzeyde arttığı tespit edilmiştir (Basiru et al. 2025). Bu doğrultuda, AMF uygulamasının hem Ni hem de P alımını düzenleyerek bitkilerin stres koşullarına verdiği yanıtı iyileştirdiği görülmektedir.

Nohut çeşitlerinin Kurşun (Pb) ve Kükürt (S) elementleri ile ilgili bulguları Tablo 3.12'de sunulmuştur. Pb alımı açısından, genotip ve uygulama etkileşiminin etkisi önemsiz (p>0,05) düzeyde, genotip × uygulama etkileşiminin etkisi ise çok önemli (p<0,01) olduğu belirlenmiştir. Buna karşılık, S alımı açısından, genotip ve genotip × uygulama etkileşiminin etkisi önemsiz (p>0,05), uygulama etkileşiminin etkisi ise çok önemli (p<0,01) olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.12).

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, Aydoğan çeşidinde Pb alımı 5,16 Damla-89 çeşidinde ise 7,21; S alımı açısından da Aydoğan 4,73, Damla-89 4,46 değerlerini göstermiştir (Tablo 3.12). Tablo 3.12'de görüldüğü gibi S elementi bakımından, özellikle uygulama etkileşiminde etkisi her iki çeşitte de anlamlı bir artışa neden olmuştur. Bu sonuçlar, Damla-89 çeşidinin Aydoğan'a kıyasla hem Pb hem de S alımında daha yüksek değerlere sahip olduğunu ve uygulamalardan daha fazla etkilenmiş olduğunu göstermektedir. Yang et al. (2023) tarafından yapılan bir çalışmada, farklı Pb

konsantrasyonları altında yetiştirilen mısır bitkilerinde AMF inokulasyonunun etkileri incelenmiş; *Funneliformis mosseae*, *Claroideoglossum etunicatum* ve *Glomus versiforme* ile aşılanan bitkilerde, mikorizal kolonizasyon oranının Pb uygulanmayan koşullara kıyasla arttığı rapor edilmiştir.

Tablo 3.12. Uygulamalara göre çeşitlerin Pb (%) ve S (%) yüzdeleri

Uygulama (mM + mg.L ⁻¹)	Pb (%)			S (%)		
	Aydoğan	Damla-89	Ortalama	Aydoğan	Damla-89	Ortalama
K	6,34a	5,23a	5,79a	3,21bc	1,90c	2,55c
A	8,01a	3,73a	5,87a	3,83bc	3,26bc	3,55bc
X	3,04a	9,33a	6,18a	7,20a	8,11a	7,66a
XA	3,23a	10,55a	6,89a	4,69b	4,57b	4,63b
Ortalama	5,16A	7,21A	6,18A	4,73B	4,46B	4,60B
F Değeri (Genotip) (G)			2,96öd			0,30öd
F Değeri (Uygulama) (U)	2,84öd	2,92öd	0,18öd	6,96*	14,41**	19,50**
F Değeri (GxU)			5,61**			0,87öd
VK (%)						

¹: Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar Tukey testine göre % 5 önem seviyesinde önemsizdir.

**, * ve öd: Sırasıyla çok önemli (p<0,01), önemli (p<0,05) ve önemsiz (p>0,05)

²: (K)-Kontrol, (A)-100 mM Alkali Stres, (X)- AMF ve (XA)- AMF+100 mM Alkali Stres

Nohut çeşitlerinin Alüminyum (Al) ve Bor (B) elementleri ile ilgili bulguları Tablo 3.13’de sunulmuştur. Al içeriği açısından, genotip, uygulama ve genotip × uygulama etkileşiminin önemsiz (p>0,05) olduğu belirlenmiştir. Buna karşılık, B içeriğinde genotip önemli (p<0,05) bulunurken, uygulama ve G×U etkileşimi çok önemli (p<0,01) düzeyde etkili olmuştur (Tablo 3.13).

Bu çalışmada Al ve B içeriklerinin çeşitlere göre değiştiği belirlenmiştir. Al düzeyi Aydoğan çeşidinde 133,20, Damla-89 çeşidinde 153,81 birim olarak saptanmıştır (Tablo 3.13). Bor açısından ise Aydoğan 188,78, Damla-89 120,32 birim değerine sahiptir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, alkali stres uygulamasında her iki çeşitte de B içeriği azalırken, X ve XA uygulamalarında belirgin artış görülmüştür. Bu durum, AMF’nin stres koşullarında B alımını artırarak bitkinin besin elementlerini kullanma kapasitesini güçlendirdiğini göstermektedir.

En yüksek artışın Aydoğan çeşidinde ortaya çıkması, bu genotipin AMF ile daha etkin bir simbiyoz geliştirebildiğini düşündürmektedir. Literatürde de AMF’nin B dengesine etkisine ilişkin benzer sonuçlara rastlanmaktadır. Turhan (2021) yapılan çalışmada, yüksek B konsantrasyonlarının domates bitkilerinde toksisiteye neden olduğu, ancak AMF inokulasyonunun yaprak B içeriğini sınırladığı ve verim ile gelişimi koruduğu bildirilmiştir.

Tablo 3.13. Uygulamalara göre çeşitlerinin Al (%) ve B (%) içeriği

Uygulama (mM + mg.L ⁻¹)	Al (%)			B (%)		
	Aydoğan	Damla-89	Ortalama	Aydoğan	Damla-89	Ortalama
K	283,62a	119,07a	201,34a	29,04b	22,81b	25,93b
A	104,64a	88,79a	96,72a	29,22b	26,80b	28,01b
X	85,76a	47,79a	66,78a	282,55a	299,75a	291,15a
XA	58,79a	359,61a	209,20a	414,31a	131,89a	273,10a
Ortalama	133,20A	153,81A	143,51A	188,78A	120,32A	154,55A
F Değeri (Genotip) (G)			0,13öd			5,13*
F Değeri (Uygulama) (U)	7,94**	1,65öd	1,59öd	13,12**	20,04**	23,83**
F Değeri (GxU)			2,97öd			5,60**
VK (%)						

¹: Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar Tukey testine göre %5 önem seviyesinde önemsizdir.

**, * ve öd: Sırasıyla çok önemli (p<0,01), önemli (p<0,05) ve önemsiz (p>0,05)

²: (K)-Kontrol, (A)-100 mM Alkali Stres, (X)- AMF ve (XA)- AMF+100 mM Alkali Stres

Nohut çeşitlerinin Kobalt (Co) ve Krom (Cr) elementleri ile ilgili bulguları Tablo 3.14'te sunulmuştur. Co içeriği açısından, genotip ve genotip × uygulama interaksiyon etkisi önemsiz (p>0,05), uygulama interaksiyon etkisi ise önemli (p<0,05) olduğu belirlenmiştir. Buna karşılık, Cr içeriğinde genotip, uygulama ve G×U interaksiyon etkisi önemsiz (p>0,05) olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.14).

Tablo 3.14. Uygulamalara göre çeşitlerin Co (%) ve Cr (%) yüzdeleri

Uygulama (mM + mg.L ⁻¹)	Co (%)			Cr (%)		
	Aydoğan	Damla-89	Ortalama	Aydoğan	Damla-89	Ortalama
K	1,45a	0,95a	1,20a	0,19a	0,28a	0,24a
A	1,77a	0,78a	1,27a	0,52a	0,69a	0,61a
X	0,29a	0,65a	0,47a	0,13a	0,38a	0,25a
XA	0,37a	0,79a	0,58a	0,27a	1,24a	0,76a
Ortalama	0,97A	0,79A	0,88A	0,28A	0,65A	0,46A
F Değeri (Genotip) (G)			0,70öd			1,96öd
F Değeri (Uygulama) (U)	5,72*	0,18öd	3,78*	0,65öd	0,83öd	0,98öd
F Değeri (GxU)			2,62öd			0,62öd
VK (%)						

¹: Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar Tukey testine göre % 5 önem seviyesinde önemsizdir.

**, * ve öd: Sırasıyla çok önemli (p<0,01), önemli (p<0,05) ve önemsiz (p>0,05)

²: (K)-Kontrol, (A)-100 mM Alkali Stres, (X)- AMF ve (XA)- AMF+100 mM Alkali Stres

Her iki çeşitte de kontrol grubuyla kıyaslandığında, Co içeriğinde bir azalma, Cr içeriğinde ise bir artış meydana gelmiştir. Ayrıca, Damla-89 çeşidinin Aydoğan çeşidine göre daha yüksek değerler gösterdiği ve uygulamalardan daha olumlu etkilendiği belirlenmiştir (Tablo 3.14). Yapılan bir çalışmada, *Brassica rapa* bitkisinde krom (Cr) toksisitesinin hafifletilmesinde silisyumun ve arbusküler mikorizal mantarların etkileri

değerlendirilmiştir. Cr stresinin etkisi *B. rapa* bitkisinde büyüme parametrelerinde ve mikorizal kolonizasyonda azalmaya neden olduğu ortaya konmuştur (Shah et al. 2024).

Nohut çeşitlerinin Bakır (Cu) ve Demir (Fe) elementleri ile ilgili bulguları Tablo 3.15'te sunulmuştur. Cu içeriği açısından, genotip etkileşim düzeyi önemsiz ($p>0,05$), uygulama etkileşim düzeyi çok önemli ($p<0,01$) ve genotip $\times$ uygulama etkileşim düzeyi de önemli ($p<0,05$) olduğu belirlenmiştir. Buna karşılık, Fe içeriğinde genotip ve G $\times$ U etkileşim düzeyi önemsiz ($p>0,05$), uygulama etkileşim düzeyi de çok önemli ($p<0,01$) olduğu belirlenmiştir (Tablo 3.15).

Tablo 3.15. Uygulamalara göre çeşitlerin Cu (%) ve Fe (%) yüzdeleri

Uygulama (mM + mg.L ⁻¹)	Cu (%)			Fe (%)		
	Aydoğan	Damla-89	Ortalama	Aydoğan	Damla-89	Ortalama
K	13,67c	7,74c	10,71c	2,75b	1,68b	2,22b
A	10,58c	10,82c	10,70c	2,75b	1,86b	2,06b
X	28,71b	42,02a	35,37a	6,81a	6,94a	6,88a
XA	27,14b	24,14b	25,64b	3,74ab	6,31a	5,03ab
Ortalama	20,03B	21,18B	20,60B	3,89AB	4,20AB	4,04AB
F Değeri (Genotip) (G)			0,24öd			0,13öd
F Değeri (Uygulama) (U)	8,47**	19,81**	26,19**	1,59öd	28,05**	7,45**
F Değeri (GxU)			3,22*			0,86öd
VK (%)						

¹: Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar Tukey testine göre % 5 önem seviyesinde önemsizdir.

**, * ve öd: Sırasıyla çok önemli ($p<0,01$), önemli ($p<0,05$) ve önemsiz ($p>0,05$)

²: (K)-Kontrol, (A)-100 mM Alkali Stres, (X)- AMF ve (XA)- AMF+100 mM Alkali Stres

Her iki çeşitte de A uygulaması, Cu ve Fe içeriklerinde artış meydana gelmiştir. AMF uygulaması ile Fe birikiminde belirgin bir artış gözlenmiş ve bu durum bitkinin gelişimi üzerinde olumlu etki göstermiştir. Özellikle her iki çeşitte X ve XA uygulamalarında her iki elementte de artış saptanmıştır; en yüksek artış Damla-89 çeşidinde gözlenmiştir (Tablo 3.15). Bu bulgu, Fe birikiminin kök gelişimini desteklediğini göstermektedir. Benzer şekilde, literatürde de AMF uygulamalarının mikro besin elementlerinin alımını düzenleyici etkileri rapor edilmiştir. Mısır bitkisi üzerinde yapılan bir çalışmada, AMF ile aşılanan bitkilerde hem Fe hem de Cu içeriklerinin asidik ve alkali toprak koşullarında dengelendiği tespit edilmiştir (Özcan and Taban 2000). Ayrıca Mohammadnia et al. (2025) salatalık bitkisi üzerinde AMF inokulasyonunun, özellikle alkalik pH koşullarında Cu ve Fe alımını artırarak bitkilerin mineral besin kullanımını desteklediğini göstermiştir. Bu literatür bulguları, bu çalışmada AMF'nin Cu ve Fe birikimi üzerindeki olumlu etkilerini desteklemektedir.

Nohut çeşitlerinin Çinko (Zn) elementi ile ilgili bulgular Tablo 3.16’da sunulmuştur. Zn alımı açısından, genotip ve uygulama interaksyon etkisi önemli ($p<0,05$), genotip $\times$ uygulama interaksyon etkisi ise önemsiz ($p>0,05$) olduğu belirlenmiştir. (Tablo 3.16).

Tablo 3.16. Uygulamalara göre çeşitlerin Zn (%) içeriği

Uygulama (mM + mg.L ⁻¹)	Zn (%)		
	Aydoğan	Damla-89	Ortalama
K	103,89a	79,84a	91,86a
A	221,56a	77,19a	149,37a
X	157,75a	147,96a	152,86a
XA	85,94a	69,73a	77,84a
Ortalama	142,28A	93,68A	117,98A
F Değeri (Genotip) (G)			6,24*
F Değeri (Uygulama) (U)	3,07öd	4,44*	3,96*
F Değeri (GxU)			2,72öd
VK (%)			

¹: Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar Tukey testine göre % 5 önem seviyesinde önemsizdir.

