

T.C.

**BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TARLA BİTKİLERİ ANA BİLİM DALI**



**TUZ VE GİBERELLİK ASİDİN BAZI MERCİMEK
ÇEŞİTLERİNDEKİ FENOTİPİK, BİYOAKTİF VE
ENZİMATİK ETKİLERİ**

TARLA BİTKİLERİ YÜKSEK LİSANS TEZİ

ABRORKHON SAİTMURATOV

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Mehmet Zahit YEKEN

BOLU, MAYIS 2025

KABUL VE ONAY SAYFASI

Abrorkhon SAİTMURATOV tarafından hazırlanan “**TUZ VE GİBERELLİK ASİDİN BAZI MERCİMEK ÇEŞİTLERİNDEKİ FENOTİPİK, BİYOAKTİF VE ENZİMATİK ETKİLERİ**” adlı tez çalışması jürimiz tarafından Tarla Bitkileri Ana Bilim Dalı Tarla Bitkileri Tezli Yüksek Lisans programında Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği kabul edilmiştir.
28/05/2025

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Doç. Dr. Mehmet Zahit YEKEN
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Prof. Dr. Vahdettin ÇİFTÇİ
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Doç. Dr. Muhammad Azhar NADEEM
Sivas Bilim ve Teknoloji Üniversitesi

.....

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. İbrahim KÜRTÜL
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzu ve Şablonuna uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
 - Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
 - Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
 - Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
 - Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir
- aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Teze ilişkin Turnitin adlı programında enstitü müdürlüğünce belirlenen filtrelemeler uygulanarak alınmış, olan benzerlik raporuna göre, tezin benzerlik oranı %30'u geçmemektedir.

.....

ABRORKHON SAİTMURATOV

ÖZET

**TUZ VE GİBERELLİK ASİDİN BAZI MERCİMEK ÇEŞİTLERİNDEKİ
FENOTİPİK, BİYOAKTİF VE ENZİMATİK ETKİLERİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
ABRORKHON SAİTMURATOV
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
TARLA BİTKİLERİ ANA BİLİM DALI
TARLA BİTKİLERİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
(TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. MEHMET ZAHİT YEKEN)**

**BOLU, MAYIS - 2025
XI + 37 sayfa**

Mercimek (*Lens culinaris* Medik.), dünya genelinde yaygın olarak yetiştirilen önemli bir yemeklik tane baklagil bitkisidir. Tuz stresi, bitkinin büyüme ve gelişimini olumsuz yönde etkileyerek verim kayıplarına neden olmaktadır. Bu çalışmada, öncelikle on iki mercimek çeşidinde tuz stresinin (150 mM) fenotipik parametreler üzerindeki etkileri incelenmiştir. Ardından tuz stresine en hassas mercimek çeşidinde, farklı tuz stresi seviyeleri (kontrol, 75 mM ve 150 mM) altında uygulanan farklı GA₃ dozlarının (kontrol, 50 µM, 100 µM ve 200 µM) mercimekteki biyoaktif ve enzimatik özellikler üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Tuz stresi altında kök ve sürgün ağırlığı, kök ve sürgün uzunluğu ile yaprak renk parametrelerinde önemli azalmalar gözlemlenmiştir. Tuz stresi altında yetiştirilen mercimek çeşidine uygulanan farklı dozlardaki GA₃ uygulamaları kontrol gruba göre bitkideki klorofil içeriği, toplam karotenoid içeriği, toplam fenolik madde içeriği, toplam flavonoid içeriği, toplam çözünbilir protein miktarı ve antioksidan kapasitesini (FRAP, DPPH, CUPRAC) artırmıştır. Enzim aktivite analizleri, GA₃ uygulamalarının katalaz (CAT) ve askorbat peroksidaz (APX) aktivitelerini artırarak tuz stresine karşı bitkinin savunma mekanizmalarında kritik rol oynadığını ortaya koymuştur. Temel bileşen analizi (PCA), incelenen değişkenler arasındaki ilişkileri ve verilerdeki ana varyasyon kaynaklarını ortaya koymuştur. Bulgular, GA₃ uygulamalarının tuza duyarlı mercimek çeşitlerinde biyolojik ve biyokimyasal yanıtları düzenleyerek stres toleransının geliştirilmesine katkı sağladığını göstermektedir. Elde edilen sonuçların, tuza dayanıklı mercimek çeşitlerinin geliştirilmesi ile ilgili ıslah programlarına ve mercimekte biyoaktif ve biyokimyasal içeriğin artırılmasına yönelik araştırmalara önemli katkılar sağlayacağı düşünülmektedir.

ANAHTAR KELİMELE: Mercimek, Tuz stresi, GA₃ uygulaması, Fizyolojik özellikler, Biyoaktif özellikler

ABSTRACT

PHENOTYPIC, BIOACTIVE AND ENZYMATIC EFFECTS OF SALT AND GIBBERELIC ACID ON SOME LENTIL CULTIVARS

MASTER THESIS

ABRORKHON SAİTMURATOV

BOLU ABANT IZZET BAYSAL UNIVERSITY

INSTITUTE OF GRADUATE STUDIES

DEPARTMENT OF FIELD CROPS

(SUPERVISOR: ASSOC. PROF. DR. MEHMET ZAHİT YEKEN)

BOLU, MAY 2025

XI + 37 pages

Lentil (*Lens culinaris* Medik.) is an important edible legume widely cultivated worldwide. Salt stress adversely affects plant growth and development, leading to yield losses. In this study, the effects of salt stress (150 mM) on phenotypic parameters were first examined in twelve lentil cultivars. Subsequently, the effects of different GA₃ doses (control, 50 µM, 100 µM, and 200 µM) on the bioactive and enzymatic properties of lentil were investigated under varying levels of salt stress (control, 75 mM, and 150 mM) in the most salt-sensitive lentil cultivar. Significant reductions in root and shoot weight, root and shoot length, and leaf color parameters were observed under salt stress. Application of different doses of GA₃ to the lentil cultivar grown under salt stress increased chlorophyll content, total carotenoid content, total phenolic content, total flavonoid content, total soluble protein content, and antioxidant capacity (FRAP, DPPH, CUPRAC) compared to the control group. Enzyme activity analyses revealed that GA₃ treatments enhanced catalase (CAT) and ascorbate peroxidase (APX) activities, playing a crucial role in the plant's defense mechanisms against salt stress. Principal component analysis (PCA) revealed the relationships between the studied variables and the main sources of variation in the data. The findings demonstrated that GA₃ applications contribute to the improvement of stress tolerance by regulating biological and biochemical responses in salt-sensitive lentil cultivars. The results are expected to provide significant insights into breeding programs for developing salt-tolerant lentil cultivars and enhancing the bioactive and biochemical content of lentils.

KEYWORDS: Lentil, Salt stress, GA₃ treatment, Physiological traits, Bioactive traits

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
ŞEKİL LİSTESİ.....	vii
TABLO LİSTESİ	viii
FOTOĞRAF LİSTESİ	ix
KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ	x
TEŞEKKÜR	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. MATERYAL ve YÖNTEM.....	8
2.1 Mercimek çeşitlerinin tuz stresine karşı fenotiplenmesi	8
2.1.1 Bitki materyali ve deneme koşulları	8
2.1.2 Fizyolojik ölçümler, yaprak renk parametreleri, nisbi elektrolit sızıntı testi ve görsel değerlendirme	9
2.2 NaCl ve GA ₃ uygulamalarının mercimekte biyoaktif ve enzimatik bileşenler üzerindeki etkisi	10
2.2.1 Bitki materyali ve deneme koşulları	10
2.2.2 Farklı dozlarda NaCl ve GA ₃ uygulamaları.....	11
2.2.3 Biyoaktif içerikler	12
2.2.4 Enzim analizleri	14
2.3. İstatistiksel analiz	16
3. BULGULAR	17
4. TARTIŞMA	29
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	33
KAYNAKLAR	34

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

- Şekil 1.** Mercimek çeşitlerinin tuz stresi karşı görsel değerlendirmesi, tuz stresine hassas (Meyveci 2001-sol) ve tuz stresine toleranslı (Altıntoprak-sağ) mercimek çeşitleri.22
- Şekil 2.** Meyveci 2001 çeşidinde farklı NaCl ve GA₃ uygulamalarındaki fotosentetik pigment analiz (chl a, chl b ve chl a/b) sonuçları.....23
- Şekil 3.** Meyveci 2001 çeşidinde farklı NaCl ve GA₃ uygulamalarındaki biyokimyasal analizler (toplam karotenoid içeriği, toplam flavonoid içeriği, toplam fenolik içeriği ve toplam çözünabilir protein).24
- Şekil 4.** Meyveci 2001 çeşidinde farklı NaCl ve GA₃ uygulamalarındaki antioksidan aktivite analizleri (FRAP, DPPH ve CUPRAC testleri).25
- Şekil 5.** Meyveci 2001 çeşidinde farklı NaCl ve GA₃ uygulamalarındaki enzim analiz (MDA ve H₂O₂) sonuçları.....26
- Şekil 6.** Meyveci 2001 çeşidinde farklı NaCl ve GA₃ uygulamalarındaki antioksidan enzim analiz (APX, SOD ve CAT) sonuçları.27
- Şekil 7.** Meyveci 2001 çeşidinde farklı NaCl ve GA₃ uygulamalarında incelenen özelliklerin temel bileşenler analizi.....28

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1. Çalışmada kullanılan mercimek çeşitlerine ait bilgiler.....	8
Tablo 2. Tuz stresi ve kontrol koşullarındaki mercimek çeşitlerinin fizyolojik özellikleri.....	19
Tablo 3. Tuz stresi ve kontrol koşullarındaki mercimek çeşitlerinin renk parametreleri ve nisbi elektrolit sızıntı testi sonuçları.	21



FOTOĞRAF LİSTESİ

Sayfa

- Fotoğraf 1.** Nisbi elektrolit sızıntı testi, yaprak rengi ölçümleri ve fizyolojik ölçümlere ait görseller..... 10
- Fotoğraf 2.** Saksıların hazırlanması ve bitkilerin çıkış sonrası görünümü..... 11
- Fotoğraf 3.** Mercimek çeşitlerinin tuz stresi karşı fenotipik değerlendirmesi. 22



KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ

NaCl	: Sodyum Klorür
GA₃	: Giberellik Asit
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
PGRs	: Bitki Büyüme Düzenleyicileri
Chl a	: Klorofil a
Chl b	: Klorofil b
Chl a/b	: Klorofil a/b Oranı
TCC	: Toplam Karotenoid İçeriği
TPC	: Toplam Fenolik Madde İçeriği
TFC	: Toplam Flavonoid İçeriği
TSP	: Toplam Çözünebilir Protein Miktarı
FRAP	: Demir İndirgeme Antioksidan Gücü
DPPH	: 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil
CUPRAC	: Bakır (II) İyonu İndirgeme Kapasitesi
SOD	: Süperoksit Dismutaz
CAT	: Katalaz
APX	: Askorbat Peroksidaz
MDA	: Malondialdehit
PCA	: Temel Bileşen Analizi

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının hazırlanmasında emeği geçen, çalışmam boyunca bana rehberlik eden, değerli bilgi ve deneyimleriyle yönlendiren danışmanım Doç. Dr. Mehmet Zahit YEKEN'e en derin şükranlarımı sunarım. Ayrıca, jüri üyeleri Prof. Dr. Vahdettin ÇİFTÇİ ve Doç. Dr. Muhammad Azhar NADEEM'e çalışmama sağladıkları değerli katkılar ve kıymetli zamanlarını ayırdıkları için teşekkür ederim.

Çalışma boyunca desteklerini esirgemeyen değerli hocalarım Doç. Dr. Emrah GÜLER, Doç. Dr. Abdurrahim YILMAZ ve Dr. Orkun EMİRALİOĞLU'na, bu süreçte bana destek olan, moral veren ve laboratuvar çalışmalarında bana yardımcı olan ekip arkadaşlarım Zir. Müh. Ayşe Nur KAFALI'ya ve Zir. Müh. Ahad Hazar ASLAN'a teşekkür ederim.

Her zaman varlığını yanımda hissettiğim, sabır ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen kıymetli aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Araştırmamı destekleyen Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne (Proje Numarası: 2024-TYL-6.12.57-0012) teşekkür ederim.

1. GİRİŞ

Mercimek (*Lens culinaris* Medik.), kendine döllenen tek yıllık yemeklik baklagil bitkisidir. Mercimek, $2n=14$ kromozoma sahip diploid bir bitki olup, tohumları yuvarlak, küçük ve disk şeklindedir. Mercimek taneleri, protein, vitamin, karbonhidrat ve çeşitli mineraller (potasyum, kalsiyum, magnezyum, sodyum ve fosfor) açısından zengin olmasından dolayı insan beslenmesinde önemli bir konuma sahiptir. Tanelerinin besin açısından zengin olması, gelişmekte olan ülkelerin diyetlerindeki önemini artırmaktadır (Yadav vd., 2007). FAO (2022) yılı verilerine göre 2021 yılında dünyada 5,5 milyon ha alanda mercimek yetiştiriciliği yapılmış ve 5,6 milyon ton üretim elde edilmiştir. Aynı yıl dünyada en fazla mercimek yetiştiriciliğinin yapıldığı 5 ülke sırasıyla Kanada, Hindistan, Avustralya, Türkiye ve Nepal olmuştur. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) verilerine göre 2023 yılında Türkiye’de 2,7 milyon da alanda kırmızı mercimek, 447 bin da alanda ise yeşil mercimek yetiştirilmiştir. Kırmızı ve yeşil mercimekten elde edilen üretim miktarları sırasıyla 424 bin ve 50 bin ton olup dekara verim ise 153 ve 112 kg olarak gerçekleşmiştir (TÜİK, 2024).

Dünyada çeşitli abiyotik ve biyotik stres faktörleri bitkilerin verimliliğini kısıtlamakta ve üretim kayıplarına neden olmaktadır. Bu faktörler arasında yer alan tuzluluk, bitki verimliliğini ve gelişimini sınırlayan önemli çevresel faktörler arasında yer almaktadır (Çakır, 2021). Tuzluluk problemine neden olan başlıca faktörlerin, sulama sularının içinde bulunan tuzların, toprak özelliklerinin ve iklim faktörlerinin olduğu ifade edilmiştir. Yarı kurak ve kurak bölgelerde bitkilerin kök bölgesindeki çözünebilir tuzların bitki kökünden uzaklara taşınamaması sonucunda tuzluluk sorunu meydana gelmektedir. Yağış ve sıcaklığın az olduğu dönemlerde, tuzlu taban sularının toprak yüzeyine kılcal yükselme ile ulaştığı ve evaporasyonun yüksek seviyede olmasıyla suyun buharlaşıp tuzun toprak yüzeyine biriktiği ifade edilmiştir (Richards, 1954; Kanber ve Ünlü, 2008). Bitkilerin kök bölgesinde biriken tuzların bitkilerin fizyolojisinde değişimler meydana getirdiği, fotosentez oranını azalttığı, karbon ve azot metabolizmasını olumsuz yönde etkilediği belirtilmektedir (Iyengar ve Reddy, 1996; Balibrea vd., 2000; Mansour, 2000). Ayrıca tuzluluk, bitkide zarara neden olarak üretimi sınırlandırmakla ve tuz tipine göre toprağın hava ve su geçirgenliğini azaltmaktadır (Güneş vd., 2000). Tuzlu

topraklarda yetiştirilen bitkilerdeki verimdeki azalmaların, toprakta fazla miktarda bulunan Na ve Cl gibi iyonlarının neden olduğu toksik etkilerden ve bitki iyon dengesindeki bozulmalardan (Flowers ve Yeo, 1981), bitkinin farklı kısımlarına besin taşınmasında ve alımında meydana gelen problemlerden, fotosentez ve solunum gibi fizyolojik fonksiyonların zarar görmesinden kaynaklandığı bildirilmiştir (Çakır, 2021). Bu kapsamda tuzluluk problemi görülen topraklarda mercimek yetiştiriciliğinde ekonomik düzeyde verim elde edilebilmesi için tuz stresine dayanıklılığı veya toleransı fazla olan mercimek çeşitlerinin belirlenmesi gerekmektedir.

