

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

TUZ STRESİ ALTINDAKİ GÖKÇE VE KÜSMEN NOHUT
ÇESİTLERİNDE EKZOJEN OLARAK UYGULANAN SİSTEİNİN
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ece Nisa İMAMOĞLU

OCAK 2025
TRABZON



KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

**TUZ STRESİ ALTINDAKİ GÖKÇE VE KÜSMEN NOHUT
ÇESİTLERİNDE EKZOJEN OLARAK UYGULANAN SİSTEİNİN
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Ece Nisa İMAMOĞLU

Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde
"YÜKSEK LİSANS (MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK)"
Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 27/ 12 / 2024

Tezin Savunma Tarihi : 20 / 01 / 2025

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Aykut SAĞLAM

Trabzon 2025

ÖNSÖZ

“Tuz Stresi Altındaki Gökçe ve Küsmen Nohut Çesitlerinde Ekzojen Olarak Uygulanan Sisteinin Etkilerinin Araştırılması” isimli bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi, BAP Koordinasyon Birimi, FAY-2021-9821 numaralı araştırma projesinden sağlanan destekle, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Programı’nda hazırlanmıştır.

Tez çalışmam boyunca bilgi ve tecrübeleriyle yolumu aydınlatarak beni destekleyen değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Aykut SAĞLAM’a en içten teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca, yapıcı eleştirileri ve kıymetli önerileriyle çalışmama önemli katkılar sağlayan Sayın Prof. Dr. Asim KADIOĞLU’na ve Sayın Prof. Dr. Utku AVCI’ya, eğitim hayatım boyunca bana rehberlik eden tüm hocalarıma şükranlarımı ifade etmek isterim. Tez çalışması süresince bilgi ve deneyimlerini paylaşarak desteklerini esirgemeyen kıymetli hocalarım Araştırmacı Dr. Dilek ÜNLÜER BİRİNCİ ve Araştırma Görevlisi Selda DURMUŞOĞLU’na, ayrıca birlikte yürüttüğümüz çalışmalarda bana eşlik eden arkadaşlarım Sebahat Duygu GÜMRÜKÇÜ ŞİMŞEK ve Merve Miray ARDA’ya teşekkür ederim.

Tez sürecinde ve hayatımda oldukları tüm zaman içinde her türlü zorlukta bana güç veren, cesaretlendiren ve desteğini her daim hissettiren Erhan BİRİNCİ ve Nisanur GÜN’e minnettarlığımı sunarım.

Son olarak, doğduğum günden bu yana maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman eksik etmeyen, kararlarımda yanımda olan ve bu süreçte en büyük pay sahibi olan sevgili aileme en derin teşekkürlerimi ve minnettarlığımı sunarım.

Ece Nisa İMAMOĞLU

Trabzon 2025

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Tuz Stresi Altındaki Gökçe ve Küsmen Nohut Çesitlerinde Ekzojen Olarak Uygulanan Sisteinin Etkilerinin Araştırılması” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Prof. Dr. Aykut SAĞLAM’ın sorumluluğunda tamamladığımı, verileri/örnekleri kendim topladığımı, deneyleri/analizleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı/yaptırdığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 31/01/2025

Ece Nisa İMAMOĞLU

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ.....	III
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET	VIII
SUMMARY	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	X
TABLolar DİZİNİ.....	XI
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XII
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Sistein.....	2
1.3. Nohut.....	5
1.3.1. Nohut'un Önemi.....	5
1.3.2. Nohutun Morfolojik Özellikleri ve Çiçek Biyolojisi	7
1.3.3. Nohutun Ekolojik İstekleri	7
1.3.4. Nohutun Üretimi ve Verimi	8
1.4. Nohutu Etkileyen Abiyotik Stres: Tuzluluk.....	8
1.5. Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂).....	10
1.6. Prolin.....	10
1.7. Toplam Çözünebilir Şekerler.....	11
1.8. Poliaminler.....	11
1.9. Askorbik Asit.....	11
1.10. Yaprak Alanı.....	12
1.11. Stoma Açıklığı.....	12
1.12. Enzimatik Antioksidanlar.....	12
1.12.1. Süperoksit Dismutaz (SOD).....	13
1.12.2. Katalaz (CAT).....	13
1.12.3. Askorbat Peroksidaz (APX).....	13
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	14