**, * ve öd: Sırasıyla çok önemli ($p<0,01$), önemli ($p<0,05$) ve önemsiz ($p>0,05$)

²: (K)-Kontrol, (A)-100 mM Alkali Stres, (X)- AMF ve (XA)- AMF+100 mM Alkali Stres

Uygulama ortalamalarına göre, Zn alımı Aydoğan çeşidinde 142,28, Damla-89 çeşidinde ise 93,68 olarak saptanmıştır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, her iki çeşitte de AMF uygulaması Zn alımını artırmıştır (Tablo 3.16). Benzer şekilde, AMF ile aşılın marul bitkisinde, kök ortamında çinko (Zn) konsantrasyonu yükseldiğinde bitki dokularındaki Zn birikiminin azaldığı bildirilmiştir (Konieczny et al. 2017).

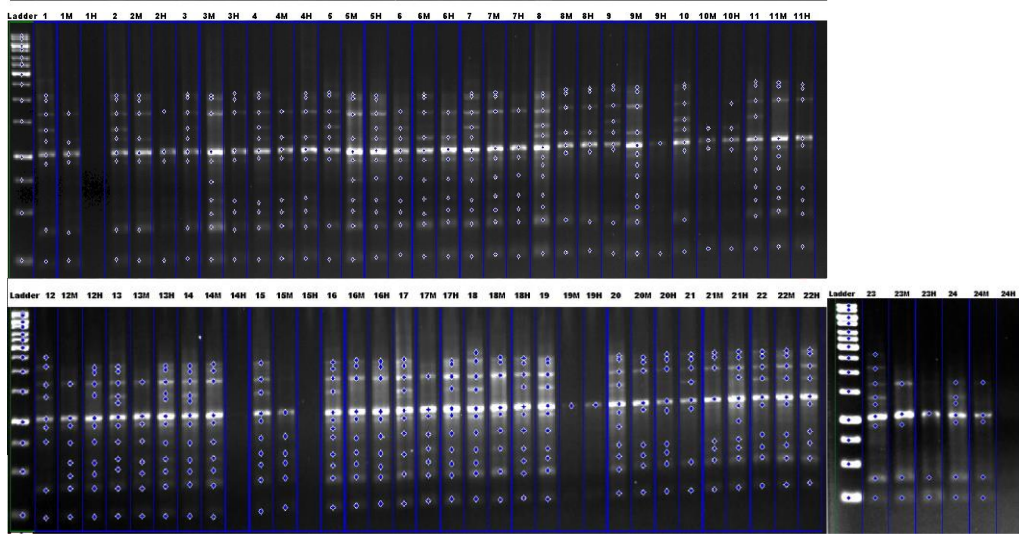
3.5. CRED-iPBS Analizleri

Bitkilerde stresin tetiklediği genomik ve epigenetik değişiklikler, RAPD, AFLP, CRED-RA ve MSAP gibi çeşitli moleküler markörler kullanılarak incelenmektedir. Bu yöntemler arasında iPBS, herhangi bir dizi bilgisine ihtiyaç duymadan genomdaki farklılıkları tespit edebilen pratik bir PCR tabanlı parmak izi tekniği olarak öne çıkmaktadır (Pour et al. 2019; Türkoğlu et al. 2025). Bu çalışmada metilasyon durumlarının belirlenmesinde kullanılan yöntem ise CRED tekniğidir. iPBS markörlerinin CRED yöntemi ile birlikte uygulanması, çevresel stres koşullarında sitozin metilasyonundaki değişiklikleri saptamak için etkili bir yaklaşım sunmaktadır. Bu yöntem, özellikle *HpaII* ve *MspI* gibi metilasyona duyarlı restriksiyon enzimleri kullanılarak CCGG dizilimlerindeki metilasyon durumlarını ayrıntılı bir biçimde ayırt edebilmektedir (Türkoğlu et al. 2023). Her iki enzim izoşizomer olmasına rağmen metilasyona karşı verdikleri yanıtlar farklılık göstermektedir: *HpaII* enzimi yalnızca her

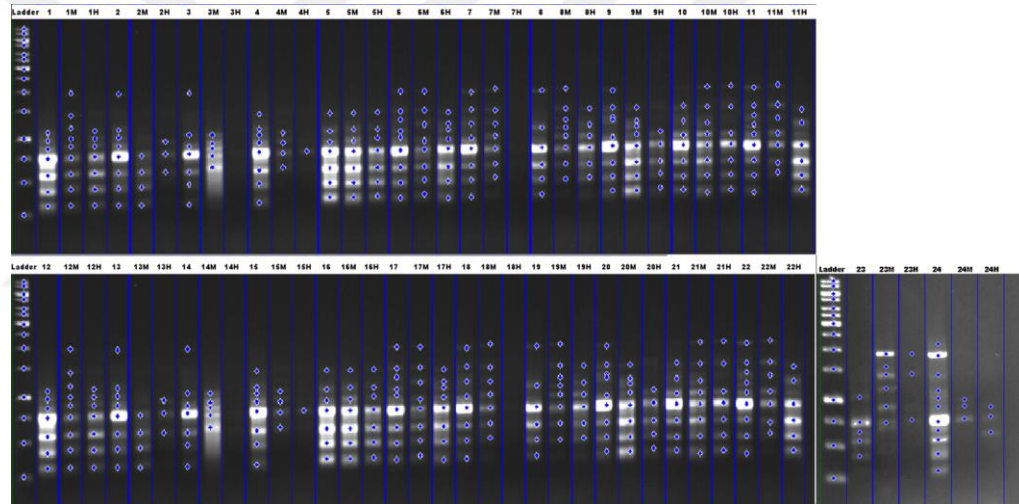
iki sitozin metillenmediğinde kesim gerçekleştirirken, *MspI* enzimi yalnızca iç sitozin metillendiğinde aktiftir (Labra et al. 2002; Robert et al. 2015; Türkoğlu et al. 2025).

Alkali stres (A), AMF (X) ve AMF+100 mM Alkali stres (XA) kombinasyonlarının ‘Damla-89’ ve ‘Aydoğan’ nohut çeşitlerinin genomları üzerindeki epigenetik etkilerini incelemek amacıyla CRED analizi yöntemi kullanılarak 11 iPBS primeri değerlendirilmiştir. iPBS primerlerinin uygulamalar sonucu ortaya çıkan bant görüntüleri Şekil 3.9 ve Şekil 3.10’da sunulmuştur. CRED-iPBS analizlerinde kullanılan tüm primerler polimorfik bantlar üretmiş olmakla birlikte, primerler arasında ayırt edicilik ve çözünürlük düzeyi açısından belirgin farklılıklar saptanmıştır. Özellikle iPBS-2083, iPBS-2295 ve iPBS-2400 primerleri, yüksek polimorfizm oranlarıyla öne çıkmıştır. iPBS-2295 primeri, toplam bant sayısının düşük olmasına karşın, A ve XA uygulamalarında elde edilen yüksek polimorfik bant oranı sayesinde yüksek çözünürlük sergilemiştir. iPBS-2083 primeri ise hem polimorfik bant sayısı hem de polimorfizm yüzdesi bakımından epigenetik varyasyonun ortaya konulmasında etkili bulunmuştur. Buna karşılık, iPBS-2377 primeri yüksek toplam bant sayısı ve orta-yüksek düzeyde bir çözünürlük sağlamıştır. iPBS-2400 primeri ise bant sayısı ve polimorfizm oranı açısından dikkat çekici olup, özellikle XA uygulamasında artan polimorfizm oranı ile uygulamaya bağlı epigenetik değişimleri yansıtmaya kapasitesi göstermiştir. Bu primerlerin, örnekler arasındaki epigenetik varyasyonu daha etkin biçimde ayırt edebildiği ve dolayısıyla daha yüksek çözünürlük sunduğu belirlenmiştir. Buna karşın, iPBS-2075, iPBS-2081 ve iPBS-2276 primerlerinin ortalama polimorfizm oranlarının düşük olması, bu primerlerin epigenetik farklılıkları ortaya koyma kapasitelerinin sınırlı olduğunu göstermektedir. Yapılan bir çalışmada 16 iPBS primerinin incelenmiş ortalama %31,9 polimorfizm oranı rapor edilmiş, bazı primerlerin %75’e varan polimorfizm oranı ile genetik farklılıkları iyi yansıttığı bildirilmiştir (Coşkun 2023).

Her bir iPBS primerine ait polimorfizm oranları ayrı ayrı hesaplanmış, ardından bu değerlerin ortalaması alınarak genel polimorfizm düzeyi belirlenmiştir. Polimorfizm yüzdesi, polimorfik bant sayısının toplam bant sayısına oranlanması ve 100 ile çarpılması esasına dayanan $(100 \times a / n)$ formülüne göre hesaplanmıştır. Analiz sonuçları, A, X ve XA kombinasyonlarının tamamında DNA metilasyonuna bağlı epigenetik değişimlerin meydana geldiğini göstermiştir. Uygulamalara ilişkin ayrıntılı bulgular aşağıda sunulmaktadır.



Şekil 3.9 iPBS-2377 primerine ait jel görüntüsü



Şekil 3.10 iPBS-2400 primerine ait jel görüntüsü

Damla-89 çeşidinin yaprak dokusunda gerçekleştirilen CRED-iPBS analizleri, A, X uygulaması ve XA kombinasyonunun sitozin metilasyonunda belirgin değişikliklere yol açtığını göstermiştir (Tablo 3.17). Toplam bant sayısına bakıldığında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bir artış görüldüğü saptanmıştır. En yüksek polimorfizme sahip olan iPBS-2081, iPBS-2083, iPBS-2295 ve iPBS-2394 primerlerinde metilasyon değişimleri fazlayken, iPBS-2276 ve iPBS-2075 primerlerinde ise stabilizasyon görülmüştür. iPBS-2377 orta-yüksek polimorfizm düzeyi sergilerken diğer primerlerdeki polimorfizm seviyesi orta seviyededir.

DNA metilasyonu, bitkilerin savunma yanıtlarının düzenlenmesinde kritik bir epigenetik mekanizma olup, çevresel uyaranlara bağılı olarak belirli genlerin seçici şekilde aktive edilmesini veya baskılanmasını kolaylaştırmaktadır. Bitki epigenetiğinde özellikle hipometilasyon (demetilasyon) ve hipermetilasyon süreçlerinin gen ifadesi üzerindeki çift yönlü etkisi dikkat çekicidir. Literatürde hem stres koşullarında gerçekleşen metilasyon kaybının (hipometilasyon) hem de metilasyon düzeyindeki artışın (hipermetilasyon), savunma mekanizmalarının devreye sokulmasında işlevsel rol üstlenebildiği belirtilmektedir (Omony et al. 2020; Arora et al. 2022). Bu bağlamda, çalışmamızda XA uygulama grubunda toplam polimorfik bant sayılarının çoğu iPBS primeri için artış göstermesi, bazı metillenmiş genom bölgelerinde hipometilasyon veya demetilasyonun meydana gelmiş olabileceğine işaret etmektedir. Bu durum, AMF'nin alkali stres koşulları altında bitkilerde DNA metilasyon örüntüsünü yeniden düzenleyerek, strese uyumda rol oynayan gen bölgelerinde epigenetik düzeyde düzenleyici bir etki oluşturduğunu düşündürmektedir. Öte yandan, literatürde iPBS tabanlı yaklaşımların hem genetik çeşitliliğin hem de metilasyona bağılı epigenetik değişimlerin ortaya konulmasında yüksek ayırt ediciliğe sahip olduğu bildirilmektedir. Haliloğlu et al. (2021), iPBS primerleri ile yürütülen analizlerde ortalama polimorfizm bilgi içeriği (PIC) değerinin 0,23 olup, iPBS-2237 en yüksek değer olan 0,34'ü olduğu ve primerler arasında belirgin düzeyde ayrışma bulunduğunu ortaya koymuştur.

Damla-89 çeşidinin yaprak dokusunda gerçekleştirilen polimorfizm yüzdeleri CRED-iPBS analizleri sonucunda, A, X ve XA uygulamalarına ait polimorfizm yüzdeleri belirlenmiştir. Buna göre, tek başına alkali stres uygulamasında polimorfizm oranı %36,32 olarak saptanırken, yalnızca AMF uygulanan örneklerde bu değer %27,45 olmuştur. XA grupta ise polimorfizm yüzdesi %32,78 olarak belirlenmiştir (Tablo 3.17). Bu durum, Damla-89 çeşidinde alkali stres, DNA metilasyon profilinde en belirgin değişimleri oluşturarak yüksek polimorfizm oranına yol açmıştır. XA ise bu epigenetik değişimleri kısmen dengeleyerek daha kontrollü bir metilasyon yanıtının oluşmasına katkı sağlamıştır. Mevcut literatürde, AMF'nin bitkilerde stres yanıtını moleküler düzeyde ele alan çok sayıda çalışma bulunmasına karşın, AMF inokulasyonu altında iPBS veya CRED-iPBS gibi retrotranspozon tabanlı markörler kullanılarak DNA metilasyon değişimlerinin epigenetik düzeyde birlikte incelendiği bir çalışmaya henüz rastlanmamıştır. Bu durum, çalışmamızın söz konusu alanda özgün ve tamamlayıcı bir katkı sunduğunu ortaya koymaktadır.