Yüksek dışsal tuz konsantrasyonları, hücrel iyonların dengesizliğine yol açarak iyon toksisitesi, ozmotik stres ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimine neden olmaktadır. Bitkilerin tuz toleransı genellikle iyonik ve ozmotik homeostazın düzenleyici mekanizmaları ile ilişkilendirilerek incelenmiştir (Ashraf ve Harris, 2004). İyonik ve ozmotik bileşenlere ek olarak tuz stres, diğer abiyotik stresler gibi hidrojen peroksit, süperoksit ve hidroksil radikalleri gibi reaktif oksijen türlerinde (ROS) artış yoluyla oksidatif strese de neden olmaktadır. ROS, yüksek reaktif olup, lipitler, proteinler ve nükleik asitler üzerinde oksidatif hasara yol açarak normal hücrel metabolizmayı değiştirebilmektedir (İmlay, 2003). ROS tarafından başlatılan oksidatif hasarı hafifletmek için bitkiler düşük moleküler kütleli antioksidanlar ve süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve askorbat peroksidaz (APX) gibi antioksidatif enzimler içeren karmaşık bir savunma sistemi geliştirmiştir (Eyidogan ve Öz, 2007). Fazla tuzluluğa maruz kalan birçok bitki türündeki verim kayıpları genellikle fotosentetik kapasitedeki azalmayla ilişkilendirilmektedir (Parida ve Das, 2005). Lipid peroksidasyonunun bir ürünü olan malondialdehit (MDA) içeriği, oksidatif hasarın bir göstergesi olarak kabul edilmektedir.

Son yıllarda çeşitli abiyotik stres faktörlerine karşı bitki büyüme düzenleyicilerinin kullanımı oldukça önem kazanmıştır. Bitki büyüme düzenleyicileri (BGD), bitki tarafından doğal olarak üretilen veya kimyagerler tarafından sentetik olarak üretilen, bitki hücrelerinde etki gösteren, bitkilerin büyüme ve gelişimini etkileyen küçük organik moleküllerdir. BGD'ler arasında bitkide büyümeyi teşvik ediciler (oksinler, giberellinler ve sitokininler) ve

biyoinhibitörler (ABA, metiljasmonat) bulunmaktadır. Biyoinhibitörler, bitkilerin yaralanma, biyotik ve abiyotik kökenli streslere verdiği tepkilerde önemli rol oynamaktadır. Giberellinler, sitokininler, oksinler veya onların sentetik bileşikleri gibi BGD'lerin kullanımı, verimde artış sağlamak için günümüzde giderek popüler hale gelmektedir. Giberellinler (GAs), bitkilerde birçok tepkiyi yönlendiren büyüme teşvik edicileri olarak bilinmektedir. Giberellik asit (GA_3), gövde uzunluğunu, bitki başına çiçek sayısını artırmakta ve meyve tutumunu teşvik etmektedir (Azuma vd., 1997). BGD uygulamalarının bitki büyümesini ve ürün verimini artırdığı yürütülen birçok çalışmada bildirilmiştir (Hernandez, 1996; Udeen, 2009; Mostafa ve Abou Al-Hamd, 2011; Yeken, 2024).

Mercimek bitkisinde çeşitli stres koşullarıyla ilgili pek çok çalışma gerçekleştirilmiş olup konu ile ilgili literatür özetleri aşağıda verilmiştir.

Bandeoğlu (2001), 100 ve 200 mM NaCl stresine maruz kalmış mercimek fidelerinin yaprak ve kök dokularında katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon redüktaz (GR) ve askorbat peroksidaz (APX) gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerini, lipid peroksidasyonunu (malondialdehid), H_2O_2 ve prolin ile fizyolojik değişimleri incelemişler ve normal şartlarda yetiştirilen mercimek fideleriyle karşılaştırmışlardır.

Kökten vd. (2010) 5 mercimek genotipi ile yürüttükleri çalışmada, 5 farklı NaCl konsantrasyonunda bitkiler yetiştirmiş, çimlenme oranı, sürgün ve kök uzunluğu, sürgün ve kök kuru ağırlığı ile tuz toleransı oranlarını belirlemiştir. Çalışma sonucunda, Altın Toprak ve Çağır çeşidi yüksek düzeyde tuza tolerans gösterdiği, Yerli Kırmızı ve Fırat-87 çeşitlerinin orta düzeyde tolerans gösterdiği, Seyran-96 çeşidinin ise NaCl'e en hassas çeşit olduğu ifade edilmiştir.

Cicerali (2004), ILL5582 ve ILL590 mercimek (*Lens culinaris* Medik.) genotiplerini tuz stresi altında karakterize ederek karşılaştırmış ve antioksidan mekanizmalarını laboratuvar koşullarında incelemiştir. Kök-gövde uzunluğu, kuru-yaş ağırlık gibi fizyolojik parametreleri, lipid peroksidasyonunu (malondialdehit), H_2O_2 ve proline miktarlarını, antioksidan enzimlerinden katalaz, süperoksit dismutaz, askorbat peroksidaz, glutatyon redüktaz aktivitelerini mercimek fidelerinde (9 gün normal büyüme + 5 gün 100 mM ve 200 mM tuz stresi) NaCl

stresi altında incelemiştir. LL590 çeşidinde, yaş-kuru ağırlık ile kök-gövde uzunluğu düşüş yüzdeleri daha yüksek bulunmuştur. Tuz stresinde yaprak dokularının kök dokularına oranla daha fazla etkilendiğini belirtmiştir. MDA miktarları, LL590'da lipid peroksidasyonunun daha yüksek olduğunu ve yaprak dokularında anlamlı artışların olduğunu göstermiştir. Tuz konsantrasyonuna bağlı olarak prolin miktarında önemli artış gerçekleşmiştir. Antioksidan enzimlerde SOD en yüksek aktivite artışını göstermiştir. Ayrıca, iki çeşidin yaprak dokularında APX enzim aktivitesi anlamlı artışlar göstermiştir.

Naeem vd. (2004) farklı büyüme hormonlarının mercimekteki etkisi incelemiştir. Hormonlar; 1,5 mM GA₃ + 2,85 mM IAA + 0,14 mM kinetin, 2,85 mM IAA + 0,14 mM kinetin, 1,5 mM GA₃ + 0,14 mM kinetin, 1,5 mM GA₃ + 2,85 mM IAA, 0,14 mM (30 mg/L) kinetin, 2,85 mM (500 mg/L) IAA ve 1,5 mM (500 mg/L) GA₃ uygulanmıştır. GA₃ uygulamasında sürgün uzunluğunda belirgin bir uzama, internod sayısında ve bileşik yaprak sayısında artış belirlenmiştir. GA₃+IAA, GA₃+kinetin ve GA₃+IAA+kinetin kombinasyon dozları uzunlukta, internod sayısında ve bileşik yaprak sayısında önemli artış sağlamıştır.

Eryılmaz ve Aydemir (2005) farklı tuz konsantrasyonlarında 15 günlük süreçte (50, 100, 150, 200 ve 400 mM) *Lens esculenta* bitkisindeki antioksidan enzim aktivitelerindeki ve lipid peroksidasyonundaki (LPO) değişimleri incelemiştir. Yapılan çalışmada 15 gün boyunca guasikol peroksidaz enzim düzeylerinin kontrole göre artan tuz konsantrasyonu ile orantılı olarak arttığını, askorbat peroksidaz enzim düzeylerinin ise azaldığını ifade etmiştir. LPO değerleri incelendiğinde tuz konsantrasyonlarında kontrol bitkilerine göre artmalar gözlemlendiği, katalaz aktivitelerinde ise kontrol bitkilerine göre artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak azalmalar tespit edildiği belirlenmiştir.

Dilek (2008) yeşil ve kırmızı mercimekte 50 ve 200 mM tuz stresi uygulamış, mercimekte çeşitli fizyolojik ve enzimatik parametreler üzerine farklı dozlarda ilave edilen bor ve kalsiyumun etkisini incelemiştir. Tuz stresine, 5.0 ve 10 mM Ca eklendiğinde stres gruplarına göre yeşil ve kırmızı mercimek bitkisinin filiz-köklerinde guasikol peroksidaz, süperoksit dismutaz, prolin, lipid peroksidasyonu ve hidrojen peroksit miktarında azalma olduğu ifade edilmiştir. Diğer taraftan, katalaz aktivitesi, askorbat peroksidaz aktivitesinde artış meydana

gelmiştir. Tuz stresine kalsiyum eklediğinde stres gruplarına göre yeşil ve kırmızı mercimekte relatif büyüme hızında artış gözlemlendiği bildirilmiştir.

Ercan (2008), 7 gün süreyle tuz (150 mM NaCl) ve kuraklık (%20 PEG 6000) stresine maruz bırakılan 14 günlük mercimek fidelerinde kuraklık ve tuzluluk streslerinin etkilerini karşılaştırmalı olarak araştırmıştır. Kuraklık stresindeki bitkilerle karşılaştırıldığında, tuz stresi altındaki bitkilerde nispi su içeriği, kuru-yaş ağırlık, uzunluk ve klorofil floresans ölçümlerindeki önemli düşüşler görüldüğü bildirilmiştir. Hücre zarlarının elektrolit geçirgenliklerindeki artışlar ve yüksek MDA miktarları da bu durumu desteklemiştir. GR, APX ve prolinin tuz stresi altındaki bitkilerde kök ve gövde dokularında antioksidant savunmasında önemli rolleri olduğu belirtilmiştir. Kuraklık stresi altındaki kök dokularında H₂O₂ miktarında artış gözlenirken ve tuz stresi altındaki gövdelerde SOD enziminin aktif olduğu ifade edilmiştir.

Giannakoula vd. (2012), giberellik asit (GA₃), indol-3-asetik asit (IAA), kinetin, Prohexadione-Calcium (Prohex-Ca) ve Topflor gibi bitki gelişim düzenleyicilerin mercimek bitkileri üzerindeki etkileri fizyolojik ve biyokimyasal yöntemler kullanılarak araştırmıştır. GA₃, mercimek bitkilerinin büyümesini %43 artırmış ancak GA₃ ile uygulanan parsellerde 1000 tohum ağırlığı %26 oranında azalmıştır. Uygun bitki gelişim düzenleyicilerle yapılan farklı uygulamalar arasında fenolik içerikteki niceliksel değişkenlik ortaya konulmuş, bu durumun yüksek fenolik içeriğe ve yüksek antioksidan özelliklere sahip mercimeklerin elde edilmesini sağlayabileceği ve doğal antioksidanların birincil kaynağı olarak kullanılabileceği belirtilmiştir.

Köse (2012) 6 tane kırmızı mercimek çeşidi (Kafkas, Malazgirt, Çağır, Çiftçi, Özbek ve Seyran) ile yürüttüğü çalışmada, 100 mM ve 150 mM tuza stresine maruz kalmış 12 günlük mercimek fidelerinin fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerini incelemiştir. İki çeşitte tuz stresinin kök ve gövde antioksidant savunma sistemine (APX, SOD, CAT ve GR enzimleri aktivite tayini) etkisini karşılaştırmıştır. Analizler sonucunda Seyran çeşidinin tuz stresine toleranslı, Malazgirt çeşidinin ise tuza stresine karşı hassas olduğunu ifade etmiştir.

Uzun Kayıs ve Ceyhan (2015) 10 adet mercimek çeşidi (Kafkas, Malazgirt-89, Altın Toprak, Fırat-87, Seyran-96, Sultan-I, Meyvesi-2001, Çağıl, Özbek ve Çiftçi) ile yürüttüğü çalışmada, artan tuz dozlarına bağlı olarak mercimek bitkisinin daha düşük oranlarda çimlendiğini belirtmiştir. Mercimek çeşitlerinde farklı tuz dozlarının çimlenme hızı üzerine etkisini kontrolde 2,15-3,63 gün, 30 mM NaCl'de 1,62-3,12 gün, 60 mM NaCl'de 1,42-2,83 gün, 90 mM NaCl'de 0,75-2,20 gün ve 120 mM NaCl uygulamasında ise 0,07-0,92 gün aralığında değiştiğini bildirmiştir. Çalışma sonucunda Fırat-87, Malazgirt-89 ve Çiftçi çeşitlerinin tuz stresine en toleranslı çeşitler olduğu, en hassas çeşitlerin ise Seyran-97 ve Özbek olduğu belirtilmiştir.

Toklu (2015), farklı priming uygulamalarının (KCl (%2), KNO₃ (%1), KH₂PO₄ (%1), PEG-6000 (%20), ZnSO₄ (%0,05), IBA (100 ppm), GA₃ (100 ppm), Mannitol (%4)) kırmızı mercimek tohumlarının çimlenme özellikleri ve çeşitli agro-morfolojik bitki karakteristikleri üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla laboratuvar ve tarla koşullarında çalışma yürütmüştür. Çalışma sonuçları, GA₃, ZnSO₄ ve PEG-6000 tohum ön işlem uygulamalarının çimlenme yüzdesi, çimlenme oranı, verim bileşenleri ve tane verimi üzerinde olumlu etkileri nedeniyle faydalı olabileceği ifade edilmiştir.

Dilek Tepe ve Aydemir (2017) kırmızı ve yeşil mercimekte olası bor toksisitesinin antioksidan enzimler, oksidatif stres biyomarkerları ve klorofil içeriklerindeki değişiklikleri değerlendirmiştir. On günlük mercimek fideleri, 7 gün boyunca düşük (0,5 ve 1,0 mM) ve yüksek (2,0 ve 5,0 mM) borik asit uygulamalarına maruz bırakılmıştır. Bor, hem sürgün hem de kök dokularının uzunluğunu ve ağırlığını artırarak 0,5, 1,0 ve 2,0 mM konsantrasyonlarında büyümeyi teşvik eden bir besin maddesi olarak çalışmış, ancak 5 mM konsantrasyonunda bu dokular üzerinde baskılayıcı etkiye sahip olmuştur. Ayrıca, bor toksisitesinin mercimek çeşitlerinde antioksidan enzim aktivitelerinde değişikliklere neden olduğu belirlenmiş, kırmızı mercimeğin bor uygulamasında yeşil mercimeğe göre daha duyarlı olduğu ifade edilmiştir.

Celep (2021) 11 mercimek çeşidinin farklı tuz konsantrasyonlarına toleranslık seviyelerini tespit etmek ve bazı bitki hormonlarının çimlenme ve erken fide evresinde ön çimlendirme ortamında oluşturulan tuz stresinin giderilmesi

üzerine olan etkilerini araştırmıştır. Çalışmada farklı tuz (0, 75 mM, 150 mM, 225 mM ve 300 mM NaCl) konsantrasyonlarında çimlenme ve çıkış denemeleri gerçekleştirilmiştir. Bitki hormonlarının (MeJA ve Melatonin için 0,1 µM, 0,25 µM, 0,5 µM; ACC için 0,5 µM, 1,5 µM, 3,0 µM) priming ortamında oluşturulan tuz stresinin giderilmesi üzerine olan etkileri çimlenme ve erken fide evresinde belirlenmiştir. Priming ortamında oluşturulan tuz stresinin giderilmesinde MeJA ve melatonin genel olarak olumlu etki gösterirken ACC (Aminosiklopropan karboksilik asit) kontrol grubuna göre önemli bir iyileşme sağlamamıştır.