2.1. Bitkilerin Büyütülmesi ve Stres Uygulamaları.....	14
2.2. Sistein Uygulamasının Tuz Stresine Dayanıklılık Seviyesi Üzerinde Etkisinin Belirlenmesi.....	15
2.2.1. Bitki Toplam Kuru Ağırlığının Belirlenmesi.....	15
2.2.2. Nispi Su İçeriğinin (%NSİ) Belirlenmesi	15
2.2.3. Toplam Klorofil İçeriğinin Belirlenmesi	16
2.2.4. Yaprak Alanlarının Belirlenmesi	16
2.2.5. Stoma Açıklığının Belirlenmesi.....	16
2.2.6. Lipid Peroksidasyonunun (Malondialdehit İçeriği) Belirlenmesi.....	17
2.3. Tuz Stresine Dayanıklılığın Osmotik Düzenleme ile İlişkisinin Belirlenmesi	17
2.3.1. Prolin Miktarının Belirlenmesi	17
2.3.2. Toplam Çözünabilir Şeker İçeriğinin Belirlenmesi	18
2.3.3. Poliamin İçeriğinin Belirlenmesi	18
2.3.4. Gen İfade Analizi	19
2.4. Tuz Stresine Karşı Dayanıklılığın Antioksidan Sistemle İlişkisinin Belirlenmesi	20
2.4.1. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	20
2.4.2. Askorbik Asit İçeriği (ASC)	22
2.4.3. İstatistiki Analizler	22
3. BULGULAR.....	23
3.1. Sistein Uygulamasının Tuz Stresine Dayanıklılık Seviyesi Üzerinde Etkisinin Belirlenmesi.....	23
3.1.1. Kuru Ağırlık	23
3.1.2. Nispi Su İçeriği (NSİ)	24
3.1.3. Toplam Klorofil İçeriği	25
3.1.4. Yaprak Alanı	25
3.1.5. Stoma Açıklığı	26
3.1.6. Lipid Peroksidasyonu (Malondialdehit İçeriği)	27
3.2. Tuz Stresine Dayanıklılığın Osmotik Düzenleme ile İlişkisinin Belirlenmesi	28
3.2.1. Prolin İçeriği.....	28
3.2.2. Toplam Çözünabilir Şeker İçeriği.....	29
3.2.3. Poliamin İçeriği	30
3.2.4. Gen İfade Değişimleri	33
3.3. Tuz Stresine Dayanıklılığın Antioksidan Sistem ile İlişkisinin Belirlenmesi	37
3.3.1. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	37
3.3.2. Askorbik Asit (ASC) İçeriği	41

4. TARTIŞMA.....	43
5. SONUÇLAR.....	49
6. ÖNERİLER.....	50
7. KAYNAKLAR.....	51
ÖZGEÇMİŞ	



Yüksek Lisans Tezi

ÖZET

TUZ STRESİ ALTINDAKİ GÖKÇE VE KÜSMEN NOHUT ÇEŞİTLERİNDE EKZOJEN OLARAK UYGULANAN SİSTEİNİN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Ece Nisa İMAMOĞLU

Karadeniz Teknik Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Danışman: Prof Dr. Aykut SAĞLAM

2025, 60 Sayfa

Tuz stresi, hücre zarlarına zarar vererek bitki büyüme ve gelişimini sınırlayan önemli bir abiyotik stres faktörüdür. Bu çalışmada, nohut (*Cicer arietinum* L.) çeşitlerinden Gökçe (tuz toleranslı) ve Küsmen (tuz hassas) üzerinde, dışarıdan uygulanan sisteinin (sis) tuz stresinin olumsuz etkilerini hafifletici rolü incelenmiştir.

Çalışmada, fideler 2 gün boyunca 100 μ M sistein ile muamele edilmiş, ardından 5 gün süreyle 100 mM sodyum klorür (NaCl) ile tuz stresi uygulanmıştır. Tuz stresine maruz kalan bitkilerde sürgün ağırlığı ve nem içeriği azalmış; ancak sistein uygulaması bu etkileri hafifletmiştir.

Sistein uygulaması, lipid peroksidasyonunu azaltmış, toplam şeker, poliamin ve prolin düzeylerini artırmıştır. Aynı zamanda stomal açıklık ve yaprak alanında artış gözlenmiştir. Antioksidan enzim aktiviteleri (süperoksit dismutaz, katalaz, askorbat peroksidaz) artarken, Sisteinin ozmolit birikimini desteklediği ve bu süreçte arginin dekarboksilaz (ADC), prolin 5 karboksilat sentaz (P5CS), trehaloz 6 fosfat dehidrogenaz (T6P) ve katalaz (CAT) gen ifadelerini artırdığı belirlenmiştir.

Sonuç olarak, sisteinin, nohut bitkilerinde tuz stresinin olumsuz etkilerini azalttığı ve bu etkinin özellikle Küsmen çeşidinde daha belirgin olduğu tespit edilmiştir. Sistein, antioksidan savunma ve osmoregülatör sistemleri destekleyen etkili bir stres azaltıcı olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Sistein, Nohut, NaCl, Poliamin, qPCR, Antioksidan Sistem

Master's Thesis

SUMMARY

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF EXOGENOUSLY APPLIED CYSTEINE ON GÖKÇE AND KÜSMEN CHICKPEA VARIETIES UNDER SALT STRESS

Ece Nisa İMAMOĞLU

Karadeniz Technical University

Institute of Science and Technology

Department of Molecular Biology and Genetics

Advisor: Prof. Aykut SAĞLAM

2025, 60 Pages

Salt stress is a significant abiotic factor that damages cell membranes, limiting plant growth and development. This study investigated the mitigating role of exogenously applied cysteine (Cys) on the adverse effects of salt stress in chickpea (*Cicer arietinum* L.) varieties Gökçe (salt-tolerant) and Küsmen (salt-sensitive).