Ek olarak, Yildiz et al. (2020) tarafından *Capsicum* çeşitlerinin genetik çeşitliliği iPBS retrotranspozon temelli markörler kullanılarak analiz edilmiştir. Kullanılan 20 iPBS primeri ile toplam 172 bant elde edilmiş ve bantların yaklaşık %92'sinin polimorfik olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, primerlerin polimorfizm bilgi içeriği (PIC) değerlerinin 0,15–0,99 arasında değiştiği ve ortalama PIC değerinin 0,66 olduğu rapor edilmiştir. Bu sonuçlar, iPBS markörlerinin genetik varyasyonun ortaya konmasında yüksek ayırt ediciliğe sahip olduğunu göstermektedir. Benzer şekilde, ekmeklik buğdayda yapılan bir çalışmada, RAPD markörleri ve CRED-RA analizi ile kök gelişimi üzerine EGTA uygulamasının etkileri değerlendirmiş; elde edilen bulgular, DNA metilasyon düzeninde ve genomik düzeydeki polimorfizm oranlarında belirgin artışlar olduğunu göstermiştir (Zhang et al. 2016).

Bu sonuçlar doğrultusunda, bu çalışmada da Damla-89 çeşidinde alkali stres ve AMF uygulamalarına bağlı olarak gözlenen uygulamaya özgü polimorfizm farklılıklarıyla paralellik göstermekte olup, stres türü ve şiddetinin çeşide bağlı epigenetik yanıtları belirlemede kritik rol oynadığını desteklemektedir.

CRED-iPBS analizlerinde, *HpaII* ve *MspI* izoşizomerlerinin metilasyona duyarlı kesim davranışları esas alınarak her bir jel pozisyonu dört farklı metilasyon paternine ayrılmaktadır. Bu sınıflandırma, bant varlığı (1) ve yokluğu (0) üzerinden değerlendirilmekte ve sitozin metilasyon durumlarının ayırt edilmesini sağlamaktadır. Sınıf I (0/0), her iki enzim için bant yokluğu ile tam metilasyon veya yoğun metilasyon durumunu; Sınıf II (0/1), yalnızca *MspI* bandının varlığı ile iç sitozin metilasyonunu; Sınıf III (1/0), yalnızca *HpaII* bandının varlığı ile dış sitozin veya yarı metilasyon durumunu; Sınıf IV (1/1) ise her iki enzim için bantların varlığı ile metilasyonsuz bölgeleri temsil etmektedir. Bu patern, genomda metilasyonun bulunmadığı veya kesim için erişilebilir bölgeleri temsil etmektedir. (Lu et al. 2008; Yang et al. 2011; Fulneček and Kovařík 2014; Aydınuyurt 2023).

Damla-89 çeşidinin yaprak dokularında CRED-iPBS sınıf dağılımları incelendiğinde, A, X ve XA uygulamalarının DNA metilasyon profili üzerinde belirgin etkiler oluşturduğu görülmektedir. On bir farklı primer kullanılarak gerçekleştirilen CRED-iPBS analizinden elde edilen tüm metilasyon tiplerinin ortalama değerleri değerlendirildiğinde (Tablo 3.18), kontrole kıyasla Sınıf II metilasyon tipinin A ve XA uygulamalarında düşük oranlarda olduğu belirlenmiştir

Tablo 3.17. Damla-89 çeşidinin yaprak dokusunda alkali, AMF ve alkali/AMF uygulamalarının CRED-iPBS bant sayıları ve polimorfizm yüzdeleri

Primer Adı	Kontrol toplam bant sayısı		MspI toplam bant sayısı			HpaII toplam bant sayısı			Toplam Polimorfik Bant sayısı						Polimorfizm Yüzdesi					
									MspI			HpaII			MspI			HpaII		
	MspI	HpaII	A	X	XA	A	X	XA	A	X	XA	A	X	XA	A	X	XA	A	X	XA
iPBS-2075	6	5	6	6	6	6	7	6	0	0	0	1	2	1	0	0	0	16,67	28,57	16,67
iPBS-2081	5	5	6	5	9	3	7	7	1	0	4	2	2	2	16,67	0	44,44	66,67	28,57	28,57
iPBS-2083	7	6	4	7	7	6	4	7	3	4	4	4	6	7	75,00	57,14	57,14	66,67	150	100
iPBS-2226	5	5	5	7	4	6	5	6	2	2	1	1	4	3	40,00	28,57	25,00	16,67	80	50
iPBS-2239	5	5	8	6	6	7	6	4	5	1	1	4	1	1	62,50	16,67	16,67	57,14	16,67	25
iPBS-2271	6	5	7	5	6	5	5	7	3	3	2	0	2	2	42,86	60	33,33	0	40	28,57
iPBS-2276	7	8	10	8	7	8	9	8	3	1	0	2	1	2	30,00	12,50	0	25,00	11,11	25
iPBS-2295	2	2	7	5	5	4	5	3	5	3	3	2	3	1	71,43	60	60	50	60	33,33
iPBS-2377	10	7	12	13	11	13	10	10	2	5	3	6	5	5	16,67	38,46	27,27	46,15	50	50,00
iPBS-2394	5	5	5	5	3	5	3	3	0	0	2	0	2	2	0	0	66,67	0	66,67	66,67
iPBS-2400	9	7	9	7	10	9	8	9	4	2	3	4	3	6	44,44	28,57	30	44,44	37,50	66,67
Ortalama	6,09	5,45	7,18	6,73	6,73	6,55	6,27	6,36	2,55	1,91	2,09	2,36	2,82	2,91	36,32	27,45	32,78	35,40	51,74	44,59

*A: 100 mM Alkali Stres, X: AMF; XA: AMF+ 100 mM Alkali stres

Bunun yanı sıra, Sınıf III metilasyon tipinde de bir azalma gözlenirken, Sınıf IV metilasyon tipinde artış meydana geldiği tespit edilmiştir. Harshitha and Nair (2020) tarafından endofitik *Fusarium oxysporum* üzerinde yürütülen bir çalışmada, CRED-RA analizi RAPD primerleri kullanılarak gerçekleştirilmiş ve DNA metilasyon tiplerinin (Tip I–IV) dağılımı incelenmiştir. Prednizon uygulamasının, kontrole kıyasla Tip I (metilasyonsuz) ve Tip II (yarı metilasyon) desenlerini artırdığı; buna karşılık Tip III (iç sitozin metilasyonu) ve Tip IV (dış sitozin metilasyonu) oranlarını azalttığı rapor edilmiştir.

Alkali stres uygulamasında HMO oranının, kontrol grubuna (%2,83) kıyasla artış göstermesi, stres koşullarının DNA metilasyon düzeyini yükselttiğini ve bazı genom bölgelerinde hipermetilasyonun teşvik edildiğini düşündürmektedir. AMF uygulamasında da HMO oranının artması, AMF'nin tek başına uygulandığında genomda metilasyon düzenini aktif biçimde etkileyebildiğini göstermektedir.

FMO oranları bakımından değerlendirildiğinde, kontrole kıyasla alkali stres uygulamasında en yüksek değerin (%74,53) elde edilmesi, stresin genomda demetilasyon veya yeni kesilebilir bölgelerin oluşumunu tetiklediğini göstermektedir. AMF uygulamasında FMO oranının kontrole göre daha düşük olması (%60,38), AMF'nin stres yokluğunda daha stabil bir metilasyon profili oluşturduğunu düşündürmektedir (Tablo 3.18). XA kombinasyonunda FMO değerinin yeniden yükselmesi (%69,81), Toplam metilasyon oranı (TMO) incelendiğinde, kontrole kıyasla alkali stres uygulamasının en yüksek TMO değerine (%80,19) sahip olduğu gözlemlenmiştir. XA grubunda TMO değerinin (%74,53) alkali strese kıyasla daha düşük olması ise AMF'nin stres kaynaklı metilasyon değişimlerini tamamen ortadan kaldırmadan daha kontrollü bir epigenetik yanıt oluşmasına katkı sağladığını düşündürmektedir.

Tüm uygulamalarda Sınıf IV bantların baskın olması, genomda metilasyon durumunun genel olarak korunmuş olduğunu, ancak uygulamalara bağlı olarak bu korunmuş yapı içerisinde dinamik değişimlerin meydana geldiğini göstermektedir.

Aydoğan çeşidinin yaprak dokusunda gerçekleştirilen CRED-iPBS analizleri, A, X uygulaması ve XA kombinasyonunun sitozin metilasyon profili üzerinde belirgin değişikliklere yol açtığını göstermiştir (Tablo 3.19). Toplam bant sayıları incelendiğinde, kontrol grubuna kıyasla genel olarak bir artış olduğu belirlenmiştir.

Tablo 3.18. Damla-89 çeşidinin yaprak dokularında alkali, AMF ve alkali/AMF uygulamalarında CRED-iPBS sınıf türlerinin oluşumları ve (%) HMO, FMO ve TMO değerleri

Sınıf Türü	Kontrol	A	X	XA
Sınıf I	36	21	26	27
Sınıf II	3	6	6	5
Sınıf III	10	13	1	9
Sınıf IV	57	66	63	65
Toplam	106	106	106	106
% HMO	2,83	5,66	5,66	4,72
% FMO	63,21	74,53	60,38	69,81
% TMO	66,04	80,19	66,04	74,53

*A: 100 mM Alkali Stres, X: AMF; XA: AMF+ 100 mM Alkali stres

En yüksek polimorfizme sahip olan iPBS-2081, iPBS-2083, iPBS-2295 ve iPBS-2400 primerlerinde metilasyona bağlı değişimlerin fazla olduğu, iPBS-2226 ve iPBS-2271 primerlerde ise metilasyon düzeylerinin stabil kaldığı tespit edilmiştir. iPBS-2377 orta-yüksek polimorfizm düzeyi sergilerken diğer primerlerdeki polimorfizm orta seviyededir. Toplam polimorfik bant sayısı açısından en yüksek değerler iPBS-2377 ve iPBS-2400 primerlerinde gözlenmiş, bu primerleri iPBS-2081 ve iPBS-2083 izlemektedir. Bu durum, AMF'nin alkali stres koşullarında epigenetik yanıtları düzenleyici ve dengeleyici bir rol üstlenebileceğini ortaya koymaktadır. Gedik et al. (2017) tarafından *Crocus sativus* üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada, iPBS-retrotranspozon analizleri sonucunda primer başına elde edilen polimorfik bant sayısının ortalama 3,8 ile 25 arasında değiştiği rapor edilmiştir.

Aydoğan çeşidinin yaprak dokusunda gerçekleştirilen polimorfizm yüzdeleri CRED-iPBS analizleri sonucunda, A, X ve XA uygulamalarına ait polimorfizm yüzdeleri belirlenmiştir. On farklı primerden elde edilen ortalama değerlere göre, A uygulamasında polimorfizm oranı %28,62 olarak hesaplanırken, AMF uygulanan örneklerde bu oranın %40,22'ye çıktığı belirlenmiştir. XA uygulamasında ise polimorfizm yüzdesinin %33,69 düzeyinde gerçekleştiği saptanmıştır (Tablo 3.19). Coşkun et al. (2025) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, *Luffa aegyptiaca*'da yürütülen bir çalışmada, toplam 25 iPBS primeri ile yapılan analizlerde ortalama %84,1 polimorfizm oranı ve 0,54 PIC

değeri elde edilmiş, bu sonuçlar popülasyon içerisinde orta–yüksek düzeyde genetik çeşitliliğe işaret etmiştir. Özellikle iPBS-2231 ve iPBS-2256 primerlerinin %100 polimorfizm ve yüksek PIC değerleriyle yüksek ayırt edicilik gösterdiği, buna karşın iPBS-2253 primerinin daha sınırlı bir etkinliğe sahip olduğu rapor edilmiştir. Buna paralel olarak, bu tez çalışmasında da özellikle XA uygulamasında polimorfizm oranlarının primerler arasında belirgin biçimde farklılaştığı görülmüştür. En yüksek polimorfizm değerlerinin iPBS-2081 (%62,50–75,00) ve iPBS-2083 (%50,00–80,00) primerleri ile elde edildiği belirlenmiştir.

DNA metilasyon sınıfları, Zhang et al. (2016) tarafından tanımlanan sınıflandırma esas alınarak değerlendirilmiştir. Tüm metilasyon oranı (FMO, %), yarı metilasyon oranı (HMO, %) ve toplam metilasyon oranı (TMO, %) ise Lu et al. (2008) ile Yang et al. (2011) tarafından önerilen hesaplama yöntemleri temel alınarak belirlenmiştir.