Çakır (2021) ülkemizde tescilli mercimek çeşitlerinin (Çağl, Şakar, Şanlıbey Çiftçi, Kafkas, Özbek, Evirgen, Fırat-87 ve Tigris) çimlenme dönemlerindeki farklı tuz konsantrasyonlarına (kontrol, 30 mM, 60 mM, 90 mM ve 120 mM) dayanıklılıklarını araştırmıştır. Çalışmada, tüm çeşitlerde tuz dozlarındaki artışa bağlı olarak incelenen özelliklerin tamamında kontrol uygulamasına göre azalmalar olduğu belirtilmiştir. Evirgen ve Tigris çeşitlerinin tuzluluğa en hassas çeşitler olduğu, Çağl Özbek ve Şanlıbey çeşitlerinin ise tuza tolerans notasında iyi performans gösterdiği ifade edilmiştir.

Solaimanifar ve Asemaneh (2021), mercimekte dört silisyum dozunun (0, 0,1, 0,25 ve 0,5 mM) bitki büyümesi ve tuzluluk (0, 40 ve 80 mM NaCl) altındaki fizyolojik parametreleri üzerine etkilerini araştırmıştır. Düşük seviyelerde Si kullanımının tuzluluğun *L. culinaris* üzerindeki zararlı etkilerini azaltabileceği ve bitkinin tuz stresine karşı direncini artırabileceği belirtmiştir.

Bu çalışmada, Türkiye’de tescil edilmiş on iki mercimek çeşidi 150 mM tuz stresine karşı fenotipik parametreler bakımından değerlendirilmiş ve tuz stresine en hassas bulunan mercimek çeşidinde farklı NaCl (kontrol, 75 ve 150 mM) ve GA₃ (kontrol, 50, 100 ve 200 µM) uygulamalarının biyokimyasal ve enzimatik özellikler üzerindeki etkilerinin araştırılmıştır.

2. MATERYAL ve YÖNTEM

Bu çalışmada, Türkiye’de tescil edilmiş on iki mercimek çeşidi 150 mM tuz stresine karşı fenotipleme yoluyla incelenmiştir. Ardından, farklı tuz dozları (kontrol, 75 mM ve 150 mM) ve GA₃ dozları (kontrol, 50 µM, 100 µM ve 200 µM) altında tuza en hassas olarak belirlenen mercimek çeşidinde biyoaktif ve enzimatik özellikler araştırılmıştır. Çalışma ile ilgili detaylar aşağıda verilmiştir.

2.1 Mercimek çeşitlerinin tuz stresine karşı fenotiplenmesi

2.1.1 Bitki materyali ve deneme koşulları

Çalışmada kullanılan mercimek çeşitlerine ait bilgiler Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. Çalışmada kullanılan mercimek çeşitlerine ait bilgiler.

Çeşitler	Tescil Edilen Kurum/Kuruluş	Tescil Tarihi
Altıntoprak	GAP Uluslararası Tarımsal Araştırma ve Eğitim Merkezi Müdürlüğü /Diyarbakır	12.04.2006
Çağıl	GAP Uluslararası Tarımsal Araştırma ve Eğitim Merkezi Müdürlüğü/Diyarbakır	12.04.2006
Kayı-91	Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü/Eskişehir	01.05.1991
Seyran-96	GAP Uluslararası Tarımsal Araştırma ve Eğitim Merkezi Müdürlüğü/Diyarbakır	25.04.1996
Ceren	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü/Ankara	31.12.2012
Yusufhan	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü/Ankara	31.12.2012
Ankarayeşili	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü/Ankara	31.12.2012
Fırat-87	GAP Uluslararası Tarımsal Araştırma ve Eğitim Merkezi Müdürlüğü /Diyarbakır	24.04.1987
Karagül	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü/Ankara	08.04.2013
Gümrah	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü/Ankara	08.04.2013
Meyveci 2001	Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü/Ankara	27.04.2001
Şeker	Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi	27.04.2005

Mercimek tohumları yüzey sterilizasyonu yapılarak torf (Kekkila Dsm) içerisine ekilmiştir. Fidenleme aşamasından sonra bitkiler, her çeşitten sekiz bitki olmak üzere hidroponik saksılara aktarılmıştır. Daha sonra sekiz bitki iki gruba (1. Grup: tuz stresi uygulaması, 2. Grup: kontrol grubu) ayrılmış ve her bitki tekerrür kabul edilmiştir. Hoagland çözeltisi Epstein (1972)’ye göre hazırlanmış ve bitkiler,

kontrollü çevre koşullarında 25 °C sıcaklık ve %70 nem altında, 16 saat ışık/8 saat karanlık döngüsünde yetiştirilmiştir. Besin çözeltisi her 48 saatte bir yenilenmiştir. Dokuz gün sonra 150 mM NaCl uygulaması gerçekleştirilmiştir. 14. günde yaprak renk ölçümleri, nisbi elektrolit sızıntı testi, mercimek çeşitlerinin tuz stresindeki görsel değerlendirilmesi ve fizyolojik ölçümler yapılmıştır.

2.1.2 Fizyolojik ölçümler, yaprak renk parametreleri, nisbi elektrolit sızıntı testi ve görsel değerlendirme

Fizyolojik ölçümler (kök uzunluğu, kök yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığı, sürgün uzunluğu, sürgün yaş ağırlığı ve sürgün kuru ağırlığı), Uzun Kayıs ve Ceyhan (2015)'e göre belirlenmiştir. Yaprak renk parametreleri (L^* = açıklık, a^* = kırmızı-yeşil, b^* = sarı-mavi, C^* = chroma ve Hue^* = hue açısı) yaprak yüzeyinde 3nh NR110 (Shenzhen, Çin) cihazı ile ölçülmüştür. Renk değerleri, üç okumanın ortalaması alınarak hesaplanmıştır. Hücre zarlarındaki tuz hasarını belirlemek için nisbi elektrolit sızıntı (NES) testi yapılmıştır (Fotoğraf 1). NES değerlerinin belirlenmesi için bitkilerin terminal yaprakçıklarından 5 mm'lik diskler alınarak diyonize su ile üç kez yıkanmış ve 15 ml diyonize su içeren test tüplerine aktarılmıştır. Daha sonra 25 °C'de 6 saat inkübe edilmiştir. Elektriksel iletkenlik (EC) ilk ölçüm (E1) olarak ölçülmüş ($\mu S \cdot cm^{-1}$), ardından test tüpleri 100 °C su banyosunda 30 dakika tutulmuş, sonrasında 25 °C'de soğutulup ikinci EC ölçümü (E2) yapılmıştır. Diyonize suyun elektriksel iletkenliği de boş kontrol ölçümü (E0) olarak yapılmıştır (Gao vd., 2009; Liu vd., 2012). Son olarak, NES şu formül ile hesaplanmıştır:

$$NES = ((E1 - E0) / (E2 - E0)) \times 100$$



Fotoğraf 1. Nisbi elektrolit sızıntı testi, yaprak rengi ölçümleri ve fizyolojik ölçümlere ait görseller.

Görsel değerlendirme, 1-9 arasında bir skala ile yapılan görsel tuz hasarı indeksi kullanılarak yapılmıştır. 1-Hasar yok (çok toleranslı), 2-Yaprakların %10 oranından daha azı hasar görmüş (toleranslı), 3-Yaprakların %11-20 oranında hasar (orta toleranslı), 4-Yaprakların %21-40 oranında hasar (orta derecede toleranslı), 5-Yaprakların %41-60 oranında hasar (orta derecede hassas), 6-Yaprakların %61-80 oranında hasar, bazı ölü bitkiler (orta derecede hassas), 7-Yaprakların %81-90 oranında hasar, birkaç ölü bitki (hassas), 8-Yaprakların %91-100 oranında hasar, çoğu bitki ölü (çok hassas), 9-Tüm bitkiler ölü (en hassas).

2.2 NaCl ve GA₃ uygulamalarının mercimekte biyoaktif ve enzimatik bileşenler üzerindeki etkisi

2.2.1 Bitki materyali ve deneme koşulları

Fenotipleme sonucunda tuz stresine en hassas olarak belirlenen “Meyveci 2001” mercimek çeşidi bitki materyali olarak kullanılmıştır. Deneme, üç tekrarlamalı olarak tesadüf parsellerinde faktöriyel deneme desenine göre yürütülmüş ve her tekrarlama üç saksı yer almıştır. Toplamda 108 saksı (3 NaCl dozu (kontrol, 75 mM ve 150 mM) x 4 GA₃ dozu (kontrol, 50 µM, 100 µM ve 200 µM) x 3 tekrarlama x her tekrarda 3 saksı) kullanılmıştır (Fotoğraf 2). Saksılarda

kullanılan toprak Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Alanı'ndan temin edilmiştir. Daha sonra toprak laboratuvar koşullarında kurutulmuş ve 2 mm'lik elekten geçirilmiştir. Toprak analizi yapılmış ve sonuçlar, toprak yapısının kil-tuzlu, pH'nın 7,37 ile nötral olduğunu, tuzlu olmadığını, hafif kalkerli (0,69%), organik madde içeriğinin düşük (0,83%), mevcut fosfor bakımından orta seviyede ve mevcut potasyum bakımından yüksek olduğunu göstermiştir. Daha sonra saksılarda kullanılacak toprak miktarı ve saksıların su tutma kapasitesi değerleri belirlenmiştir.



Fotoğraf 2. Saksıların hazırlanması ve bitkilerin çıkış sonrası görünümü.

2.2.2 Farklı dozlarda NaCl ve GA₃ uygulamaları

NaCl uygulamaları için kontrol (distile su), 75 mM NaCl ve 150 mM NaCl dozları hazırlanmıştır. Her saksıya beş tohum ekilmiş ve hazırlanan her doz saksıların su tutma kapasitesine kadar sulama yoluyla uygulanmıştır. Buharlaşmayı azaltmak amacıyla toprak yüzeyi ekimden sonra filtre kağıdı ile kaplanmıştır. Çıkıştan sonra seyreltme yapılmıştır. Bitkiler, 25 °C sıcaklık ve %70 nem altında, 16 saat ışık/8 saat karanlık döngüsünde büyütülmüştür. GA₃ dozları, Giannakoula vd. (2012)'ye göre toplamda iki kez olmak üzere 14 günlük aralıklarla düşük basınçlı el spreyi ile uygulanmıştır. İlk uygulama ekimden yedi hafta sonra bitkiler beş ile yedi yaprak geliştirdiğinde yapılmıştır. Her bitkiye toplamda 20 mL çözelti püskürtülmüştür. Kontrol bitkilerine ise distile su uygulanmıştır. Tam olarak gelişmiş on yaprağı olan bitkilerden örnekler alınmış ve hemen sıvı nitrojen içine aktarılmıştır. Örnekler, daha sonra gerçekleştirilecek analizler için -20 °C'de depolanmıştır.

2.2.3 Biyoaktif içerikler

2.2.3.1 Klorofil ekstraksiyonu

Klorofil a ve klorofil b analizleri için yaklaşık 0,1-0,5 g taze yaprak materyali 80% aseton ile ezilmiş ve süpernatantı elde etmek için santrifüj edilmiştir. Ölçüm öncesinde, ekstrakt 1:10 oranında seyreltilmiş (500 µL ekstrakt + 4500 µL 80% aseton) ve absorbans değeri 645 nm ve 663 nm'de spektrofotometre ile ölçülmüştür, 80% aseton blank olarak kullanılmıştır. Klorofil değerleri Lichtenthaler ve Wellburn (1983) yöntemine göre hesaplanmıştır.

2.2.3.2 Toplam karotenoid içeriği

Lichtenthaler (1987)'ye göre 200 mg taze bitki materyali, 10 mL %80 aseton ile ekstrakte edilmiştir. Ekstrat, 4600 rpm'de 15 dakika santrifüjlenmiş ve süpernatanın absorbans değerleri sırasıyla 663 nm, 645 nm ve 450 nm dalga boylarında ölçülmüştür. Bu absorbans değerleri sonraki hesaplamalar için kaydedilmiştir. Toplam karotenoid içeriği µg/g olarak belirlenmiştir.

2.2.3.3 Toplam fenolik içeriği

Fenoliklerin ekstraksiyonu için 1 g örnek, 5 mL metanol ile homojenize edilmiştir. Homojenat, 10.000 rpm'de 5 dakika süreyle santrifüjlenmiştir. Toplam fenolik, flavonoid ve antioksidan analizlerinde, santrifüj sonrası elde edilen süpernetant kısım kullanılmıştır. Toplam fenolik içerik, Waterhouse (2002) tarafından tanımlanan renkli spektrofotometrik yöntemle belirlenmiştir. Gallik asit standart olarak kullanılmış ve gallik asit çözeltisinin 0,1 mg/g arası yedi farklı konsantrasyonunda kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Analiz 50 µL süpernetant üzerine 1600 µL destile su, onun üzerine 50 µL Folin-Ciocalteu reaktörü karıştırılarak vortekslenmiştir. Üzerine %7'lik 300 µL sodyum karbonat eklenmiş ve karıştırılmıştır. Ardından, iki saat bekledikten sonra okumalar 760 nm'de spektrofotometre ile ölçülmüştür. Toplam fenolik içerik, gallik asit ile oluşturulan kalibrasyon eğrisine dayanarak mg GAE/g olarak ifade edilmiştir.

2.2.3.4 Toplam flavonoid içeriği

Toplam flavonoid içeriği, Feduraev vd. (2022) yönteminde bazı değişiklikler yapılarak belirlenmiştir. Bu amaçla, 100 µL bitki ekstraktı veya standart çözelti, 300 µL %5 sodyum nitrit çözeltisi ile karıştırılmış ve 5 dakika süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından, karışıma 300 µL %10 AlCl₃ çözeltisi eklenmiş ve reaksiyon karışımı 27 °C'de 6 dakika daha inkübe edilmiştir. Daha sonra, 2 mL 0,5 M NaOH eklenmiş ve hacim saf su ile 10 mL'ye tamamlanmıştır. Absorbans, spektrofotometre kullanılarak 430 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Kalibrasyon eğrisi oluşturmak için, 2 mM'den başlayarak seri şekilde seyreltilmiş kuersetin (QE) standartları kullanılmıştır. Sonuçlar mM cinsinden ifade edilmiştir.

2.2.3.5 Toplam çözünebilir protein

Toplam çözünebilir protein içeriği Bradford (1976) metoduna göre belirlenmiştir. Taze yaprak örnekleri sıvı nitrojenle ezilmiş ve tüplere yerleştirilmiştir, ardından 1.5 mL KH₂PO₄ tamponu (pH: 7) eklenmiştir. Numuneler, +4°C'de 14.000 rpm'de 20 dakika santrifüjlenmiştir. Elde edilen süpernetanttan 20 µL alınıp, 480 µL distile su ve 5000 µL Bradford reaktörü ile karıştırılmıştır. Karışım vortekslenmiş ve absorbans 595 nm'de spektrofotometre ile ölçülmüştür. Örneklerdeki toplam çözünebilir protein içeriği, %10'dan seri delisyondan seyreltilmiş bovin serum albümini ile hazırlanan standart eğri kullanılarak hesaplanmıştır.

2.2.3.6 Antioksidan kapasite analizleri

2.2.3.6.1 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) analizi

DPPH aktivitesi, Blois (1958) tarafından önerilen yöntem ile ölçülmüştür. 0,1 mL örnek, etanol ile 1:5 oranında seyreltilmiş ve 2,9 mL DPPH çözeltisi (0,1 mM) ile karıştırılmıştır. Absorbans, 15 dakika sonra 517 nm'de kaydedilmiştir. DPPH hesaplaması için 2 mM'dan askorbik asit seri sulandırılarak oluşturulan eğri yardımıyla mM cinsinden hesaplanmıştır.

2.2.3.6.2 Ferrik indirgeyici-antioksidan güç (FRAP) analizi

FRAP analizi, örneğin antioksidan kapasitesini değerlendirmek için yapılmıştır. FRAP reaktörü, 25 mL asetat tamponu (300 mM, pH 3,6), 2,5 mL 10 mM ferrik klorür ve 2,5 mL 1 mM 2,4,6-tripiridil-s-triazin (TPTZ) çözeltisi 40 mM hidroklorik asit içinde karıştırılarak taze hazırlanmış ve 37°C’de tutulmuştur. Örnek (100 µL), 3 mL FRAP reaktörü ile karıştırılmış ve 37°C’de 30 dakika inkübe edilmiştir. Absorbans, 593 nm’de spektrofotometre ile ölçülmüştür. FRAP değeri hesaplaması için 2 mM’den askorbik asit seri sulandırılarak oluşturulan eğri yardımıyla mM cinsinden hesaplanmıştır.

2.2.3.6.3 Bakır iyonu indirgeme antioksidan kapasite analizi (CUPRAC)

CUPRAC reaktörü, 1 mL 10 mM bakır(II) klorür, 1 mL 7,5 mM neokuproin ve 1 mL 1 M amonyum asetat tamponu (pH: 7) distile su içinde karıştırılarak hazırlanmıştır. Ardından 1 mL örnek (veya standart) eklenmiş ve karışım, oda sıcaklığında 1 saat inkübe edilmiştir. Inkübasyon sonrası, absorbans 450 nm’de spektrofotometre ile ölçülmüştür. CUPRAC değeri hesaplaması için 2 mM’den askorbik asit seri sulandırılarak oluşturulan eğri yardımıyla mM cinsinden hesaplanmıştır.

2.2.4 Enzim analizleri

2.2.4.1 Malondialdehit (MDA) analizi

1 g yaprak örneği, %0,6’lık tiobarbitürik asit çözeltisi içinde %10 triklorasetik asit ile 3 mL’de homojenize edilmiştir. Tüpler, 100°C’de 15 dakika süreyle su banyosunda inkübe edilmiştir. Inkübasyon sonrası örnekler hızla buzda soğutulmuştur. Soğutma işleminden sonra örnekler, 5000 rpm’de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernetantın absorbansı 450, 532 ve 600 nm’de ölçülmüştür. MDA konsantrasyonu aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\text{MDA } (\mu\text{mol/g FW}) = 6,45 \times (A_{532} - A_{600}) - (0,56 \times A_{450})$$

2.2.4.2 Hidrojen peroksit (H₂O₂) analizi

H₂O₂ içeriğinin belirlenmesinde örnekler, %0,1'lik triklorasetik asit içinde ekstrakte edilmiştir. 1 g triklorasetik asit, 1 L distile suda çözülerek hazırlanmıştır. Ekstraktan 0,5 mL alınmış ve 0,5 mL 100 mM potasyum fosfat tamponu ile karıştırılmış, üzerine 2 mL 0,1 M potasyum iyodür eklenmiştir. Potasyum fosfat tamponu, 1,36 g potasyum fosfatın distile suda çözülerek 100 mL son hacme getirilmesiyle hazırlanmış, potasyum iyodür çözeltisi ise 1,66 g potasyum iyodürün distile suda çözülmesiyle 100 mL son hacme getirilmiştir. Standart eğri için, 1 mM hidrojen peroksit stok çözeltisi, %35'lik sıvı hidrojen peroksit kullanılarak 10 µL'si 100 mL distile suya eklenerek hazırlanmıştır. 100 µM H₂O₂ çözeltisi hazırlamak için, 100 µL 1 mM stok çözeltisi 5 mL'lik bir test tüpüne alınmış ve üzerine 900 µL distile su eklenmiştir. Bu çözeltiden 500 µL alınarak sonraki tüpe eklenmiş, ardından her seferinde 500 µL distile su eklenerek 7-8 tüp için seri seyreltilmeler yapılmıştır. Reaksiyon karışımı, karanlık ortamda 1 saat inkübe edilmiştir ve absorbans 390 nm'de ölçülmüştür. Sonuçlar mM cinsinden ifade edilmiştir.

2.2.4.3 Antioksidan enzim analizleri

Antioksidan enzim analizleri için bitki ekstraktlarının hazırlanması aşağıdaki şekilde gerçekleştirilmiştir. 0,5 g donmuş yaprak örneği, 5 mL soğuk 0,1 M Na-fosfat, 0,5 mM Na-EDTA (pH: 7,5) ile homojenize edilmiştir. APX analizi için, tampon çözeltisine 0,035 g L-askorbik asit eklenmiştir. Homojenat, 4°C'de 30 dakika, 18.000 × g hızında santrifüj edilmiştir. Katalse (CAT) ve askorbat peroksidaz (APX) aktiviteleri hemen belirlenmiştir. Aynı prosedür, SOD aktivitesinin belirlenmesi için de kullanılmış ancak son santrifüj sonrası homojenat ekstraktlarının bir kısmı -20°C'de saklanmıştır.

2.2.4.3.1 Askorbat peroksidaz (APX) aktivite testi

Askorbik asit bağlı H₂O₂'nin indirgenmesi, APX aktivitesinin 290 nm'de ölçülmesinde kullanılmıştır. Reaksiyon çözeltisi, 50 mM fosfat tamponu (KH₂PO₄), 0,5 mM askorbik asit, 0,1 mM Na-EDTA ve 1,5 mM H₂O₂ (pH: 7,0) içermiştir. 2,8 mL reaksiyon çözeltisi ile 0,1 mL bitki ekstraktı karıştırılmıştır. Spektrofotometrede 0. ve 60. saniye okuma değerleri 290 nm dalga boyunda kaydedilmiştir. Reaksiyon, 0,1 mL enzim ekstraktı ile başlamış ve 1 dakika içindeki

absorbans değişimi reaksiyonun değerlendirilmesinde kullanılmıştır. APX değerleri Yılmaz vd. (2023)'e göre hesaplanmıştır.

2.2.4.3.2 Katalaz (CAT) aktivite testi

Katalaz aktivitesi, Yılmaz vd. (2023) tarafından tarif edilen yöntemle belirlenmiştir. Süpernatantlar, enzim analizleri için kullanılmıştır. Reaksiyon özeltisi, 0,05 M fosfat tamponu (KH₂PO₄) ve 1,5 mM H₂O₂ (pH: 7,0) içermektedir. 3 mL reaksiyon çözeltisi ve 40 µL bitki ekstraktı karıştırılmıştır. Reaksiyon, enzim ekstraktının eklenmesiyle başlatılmıştır. H₂O₂ absorbansındaki azalma, 1 dakika süreyle 240 nm'de spektrofotometrede kaydedilmiştir. CAT değerleri Yılmaz vd. (2023)'e göre hesaplanmıştır.

2.2.4.3.3 Süperoksit dismutaz (SOD) aktivite testi

SOD aktivitesi için reaksiyon karışımı, 13,33 mM metionin, 75 µM nitroblue tetrazolium (NBT), 0,1 mM EDTA, 50 mM fosfat tamponu (pH: 7,8), 50 mM sodyum karbonat ve 0,1 mL enzim ekstraktından oluşmuştur. Reaksiyonun başlatılması için, 0,1 mL 2 mM riboflavin eklenmiş ve tüpler 15 dakika süreyle ışığa maruz bırakılmıştır. Absorbans 560 nm'de ölçülmüştür. SOD aktivitesi aşağıdaki denklem ile hesaplanmıştır:

$$\text{SOD aktivitesi} = ((A_{\text{kontrol}} - A_{\text{rnek}}) / A_{\text{örnek}}) \times (\text{okunan çözeltinin hacmi}/\text{örnek hacmi}) \times \text{seyreltilme faktörü}$$

2.3. İstatistiksel analiz

Fenotipleme sonucu elde edilen verilerde varyans analizi (ANOVA) yapılmış ve verilerin ortalamaları %5 anlamlılık düzeyinde Tukey HSD testi ile karışılaştırılmıştır. Farklı NaCl ve GA₃ uygulamalarından elde edilen sonuçlar, GraphPad Prism programında grafik haline getirilmiştir. Ayrıca, zellikler arasındaki ilişkileri aydınlatmak için Temel Bileşen Analizi yapılmıştır.

3. BULGULAR

Mercimek bitkisinin tuz stresine toleransının ortaya konulması tuz stresine dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesinde önemli rol oynamaktadır. Bu çalışmada, Türkiye’de tescil edilmiş on iki mercimek çeşidi 150 mM tuz stresi altında fenotipik özellikler yönünden test edilmiştir. Çalışmada, fizyolojik özellikler, yaprak renk parametreleri, nisbi elektrolit sızıntı testi ve tuz stresindeki mercimek çeşitlerinin görsel değerlendirilmesi gerçekleştirilmiştir. Fizyolojik özellikler (kök uzunluğu, kök yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığı, sürgün uzunluğu, sürgün yaş ağırlığı ve sürgün kuru ağırlığı), tuz stresi ve kontrol koşullarındaki mercimek çeşitlerinde belirlenmiştir (Tablo 2). NaCl (150 mM) etkisinin farklı mercimek çeşitlerindeki kök uzunluğuna üzerine etkisi incelenmiş ve ANOVA sonuçları, dozlar ($F_{Doz} = 597,54$, $p < 0,01$), çeşitler ($F_{Çeşit} = 78,37$, $p < 0,01$) ve doz x çeşit interaksyonu ($F_{Doz \times Çeşit} = 6,98$, $p < 0,01$) arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur. Altıntoprak çeşidinin kontrol koşullarında en fazla kök uzunluğuna sahip olduğunu (8,87 cm), bunu sırasıyla Şeker (8,11 cm) ve Kayı91 (7,63 cm) çeşitlerinin takip ettiği belirlenmiştir. Tuz stresi altında, tüm çeşitlerin kök uzunluğunda farklı seviyelerde azalma meydana gelmiştir. Altıntoprak çeşidi, tuz stresi altında 7,98 cm ile en uzun kök uzunluğuna sahip olmuş, bu çeşidi Şeker (7,02 cm), Kayı91 (6,77 cm) çeşitleri takip etmiştir. Diğer taraftan, Meyveci 2001 (4,00 cm), Yusufhan (4,64 cm), Çağıl (4,85 cm) ve Gümrah (4,78 cm) çeşitlerinin kök uzunluğunun tuz stresinden önemli düzeyde etkilendiği belirlenmiştir. Tuz stresi altında mercimek çeşitlerinin kök yaş ağırlığı üzerine, dozlar ($F_{Doz} = 1410,48$, $p < 0,01$), çeşitler ($F_{Çeşit} = 34,47$, $p < 0,01$) ve doz x çeşit interaksyonu ($F_{Doz \times Çeşit} = 10,79$, $p < 0,01$) arasında anlamlı varyasyonlar olduğu tespit edilmiştir. Altıntoprak çeşidi, kontrol koşullarda 736,95 mg ile en fazla kök yaş ağırlığına sahipken, bu değer tuz stresi altında 491,82 mg'a düştüğü belirlenmiştir. Tuz stresi altında mercimek çeşitlerinin kök yaş ağırlığında genel bir azalma gözlemlenmiş, ortalama değer kontrol grubunda 577,41 mg iken tuz stresi altında 306,65 mg olmuştur. Tuz stresi altında, Meyveci 2001 ve Gümrah çeşitlerinin sırasıyla 221,87 mg ve 231,05 mg ile en düşük kök yaş ağırlığına sahip olduğu ve tuz stresinden önemli düzeyde etkilendiği tespit edilmiştir. Diğer taraftan, tuz stresi altında kök kuru ağırlığı için çeşitler arasında dozlar ($F_{Doz} = 3730,72$, $p < 0,01$), çeşitler ($F_{Çeşit} = 30,77$, $p < 0,01$) ve doz x çeşit interaksyonu ($F_{Doz \times Çeşit} = 4,70$, $p < 0,01$) arasında istatistiki anlamlı farklılıklar

bulunmuştur. Kontrol koşullarında en fazla kök kuru ağırlıklarına sırasıyla Altıntoprak (93,65 mg), Şeker (87,68 mg) ve Kayı91 (84,39 mg) çeşitleri sahip olmuştur. Tuz stresi altında en düşük kök kuru ağırlığı değerleri ise Meyveci 2001 (28,38 mg), Ankara Yeşili (30,95 mg) ve Gümrah (32,59 mg) çeşitlerinden elde edilmiştir. Mercimek çeşitlerinde sürgün uzunluğu özelliği bakımından dozlar ($F_{Doz} = 211,19^{**}$), çeşitler ($F_{Çeşit} = 9,04^{**}$) ve doz x çeşit interaksyonu ($F_{Doz \times Çeşit} = 4,65^{**}$) arasında önemli düzeyde istatistiki farklılıklar olduğu belirlenmiştir. Kontrol ve tuz koşullarında en uzun sürgün uzunluğu Şeker çeşidinden elde edilmiş ve sırasıyla 20,42 cm ve 16,91 cm olarak ölçülmüştür. Mercimek çeşitlerinin sürgün uzunlukları tuz stresi altında azalmıştır. Tuz stresinde çeşitler arasında Meyveci 2001, 10,75 cm ile en düşük sürgün uzunluğuna sahip olmuştur. Tuz stresi, mercimek çeşitlerinin sürgün yaş ağırlığı üzerine önemli düzeyde etki etmiştir. Şeker çeşidi kontrol koşulunda, 2908,79 mg ile en fazla sürgün yaş ağırlığına sahipken, bunu Altıntoprak ve Karagül çeşitleri takip etmiştir. En az sürgün yaş ağırlık değeri ise tuz stresi altında ise 1190,55 mg ile Çağır çeşidinden elde edilmiştir. Mercimek çeşitlerinde sürgün kuru ağırlığı üzerine dozlar ($F_{Doz} = 223,24^{**}$), çeşitler ($F_{Çeşit} = 3,80^{**}$) ve doz x çeşit interaksyonu ($F_{Doz \times Çeşit} = 2,59^{*}$) bakımından önemli düzeyde istatistiki farklılıklar belirlenmiştir. Kayı91, 94,30 mg ile en fazla sürgün kuru ağırlığına sahipken, bunu Altıntoprak (82,97 mg) ve Şeker (73,61 mg) takip etmiştir. Tüm mercimek çeşitlerinde sürgün kuru ağırlığı tuz stresi uygulamasında azalmıştır. Genel olarak, sonuçlar tuz stresinin mercimek çeşitlerinde kök ve sürgün büyümesini önemli ölçüde azalttığını ortaya koymuştur. Altıntoprak ve Şeker çeşitleri diğer mercimek çeşitlerine göre tuz stresine daha iyi tolerans gösterirken, fizyolojik parametreler doğrultusunda Meyveci 2001 çeşidinin 150 mM tuz stresine oldukça hassas olduğu belirlenmiştir.

Tablo 2. Tuz stresi ve kontrol koşullarındaki mercimek çeşitlerinin fizyolojik özellikleri.