Aydoğan çeşidinin yaprak dokularında CRED-iPBS sınıf dağılımları incelendiğinde, A, X ve XA uygulamalarının DNA metilasyon profili üzerinde belirgin değişikliklere yol açtığı görülmektedir (Tablo 3.20). Kontrol grubuna kıyasla Sınıf II metilasyon tipinin tüm uygulamalarda düşük oranlarda olduğu belirlenmiştir. Özellikle XA uygulamasında Sınıf II değerinin kontrolde 9 iken 1'e, yalnızca AMF uygulamasında ise 2'ye düştüğü tespit edilmiştir. Bu durum, AMF uygulamasının özellikle alkali stres koşullarında seçici demetilasyon süreçlerini teşvik edebileceğini düşündürmektedir. DNA metilasyonu ve demetilasyonu süreçleri, bitkilerin çevresel streslere yanıt verme kapasitesinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Boyko and Kovalchuk 2008). Ek olarak, Sınıf IV metilasyon tipinde artış gözlemlenmiş olup, bu artışın Damla-89 çeşidine kıyasla Aydoğan çeşidinde A ve XA uygulamalarında daha belirgin olduğu saptanmıştır. Bu bulgular, hem çeşitler arası epigenetik yanıt farklılıklarının hem de alkali stresin primerlere bağlı metilasyon düzenlemeleri üzerinde etkili olabileceğini ortaya koymaktadır. Shams (2019) tarafından yapılan çalışmada, Charleston ve Dolmalık biber çeşitlerinde 7 dS/m tuz uygulaması ile DNA metilasyon oranlarında artış meydana geldiği, buna karşılık aynı tuzluluk düzeyinin Maraş çeşidinde kontrol koşullarına kıyasla metilasyon oranlarını azalttığı bildirilmiştir. Maraş çeşidinde normal koşullarda tam metilasyon oranı %10,34 olarak belirlenirken, bu değer 7 dS/m tuz stresi altında %5,45'e düştüğü; kontrolde sırasıyla %3,77 ve %2,00 olan tam metilasyon oranlarının tuz uygulamasıyla %7,41 ve %4,00'a yükseldiği rapor edilmiştir.

Tablo 3.19. Aydoğın çeşidinin yaprak dokusunda alkali, AMF ve alkali/AMF uygulamalarının CRED-iPBS bant sayıları ve polimorfizm yüzdeleri

PRİMER ADI	Kontrol toplam bant sayısı		MspI toplam bant sayısı			HpaII toplam bant sayısı			Toplam Polimorfik Bant sayısı						Polimorfizm Yüzdesi					
									MspI			HpaII			MspI			HpaII		
	MspI	HpaII	A	X	XA	A	X	XA	A	X	XA	A	X	XA	A	X	XA	A	X	XA
iPBS-2075	6	6	6	7	7	6	6	7	0	1	3	0	0	3	0	14,29	42,86	0	0	42,86
iPBS-2081	5	2	4	2	8	3	2	8	3	3	5	1	0	6	75	150	62,50	33,33	0	75
iPBS-2083	4	5	4	6	8	5	5	5	2	4	4	0	2	4	50	66,67	50	0,00	40	80
iPBS-2226	7	2	7	5	7	7	2	7	0	2	0	5	0	5	0	40	0	71,43	0	71,43
iPBS-2239	10	8	8	10	8	10	8	7	2	0	2	2	4	5	25	0	25	20	50	71,43
iPBS-2271	7	8	7	7	7	7	7	7	2	2	2	1	1	1	28,57	28,57	28,57	14,29	14,29	14,29
iPBS-2276	7	7	7	7	8	8	8	9	0	0	1	1	1	2	0	0	12,50	12,50	12,50	22,22
iPBS-2295	4	4	7	7	7	7	4	6	3	3	3	3	0	2	42,86	42,86	42,86	42,86	0	33,33
iPBS-2377	8	13	11	9	12	12	9	12	3	3	4	3	4	1	27,27	33,33	33,33	25	44,44	8,33
iPBS-2394	5	5	7	5	7	5	4	3	2	0	2	0	1	2	28,57	0	28,57	0	25	66,67
iPBS-2400	7	7	8	9	9	7	5	6	3	6	4	0	6	4	37,50	66,67	44,44	0	120	66,67
Ortalama	6,36	6,09	6,91	6,73	8	7	5,45	7	1,82	2,18	2,73	1,45	1,73	3,18	28,62	40,22	33,69	19,95	27,84	50,20

* A: 100 mM Alkali Stres, X: AMF; XA: AMF+ 100 mM Alkali stres

Tablo 3.20. Aydoğan eşidinin yaprak dokularında alkali, AMF ve alkali/AMF uygulamalarında CRED-iPSB sınıf türlerinin oluşumları ve (%) HMO, FMO ve TMO değeri

Sınıf türü	Kontrol	A	X	XA
Sınıf I	27	25	30	17
Sınıf II	9	5	2	1
Sınıf III	12	4	16	12
Sınıf IV	58	72	58	76
Toplam	106	106	106	106
% HMO	8,49	4,72	1,87	0,94
% FMO	66,04	71,70	69,81	83,02
% TMO	74,53	76,42	71,70	83,96

* A: 100 mM Alkali Stres, X: AMF; XA: AMF+100 mM Alkali stres

HMO oranları açısından yapılan değeriendirmede, kontrol grubuna (%8,49) kıyasla tüm uygulamalarda genel bir düşüş gözlenmiştir. Bununla birlikte, XA uygulamasında HMO değeriinin (%0,94), yalnızca alkali stres uygulamasına (%4,72) göre daha düşük olması, AMF'nin alkali stresin indüklediği aşırı metilasyon etkisini kısmen dengeleyici bir rol üstlenebileceğine işaret etmektedir. Buna karşılık, Damla-89 çeşidinde XA uygulamasında kontrole kıyasla HMO değeriinde artış gözlenmesi, iki çeşit arasında epigenetik yanıtların farklılık gösterdiğini ortaya koymaktadır. FMO oranları değeriendirildiğinde, kontrol grubuna (%66,04) kıyasla tüm uygulamalarda genel bir artış olduğu belirlenmiştir. Bu artışın özellikle XA uygulamasında (%83,02) daha belirgin olduğu görülmüştür. Toplam metilasyon oranı (TMO) incelendiğinde ise, kontrol grubuna kıyasla XA uygulamasının en yüksek değeri (%83,96) sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu eğilimin hem Damla-89 hem de Aydoğan çeşitlerinde benzer şekilde gözlemlenmiştir, bu da alkali stres ile AMF kombinasyonunun her iki çeşitte de metilasyon düzeylerini artırıcı bir etki oluşturduğunu göstermektedir. Buna karşılık, her iki çeşitte de yalnızca AMF uygulamasında TMO değeriinin kontrole göre azaldığı belirlenmiştir. Orhan et al. (2020) tarafından lahana bitkisinde yürütölen çalışmada, toplam metilasyon oranı (TMO, %) %59,0 ile %71,8 arasında değişim gösterdiği bildirilmiştir. Tüm uygulamalarda, tam metilasyon oranı (FMO, %) yarı metilasyon oranı (HMO, %) değeriilerinden yüksek bulunduğu öne sürölmektedir. Bu bulgular, bizim çalışmamızda da Damla-89 ve Aydoğan çeşitlerinde alkali stres ve AMF uygulamalarıyla gözlenen TMO artışları ile benzerlik göstermektedir.

4. SONUÇ ve ÖNERİLER

4.1. Sonuç

Bu çalışmada, Damla-89 ve Aydoğan nohut çeşitlerinde alkali stres koşulları altında AMF uygulamasının fizyolojik ve biyokimyasal analizler, AMF kolonizasyonu, element içeriği ve epigenetik değişimler üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

AMF analizinde, toprak ve kök örnekleri üzerinden yapılan değerlendirmeler sonucunda, AMF spor yoğunluğunun her iki çeşitte de artış görüldüğü, Damla-89 çeşidinde Aydoğan çeşidine kıyasla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. AMF kolonizasyon parametrelerinde, Damla-89 çeşidinde mikorizal yaygınlık ve spor varlığının genel olarak düşük olduğu, bazı örneklerde ise kolonizasyonun hiç gözlenmediği tespit edilmiştir. Aydoğan çeşidinde ise mikorizal yaygınlık ve yoğunluk yüksek olmasına rağmen, kök kolonizasyonunun sınırlı düzeyde kaldığı görülmüştür. Bu bulgular, her iki çeşitte de AMF ile simbiyotik bir ilişkinin oluştuğunu ancak bu ilişkinin güçlü bir kolonizasyon düzeyine ulaşmadığını ortaya koymaktadır. Toprak pH değerlerindeki değişimler değerlendirildiğinde, AMF uygulanan gruplarda pH değerlerinin kontrol gruplarına daha yakın seyrettiği saptanmıştır. Bu durum, AMF uygulamasının alkali stres koşullarında toprak pH dengesinin korunmasına katkı sağlayabileceğini göstermektedir.

Morfolojik değerlendirmeler sonucunda, özellikle AMF uygulanan bitkilerde yaprak ve dal sayısında belirgin artışlar gözlenmiştir. Sürgün ve kök uzunlukları incelendiğinde ise AMF uygulaması yapılan bitkilerde, sürgün uzunluğuna kıyasla kök uzunluğunda daha belirgin bir artış olduğu tespit edilmiştir.

Biyokimyasal analizlerden elde edilen bulgular, her iki çeşitte de uygulamalara bağlı olarak anlamlı değişikliklerin meydana geldiğini göstermiştir. Özellikle XA kombinasyonunda daha belirgin yanıtlar gözlenmiş olup, bu uygulama kapsamında Aydoğan çeşidinin Damla-89 çeşidine kıyasla daha olumlu tepkiler verdiği belirlenmiştir. Element analizleri değerlendirildiğinde, incelenen elementlerin bir kısmında artış, bir kısmında ise azalışlar tespit edilmiştir. Özellikle Na ve Ni gibi bazı elementlerde artış gözlenirken, bu değişimlerin çeşit ve uygulama koşullarına bağlı olarak farklılık gösterdiği saptanmıştır.

DNA metilasyon analizlerinde, CRED-iPBS markör sistemi kullanılmıştır. CRED-iPBS yöntemi, son yıllarda epigenetik değişimlerin ve özellikle DNA metilasyon düzeylerindeki farklılıkların belirlenmesinde etkili bir moleküler yaklaşım olarak öne çıkmaktadır. Bu kapsamda kullanılan 11 iPBS primerine ait PCR ürünleri agaroz jel elektroforezi ile yürütülmüş ve bant profilleri elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, incelenen tüm primerlerde Damla-89 çeşidinde polimorfik bantların görüldüğünü, ancak primerler arasında bant çözünürlüğü açısından farklılıklar bulunduğunu ortaya koymuştur. iPBS-2083, iPBS-2295 ve iPBS-2400 primerleri yüksek polimorfizm düzeyi sergilerken, iPBS-2075, iPBS-2081 ve iPBS-2276 primerlerinde polimorfizm oranlarının düşük olduğu belirlenmiştir. Aydoğan çeşidinde, iPBS-2081, iPBS-2083 ve iPBS-2400 primerleri yüksek polimorfizm düzeyi sergilerken, iPBS-2075, iPBS-2276 ve iPBS-2271 primerlerinde polimorfizm düzeyi düşüktür. En yüksek polimorfik bant sayıları iPBS-2377 ve iPBS-2400 primerlerinde gözlenmiştir. DNA metilasyonuna bağlı değişikliklerin bulunduğunu göstermiştir. Damla-89 ve Aydoğan çeşitlerinde toplam bant sayıları değerlendirildiğinde genel bir artış eğilimi gözlenmiş. iPBS verilerine göre, tüm primerlerde polimorfizmin olduğu belirlenmiş olup, her iki çeşit için en yüksek çözünürlüğe sahip olan primerler iPBS-2083 ve iPBS-2400 primerleridir. Bu bulgular, AMF uygulamasının alkali stres koşulları altında nohut çeşitlerinde meydana gelen epigenetik değişimlerin düzenlenmesinde ve olası epigenetik hasarın hafifletilmesinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Her iki çeşit, CRED-iPBS sınıf tiplerinin oluşumuna göre değerlendirildiğinde, Sınıf II bant profillerinde azalma, Sınıf IV bant profillerinde ise artış olduğu belirlenmiştir. Bu değişimlerin özellikle AMF uygulamalarında daha belirgin olduğu saptanmıştır. AMF+100 mM Alkali stres uygulamasında HMO, FMO ve TMO değerleri incelendiğinde, her iki çeşitte de genel bir artış eğilimi gözlenmiş; ancak Damla-89 çeşidinde HMO oranında azalma tespit edilmiştir. Bu bulgular, Damla-89 ve Aydoğan çeşitlerinin alkali stres koşullarında epigenetik yanıt mekanizmaları bakımından farklı tepkiler geliştirdiğini ve AMF uygulamasının bu yanıtları genotipe özgü şekilde modüle edebileceğini göstermektedir.

4.2. Öneri

Tarım, gıda güvenliği ve ulusal ekonomiler açısından stratejik bir öneme sahiptir; ancak alkali toprak koşulları, bitkilerde iyon dengesini ve temel fizyolojik süreçleri bozarak büyüme ve verimi önemli ölçüde sınırlandırmaktadır. Küresel iklim değişikliği ile birlikte alkali stresin yaygınlığının artması, bu stres faktörüne toleranslı bitkilerin geliştirilmesini zorunlu hale getirmektedir. Alkali stres altında bitki–arbusküler mikoriza ilişkisini değerlendiren çalışmalarda, fizyolojik parametrelerin moleküler bulgularla birlikte ele alınması, bu simbiyotik etkileşimin işleyiş mekanizmalarının daha net ortaya konulmasını sağlayacaktır. Düşük düzeyde alkali koşullara maruz bırakılan mikorizalı bitkilerde gelişim süreci boyunca antioksidan savunma sisteminin büyük dalgalanmalar göstermemesi ve hücre zarında meydana gelen hasarın sınırlı kalması, AMF'nin bitkilerin alkali strese uyum sürecinde koruyucu bir rol üstlendiğini ortaya koymaktadır. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, AMF uygulamasının alkali stres koşullarında nohut çeşitlerinde büyüme özellikleri, mineral besin alımı ve epigenetik düzenleyici mekanizmalar üzerinde olumlu etkiler oluşturabildiğini göstermektedir. Bu kapsamda, alkali karakterli topraklarda AMF kullanımının artırılması ve farklı AMF türlerinin stres toleransı üzerindeki etkilerinin karşılaştırmalı çalışmalarla değerlendirilmesi önerilmektedir. CRED-iPBS markör sisteminin nohut çeşitlerinde alkali stres ve AMF uygulamalarına bağlı DNA metilasyon değişimlerini ortaya koymada etkili bir yöntem olduğunu göstermiştir. Genotipler arasında gözlenen farklı metilasyon ve polimorfizm profilleri, epigenetik yanıtların çeşide özgü olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca CRED-iPBS verilerinin gen ifadesi ve fizyolojik stres parametreleri ile birlikte değerlendirilmesi, epigenetik değişimlerin işlevsel sonuçlarının daha net ortaya konmasına katkı sağlayacaktır. Bunun yanı sıra, alkali topraklarda sürdürülebilir bitkisel üretim stratejilerinin geliştirilmesine ve stres toleransının epigenetik temellerinin anlaşılmasına yönelik gelecekte yürütülecek araştırmalara bilimsel bir temel oluşturması beklenmektedir.