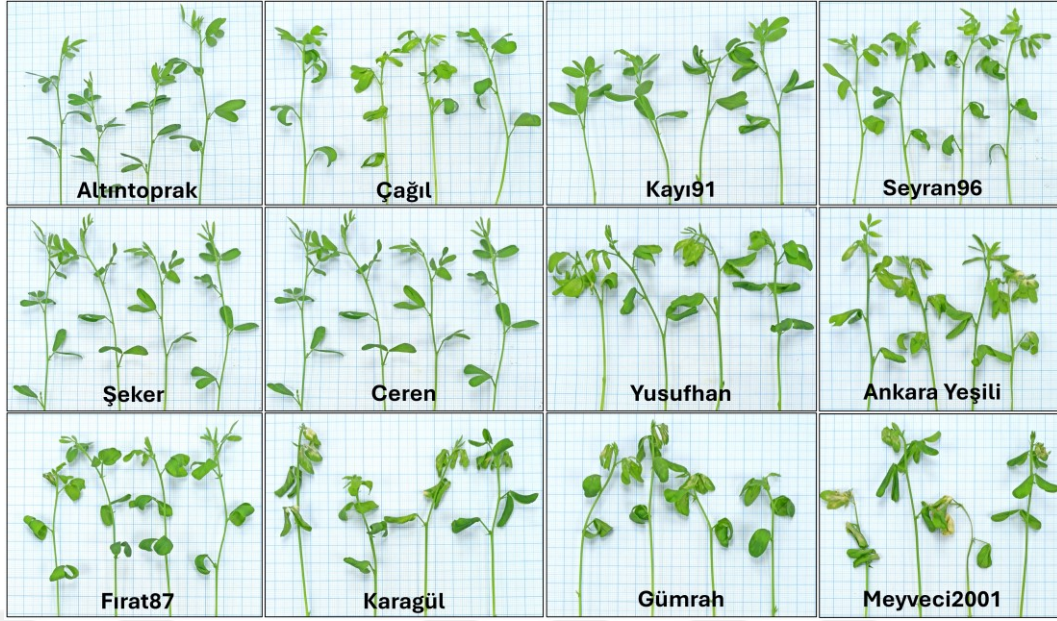
Çeşitler	Kök Uzunluğu (cm)		Kök Yaş Ağırlığı (mg/bitki)	
	Dozlar		Dozlar	
	Kontrol	NaCl 150mM	Kontrol	NaCl 150mM
Altıntoprak	8,87a	7,98b	736,95a	491,82de
Şeker	8,11ab	7,02cd	580,49bcd	421,03ef
Kayı91	7,63bc	6,77d	565,25cd	345,35fg
Gümrah	7,34bcd	4,78ghı	605,11bc	231,05ij
Ankara Yeşili	6,83cd	5,10fgh	449,46e	235,47hij
Seyran96	6,74d	5,40fg	675,45ab	272,00g-j
Yusufhan	5,76ef	4,64ghı	639,68bc	233,72ij
Fırat87	6,49de	5,17fgh	604,23bc	330,65fgh
Çağıl	6,50de	4,85ghı	570,59cd	323,93ghı
Meyveci 2001	6,58de	4,00ı	487,20de	221,87j
Karagül	6,59de	4,53hı	557,15cd	297,50g-j
Ceren	6,66d	5,06fgh	457,32e	275,46g-j
Ortalama (Doz)	7,01A	5,44B	577,41A	306,65B
F Doz	597,54**		1410,48**	
F Çeşit	78,37**		34,47**	
F Doz x Çeşit	6,98**		10,79**	
Çeşitler	Kök Kuru Ağırlığı (mg/bitki)		Sürgün Uzunluğu (cm)	
	Dozlar		Dozlar	
	Kontrol	NaCl 150mM	Kontrol	NaCl 150mM
Altıntoprak	93,65a	43,13fg	15,75c-h	15,38d-ı
Şeker	87,68ab	48,57ef	20,42a	16,91b-f
Kayı91	84,39bc	53,34e	15,49d-h	13,18g-j
Gümrah	75,52cd	32,59hı	19,33ab	13,95e-j
Ankara Yeşili	78,01cd	30,95hı	17,51a-d	12,95g-j
Seyran96	77,88cd	37,61gh	15,64c-h	12,48hij
Yusufhan	76,87cd	36,41ghı	17,22a-e	12,63hij
Fırat87	77,36cd	34,04hı	16,22b-g	14,78d-ı
Çağıl	76,35cd	32,95hı	16,22b-g	12,08ij
Meyveci 2001	70,34d	28,38ı	17,86a-d	10,75j
Karagül	73,12d	37,11ghı	18,87 abc	13,65f-j
Ceren	74,87d	37,13ghı	16,25b-g	14,04e-j
Ortalama (Doz)	78,84A	37,68B	17,23A	13,56B
F Doz	3730,72**		211,19**	
F Çeşit	30,77**		9,04**	
F Doz x Çeşit	4,70**		4,65**	
Çeşitler	Sürgün Yaş Ağırlığı (mg/bitki)		Sürgün Kuru Ağırlığı (mg/bitki)	
	Dozlar		Dozlar	
	Kontrol	NaCl 150mM	Kontrol	NaCl 150mM
Altıntoprak	2675,54ab	1317,09hı	82,97ab	35,44fg
Şeker	2908,79a	1550,66f-ı	73,61abc	42,87c-g
Kayı91	2275,29a-f	1609,01e-ı	94,30a	28,87g
Gümrah	2533,94abc	1477,24ghı	70,28a-d	38,39efg
Ankara Yeşili	2350,53a-e	15,188,61ı	53,68b-g	33,19fg
Seyran96	2442,01a-d	1642,19e-ı	61,89b-f	39,59d-g
Yusufhan	2333,96a-e	1367,32ghı	62,02b-f	31,17fg
Fırat87	2533,88abc	1733,74d-ı	68,68a-e	29,35g
Çağıl	1850,57c-ı	1190,55ı	47,99c-g	23,92g
Meyveci 2001	2550,60abc	1335,55hı	53,75b-g	25,77g
Karagül	2600,31abc	1500,55ghı	72,07abc	27,26g
Ceren	2050,49b-h	1368,64ghı	62,06b-f	33,67fg
Ortalama (Doz)	2425,49A	1518,86B	66,94A	32,46B
F Doz	247,78**		223,24**	
F Çeşit	4,27**		3,80**	
F Doz x Çeşit	2,82**		2,59*	

Tuz stresi ve kontrol koşullarında mercimek çeşitlerinin yaprak renk parametreleri ve nisbi elektrolit sızıntı testi sonuçları Tablo 3'te verilmiştir. L değeri, kontrol grubunda tuz stresi grubuna göre anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuş ($F_{Doz} = 379,77^{**}$), ayrıca çeşitler arasında anlamlı farklılıkların olduğu belirlenmiştir ($F_{Çeşit} = 2,32^{*}$; $F_{Doz \times Çeşit} = 3,64^{**}$). Tuz stresinde mercimek çeşitlerinin a değerleri genel olarak azalmış ($F_{Doz} = 41,64^{**}$), varyans analizinde doz x çeşit etkileşimi istatistiki düzeyde anlamlı bulunmuştur ($F_{Doz \times Çeşit} = 2,99^{**}$). Tuz stresinde mercimek çeşitlerinin b değerleri arasında anlamlı bir artış belirlenmiştir ($F_{Doz} = 367,39^{**}$; $F_{Çeşit} = 7,60^{**}$; $F_{Doz \times Çeşit} = 8,28^{**}$). Öte yandan, chroma değeri tuz stresi altında azalmış, dozlar ve çeşitler arasında anlamlı varyasyonlar gözlemlenmiştir ($F_{Doz} = 154,77^{**}$; $F_{Çeşit} = 5,54^{**}$; $F_{Doz \times Çeşit} = 6,21^{**}$). Tuz stresinde mercimek çeşitlerinin Hue değerleri anlamlı şekilde farklılık göstermiştir ($F_{Doz} = 87,37^{**}$; $F_{Doz \times Çeşit} = 2,55^{**}$). Nisbi elektrolit sızıntı testi sonuçları ile ilgili varyans analizi sonucunda, kontrol grubuna kıyasla tuz stresinde anlamlı şekilde çeşitler arasında artış olduğu tespit edilmiştir ($F_{Çeşit} = 11,03^{**}$; $F_{Doz} = 665,77^{**}$; $F_{Doz \times Çeşit} = 4,13^{**}$). Genel olarak varyans analizi sonucunda mercimek çeşitlerine uygulanan tuz stresi incelenen parametrelerde anlamlı değişikliklere yol açmıştır.

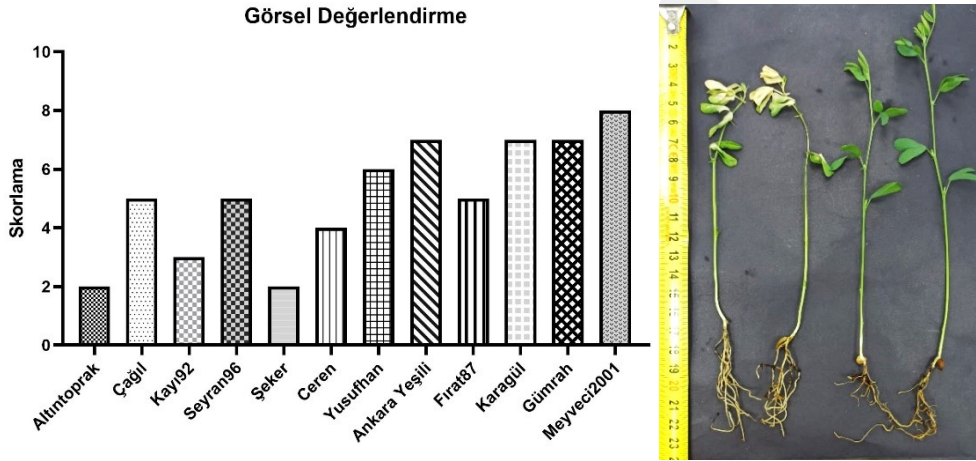
Tuz stresinin ardından mercimek çeşitlerinin görsel değerlendirme sonuçları Şekil 1'de verilmiştir. Bulgular, 150 mM tuz stresinin mercimek çeşitleri üzerinde farklı etkiler gösterdiğini ortaya koymuştur. Görsel değerlendirme sonuçlarına göre, Altıntoprak ve Şeker çeşitlerinin tuz stresine daha iyi tolerans gösterdiği, Meyveci 2001, Gümrah, Karagül ve Ankara Yeşili çeşitlerinin ise tuz stresine karşı daha hassas oldukları belirlenmiştir (Fotoğraf 3).

Tablo 3. Tuz stresi ve kontrol koşullarındaki mercimek çeşitlerinin renk parametreleri ve nisbi elektrolit sızıntı testi sonuçları.

Çeşitler	L Değeri		a Değeri	
	Dozlar		Dozlar	
	Kontrol	NaCl 150mM	Kontrol	NaCl 150mM
Altıntoprak	27,11bcd	23,20de	-8,11ab	-3,64ab
Şeker	34,15ab	19,42e	-4,85ab	-4,75ab
Kayı91	31,19abc	24,69cde	-5,54ab	-10,86ab
Gümrah	32,36ab	23,78de	-4,54ab	-10,94ab
Ankara Yeşili	37,21a	21,95de	-2,74a	-10,06ab
Seyran96	34,40a	19,98e	-2,61a	-7,33ab
Yusufhan	32,17ab	20,66de	-6,48ab	-5,54ab
Fırat87	37,38	22,55de	-4,29ab	-8,74ab
Çağıl	31,60abc	21,42de	-4,38ab	-11,92b
Meyveci 2001	34,16a	23,21de	-3,53ab	-11,22b
Karagül	33,93ab	24,57cde	-3,97ab	-9,89ab
Ceren	31,32abc	23,05de	-3,62ab	-10,74ab
Ortalama(Doz)	33,08A	22,37B	-4,55A	-8,80B
F Doz	379,77**		41,64**	
F Çeşit	2,32*		0,99 ^{na}	
F Doz x Çeşit	3,64**		2,99**	
Çeşitler	b Değeri		Chroma Değeri	
	Dozlar		Dozlar	
	Kontrol	NaCl 150mM	Kontrol	NaCl 150mM
Altıntoprak	17,73gh	17,56gh	19,44h-k	20,41g-j
Şeker	12,66i	24,48a-d	25,06a-e	14,39i
Kayı91	20,11d-g	22,60b-f	23,95c-f	22,93efg
Gümrah	19,37e-h	25,57abc	26,13a-d	22,33e-h
Ankara Yeşili	16,96ghi	26,52ab	26,84abc	19,72hij
Seyran96	15,12hi	27,27a	27,42ab	16,64kl
Yusufhan	17,03ghi	25,17abc	26,24a-d	18,78jk
Fırat87	17,02ghi	24,42a-d	25,10a-e	19,21ijk
Çağıl	16,62ghi	24,60a-d	25,22a-e	17,91jk
Meyveci 2001	21,00c-g	25,83ab	27,93a	23,95c-f
Karagül	19,64e-h	27,46a	27,93a	22,04f-i
Ceren	19,21fgh	23,84a-e	24,74b-f	22,13fgh
Ortalama(Doz)	17,70B	24,61A	25,34A	20,04B
F Doz	367,39**		154,77**	
F Çeşit	7,60**		5,54**	
F Doz x Çeşit	8,28**		6,21**	
Çeşitler	Hue Değeri		Nisbi Elektrolit Sızıntı Testi (%)	
	Dozlar		Dozlar	
	Kontrol	NaCl 150mM	Kontrol	NaCl 150mM
Altıntoprak	109,46a-f	114,44a-f	27,07hij	49,34c-f
Şeker	111,10a-f	100,86b-f	22,41ij	40,26e-h
Kayı91	117,94a-d	106,58a-f	23,92ij	59,81bcd
Gümrah	119,12abc	100,23b-f	25,45hij	67,12ab
Ankara Yeşili	120,46ab	94,87ef	24,50ij	55,21b-e
Seyran96	115,95a-e	93,13f	25,54hij	48,24c-f
Yusufhan	112,23a-f	105,03b-f	25,24hij	45,12d-g
Fırat87	114,98a-e	99,74b-f	23,04ij	56,90bcd
Çağıl	112,33a-f	100,02b-f	19,40j	54,34b-e
Meyveci 2001	117,82a-d	97,54def	35,33f-i	78,32a
Karagül	127,62a	98,04c-f	32,20g-j	61,30bc
Ceren	118,53a-d	99,18b-f	22,38ij	52,05b-e
Ortalama(Doz)	116,46A	100,80B	25,54B	55,66A
F Doz	87,37**		665,77**	
F Çeşit	0,82 ^{na}		11,03**	
F Doz x Çeşit	2,55**		4,13**	



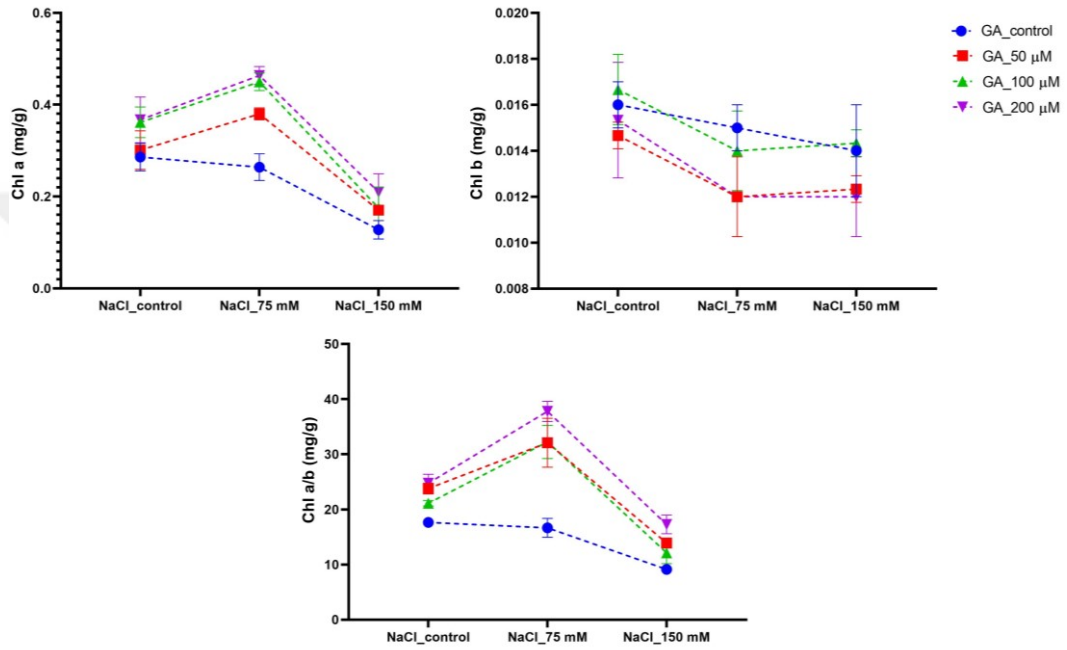
Fotoğraf 3. Mercimek çeşitlerinin tuz stresi karşı fenotipik değerlendirmesi.



Şekil 1. Mercimek çeşitlerinin tuz stresi karşı görsel değerlendirmesi, tuz stresine hassas (Meyveci 2001-sol) ve tuz stresine toleranslı (Altıntoprak-sağ) mercimek çeşitleri.

Mercimek çeşitlerinin tuz stresi altındaki fenotipik değerlendirme sonuçlarına göre, Meyveci 2001 çeşidi tuz stresine karşı çeşitler arasında en hassas olarak tanımlanmış ve farklı tuz stresi seviyeleri altında GA_3 dozlarının etkilerini araştırmak için bitki materyali olarak kullanılmıştır. Farklı NaCl ve GA_3 konsantrasyonlarında örneklerin fotosentetik pigment analiz sonuçları Şekil 2'de verilmiştir. GA_3 uygulanan bitkiler, NaCl kontrol gruplarında benzer Chl a seviyelerine sahipken, GA_3 uygulanmayan grup en düşük seviyeyi göstermiştir. 200

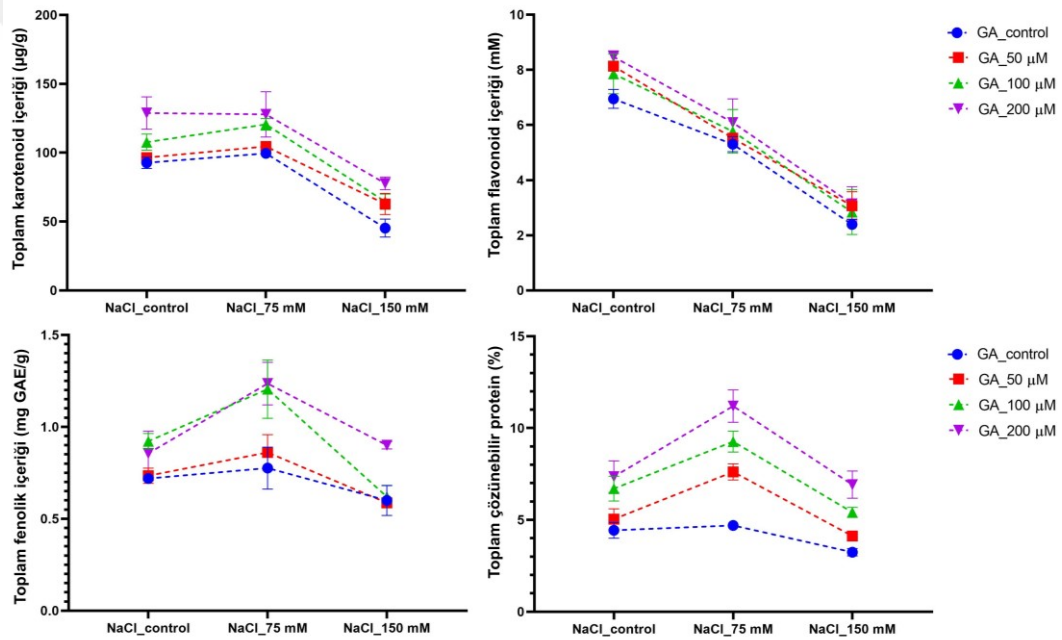
μM GA₃, Chl a seviyesini artırarak tuz stresine karşı koruyucu bir etki göstermiştir. Chl a seviyesi, genel olarak 150 mM NaCl stresinde azalmıştır. GA₃ uygulanan gruplarda, 75 mM ve 150 mM NaCl stresinde Chl b seviyesi azalmıştır. Chl a/b oranı, GA₃ uygulanan gruplarda kontrole göre 75 mM ve 150 mM NaCl stresinde artmıştır. Ancak, genel olarak Chl a/b oranı 150 mM NaCl uygulamasında tüm gruplarda azalış göstermiştir. 200 μM GA₃ uygulaması, 150 mM NaCl'de daha yüksek klorofil içeriği sağlamada olumlu etki yapmıştır.



Şekil 2. Meyveci 2001 çeşidinde farklı NaCl ve GA₃ uygulamalarındaki fotosentetik pigment analiz (chl a, chl b ve chl a/b) sonuçları

Meyveci 2001 çeşidinde farklı NaCl ve GA₃ konsantrasyonlarındaki toplam karotenoid içeriği, toplam flavonoid içeriği, toplam fenolik içeriği ve toplam çözünebilir protein içeriği Şekil 3'te sunulmuştur. GA₃ uygulanmayan grup en düşük toplam karotenoid içeriğine sahipken GA₃ uygulamaları (100 ve 200 μM) tuz stresinde toplam karotenoid içeriğinin artmasına katkıda bulunmuştur. Genel olarak 150 mM NaCl stresinde tüm gruplarda toplam karotenoid içeriğinde azalış olduğu gözlemlenmiştir. Ancak GA₃ uygulamaları, kontrol grubuna kıyasla daha yüksek seviyeler korumuş ve pozitif bir etki göstermiştir. En düşük toplam flavonoid içeriği kontrol, 75 mM ve 150 mM NaCl stresinde GA₃ uygulanmayan bitkilerden elde edilmiştir. GA₃ uygulanan gruplarda bu özelliğin seviyesi biraz artmış, 200 μM GA₃ uygulaması toplam flavonoid içeriği seviyesini diğerlerinden

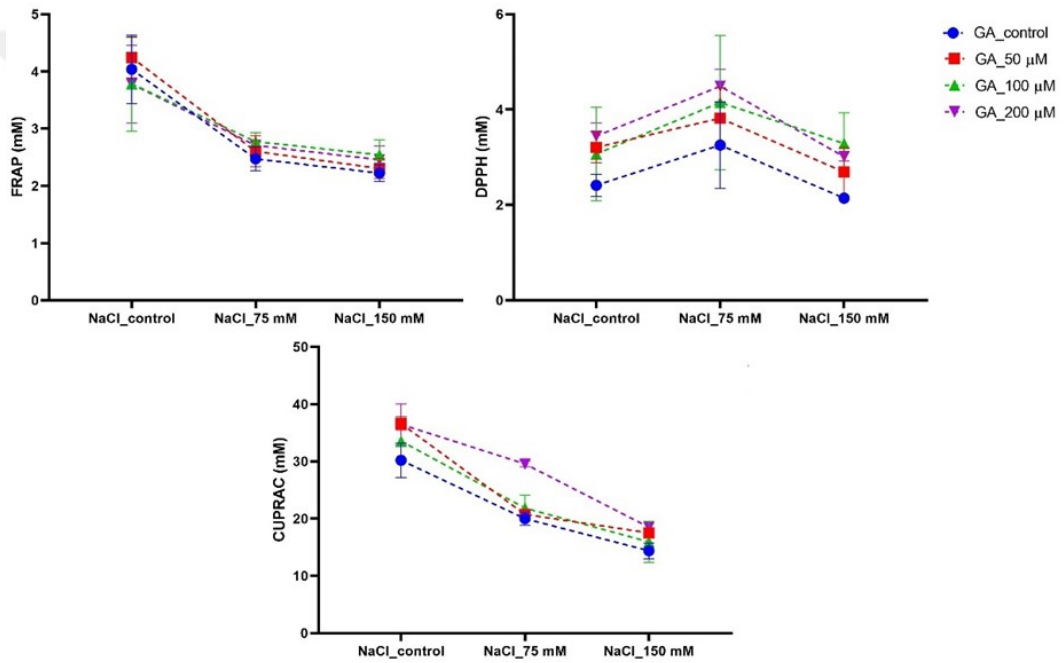
daha fazla artırmıştır. Ancak, toplam flavonoid içeriği genel olarak tuz stresi uygulamasının dozundaki artışa bağlı olarak azalmıştır. Toplam fenolik içeriği 75 mM NaCl'de 100 ve 200 μ M GA₃ uygulamaları ile önemli ölçüde artmıştır. 200 μ M GA₃, 150 mM NaCl stresinde toplam fenolik içeriği artırmıştır. GA₃ uygulamaları 75 mM NaCl stresinde toplam çözünbilir protein içeriğini önemli ölçüde artırmıştır. Ancak, toplam çözünbilir protein içeriği seviyeleri 150 mM NaCl'de GA₃ uygulamalarında kontrole göre artsa da genel olarak azalış göstermiştir. Genel olarak, tuz stresi (150 mM NaCl), toplam karotenoid içeriği, toplam flavonoid içeriği, toplam fenolik içeriği ve toplam çözünbilir protein seviyelerini azaltmıştır. Ancak GA₃ uygulamalarının, özellikle 200 μ M GA₃'ün tuz stresinde antioksidan aktivite ve protein metabolizmasını korumada faydalı rol oynadığı belirlenmiştir.



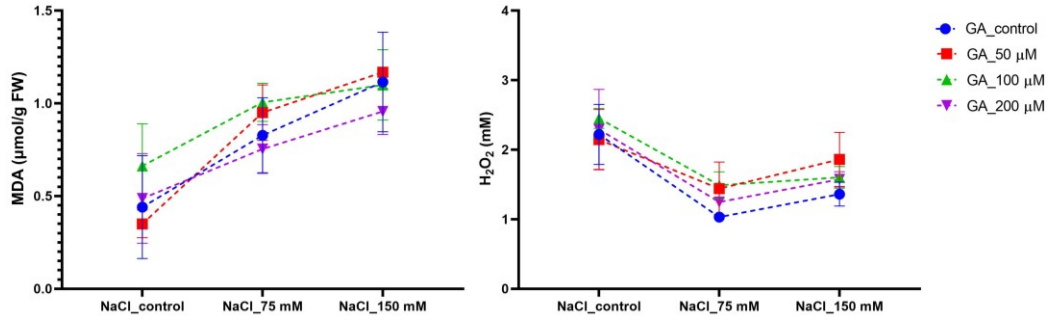
Şekil 3. Meyveci 2001 çeşidinde farklı NaCl ve GA₃ uygulamalarındaki biyokimyasal analizler (toplam karotenoid içeriği, toplam flavonoid içeriği, toplam fenolik içeriği ve toplam çözünbilir protein).

Çalışmada FRAP değerleri, artan tuz stresi nedeniyle hem GA₃ uygulanmış hem de uygulanmamış tüm gruplarda kademeli olarak azalmıştır (Şekil 4). Ancak, GA₃ uygulanan gruplarda hafif bir artış gözlenmiştir. GA₃ uygulamaları, kontrol, 75 mM NaCl ve 150 mM NaCl stres koşullarında DPPH değerlerini olumlu yönde etkilemiş ve artırmıştır. En yüksek DPPH değeri, 200 μ M GA₃ uygulaması ve 75 mM NaCl stresi altında elde edilmiştir. CUPRAC değeri, 75 mM ve 150 mM NaCl

stresinde, kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde azalmıştır. GA₃ uygulamaları, özellikle 200 µM GA₃, antioksidan kapasitedeki düşüşü hafifletmiştir. MDA seviyeleri, NaCl uygulanan tüm gruplarda artış göstermiştir (Şekil 5). En yüksek MDA seviyesi 150 mM NaCl uygulamasında tespit edilmiştir. Çalışmada, tuz stresi arttıkça MDA seviyelerinde de artış olduğu görülmektedir. Diğer taraftan, en yüksek H₂O₂ seviyeleri kontrol koşullarında belirlenmiş, bu seviyeler 75 mM NaCl'de azalmış ancak 150 mM NaCl uygulamasında tekrar artmıştır. Tuz stresi altında GA₃ uygulamaları, H₂O₂ seviyelerini artırmıştır. Bu değişimlerin farklı tuz stres seviyelerinin neden olduğu oksidatif stres üzerindeki etkilerden kaynaklandığını düşünülmektedir.

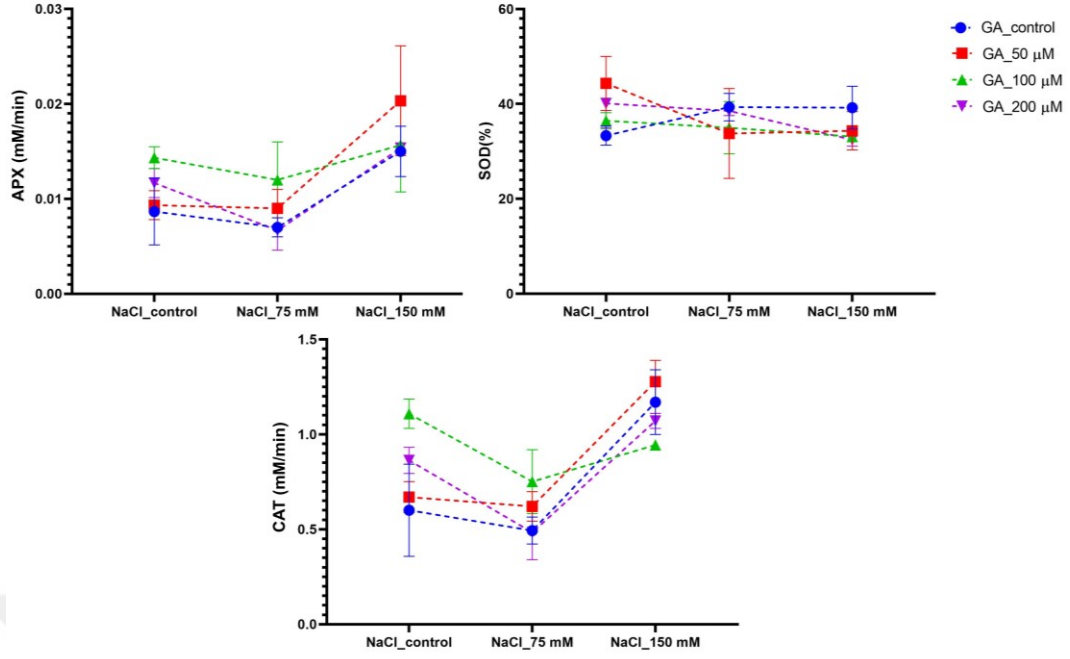


Şekil 4. Meyveci 2001 çeşidinde farklı NaCl ve GA₃ uygulamalarındaki antioksidan aktivite analizleri (FRAP, DPPH ve CUPRAC testleri).



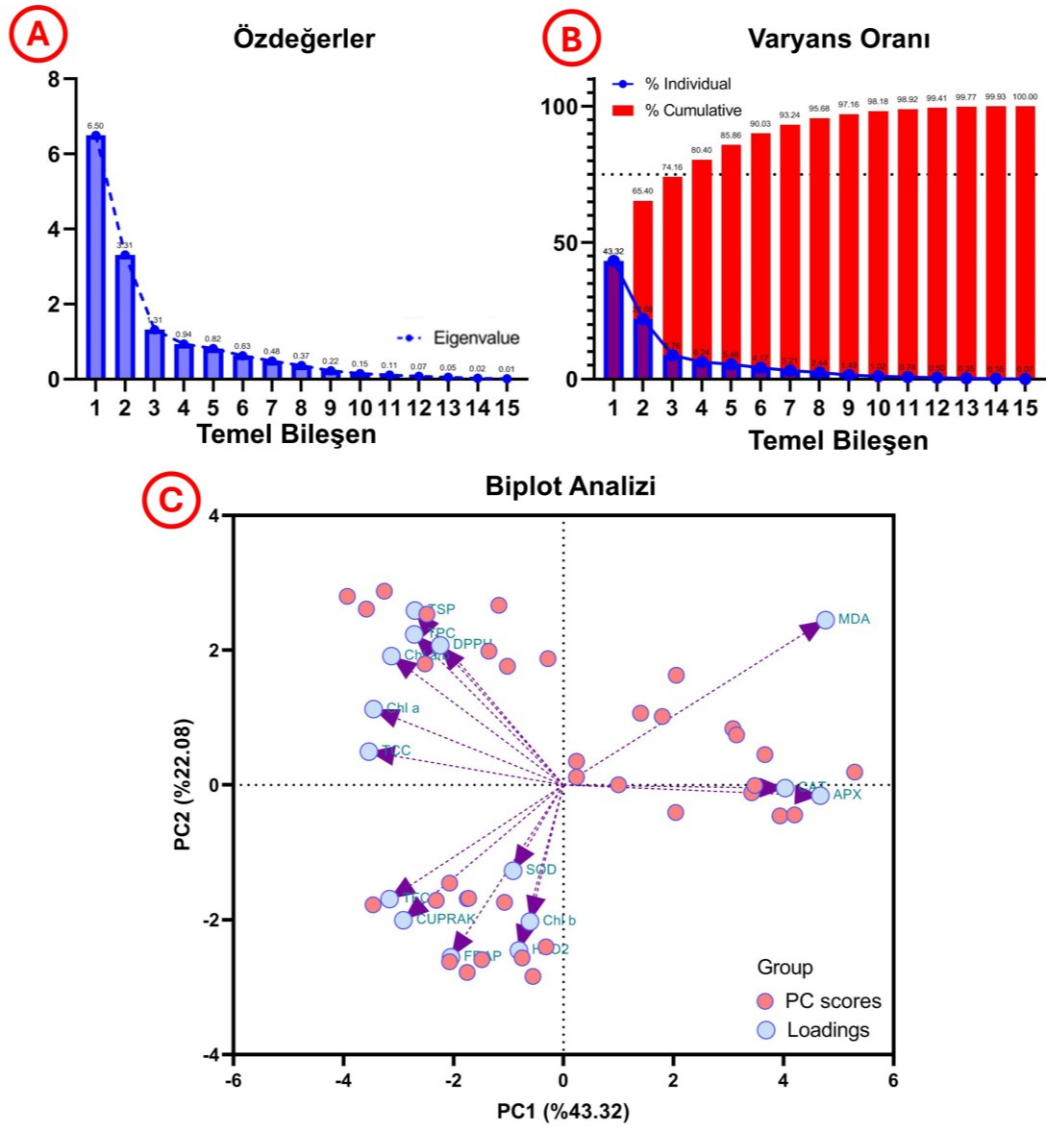
Şekil 5. Meyveci 2001 çeşidinde farklı NaCl ve GA₃ uygulamalarındaki enzim analiz (MDA ve H₂O₂) sonuçları.