KAYNAKÇA

- Abbaspour, H. (2010). Investigation of the effects of vesicular-arbuscular mycorrhiza on mineral nutrition and growth of *Carthamus tinctorius* under salt stress conditions. *Russian Journal of Plant Physiology*, 57(4), 526-531.
- Abdulmajeed, A. M. (2023). Salinity stress amelioration and morpho-physiological growth stimulation by silicon priming and biochar supplementation in *Chenopodium quinoa*. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 51(2), 13043-13043.
- Abdulraheem, M. I., Xiong, Y., Moshood, A. Y., Cadenas-Pliego, G., Zhang, H., & Hu, J. (2024). Mechanisms of plant epigenetic regulation in response to plant stress: recent discoveries and implications. *Plants*, 13(2), 163.
- Agarwal, G., Kudapa, H., Ramalingam, A., Choudhary, D., Sinha, P., Garg, V., ... & Varshney, R. K. (2020). Epigenetics and epigenomics: underlying mechanisms, relevance, and implications in crop improvement. *Functional & Integrative Genomics*, 20(6), 739-761.
- Ahmad, P., Ozturk, M., Sharma, S., & Gucl, S. (2014). Effect of sodium carbonate-induced salinity–alkalinity on some key osmoprotectants, protein profile, antioxidant enzymes, and lipid peroxidation in two mulberry (*Morus alba* L.) cultivars. *Journal of plant interactions*, 9(1), 460-467.
- Akbar, K., Yaseen, T., Abbasi, B. A., Iqbal, J., Ullah, Z., Ijaz, S., ... & Iqbal, R. (2025). Role and genetic diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in improving the productivity and enhancing nutrients absorption in chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 72(2), 2459-2473.
- Akhter, Z., Bi, Z., Ali, K., Sun, C., Fiaz, S., Haider, F. U., & Bai, J. (2021). In response to abiotic stress, DNA methylation confers epigenetic changes in plants. *Plants*, 10(6), 1096.
- Alajaji, S. A., & El-Adawy, T. A. (2006). Nutritional composition of chickpea (*Cicer arietinum* L.) as affected by microwave cooking and other traditional cooking methods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(8), 806-812.
- Ali, E. F., El-Shehawi, A. M., Ibrahim, O. H. M., Abdul-Hafeez, E. Y., Moussa, M. M., & Hassan, F. A. S. (2021). A vital role of chitosan nanoparticles in improvisation the drought stress tolerance in *Catharanthus roseus* (L.) through biochemical and gene expression modulation. *Plant Physiology and Biochemistry*, 161, 166-175.
- Alonso, C., Ramos-Cruz, D., & Becker, C. (2019). The role of plant epigenetics in biotic interactions. *New Phytologist*, 221(2), 731-737.
- Alotaibi, M. O., Saleh, A. M., Sobrinho, R. L., Sheteiwy, M. S., El-Sawah, A. M., Mohammed, A. E., & Elgawad, H. A. (2021). Arbuscular mycorrhizae mitigate aluminum toxicity and regulate proline metabolism in plants grown in acidic soil. *Journal of Fungi*, 7(7), 531.

- Altunkaynak, E., Büyük, I., Aydın, S. S., & Aras, S. (2016). New insight into evaluation of DNA methylation levels with CRED–RA technique in the genome of *Lycopersicum esculentum* subjected to NaCl and PEG. *Biol. Divers. Conserv.*, 9, 163-171.
- Amani Machiani, M., Javanmard, A., Morshedloo, M. R., Aghaee, A., & Maggi, F. (2021). Funnelformis mosseae inoculation under water deficit stress improves the yield and phytochemical characteristics of thyme in intercropping with soybean. *Scientific Reports*, 11(1), 15279.
- Apel, K., & Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 55(1), 373-399.
- Arora, H., Singh, R. K., Sharma, S., Sharma, N., Panchal, A., Das, T., ... & Prasad, M. (2022). DNA methylation dynamics in response to abiotic and pathogen stress in plants. *Plant cell reports*, 41(10), 1931-1944.
- Arriagada, O., Cacciuttolo, F., Cabeza, R. A., Carrasco, B., & Schwember, A. R. (2022). A comprehensive review on chickpea (*Cicer arietinum* L.) breeding for abiotic stress tolerance and climate change resilience. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(12), 6794.
- Asati, R., Tripathi, M. K., Tiwari, S., Yadav, R. K., & Tripathi, N. (2022). Molecular breeding and drought tolerance in chickpea. *Life*, 12(11), 1846.
- Atmaca, S., & Endes, A. (2022). The Effect of pH on the Mycelial Growth of *Ascochyta rabiei*, the Anthracnose Agent of Chickpea (*Cicer arietinum*) under In-Vitro Conditions. *Bozok Journal of Agriculture and Natural Sciences*, 1(1), 24-30.
- Aydinyurt, R. (2023). Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) Çeşitlerinde Kuraklık Ve Tuz Stresi Koşullarında Melatonin Uygulamasının Epigenetik Değerlendirilmesi. *Fen Bilimleri Enstitüsü. Erzurum, Yüksek Lisans Tezi*.
- Aydinyurt, R., Yağcı, S., Yaprak, E., Kasapoğlu, A. G., Muslu, S., Uçar, S., ... & Aydın, M. (2025). Epigenetic Evaluation of Melatonin Application in Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Genotypes Under Drought and Salt Stress Conditions. *Plant Molecular Biology Reporter*, 1-19.
- Bae, D. J., Jun, J., Chang, H. S., Park, J. S., & Park, C. S. (2020). Epigenetic changes in asthma: role of DNA CpG methylation. *Tuberculosis and Respiratory Diseases*, 83(1), 1-13.
- Bannister, A. J., & Kouzarides, T. (2011). "Regulation of chromatin by histone modifications." *Cell Research*, 21(3), 381-395.
- Basiru, S., Ait Si Mhand, K., Elfermi, R., Khatour, I., Errafii, K., Legeay, J., & Hijri, M. (2025). Enhancing chickpea growth through arbuscular mycorrhizal fungus inoculation: facilitating nutrient uptake and shifting potential pathogenic fungal communities. *Mycorrhiza*, 35(1), 1.
- Bioglobal, 2025 Web Sitesi: <https://bioglobal.com.tr/> Erişim Tarihi (05.05.2025)

- Blokhina, O., Virolainen, E., & Fagerstedt, K. V. (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of botany*, 91(2), 179-194.
- Bolan, N. S., Robson, A. D., & Barrow, N. J. (1987). Effects of vesicular-arbuscular mycorrhiza on the availability of iron phosphates to plants. *Plant and Soil*, 99, 401-410.
- Bolukbasi, E., & Aras, E. S. (2016). Determination of DNA methylation levels with CRED-RA technique in the genome of sunflower seedlings (*Helianthus annuus* L.) subjected to zinc stress. *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology*, 1(3), 238551.
- Boorboori, M. R., & Lackóová, L. (2025). Arbuscular mycorrhizal fungi and salinity stress mitigation in plants. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1504970.
- Boukid, F. (2021). Chickpea (*Cicer arietinum* L.) protein as a prospective plant-based ingredient: A review. *International Journal of Food Science and Technology*, 56(11), 5435-5444.
- Boyko, A., & Kovalchuk, I. (2008). Epigenetic control of plant stress response. *Environmental and molecular mutagenesis*, 49(1), 61-72.
- Boyno, G., Demir, S., Rezaee Danesh, Y., Durak, E. D., Çevik, R., Farda, B., ... & Pellegrini, M. (2023). A new technique for the extraction of arbuscular mycorrhizae fungal spores from rhizosphere. *Journal of Fungi*, 9(8), 845.
- Büyük, İ., Soydam-Aydin, S., & Aras, S. (2012). Bitkilerin stres koşullarına verdiği moleküler cevaplar. *Turkish Bulletin of Hygiene & Experimental Biology/Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji*, 69(2).
- Cai, Q., Guy, C. L., & Moore, G. A. (1996). Detection of cytosine methylation and mapping of a gene influencing cytosine methylation in the genome of Citrus. *Genome*, 39(2), 235-242.
- Çakan, V. A., & Turhan, Ş. (2023). Türkiye'nin Nohut Dış Ticaretinde Karşılaştırmalı Üstünlüğünün Analizi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 26(2), 377-384.
- Cardarelli, M., Roupheal, Y., Rea, E., & Colla, G. (2010). Mitigation of alkaline stress by arbuscular mycorrhiza in zucchini plants grown under mineral and organic fertilization. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 173(5), 778-787.
- Caverzan, A., Casassola, A., Brammer, S. P. (2016). Antioxidant responses of wheat plants under stress. *Genetics and Molecular Biology*, 39(1), 1-6.
- Çelik, Y., Yarşi, G., & Özarslandan, A. (2019). Mikorizaların Bitkilerde Stres Mekanizması Üzerine Etkileri. *Dünya Sağlık ve Tabiat Bilimleri Dergisi*, 2(1), 1-11.
- Chaoui, A., Mazhoudi, S., Ghorbal, M. H., & El Ferjani, E. (1997). Cadmium and zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidant enzyme activities in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Science*, 127(2), 139-147.

- Chavan, J. K., Kadam, S. S., Salunkhe, D. K., & Beuchat, L. R. (1987). Biochemistry and technology of chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 25(2), 107–158.
- Chen, C. T., Chen, L. M., Lin, C. C., & Kao, C. H. (2001). Regulation of proline accumulation in detached rice leaves exposed to excess copper. *Plant Science*, 160(2), 283-290.
- Chen, L., Wang, F., Zhang, Z., Chao, H., He, H., Hu, W., ... & Fang, L. (2023). Influences of arbuscular mycorrhizal fungi on crop growth and potentially toxic element accumulation in contaminated soils: a meta-analysis. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 53(20), 1795-1816.
- Chen, Y., Li, Y., Sun, P., Chen, G., & Xin, J. (2017). Interactive effects of salt and alkali stresses on growth, physiological responses and nutrient (N, P) removal performance of *Ruppia maritima*. *Ecological Engineering*, 104, 177-183.
- Coşkun, Ö. F. (2023). Molecular characterization, population structure analysis, and association mapping of Turkish parsley genotypes using iPBS markers. *Horticulturae*, 9(3), 336.
- Coşkun, Ö. F., Toprak, S., & Mavi, K. (2025). Molecular characterization and population structure analysis of luffa (*Luffa aegyptiaca* Mill.) germplasm using inter-Primer Binding Site (iPBS) retrotransposon markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 1-12.
- Coutinho, E. S., Beiroz, W., Barbosa, M., de Azevedo Xavier, J. H., & Fernandes, G. W. (2019). Arbuscular mycorrhizal fungi in the rhizosphere of saplings used in the restoration of the rupestrian grassland. *Ecological Restoration*, 37(3), 152-162.
- Covelo-Molares, M., F. J. K. Sanz, I. M. A. V. A. (2018). "The role of small RNAs in plant responses to stress: Lessons from RNA-sequencing data." *Frontiers in Plant Science*, 9, 1336.
- da Costa, G. S., Cerqueira, A. F., de Brito, C. R., Mielke, M. S., & Gaiotto, F. A. (2024). Epigenetics Regulation in Responses to Abiotic Factors in Plant Species: A Systematic Review. *Plants*, 13(15), 2082.
- Dadaşoğlu, E., Ekinçi, M., & YILDIRIM, E. (2020). Effects of salt stress on seed germination of chickpea (*Cicer arietinum* L.) and pea (*Pisum sativum* L.). *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 51(1), 53-62.
- Demir, S. (2002). Mikorhizal fungus *Glomus intraradices* (Schenck&Smith)'in bazı sebze bitkilerinin köklerinde kolonizasyonu. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 12(1), 53-57.
- Demirel, F., Türkoğlu, A., Haliloğlu, K., Eren, B., Özkan, G., Uysal, P., ... & Bocianowski, J. (2023). Mammalian sex hormones as steroid-structured compounds in wheat seedling: Template of the cytosine methylation alteration and retrotransposon polymorphisms with iPBS and CRED-iBPS techniques. *Applied Sciences*, 13(17), 9538.