Antioksidan enzim aktiviteleri, tuz stresi altında uygulanan farklı dozlardaki GA₃ uygulamalarında önemli farklılıklar göstermiştir (Şekil 6). APX aktivitesi 75 mM NaCl stresinde en yüksek 100 μM GA₃ uygulamasından elde edilirken, 150 mM NaCl stresinde ise en yüksek APX 50 μM GA₃ uygulamasından elde edilmiştir. APX aktivitesi, 150 mM NaCl stresinde belirgin şekilde artış göstermiştir. NaCl ve GA₃ uygulamalarının SOD aktivitesinde önemli fark oluşturmadığı gözlemlenmiştir. Katalaz aktivitesi, NaCl stresine farklı tepkiler vermiştir. 75 mM NaCl stresinde GA₃ uygulamaları da dahil olmak üzere katalaz aktivitesinde hafif azalma görülürken, 150 mM NaCl stresinde belirgin artış görülmüştür. 50 μM GA₃ uygulaması CAT aktivitesini olumlu yönde etkilerken, daha yüksek konsantrasyonlar (100 μM ve 200 μM) 150 mM NaCl stresinde daha düşük artışlara neden olmuştur. Bulgular, tuz stresinin antioksidan enzim aktiviteleri üzerindeki farklı etkileri olduğunu göstermiş ve GA₃'ün bu yanıtları modüle etmedeki potansiyel rolünü ortaya çıkarmıştır.



Şekil 6. Meyveci 2001 çeşidinde farklı NaCl ve GA₃ uygulamalarındaki antioksidan enzim analiz (APX, SOD ve CAT) sonuçları.

Temel Bileşenler Analizi (PCA) sonuçları, incelenen değişkenler arasındaki ilişkileri ve verilerdeki ana varyasyon kaynaklarını ortaya koymuştur. Birinci temel bileşen (PC1) toplam varyansın %43,32'sini açıklarken, ikinci temel bileşen (PC2) toplam varyansın %22,08'ini açıklamıştır (Şekil 7). Bu iki bileşen, toplam varyansın %65,40'ını temsil etmiştir. İlk dört bileşen, toplam varyansın %74,3'ünü açıklamıştır. Özdeğer grafiği, ilk birkaç bileşenin yüksek özdeğerlere sahip olduğunu göstermiştir. Biplot analizi, değişkenler arasındaki ilişkileri ortaya koymuştur. MDA, APX ve CAT özellikleri, PC1 üzerinde yüksek oranda pozitif etki ederken diğer antioksidan enzim aktiviteleri ve fotosentetik pigment özellikleri farklı yönlerde dağılım göstermiştir. Ayrıca, CUPRAC, DPPH ve toplam fenolik bileşikler gibi değişkenler, PC2 üzerinde daha belirgin bir dağılım sergilemiştir.



Şekil 7. Meyveci 2001 çeşidinde farklı NaCl ve GA₃ uygulamalarında incelenen özelliklerin temel bileşenler analizi.

4. TARTIŞMA

Bitkiler tuz stresinin zararlı etkileriyle baş edebilmek için farklı mekanizmalar geliştirmişlerdir. Tuza toleranslı mercimek bitkilerinin geliştirilmesi, tuzlu topraklarda verimi artırmak için temel bir stratejiler arasında yer almaktadır. Tuzluluk toleransı, bitkilerde farklı son derece karmaşık bir problemdir. Bu da tuz stresine dayanıklı çeşitler geliştirmek için yapılan ıslah çalışmalarını zorlaştırmaktadır. Modern tuza toleranslı çeşitler geliştirmek için ilk adım, tuzluluğa dayanıklı/toleranslı genotiplerin tanımlanmasıdır. Genetik kaynakların tuzluluk stresine karşı değerlendirmesi genellikle kontrollü koşullarda gerçekleştirilmektedir. Bu çalışmada, Türkiye’de tescil edilmiş on iki mercimek çeşidi, 150 mM tuz stresine karşı fenotipik olarak test edilmiştir. Kontrol ve tuz stres koşullarındaki çeşitlerin ortalama kök uzunluğu, kök yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığı, sürgün uzunluğu, sürgün yaş ağırlığı ve sürgün kuru ağırlığı sırasıyla 7,01 cm'den 5,44 cm'ye, 577,41 mg'dan 306,65 mg'a, 78,84 mg'dan 37,68 mg'a, 17,23 cm'den 13,56 cm'ye, 2425,49 mg'dan 1518,86 mg'a ve 66,94 mg'dan 32,46 mg'a düşmüştür. Tuzluluk, mercimek bitkilerinin büyümesini olumsuz yönde etkilemiştir. Sonuçlarımıza paralel olarak, Uzun Kayıs ve Ceyhan (2015), 120 mM NaCl konsantrasyonları altında mercimek çeşitlerinin sürgün uzunluğu, kök uzunluğu, kök yaş ağırlığı, sürgün kuru ağırlığı ve sürgün yaş ağırlığının kontrol ile karşılaştırıldığında azaldığını belirtmiştir. Benzer şekilde, Bandoğlu vd. (2004), mercimeğin yaprak ve kök dokularında 100 mM ve 200 mM NaCl uygulamalarının yaş ağırlık ve sürgün-kök uzunluğu gibi büyüme parametrelerinde önemli azalmalar gerçekleştirdiğini bildirmiştir.

Stresli yaprakların renk faktörlerini sağlıklı yaprakların renkleriyle karşılaştırması bitki fenotiplemesi bakımından önemlidir. Bu çalışmada, fenotipik olarak, tuzdan etkilenen mercimek bitkilerinin yapraklarının küçük olduğu ve kontrol bitkilerinin yapraklarına göre daha koyu yeşil bir renk gösterdiği ortaya konulmuştur. Yaprak renk parametreleri bu durumu desteklemiş ve L değeri (aydınlık), a değeri (kırmızı-yeşil eksen) ve chromanın kontrol ve tuz stresi koşullarında sırasıyla 33,08'den 22,37'ye, -4,55'ten -8,80'e ve 25,34'ten 20,04'e düştüğü görülmüştür. Bu değişiklikler, tuz stresinin mercimeklerde renk doymunluğunu azalttığını ve kırmızı-yeşil dengesini bozduğunu, bu durumun potansiyel olarak klorofil kaybı ve pigment değişikliklerine yol açabileceğini

göstermektedir. Yaprak renk parametreleri, stres fizyolojisi ve klorofil konsantrasyonu ile ilişkili spektral özelliklerle bağlantılıdır (Ustin vd., 2004). Öte yandan, mercimek çeşitlerinin nisbi elektrolit sızıntı testi ortalamaları kontrolde %25,54 iken tuz stresinde %55,66'ya yükselmiştir. Bu sonuç, tuz stresinin mercimek yapraklarındaki membran geçirgenliğini artırdığını ve hücre zarlarının hasar gördüğünü göstermektedir. Görsel değerlendirme sonuçlarına göre, Altıntoprak ve Şeker çeşitleri tuz stresine karşı toleranslı, Meyveci 2001, Gümrah, Karagül ve Ankara Yeşili çeşitlerinin ise tuza hassas olduğu belirlenmiştir. Daha önce yürütülen çalışmada da Kökten vd. (2010), Altıntoprak ve Çağıl'ı tuz stresine karşı yüksek toleranslı çeşitler olarak tanımlamıştır. Uzun Kayıs ve Ceyhan (2015), Seyran-97'yi tuz stresine karşı en hassas çeşit olarak bulmuşlardır. Bu çalışma ile paralel olarak, bu çeşidin bizim araştırmamızda da oldukça duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Ancak, Meyveci 2001 çeşidinin tuz stresine karşı oldukça hassas olduğu belirlenmiştir.

GA₃'in farklı dozlarının mercimeklerin biyokimyasal ve enzimatik özellikleri üzerindeki etkileri Meyveci 2001 çeşidinde farklı tuz stres koşulları altında değerlendirilmiştir. Bu çalışma farklı GA₃ dozlarının, süperoksit dismutaz, katalaz ve peroksidaz gibi antioksidan enzimler ile fenolikler ve flavonoidler gibi biyolojik bileşiklerin içeriğini etkileyerek tuza hassas mercimek çeşidinde stres toleransını nasıl modüle ettiğini ortaya koymuştur. Kültür bitkilerinin yapraklarındaki klorofil içerikleri, bitkinin fizyolojik durumu hakkında değerli bilgiler sağlamaktadır. Bu çalışmada, tuz stresine (75 mM) maruz kalan mercimeklere uygulanan farklı dozlardaki GA₃, klorofil a içeriğini büyük ölçüde artırırken, klorofil b'yi azaltmış ve bunun sonucunda daha yüksek klorofil a/b oranı elde edilmiştir. Ancak, 150 mM tuz stresinde Chl seviyeleri, kontrolle karşılaştırıldığında azalmıştır. GA₃ uygulamalarının, tuz stresinde daha yüksek klorofil içeriğinin korunmasına etki ettiği görülmüştür. Benzer şekilde, Dilektepe ve Aydemir (2017), bor toksikliğinin mercimek yapraklarında fotosentetik pigmentlerin miktarını azalttığını belirtmiştir. GA₃ uygulamasının, mercimeklerde bileşik yaprak sayısını önemli ölçüde artırdığı ve GA₃ ile muamele edilen yaprakların daha açık yeşil renk gösterdiği bildirilmiştir (Naeem vd., 2004). Giannakoula vd. (2012), mercimeklerde GA₃ (200 mg/L), indol-3-asetik asit (IAA) (200 mg/L) veya kinetin (200 mg/L) ile klorofil içeriğinin etkilenmediğini belirtmiştir. Fenolik bileşiklerin bitkilerde, antioksidan, antikanser ve anti-

inflatuar özellikleri gibi çeşitli biyolojik aktiviteleri nedeniyle önemli biyolojik bileşikler olduğu bildirilmiştir (Singh vd., 2017). Bu çalışmada tuz stresi, toplam karotenoid içeriği, toplam flavonoid içeriği, toplam fenolik içeriği ve toplam çözünebilir protein içerik seviyelerini kontrolle karşılaştırıldığında düşürmüştür. Ancak, 200 µM GA₃ uygulaması toplam fenolik içeriği ve toplam çözünebilir proteini olumlu yönde etkilemiştir. Bu durum, GA₃ uygulamasının tuz stresinde antioksidan aktiviteyi korumada ve protein metabolizmasını desteklemede rol oynadığını göstermektedir. Eyidoğan ve Öz (2007), nohut yapraklarında 0,2 ve 0,5 M NaCl stresi sonrası çözünebilir protein içeriğinin önemli derecede azaldığını bildirmiştir. Öte yandan, GA₃ dozları arttıkça, toplam karotenoid içeriği de tuz stresine rağmen artmıştır. Gupta vd. (2023), doksan altı mercimek genotipini TFC ve antioksidan kapasite açısından karakterize etmiş ve geniş bir genetik varyasyon bulmuşlardır. Yolcu ve Yılmaz (2025), GA₃ uygulamasının fesleğen bitkilerinde stres koşullarında karotenoid seviyelerini artırabileceğini belirtmiştir. Bu çalışmada, mercimekteki antioksidan aktivitelerini tahmin etmek amacıyla FRAP, DPPH ve CUPRAC testleri yapılmıştır. FRAP testi, reaksiyon ortamındaki herhangi bir maddenin antioksidan etkisini indirgeyici kapasite olarak ölçmektedir (Ahuja vd., 2015). İndirgeyici kapasite, doğal antioksidanların elektron bağlama yeteneği olarak kabul edilmektedir. FRAP ve CUPRAC değerleri, GA₃ uygulamalarına rağmen tuz stresi koşullarında azalmıştır. Öte yandan, DPPH değerleri GA₃ dozlarından olumlu etkilenmiştir. Apak vd. (2016), DPPH'nin hem hidrojen atomu transferi hem de elektron transferini içeren bir karışım izlediğini, oysa CUPRAC'ın ET mekanizmasına dayandığını bildirmiştir. H₂O₂, çeşitli fizyolojik süreçlerin önemli bir düzenleyicisi olup ROS tarafından üretilen sinyallerin ikinci habercisi olarak görev yapmaktadır. MDA, lipid peroksidasyon mekanizmasının bir yan ürünü olduğundan, bitkilerde oksidatif stresin önemli bir belirteci olarak kabul edilmektedir (Köse, 2012). Çalışmadan elde edilen sonuçlar, tuz stresi altında MDA içeriğinde belirgin bir artış olduğunu ortaya koymuştur. Tuz stresine hassas mercimek çeşidinde MDA konsantrasyonundaki bu önemli artışın yüksek membran hasarına yol açmış olabileceği düşünülmektedir. Gökçay (2012), mercimek çeşitlerinde kuraklık stresi altında sürgün dokularında MDA içeriğinin önemli ölçüde arttığını bildirmiştir. Diğer taraftan, bu çalışmada H₂O₂ içeriği önce 75 mM NaCl'de düşmüş, ardından hafifçe artmıştır. H₂O₂ içeriğindeki bu azalma, antioksidan savunma sisteminin önemli bir parçası olan SOD enzim aktivitesinin