- Demirel, S., Eroğlu, A., Eren, B., & Demirel, F. (2025). DNA methylation change and antioxidant enzyme activity of drought stress and putrescine treatment in ancient wheat (*Triticum monococcum* L.). *Cereal Research Communications*, 53(2), 771-781.
- Doğan, S., & Doğan, Y. (2023). Yarı kurak iklim koşullarında bazı nohut (*Cicer arietinum* L.) hat ve çeşitlerinin verim ve verim unsurlarının belirlenmesi. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 27(1), 73-82.
- Dos Santos, T. B., Ribas, A. F., de Souza, S. G. H., Budzinski, I. G. F., & Domingues, D. S. (2022). Physiological responses to drought, salinity, and heat stress in plants: a review. *Stresses*, 2(1), 113-135.
- Ertekin, İ., Yılmaz, Ş., Atak, M., Can, E., & Çeliktaş, N. (2017). Tuz stresinin bazı yaygın fiğ (*Vicia sativa* L.) çeşitlerinin çimlenmesi üzerine etkileri. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22(2), 10-18.
- Fang, L. L., Liu, Y. J., Wang, Z. H., Lu, X. Y., Li, J. H., & Yang, C. X. (2023). Electrical conductivity and pH are two of the main factors influencing the composition of arbuscular mycorrhizal fungal communities in the vegetation succession series of Songnen Saline-Alkali Grassland. *Journal of Fungi*, 9(9), 870.
- Farghaly, F. A., Nafady, N. A., & Abdel-Wahab, D. A. (2022). The efficiency of arbuscular mycorrhiza in increasing tolerance of *Triticum aestivum* L. to alkaline stress. *BMC Plant Biology*, 22(1), 1-17.
- Farhad, M., Noor, M., Yasin, M. Z., Nizamani, M. H., Turan, V., & Iqbal, M. (2024). Interactive suitability of rice stubble biochar and arbuscular mycorrhizal fungi for improving wastewater-polluted soil health and reducing heavy metals in peas. *Sustainability*, 16(2), 634.
- Farhaoui, A., Taoussi, M., Laasli, S. E., Legrifi, I., El Mazouni, N., Meddich, A., ... & Lahlali, R. (2025). Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Their Role in Plant Disease Control: A State-of-the-Art. *The Microbe*, 100438.
- Fasani, E., Giannelli, G., Varotto, S., Visioli, G., Bellin, D., Furini, A., & DalCorso, G. (2023). Epigenetic control of plant response to heavy metals. *Plants*, 12(18), 3195.
- Feng, S., & Jacobsen, S. E. (2011). "Epigenetic reprogramming in plant and animal development." *Nature Reviews Genetics*, 12(3), 250-266.
- Filiz, E. (2007). Doğal kaynaklardan elde edilen adsorbanlarla sulardan ağır metal giderimi.
- Frias, J., Vidal-Valverde, C., Sotomayor, C., Diaz-Pollan, C., & Urbano, G. (2000). Influence of processing on available carbohydrate content and antinutritional factors of chickpeas. *European Food Research and Technology*, 210, 340-345.
- Fulneček, J., & Kovařík, A. (2014). How to interpret methylation sensitive amplified polymorphism (MSAP) profiles?. *BMC genetics*, 15(1), 2.

- Gallusci, P., Dai, Z., Génard, M., Gauffretau, A., Leblanc-Fournier, N., Richard-Molard, C., ... & Brunel-Muguet, S. (2017). Epigenetics for plant improvement: current knowledge and modeling avenues. *Trends in plant science*, 22(7), 610-623.
- Garg, N., & Saroy, K. (2020). Interactive effects of polyamines and arbuscular mycorrhiza in modulating plant biomass, N₂ fixation, ureide, and trehalose metabolism in *Cajanus cajan* (L.) Millsp. genotypes under nickel stress. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(3), 3043-3064.
- Gedik, A., Ates, D., Erdogmus, S., Comertpay, G., Tanyolac, M. B., & Ozkan, H. (2017). Genetic diversity of *Crocus sativus* and its close relative species analyzed by iPBS-retrotransposons. *Turkish Journal of Field Crops*, 22(2), 243-252.
- Gerdemann, J. W., & Nicolson, T. H. (1963). Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving & decanting.
- Gerdemann, J.W. (1968). Vesicular - Arbuscular Mycorrhiza and Plant Growth. *Annu. Rev. Phytopathol.* 6: 397 – 418.
- Gholamhoseini, M., Ghalavand, A., Dolatabadian, A., Jamshidi, E., & Khodaei-Joghan, A. (2013). Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on growth, yield, nutrient uptake and irrigation water productivity of sunflowers grown under drought stress. *Agricultural Water Management*, 117, 106-114.
- Ghosh, U. K., Islam, M. N., Siddiqui, M. N., Cao, X., & Khan, M. A. R. (2022). Proline, a multifaceted signalling molecule in plant responses to abiotic stress: understanding the physiological mechanisms. *Plant Biology*, 24(2), 227-239.
- Giovanetti, M., and B. Mosse. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*. 84: 489- 500.
- Gul, H., Ali, R., Rauf, M., Hamayun, M., Arif, M., Khan, S. A., ... & Lee, I. J. (2023). *Aspergillus welwitschiae* BK isolate ameliorates the physicochemical characteristics and mineral profile of maize under salt stress. *Plants*, 12(8), 1703.
- Gümrükçü, S. (2024). Sakarya'daki bazı baharat çeşitlerinin eser element analizi ve antioksidan özelliklerinin belirlenmesi= Trace element analysis and determination of antioxidant properties of some spice varieties in Sakarya (Master's thesis, Sakarya Üniversitesi).
- Guo, H., Huang, Z., Li, M., & Hou, Z. (2020). Growth, ionic homeostasis, and physiological responses of cotton under different salt and alkali stresses. *Scientific Reports*, 10(1), 21844.
- Gupta, K., & Garg, R. (2023). Unravelling differential DNA methylation patterns in genotype dependent manner under salinity stress response in chickpea. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3), 1863.
- Haliloğlu, K., Özer, H., Melik, S., Çoban, F., & Türkoğlu, A. (2024). Exploring the genetic diversity and population structure of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.)

- genotypes through inter-primer binding site (iPBS)-retrotransposon marker system. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 71(7), 3253-3266.
- Harrier, L.A., (2001), The arbuscular mycorrhizal symbiosis: a molecular review of the fungal dimension, *Journal of experimental botany*, 52(suppl_1), 469-478
- Harshitha, K., & Nair, R. A. (2020). Evaluation of DNA methylation changes by CRED–RA analysis following prednisone treatment of endophyte, *Fusarium oxysporum*. *Indian journal of microbiology*, 60(2), 254-258.
- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. B., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S. M., Mahmud, J. A., ... & Fotopoulos, V. (2020). Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. *Antioxidants*, 9(8), 681.
- Helgason, T., & Fitter, A. H. (2009). Natural selection and the evolutionary ecology of the arbuscular mycorrhizal fungi (*Phylum Glomeromycota*). *Journal of experimental botany*, 60(9), 2465-2480.
- Hoagland, D. R., & Arnon, D. I. (1950). The water-culture method for growing plants without soil. Circular. *California Agricultural Experiment station*, 347(2nd edit).
- Hosseinpour, A., Ilhan, E., Özkan, G., Öztürk, H. İ., Haliloglu, K., & Cinisli, K. T. (2022). Plant growth-promoting bacteria (PGPBs) and copper (II) oxide (CuO) nanoparticle ameliorates DNA damage and DNA Methylation in wheat (*Triticum aestivum* L.) exposed to NaCl stress. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 31(4), 751-764.
- Huang, P., Huang, S., Ma, Y., Danish, S., Hareem, M., Syed, A., ... & Wong, L. S. (2024). Alleviation of salinity stress by EDTA chelated-biochar and arbuscular mycorrhizal fungi on maize via modulation of antioxidants activity and biochemical attributes. *BMC Plant Biology*, 24(1), 63.
- Işık, M. İ., Türkoğlu, A., Yaman, M., Haliloğlu, K., Öztürk, H. İ., Erkol, Ş., ... & Bocianowski, J. (2025). Understanding genetic diversity and population structure in forage pea (*Pisum sativum* var. *arvense* L.) using inter-primer binding site (iPBS) retrotransposon marker. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 1-15.
- Juan, C. A., Pérez de la Lastra, J. M., Plou, F. J., & Pérez-Lebeña, E. (2021). The chemistry of reactive oxygen species (ROS) revisited: outlining their role in biological macromolecules (DNA, lipids and proteins) and induced pathologies. *International journal of molecular sciences*, 22(9), 4642.
- Kadioğlu, A. (2004). Bitki fizyolojisi. Trabzon: Lokman Yayın, 453.
- Kalendar, R., Antonius, K., Smýkal, P., & Schulman, A. H. (2010). iPBS: a universal method for DNA fingerprinting and retrotransposon isolation. *Theoretical and Applied Genetics*, 121(8), 1419-1430.

- Karaca, M., Ince, A. G., Gocer, E. U., & Aydin, A. (2016). Exonic and intronic DNA methylation differences in a fiber specific gene of Pima cotton (*Gossypium barbadense* L.). *Journal of Scientific and Engineering Research*, 3, 478-486.
- Karagoz, H., Cakmakci, R., Hosseinpour, A., Ozkan, G., & Haliloglu, K. (2020). Analysis of genetic variation and population structure among of oregano (*Origanum acutidens* L.) accessions revealed by agro-morphological traits, oil constituents and retrotransposon-based inter-primer binding sites (iPBS) markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 67(6), 1367-1384.
- Karık, Ü., Nadeem, M. A., Habyarimana, E., Ercişli, S., Yildiz, M., Yılmaz, A., ... & Baloch, F. S. (2019). Exploring the genetic diversity and population structure of Turkish laurel germplasm by the iPBS-retrotransposon marker system. *Agronomy*, 9(10), 647.
- Karipçin, M. Z., & Şatir, N. Y. (2016). Su stresi koşullarında yetiştirilen marul sebzесinin verim ve besin içeriğine Arbusküler Mikorizal Fungus (AMF)'un etkileri. *YYUJ Agr. Sci*, 26(3), 406-413.
- Khan, H. A., Siddique, K. H., Munir, R., & Colmer, T. D. (2015). Salt sensitivity in chickpea: Growth, photosynthesis, seed yield components and tissue ion regulation in contrasting genotypes. *Journal of plant physiology*, 182, 1-12.
- Kızılkaya, D., İlhan, E., Aydın, M., Kasapoğlu, A. G., Yiğider, E., Türkoğlu, A., ... & Haliloğlu, K. (2024). Investigation of biochemical and molecular changes in wheat genotypes under alkaline salt stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 46(12), 115.
- Konieczny, A., & Kowalska, I. (2017). Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on the content of zinc in lettuce grown at two phosphorus levels and an elevated zinc level in a nutrient solution. *Journal of Elementology*, 22(2), 761-772.
- Koske, R. E., & Gemma, J. N. (1989). A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas.
- Kuhlmann, M., Jiang, H., Catoni, M., & Johannes, F. (2023). DNA methylation in plants associated with abiotic stress, volume II. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1203806.
- Kumar, K., Jaiswal, A., Koppolu, U. M. K., & Kumar, K. R. R. (2024). Alkaline stress disrupts growth, biochemistry, and ion homeostasis of chickpea (*Cicer arietinum* L.) roots. *Frontiers in Agronomy*, 6, 1497054.
- Labra, M., Vannini, C., Bracale, M., & Sala, F. (2002). Methylation changes in specific sequences in response to water deficit. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 136(3), 269-275.
- Li, M., Zhang, K., Sun, Y., Cui, H., Cao, S., Yan, L., & Xu, M. (2018). Growth, physiology, and transcriptional analysis of two contrasting *Carex rigescens* genotypes under salt stress reveals salt-tolerance mechanisms. *Journal of plant physiology*, 229, 77-88.
- Li, X. L., Marschner, H., & George, E. (1991). Acquisition of phosphorus and copper by VA-mycorrhizal hyphae and root-to-shoot transport in white clover. *Plant and Soil*.

- Li, Y., Zhang, S., Jiang, W., & Liu, D. (2013). Cadmium accumulation, activities of antioxidant enzymes, and malondialdehyde (MDA) content in *Pistia stratiotes* L. *Environmental Science and Pollution Research*, 20(2), 1117-1123.
- Li, Z., Zhang, Y., Liu, C., Gao, Y., Han, L., & Chu, H. (2022). Arbuscular mycorrhizal fungi contribute to reactive oxygen species homeostasis of *Bombax ceiba* L. under drought stress. *Front Microbiol* 13: 991781.
- Lin, J., Li, X., Zhang, Z., Yu, X., Gao, Z., Wang, Y., ... & Mu, C. (2012). Salinity-alkalinity tolerance in wheat: Seed germination, early seedling growth, ion relations and solute accumulation. *Afr. J. Agric. Res*, 7(3), 467-474.
- Lin, J., Wang, Y., Sun, S., Mu, C., & Yan, X. (2017). Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on the growth, photosynthesis and photosynthetic pigments of *Leymus chinensis* seedlings under salt-alkali stress and nitrogen deposition. *Science of the Total Environment*, 576, 234-241.
- Liu Ling, L. L., Li Dong, L. D., Ma YiLin, M. Y., Wang LiJun, W. L., Zhao ShiMin, Z. S., Zhou JunXue, Z. J., ... & Wang YanFang, W. Y. (2019). Alleviation of drought stress and the physiological mechanisms in tobacco seedlings treated with exogenous melatonin.
- Liu, C., Xin, Y., Xu, L., Cai, Z., Xue, Y., Liu, Y., ... & Qi, Y. (2018). *Arabidopsis* ARGONAUTE 1 binds chromatin to promote gene transcription in response to hormones and stresses. *Developmental cell*, 44(3), 348-361.
- Liu, J., & He, Z. (2020). Small DNA methylation, big player in plant abiotic stress responses and memory. *Frontiers in Plant Science*, 11, 595603.
- Lu, Y., Rong, T., & Cao, M. (2008). Analysis of DNA methylation in different maize tissues. *Journal of Genetics and Genomics*, 35(1), 41-48.
- Ma, Q., Wang, H., Wu, E., Yuan, Y., Feng, Y., Zhao, L., & Feng, B. (2023). Comprehensive physiological, transcriptomic, and metabolomic analysis of the response of *Panicum miliaceum* L. roots to alkaline stress. *Land Degradation & Development*, 34(10), 2912-2930.
- Machado, J., Vasconcelos, M. W., Soares, C., Fidalgo, F., Heuvelink, E., & Carvalho, S. M. (2023). Enzymatic and non-enzymatic antioxidant responses of young tomato plants (cv. Micro-Tom) to single and combined mild nitrogen and water deficit: not the sum of the parts. *Antioxidants*, 12(2), 375.
- Mandal, C., Halder, D., Jung, K. H., & Chai, Y. G. (2017). Gestational alcohol exposure altered DNA methylation status in the developing fetus. *International journal of molecular sciences*, 18(7), 1386.
- Marschner, H. (1995). Mineral nutrition of higher plants 2nd edition. Academic, Great Britain.
- Martienssen, R. A., & Colot, V. (2001). DNA methylation and epigenetic inheritance in plants and filamentous fungi. *Science*, 293(5532), 1070-1074.

- Mertens D. 2005. AOAC Official Method 975.03. Metal in Plants and Pet Foods. Official Methods of Analysis. 18th edn. Horwitz, W, and G.W. Latimer, (Eds). Chapter 3, pp. 3-4, AOAC-International Suite 500, 481. North Frederick Avenue, Gaithersburg, Maryland 20877-2417, USA.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M., & Van Breusegem, F. (2004). Reactive oxygen gene network of plants. *Trends in plant science*, 9(10), 490-498.
- Mohammadnia, S., Haghighi, M., Mozafarian, M., & Geösel, A. (2025). Impact of Mycorrhiza Inoculations and Iron Amino Chelate on Growth and Physiological Changes of Cucumber Seedlings Across Different pH Levels. *Plants*, 14(3), 341.
- Mondal, K., Raj, S., Thakur, K., Verma, A., Kharwal, N., Chowdhury, A., ... & Choudhary, S. (2023). Molecular Basis of Plant Adaptation against Aridity. *Abiotic Stress in Plants- Adaptations to Climate Change*, 1-19.
- Morandi, D. (1996). Occurrence of phytoalexins and phenolic compounds in endomycorrhizal interactions, and their potential role in biological control. *Plant and soil*, 185(2), 241-251.
- Moser, M., and Haselwandter, K. (1975). Ecophysiology of Mycorrhizal Symbiosis. *Encyclopedia of Plant Physiology*. Vol: 12, p:391 - 421.
- Mosse, B. (1973). Advances in the Study of Vesicular-Arbuscular Mycorrhiza. *Annu. Rev. Phytopathol.* , 11: 429 – 454.
- Nahar, K., Rhaman, M. S., Parvin, K., Bardhan, K., Marques, D. N., García-Caparrós, P., & Hasanuzzaman, M. (2022). Arsenic-induced oxidative stress and antioxidant defense in plants. *Stresses*, 2(2), 179-209.
- Navarro-Fernández, C.M., Aroca, R. and Barea, J.M., (2011), Influence of arbuscular mycorrhizal fungi and water regime on the development of endemic *Thymus* species in dolomitic soils. *Applied Soil Ecology*, 48(1), 31- 37 pp.
- Ndiate, N. I., Saeed, Q., Haider, F. U., Liqun, C., Nkoh, J. N., & Mustafa, A. (2021). Co-Application of Biochar and Arbuscular mycorrhizal Fungi Improves Salinity Tolerance, Growth and Lipid Metabolism of Maize (*Zea mays* L.) in an Alkaline Soil. *Plants*, 10(11), 2490.
- Nemli, S., Kianoosh, T., & Tanyolac, M. B. (2015). Genetic diversity and population structure of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) accessions through retrotransposon-based interprimer binding sites (iPBSs) markers. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 39(6), 940-948.
- Niedziela, A., Orłowska, R., & Bednarek, P. T. (2025). DNA Methylation Changes Reflect Aluminum Stress in Triticale and Epigenetic Control of the Trait. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(11), 4995.
- Omony, J., Nussbaumer, T., & Gutzat, R. (2020). DNA methylation analysis in plants: review of computational tools and future perspectives. *Briefings in bioinformatics*, 21(3), 906-918.

- Orhan, E., Uzundumlu, F., Yiğider, E., Aydin, M. (2020). The effect of putrescine on DNA methylation on cabbage plant under salt stress conditions. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 44(3), 301-311.
- Ouzounidou, G., Skiada, V., Papadopoulou, K. K., Stamatis, N., Kavvadias, V., Eleftheriadis, E., & Gaitis, F. (2015). Effects of soil pH and arbuscular mycorrhiza (AM) inoculation on growth and chemical composition of chia (*Salvia hispanica* L.) leaves. *Brazilian Journal of Botany*, 38(3), 487-495.
- ÖZCAN, H., & TABAN, S. (2000). Effects of VA-mycorrhiza on growth and phosphorus, zinc, iron, copper and manganese concentrations of maize grown in acid and alkaline soils. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 24(5), 629-636.
- Pagano, M. C. (2013). Drought stress and mycorrhizal plant. In *Use of Microbes for the Alleviation of Soil Stresses, Volume 1* (pp. 97-110). New York, NY: Springer New York.
- Pan, G., Hu, J., Zi, Z., Wang, W., Li, X., Xu, X., & Liu, W. (2024). Arbuscular mycorrhizal fungi alleviate Mn phytotoxicity by altering Mn subcellular distribution and chemical forms in *Lespedeza davidii*. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1470063.
- Pan, Y., Wu, L. J., & Yu, Z. L. (2006). Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch). *Plant Growth Regulation*, 49(2), 157-165.
- Peng, Z., Zulfiqar, T., Yang, H., Wang, M., & Zhang, F. (2024). Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) on photosynthetic characteristics of cotton seedlings under saline-alkali stress. *Scientific Reports*, 14(1), 8633.
- Porcel, R., Aroca, R., Azcon, R., & Ruiz-Lozano, J. M. (2006). PIP aquaporin gene expression in arbuscular mycorrhizal *Glycine max* and *Lactuca sativa* plants in relation to drought stress tolerance. *Plant molecular biology*, 60, 389-404.
- Pour, A. H., Özkan, G., NALCI, Ö., & Haliloğlu, K. (2019). Estimation of genomic instability and DNA methylation due to aluminum (Al) stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) using iPBS and CRED-iPBS analyses. *Turkish Journal of Botany*, 43(1), 27-37.
- Rai, S. K., Sinha, P., & Srivastava, P. (2018). "CRED-RA: A New Method for the Identification of DNA Methylation." *Molecular Biology Reports*, 45(6), 2051-2062.
- Rao, K. M., Raghavendra, A. S., & Reddy, K. J. (Eds.). (2006). Physiology and molecular biology of stress tolerance in plants. *Springer Science & Business Media*.
- Rengasamy, P. (2010). Soil processes affecting crop production in salt-affected soils. *Functional Plant Biology*, 37(7), 613-620.
- Rhodes, L. H. (1980). The use of mycorrhizae in crop production systems. *Outlook on Agriculture*, 10(6): 275-281.

- Richards, C. L., Alonso, C., Becker, C., Bossdorf, O., Bucher, E., Colomé-Tatché, M., ... & Verhoeven, K. J. (2017). Ecological plant epigenetics: Evidence from model and non-model species, and the way forward. *Ecology letters*, 20(12), 1576-1590.
- Roberts, R. J., Vincze, T., Posfai, J., & Macelis, D. (2015). REBASE—a database for DNA restriction and modification: enzymes, genes and genomes. *Nucleic acids research*, 43(D1), D298-D299.
- Saluja, S., Goyal, V., & Kukreja, S. (2025). Deciphering Chickpea Defense Strategies: Insights into Tripartite Interaction Between Chickpea, *Fusarium oxysporum*, and Arbuscular Mycorrhizal Fungi Treatments Using Transcriptomic and Biochemical Analysis. *Journal of Plant Growth Regulation*, 1-19.
- Samineni, S., Siddique, K. H., Gaur, P. M., & Colmer, T. D. (2011). Salt sensitivity of the vegetative and reproductive stages in chickpea (*Cicer arietinum* L.): podding is a particularly sensitive stage. *Environmental and Experimental Botany*, 71(2), 260-268.
- Sayar, S., Turhan, M., & Gunasekaran, S. (2001). Analysis of chickpea soaking by simultaneous water transfer and water–starch reaction. *Journal of food Engineering*, 50(2), 91-98.
- Sayar, S., Turhan, M., & Köksel, H. (2003). Application of unreacted-core model to in situ gelatinization of chickpea starch. *Journal of Food Engineering*, 60(4), 349-356.
- Schalamuk, S., & Cabello, M. (2010). Arbuscular mycorrhizal fungal propagules from tillage and no-tillage systems: possible effects on *Glomeromycota* diversity. *Mycologia*, 102(2), 261-268.
- Schnepf, A., Roose, T., & Schweiger, P. (2008). Impact of growth and uptake patterns of arbuscular mycorrhizal fungi on plant phosphorus uptake—a modelling study. *Plant and soil*, 312(1), 85-99.
- Şen, A. (2019). Alkali Stresinin Mürdümüğün (*Lathyrus Sativus* L.) Çimlenme Ve Fide Gelişimine Etkisi (Master's Thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Shah, T., Khan, H., Ali, A., Khan, Z., Alsahli, A. A., Dewil, R., & Ahmad, P. (2024). Silicon and arbuscular mycorrhizal fungi alleviate chromium toxicity in Brassica rapa by regulating Cr uptake, antioxidant defense expression, the glyoxalase system, and secondary metabolites. *Plant Physiology and Biochemistry*, 206, 108286.
- Shams, M. K., (2019). Tuz Stresinin Biberde Bitki Gelişimi, Fizyolojik Ve Biokimyasal Özellikler, DNA Metilasyonu İle Tohum Çimlenmesi Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Atatürk Üniversitesi, Erzurum.
- Sharma, P. K., Sharma, S. K., & Choi, I. Y. (2010). Individual and combined effects of waterlogging and alkalinity on yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) imposed at three critical stages. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 16(3), 317-320.
- Slama, I., Abdelly, C., Bouchereau, A., Flowers, T., & Saviouré, A. (2015). Diversity, distribution and roles of osmoprotective compounds accumulated in halophytes under abiotic stress. *Annals of botany*, 115(3), 433-447.

- Song, Y., Chen, D., Lu, K., Sun, Z., & Zeng, R. (2015). Enhanced tomato disease resistance primed by arbuscular mycorrhizal fungus. *Frontiers in Plant Science*, 6, 786.
- Soylomez, S. (2021). The Impact of Waterpad and Different Irrigation Levels on The Yield, Plant Development and Some Quality Features of the Pepper. *Fresenius Environmental Bulletin*, 30(4), 3134-314.
- Springer, N. M., Lisch, D., & Li, Q. (2016). Creating order from chaos: epigenome dynamics in plants with complex genomes. *The Plant Cell*, 28(2), 314-325.
- Stevens, J., Senaratna, T. and Sivasithamparam, K., (2006) Salicylic acid induces salinity tolerance in tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Roma): associated changes in gas exchange, water relations and membrane stabilization, *Plant Growth Regul* 49: 77-83.
- Sun, M., Yang, Z., Liu, L., & Duan, L. (2022). DNA methylation in plant responses and adaption to abiotic stresses. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(13), 6910.
- Szada-Borzyszkowska, A., Krzyżak, J., Rusinowski, S., Starzewska-Sikorska, A., Ratman-Kłosińska, I., & Pogrzeba, M. (2022). The effect of amendments on *Lolium perenne* roots arbuscular mycorrhizal fungi colonization when cultivated in contaminated soil. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 19(10), 9365-9376.
- Tewari, A., Singh, R., Singh, N. K., & Rai, U. N. (2008). Amelioration of municipal sludge by *Pistia stratiotes* L.: role of antioxidant enzymes in detoxification of metals. *Bioresource technology*, 99(18), 8715-8721.
- Tisdall J M (1994) Possible role of soil microorganisms in aggregation in soils. *Plant and Soil*, Vol: 159, No: 1 p. 115-123
- Turhan, A. (2021). Interactive effects of boron stress and mycorrhizal (AMF) treatments on tomato growth, yield, leaf chlorophyll and boron accumulation, and fruit characteristics. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 67(14), 1974-1985.
- Türkoğlu, A., Haliloğlu, K., Demirel, F., Aydın, M., Çiçek, S., Yiğider, E., ... & Niedbała, G. (2023). Machine learning analysis of the impact of silver nitrate and silver nanoparticles on wheat (*Triticum aestivum* L.): callus induction, plant regeneration, and DNA methylation. *Plants*, 12(24), 4151.
- Türkoğlu, A., Haliloğlu, K., Demirel, F., Demirel, S., Işık, M. İ., Aydın, A., ... & Alipour, H. (2025). Drought-Induced genomic and epigenetic variations in *Quinoa* genotypes revealed by iPBS and CRED-iPBS marker systems. *Scientific Reports*, 15(1), 28060.
- Ulukapı, K., Kurt, Z., & Şener, S. (2020). The effects of mycorrhiza application on vegetative and generative growth in pepper (*Capsicum annuum* L.) plants under water deficiency conditions.
- Uskutoğlu, A. G. D., & İdikut, L. (2023), Yıllara Göre Dünya’da ve Türkiye’de Baklagil Bitkilerinin Durumu.