inaktive olmasının bir sonucu olabilir. Tuza toleranslı bitkilerde tuz stresi yüksek SOD üretimini tetikleyerek, tuzluluğun olumsuz etkilerine karşı korunmak amacıyla H_2O_2 ürettiği belirtilmiştir (Bose vd., 2014). Stres koşullarında ROS'a karşı savunmada rol oynayan çeşitli enzimler bilinmektedir. Bu enzimler, antioksidan moleküllerin sentezini, parçalanmasını ve geri dönüşümünü katalize etmekte ve doğrudan hücrelerden ROS'un uzaklaştırılmasını destekleyebilmektedir. GA_3 sinyali, bazı proteinlerin yıkımını teşvik etmektedir. Bu proteinler, antioksidan enzimlerin transkript seviyelerini düzenlemektedir. Hücreler, ROS'u biyolojik sinyaller olarak kullanacak stratejiler geliştirmiştir. Bu sinyaller çeşitli genetik stres/yanıt programlarını aktive etmekte ve kontrol etmektedir. ROS, bir dizi genin ekspresyonunu ve sinyal iletim yollarının işleyişini etkilemektedir. SOD, APX ve CAT aktiviteleri arasındaki denge, ROS'un denge seviyesinin belirlenmesinde kritik rol oynamaktadır (Eyidoğan ve Öz, 2007). Çalışmamızda, 150 mM tuz stresi altında APX ve CAT aktivitelerinin önemli ölçüde arttığı gözlemlenmiştir. CAT ve APX aktivitelerindeki hafif artış, H_2O_2 seviyelerinin azalmasını sağlamış ve 50 μM GA_3 uygulaması, CAT ve APX aktivitelerini olumlu yönde etkilemiştir. Bandoğlu vd. (2004), 100- veya 200-mM tuz muamelesinde mercimek fide yapraklarında CAT aktivitesinde önemli bir değişiklik oluşturmadığını, ancak yapraklarda APX aktivitesinde önemli bir artışa neden olduğunu bildirmiştir. Diğer bir çalışmada, Cicerale (2004), mercimek yaprak dokularında tuz stresi altında APX ve CAT aktivitelerindeki önemli artışları belirlemiştir. PCA analizi, incelenen parametreler arasındaki ilişkileri ve örnekler arasındaki varyasyonu ortaya koymuştur. Analizde MDA'nın belirgin ayrılması, örnekler arasındaki oksidatif stres seviyelerinin farklılaştığını göstermektedir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışma, Türkiye’de tescil edilmiş on iki mercimek çeşidi 150 mM tuz stresine karşı fenotipik parametreler bakımından değerlendirilmiş ve tuz stresine en hassas bulunan mercimek çeşidinde farklı NaCl (kontrol, 75 mM ve 150 mM) ve GA₃ (kontrol, 50 µM, 100 µM ve 200 µM) uygulamalarının biyokimyasal ve enzimatik özellikler üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Tuz stresi, fizyolojik özelliklerde azalmaya neden olmuş ve çeşitler arasında anlamlı farklılıkların olduğu belirlenmiştir. Altıntoprak ve Şeker mercimek çeşitlerinin tuz stresine (150 mM) toleranslı olduğu, Meyveci 2001 çeşidinin ise 150 mM tuz stresine karşı oldukça hassas olduğu tespit edilmiştir. GA₃ uygulamalarının, klorofil a, toplam fenolik ve toplam çözünebilir miktarlarını artırmış ve antioksidan enzim aktivitelerini teşvik ederek oksidatif stres yanıtlarında etkili olduğu düşünülmektedir. Mercimekte farklı GA₃ dozlarının etkilerinin, uygulanan tuz düzeylerine bağlı olarak farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Bu çalışmanın tuza toleranslı mercimek çeşitlerinin geliştirilmesi ve tuz stresi altında GA₃ uygulamalarının mercimek çeşitlerinin biyoaktif ve enzimatik bileşenlerinin artırılmasına yönelik ıslah programlarına faydalı olacağı öngörülmektedir. Gelecekteki araştırmaların GA₃’in tuz stresi toleransındaki rolünü daha ayrıntılı olarak incelemek için özellikle ROS sinyalleme yolları ve antioksidan gen düzenleme mekanizmalarına odaklanılması gerektiği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Ahuja, H., Kaur, S., Gupta, A. K., Singh, S. ve Kaur, J. (2015). Biochemical mapping of lentil (*Lens culinaris* Medik) genotypes for quality traits. *Acta Physiologiae Plantarum*, 37, 1-16. <https://doi.org/10.1007/s11738-015-1928-2>
- Apak, R., Özyürek, M., Guclu, K. ve Capanoglu, E. (2016). Antioxidant activity/capacity measurement. 2. Hydrogen atom transfer (HAT)-based, mixed-mode (electron transfer (ET)/HAT), and lipid peroxidation assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(5), 1028–1045. <http://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b04743>.
- Ashraf, M. P. J. C. ve Harris, P. J. (2004). Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant science*, 166(1), 3-16. <http://doi.org/10.1016/j.plantsci.2003.10.024>
- Azuma, T., Ueno, S., Uchida, N. ve Yasuda, T. (1997). Gibberellin-induced elongation and osmoregulation in internodes of floating rice. *Physiologia Plantarum*, 99(4), 517-522. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1997.tb05351.x>
- Balibrea, M. E., Dell'Amico, J., Bolarín, M. C. ve Pérez-Alfocea, F. (2000). Carbon partitioning and sucrose metabolism in tomato plants growing under salinity. *Physiologia Plantarum*, 110(4), 503-511. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2000.1100412.x>
- Bandoğlu, E. (2001). *Effect of salt stress on the antioxidant defense system in lentil (Lens Culinaris M.) seedlings*, [Master's thesis]. Middle East Technical University.
- Bandoğlu, E., Eyidoğan, F., Yücel, M. ve Avni Öktem, H. (2004). Antioxidant responses of shoots and roots of lentil to NaCl-salinity stress. *Plant Growth Regulation*, 42, 69–77. <http://doi.org/10.1023/B:GROW.0000049410.77801.44>
- Bose, J., Rodrigo-Moreno, A. ve Shabala, S. (2014). ROS homeostasis in halophytes in the context of salinity stress tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 65 (5), 1241–1257. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert430>
- Bradford, M. M., (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248–254. [http://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](http://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3).
- Celep, B. (2021). *Tescilli bazı mercimek (Lens culinaris M.) çeşitlerinin tuza toleranslık seviyelerinin tespiti ve bazı bitki hormonlarının tuz stresinin giderilmesi üzerine etkilerinin belirlenmesi*. [Yüksek Lisans Tezi]. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi.
- Ciceralli, I. N. (2004). *Effect of salt stress on antioxidant defense systems of sensitive and resistant cultivars of lentil (Lens culinaris M.)*. [Yüksek Lisans Tezi]. Orta Doğu Teknik Üniversitesi
- Çakır, C. (2021). *Determination of salinity tolerances during germination period of some lentil (Lens culinaris Medik.) cultivars*, [Yüksek Lisans Tezi]. Selçuk Üniversitesi.
- Dilek Tepe, H. ve Aydemir, T. (2017). *Effect of boron on antioxidant response of two lentil (Lens culinaris) cultivars*. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 48(16), 1881–1894.
- Dilek, H. (2008). *Tuz Sresi Altındaki Yeşil ve Kırmızı Mercimek Bitkisinde Bazı Fizyolojik ve Enzimatik Parametreler Üzerine Farklı Konsantrasyonlarda İlave Edilen Kalsiyum ve Bor'un Etkisinin İncelenmesi ve Karşılaştırılması*, [Yüksek Lisans Tezi], Manisa Celal Bayar Üniversitesi.
- Epstein, E. (1972). *Mineral Nutrition of Higher Plants: Principles and Perspectives*. John Wiley and Sons, New York.

- Ercan, O. (2008). *Effect of drought and salt stresses on antioxidant defense system and physiology of lentil (Lens culinaris M.) seedlings*, [Yüksek Lisans Tezi]. Orta Doğu Teknik Üniversitesi
- Eryılmaz, Z. ve Aydemir, T. (2005). *NaCl stresi uygulanmış mercimek (Lens esculenta) bitkisinde bazı antioksidan enzim aktivitelerindeki değişimlerin incelenmesi*, XIX. Ulusal Kimya Kongresi, Kuşadası.
- Eyidogan, F. ve Öz, M. T. (2007). Effect of salinity on antioxidant responses of chickpea seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum*, 29(5), 485-493. <http://doi.org/10.1007/s11738-007-0059-9>
- Feduraev, P., Skrypnik, L., Nebreeva, S., Dzhobadze, G., Vtagina, A., Kalinina, E. ... Chupakhina, G. (2022). Variability of phenolic compound accumulation and antioxidant activity in wild plants of some Rumex species (Polygonaceae). *Antioxidants*, 11(2), 311. <https://doi.org/10.3390/antiox11020311>
- Flowers, T. J. ve Yeo, A. R. (1981). Variability in the resistance of sodium chloride salinity within rice (*Oryza sativa* L.) varieties. *New Phytologist*, 88(2), 363-373. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1981.tb01731.x>
- Gao, C., Hu, J., Zhang, S., Zheng, Y. ve Knapp, A. (2009). Association of polyamines in governing the chilling sensitivity of maize genotypes. *Plant Growth Regulation*, 57(1), 31-38. <http://doi.org/10.1007/s10725-008-9315-2>
- Gıda ve Tarım Örgütü (FAO). (2023). Food and Agriculture Organization. Crops and livestock products. Available at: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> adresinden 1 Ocak 2025 tarihinde alınmıştır.
- Giannakoula, A. E., Ilias, I. F., Maksimović, J. J. D., Maksimović, V. M. ve Živanović, B. D. (2012). The effects of plant growth regulators on growth, yield, and phenolic profile of lentil plants. *Journal of Food Composition and Analysis*, 28(1), 46-53. <http://doi.org/10.1016/j.jfca.2012.06.005>
- Gökçay, D. (2012). *Physiological and biochemical screening of different Turkish lentil (Lens culinaris M.) cultivars under drought stress condition* [Yüksek Lisans Tezi]. Orta Doğu Teknik Üniversitesi
- Gupta, S., Dikshit, H. K., Mishra, G. P. ve Aski, M. (2023). Association mapping of total flavonoid content and antioxidant capacities in lentil (*Lens culinaris* Medik.). *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 83(3), 326-334. <http://doi.org/10.31742/ISGPB.83.3.4>
- Güneş, A., Alpaslan, M. ve İnal, A. (2000). *Bitki besleme ve gübreleme*, Ankara Üniversitesi. Ziraat Fakültesi.
- Hernandez, L. F. (1996). Morphogenesis in sunflower (*Helianthus annuus* L.) as affected by exogenous application of plant growth regulators. *Agriscientia*, 13(1), 3-11. <http://doi.org/10.31047/1668.298x.v13.n0.2477>
- Imlay, J. A. (2003). Pathways of oxidative damage. *Annual Reviews in Microbiology*, 57(1), 395-418. <http://doi.org/10.1146/annurev.micro.57.030502.090938>
- Iyengar, E. R. R. ve Reddy, M. P. (1996). *Photosynthesis in highly salt tolerant plants*, Handbook of photosynthesis. Marshal Dekar, Baten Rose, USA, 909.
- Kanber, R. ve Ünlü, M. (2008, Nisan 10-11). *Türkiye’de Sulama ve Drenaj Sorunları: Genel Bakış* [Sözlü sunum]. 5. Dünya Su Forumu Bölgesel Hazırlık Süreci DSİ Yurtiçi Bölgesel Su Toplantıları Sulama-Drenaj Konferansı.
- Kökten, K., Karaköy, T., Bakoğlu, A. ve Akçura, M. (2010). Determination of salinity tolerance of some lentil (*Lens culinaris* M.) varieties, *Journal of Food Agriculture & Environment*, 8(1) 140-143. <http://doi.org/>

- Köse, F. S. (2012). *Physiological and biochemical screening of different Turkish lentil cultivars under salt stress conditions*, [Yüksek Lisans Tezi]. Orta Doğu Teknik Üniversitesi
- Lichtenthaler, H. K. ve Wellburn, A. R. (1983). Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transaction*, 11(5), 591–592. <https://doi.org/10.1042/bst0110591>
- Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophyll fluorescence signatures of leaves during the autumnal chlorophyll breakdown, *Journal of Plant Physiology*, 131, 101–110. [https://doi.org/10.1016/S0176-1617\(87\)80271-7](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(87)80271-7)
- Liu, P., Sun, F., Gao, R. ve Dong, H. (2012). RAP2.6L Overexpression delays waterlogging-induced premature senescence by increasing stomatal closure more than antioxidant enzyme activity, *Plant Molecular Biology*, 79, 609–622. <http://doi.org/10.1007/s11103-012-9936-8>
- Mansour, M. M. F. (2000). Nitrogen containing compounds and adaptation of plants to salinity stress. *Biologia plantarum*, 43, 491-500. <http://doi.org/10.1023/A:1002873531707>
- Mostafa, G. G. ve Alhamd, M. F. A. (2011). Effect of gibberellic acid and indole 3-acetic acid on improving growth and accumulation of phytochemical composition in *Balanites aegyptiaca* plants. *American Journal of Plant Physiology* 6(1), 36-43. <https://doi.org/10.3923/ajpp.2011.36.43>
- Naeem, M., Bhatti, I. R. A. M., Ahmad, R. H. ve Ashraf, M. Y. (2004). Effect of some growth hormones (GA3, IAA and kinetin) on the morphology and early or delayed initiation of bud of lentil (*Lens culinaris* Medik). *Pakistan Journal of Botany*, 36(4), 801-809. [https://doi.org/10.30848/PJB2004-4\(1\)](https://doi.org/10.30848/PJB2004-4(1))
- Parida, A. K., ve Das, A. B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and environmental safety*, 60(3), 324-349. <http://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.06.010>
- Richards, L. A. (Ed.). (1954). *Diagnosis and improvement of saline and alkali soils*, (60. Baskı). Agriculture Handbook. United States Department of Agriculture.
- Singh, B., Singh, J. P., Kaur, A. ve Singh, N. (2017). Phenolic composition and antioxidant potential of grain legume seeds: A review. *Food Research International*, 101(1), 1–16. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.026>
- Solaimanifar, S. ve Asemaneh, T. (2021). Investigation of silicon effects on some growth and biochemical parameters of *Lens culinaris* Medik. under salt stress. *Journal of Plant Nutrition*, 44(15), 2285-2298 <http://doi.org/10.1080/01904167.2021.1899204>
- Toklu, F. (2015). Effects of Different Priming Treatments on Seed Germination Properties, Yield Components and Grain Yield of Lentil (*Lens culinaris* Medik.). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 43(1), 153-158. <https://doi.org/10.15835/nbha4319832>
- Türkiye İstatistik Kurumu (TURKSTAT). (2024). Crop Production Statistics. Available at: <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr> adresinden 1 Ocak 2025 tarihinde alınmıştır.
- Ud-Deen, M. M. (2009). Effect of plant growth regulators on growth and yield of Mukhi Kachu. *Bangladesh Journal of Agricultural Research*, 34(2), 233-238. <https://doi.org/10.3329/bjar.v34i2.5794>
- Ustin, S. L., Roberts, D. A., Gamon, J. A., Asner, G. P. ve Green, R. O. (2004). Using imaging spectroscopy to study ecosystem processes and properties. *BioScience*, 54(6), 523-534. [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2004\)054\[0523:U1STSE\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2004)054[0523:U1STSE]2.0.CO;2)
- Uzun Kayıs, S. ve Ceyhan, E. (2015). Salinity tolerance during germination and seedling growth of some lentil (*Lens culinaris* Medic.) cultivars. *Selcuk Journal of Agriculture and Food Sciences*, 29(1), 15-24. <https://doi.org/10.15316/SJAFS.2021.245>

- Waterhouse, A. L. (2002). *Determination of total phenolics*. Current Protocols in Food Analytical Chemistry.
- Yadav, S. S, McNeil, D. ve Stevenson, P. C. (Ed.). (2007). *Lentil: An Ancient Crop for Modern Times*. Springer Science & Business Media.
- Yeken, M. Z. (2024) Giberellik Asit Dozlarının Ekmeklik Buğdayda (*Triticum aestivum* L.) Verim ve Kalite Üzerine Etkisi. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 14(3), 1366-1374. <http://doi.org/10.21597/jist.1463757>
- Yilmaz, A., Yildirim, E., Yilmaz, H., Soydemir, H. E., Güler, E., Ciftci, V. ve 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. <http://doi.org/10.3390/su15075982>
- Yolcu, M. S. ve Yilmaz, A. (2025). Biostimulant-driven enhancement of bioactive compounds in salt-stressed sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *South African Journal of Botany*, 178, 318–329. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2025.01.037>