- Vanyushin, B. F., & Ashapkin, V. V. (2011). "DNA methylation in plants: From the basics to the application." *Biochemistry (Moscow)*, 76(3), 319-328
- Verzeaux, J., Nivellet, E., Roger, D., Hirel, B., Dubois, F., & Tetu, T. (2017). Spore density of arbuscular mycorrhizal fungi is fostered by six years of a no-till system and is correlated with environmental parameters in a silty loam soil. *Agronomy*, 7(2), 38.
- Wang, Y., Lin, J., Yang, F., Tao, S., Yan, X., Zhou, Z., & Zhang, Y. (2022). Arbuscular mycorrhizal fungi improve the growth and performance in the seedlings of *Leymus chinensis* under alkali and drought stresses. *PeerJ*, 10, e12890.
- Wu, J., Luo, J., Wang, Y., Peng, Y., Yang, G., & Zhu, J. (2023). Arbuscular mycorrhiza augments aluminum tolerance in white clover (*Trifolium repens* L.) by strengthening the ascorbate-glutathione cycle and phosphorus acquisition. *Physiology and molecular biology of plants : an international journal of functional plant biology*, 29(11), 1647–1661.
- Xian-can, Z., Feng-bin, S. and Hong-wen, X., (2010), Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on photosynthetic characteristics of maize under low-temperature stress. *Yingyong Shengtai Xuebao*, 21(2).
- Xiang, D. B., Peng, L. X., Zhao, J. L., Zou, L., Zhao, G., & Song, C. (2013). Effect of drought stress on yield, chlorophyll contents and photosynthesis in tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum*). *J. Food Agric. Environ*, 11, 1358-1363.
- Xun, F., Xie, B., Liu, S., & Guo, C. (2015). Effect of plant growth-promoting bacteria (PGPR) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) inoculation on oats in saline-alkali soil contaminated by petroleum to enhance phytoremediation. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(1), 598-608.
- Yang, C. W., Xu, H. H., Wang, L. L., Liu, J., Shi, D. C., & Wang, D. L. (2009). Comparative effects of salt-stress and alkali-stress on the growth, photosynthesis, solute accumulation, and ion balance of barley plants. *Photosynthetica*, 47(1), 79-86.
- Yang, C., Chong, J., Li, C., Kim, C., Shi, D., & Wang, D. (2007). Osmotic adjustment and ion balance traits of an alkali resistant halophyte *Kochia sieversiana* during adaptation to salt and alkali conditions. *Plant and soil*, 294(1), 263-276.
- Yang, C., Zhang, M., Niu, W., Yang, R., Zhang, Y., Qiu, Z., ... & Zhao, Z. (2011). Analysis of DNA methylation in various swine tissues. *Plos one*, 6(1), e16229.
- Yang, C., Zhao, W., Wang, Y., Zhang, L., Huang, S., & Lin, J. (2020). Metabolomics analysis reveals the alkali tolerance mechanism in *Puccinellia tenuiflora* plants inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi. *Microorganisms*, 8(3), 327.
- Yang, S., Xu, Y., Tang, Z., Jin, S., & Yang, S. (2024). The impact of alkaline stress on plant growth and its alkaline resistance mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(24), 13719.

- YANG, Y. S., SUN, C. Y., MA, J. Q., QIN, S. F., ZHOU, X. B., & HUANG, J. H. (2023). Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) on Maize Tolerance to Lead (Pb) Contaminated Soil. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 39(10), 1316-1322.
- Yano, K., & Takaki, M. (2005). Mycorrhizal alleviation of acid soil stress in the sweet potato (*Ipomoea batatas*). *Soil Biology and Biochemistry*, 37(8), 1569-1572.
- Ye, L., Zhao, X., Bao, E., Cao, K., & Zou, Z. (2019). Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on watermelon growth, elemental uptake, antioxidant, and photosystem II activities and stress-response gene expressions under salinity-alkalinity stresses. *Frontiers in Plant Science*, 10, 863.
- Yildiz, M., Kocak, M., Nadeem, M. A., Cavagnaro, P., Barboza, K., Baloch, F. S., ... & Keleş, D. (2020). Genetic diversity analysis in the Turkish pepper germplasm using iPBS retrotransposon based markers. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 44(1), 1-14.
- Yilmaz, A., Yildirim, E., Yilmaz, H., Soydemir, H. E., Güler, E., Ciftci, V., & Yaman, M. (2023). Use of Arbuscular Mycorrhizal Fungi for Boosting Antioxidant Enzyme Metabolism and Mitigating Saline Stress in Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.). *Sustainability*, 15(7), 5982.
- Zanetti, M. E., Blanco, F., Ferrari, M., Ariel, F., Benoit, M., Niebel, A., & Crespi, M. (2024). Epigenetic control during root development and symbiosis. *Plant Physiology*, 196(2), 697-710.
- Zemach, A., Kim, M. Y., Hsieh, P. H., Coleman-Derr, D., Eshed-Williams, L., Thao, K., ... & Zilberman, D. (2013). The *Arabidopsis* nucleosome remodeler DDM1 allows DNA methyltransferases to access H1-containing heterochromatin. *Cell*, 153(1), 193-205.
- Zhang, C., Shi, W., Ma, K., Li, H., Zhang, F. (2016). EGTA, a calcium chelator, affects the cell cycle and increases DNA methylation in root tips of *Triticum aestivum* L. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 85(3), 3502.
- Zhang, F., Liu, M., Li, Y., Che, Y., & Xiao, Y. (2019). Effects of arbuscular mycorrhizal fungi, biochar and cadmium on the yield and element uptake of *Medicago sativa*. *Science of the Total Environment*, 655, 1150-1158.
- Zhang, H., Zhu, J., Gong, Z., & Zhu, J. K. (2022). Abiotic stress responses in plants. *Nature Reviews Genetics*, 23(2), 104-119.
- Zhang, Y. F., Wang, P., Yang, Y. F., Bi, Q., Tian, S. Y., & Shi, X. W. (2011). Arbuscular mycorrhizal fungi improve reestablishment of *Leymus chinensis* in bare saline-alkaline soil: Implication on vegetation restoration of extremely degraded land. *Journal of Arid Environments*, 75(9), 773-778.
- Zhang, Z., Liu, S., Wang, K., Liu, Y., Liu, H., & Feng, F. (2025). Exogenous Application of the Functional Metabolite Rosmarinic Acid Can Simulate the Effects of AMF Inoculation on Plant Growth Promotion and Cd Passivation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.

EKLER

EK-1

Çalışmada kullanılan örneklerin jel yükleme sırası

Örnek no		Doku tipi	Uygulama	Kesilen enzim
1	DK-1	Yaprak	0 mM NaHCO ₃	
1-M		Yaprak	0 mM NaHCO ₃	MspI
1-H		Yaprak	0 mM NaHCO ₃	HpaII
2	DK-2	Yaprak	0 mM NaHCO ₃	
2-M		Yaprak	0 mM NaHCO ₃	MspI
2-H		Yaprak	0 mM NaHCO ₃	HpaII
3	DK-3	Yaprak	0 mM NaHCO ₃	
3-M		Yaprak	0 mM NaHCO ₃	MspI
3-H		Yaprak	0 mM NaHCO ₃	HpaII
4	DA-1	Yaprak	100 mM NaHCO ₃	
4-M		Yaprak	100 mM NaHCO ₃	MspI
4-H		Yaprak	100 mM NaHCO ₃	HpaII
5	DA-2	Yaprak	100 mM NaHCO ₃	
5-M		Yaprak	100 mM NaHCO ₃	MspI
5-H		Yaprak	100 mM NaHCO ₃	HpaII
6	DA-3	Yaprak	100 mM NaHCO ₃	
6-M		Yaprak	100 mM NaHCO ₃	MspI
6-H		Yaprak	100 mM NaHCO ₃	HpaII
7	DX-1	Yaprak	0 mM NaHCO ₃ /10 ⁵ AMF	
7-M		Yaprak	0 mM NaHCO ₃ /10 ⁵ AMF	MspI
7-H		Yaprak	0 mM NaHCO ₃ /10 ⁵ AMF	HpaII
8	DX-2	Yaprak	0 mM NaHCO ₃ /10 ⁵ AMF	
8-M		Yaprak	0 mM NaHCO ₃ /10 ⁵ AMF	MspI
8-H		Yaprak	0 mM NaHCO ₃ /10 ⁵ AMF	HpaII
9	DX-3	Yaprak	0 mM NaHCO ₃ /10 ⁵ AMF	
9-M		Yaprak	0 mM NaHCO ₃ /10 ⁵ AMF	MspI
9-H		Yaprak	0 mM NaHCO ₃ /10 ⁵ AMF	HpaII

EK-1. devamı

10	DXA-1	Yaprak	100 mM NaHCO ₃ /10 ⁵ AMF	
10-M		Yaprak	100 mM NaHCO ₃ /10 ⁵ AMF	MspI
10-H		Yaprak	100 mM NaHCO ₃ /10 ⁵ AMF	HpaII
11	DXA-2	Yaprak	100 mM NaHCO ₃ /10 ⁵ AMF	
11-M		Yaprak	100 mM NaHCO ₃ /10 ⁵ AMF	MspI
11-H		Yaprak	100 mM NaHCO ₃ /10 ⁵ AMF	HpaII
12	DXA-3	Yaprak	100 mM NaHCO ₃ /10 ⁵ AMF	
12-M		Yaprak	100 mM NaHCO ₃ /10 ⁵ AMF	MspI
12-H		Yaprak	100 mM NaHCO ₃ /10 ⁵ AMF	HpaII
13	AK-1	Yaprak	0 mM NaHCO ₃	
13-M		Yaprak	0 mM NaHCO ₃	MspI
13-H		Yaprak	0 mM NaHCO ₃	HpaII
14	AK-2	Yaprak	0 mM NaHCO ₃	
14-M		Yaprak	0 mM NaHCO ₃	MspI
14-H		Yaprak	0 mM NaHCO ₃	HpaII
15	AK-3	Yaprak	0 mM NaHCO ₃	
15-M		Yaprak	0 mM NaHCO ₃	MspI
15-H		Yaprak	0 mM NaHCO ₃	HpaII
16	AA-1	Yaprak	100 mM NaHCO ₃	
16-M		Yaprak	100 mM NaHCO ₃	MspI
16-H		Yaprak	100 mM NaHCO ₃	HpaII
17	AA-2	Yaprak	100 mM NaHCO ₃	
17-M		Yaprak	100 mM NaHCO ₃	MspI
17-H		Yaprak	100 mM NaHCO ₃	HpaII
18	AA-3	Yaprak	100 mM NaHCO ₃	
18-M		Yaprak	100 mM NaHCO ₃	MspI
18-H		Yaprak	100 mM NaHCO ₃	HpaII
19	AX-1	Yaprak	0 mM NaHCO ₃ /10 ⁵ AMF	
19-M		Yaprak	0 mM NaHCO ₃ /10 ⁵ AMF	MspI
19-H		Yaprak	0 mM NaHCO ₃ /10 ⁵ AMF	HpaII

EK-1. devamı

20	AX-2	Yaprak	0 mM NaHCO ₃ /10 ⁵ AMF	
20-M		Yaprak	0 mM NaHCO ₃ /10 ⁵ AMF	MspI
20-H		Yaprak	0 mM NaHCO ₃ /10 ⁵ AMF	HpaII
21	AX-3	Yaprak	0 mM NaHCO ₃ /10 ⁵ AMF	
21-M		Yaprak	0 mM NaHCO ₃ /10 ⁵ AMF	MspI
21-H		Yaprak	0 mM NaHCO ₃ /10 ⁵ AMF	HpaII
22	AXA-1	Yaprak	100 mM NaHCO ₃ /10 ⁵ AMF	
22-M		Yaprak	100 mM NaHCO ₃ /10 ⁵ AMF	MspI
22-H		Yaprak	100 mM NaHCO ₃ /10 ⁵ AMF	HpaII
23	AXA-2	Yaprak	100 mM NaHCO ₃ /10 ⁵ AMF	
23-M		Yaprak	100 mM NaHCO ₃ /10 ⁵ AMF	MspI
23-H		Yaprak	100 mM NaHCO ₃ /10 ⁵ AMF	HpaII
24	AXA-3	Yaprak	100 mM NaHCO ₃ /10 ⁵ AMF	
24-M		Yaprak	100 mM NaHCO ₃ /10 ⁵ AMF	MspI
24-H		Yaprak	100 mM NaHCO ₃ /10 ⁵ AMF	HpaII