In the study, seedlings were treated with 100 μ M Cys for 2 days, followed by the application of 100 mM sodium chloride (NaCl) for 5 days to induce salt stress. Salt-stressed plants showed reductions in shoot biomass and water content; however, Cysteine application alleviated these adverse effects.

Cysteine treatment reduced lipid peroxidation while increasing levels of total sugars, polyamines, and proline. It also enhanced stomatal opening and leaf area. Antioxidant enzyme activities (superoxide dismutase, catalase, ascorbate peroxidase) were elevated, and Cysteine supported osmolyte accumulation by upregulating the expression of arginine decarboxylase (ADC), proline 5-carboxylate synthase (P5CS), trehalose-6-phosphate dehydrogenase (T6P), and catalase (CAT) genes.

In conclusion, cysteine mitigated the detrimental effects of salt stress in chickpea plants, with a more pronounced effect observed in the Küsmen variety. Cysteine was determined to be an effective stress-relieving agent that enhances antioxidant defense and osmoregulatory systems.

Keywords: Cysteine, Chickpea, NaCl, Polyamine, qPCR, Antioxidant System

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1. Gökçe ve Küsme çeşitleri için kontrol bitkilerinin ve uygulama yapılan bitkilerin görselleri	23
Şekil 2.Kuru ağırlıkta meydana gelen değişimler ..	24
Şekil 3.Nispi su içeriğinde meydana gelen değişimler	24
Şekil 4.Toplam klorofil içeriğinde meydana gelen değişimler	25
Şekil 5.Yaprak alanında meydana gelen değişimler.	26
Şekil 6.Yaprak stoma açıklığında meydana gelen değişimler.	27
Şekil 7.Lipid peroksidasyonunda meydana gelen değişimler. ..	28
Şekil 8. Prolin içeriğinde meydana gelen değişimler ..	29
Şekil 9.Toplam şeker içeriğinde meydana gelen değişimler..	30
Şekil10.Putresin içeriğinde meydana gelen değişimler	31
Şekil 11.Spermidin içeriğinde meydana gelen değişimler.	32
Şekil12.Spermin içeriğinde meydana gelen değişimler.	33
Şekil 13.ADC gen ifadesinde meydana gelen değişimler.	34
Şekil 14.CAT gen ifadesinde meydana gelen değişimler.	35
Şekil 15.P5CS gen ifadesinde meydana gelen değişimler	36
Şekil 16.T6P gen ifadesinde meydana gelen değişimler	37
Şekil 17.Katalaz aktivitesinde meydana gelen değişimler ..	38
Şekil 18.Peroksidaz aktivitesinde meydana gelen değişimler	39
Şekil 19.Süperoksit dismutaz aktivitesinde meydana gelen değişimler	40
Şekil 20.Askorbat peroksidaz aktivitesinde meydana gelen değişimler	41
Şekil 21.Askorbik asit içeriğinde meydana gelen değişimler	42

TABLÖLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1.100 g tohum başına nohutun besin değerleri.....	5
Tablo 2.Deney grupları ve yapılacak uygulamalar.....	14
Tablo 3.Gen ve primer bilgileri.....	20



SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece
APX	: Askorbat Peroksidaz
CAT	: Katalaz
cDNA	: Tamamlayıcı DNA
Cl⁻	: Klor
cm	: Santimetre
DEPC	: Dietilpirokarbonat
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
EtOH	: Etanol
gr	: Gram
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
HCl	: Hidroklorik asit
hg/ha :	: Hektogram/Hektar alan
KA	: Kuru ağırlık
kcal	: Kilokalori
KH₂PO₄	: Potasyum Dihidrojen Fosfat
M	: Molar
Mbp/1C	: Milyonlarca baz çifti/ 1 genom büyüklüğü
mg	: Miligram
mM	: Milimolar
MPa	: Megapascal
Na⁺	: Sodyum
NaCl	: Sodyum Klorür
NBT	: Nitro Blue Tetrazolyum
NSİ	: Nispi su içeriği
qRT-PCR	: Quantitative Real time-Polymerase chain reaction
PVP	: Polivinilpirolidon

RNA	: Ribonükleik asit
ROT/ROS	: Reaktif oksijen türleri
SOD	: Süperoksit Dismutaz
ssSS	: Sistein Disülfite
TA	: Taze ağırlık
TBA	: Tiobarbitürik asit
TCA	: Trikloro asetik asit
µL	: Mikrolitre
µm	: Mikromolar
µm g-1 TA	: Mikromol/gram TA
µmol m-1 cm-1	: Mikromol/metre x cm
µmol m-2 cm-1	: Mikromol/metre ² x cm

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Stres, bitkilerin gen veya genlerinin ifadesini, fizyolojik ve biyokimyasal süreçleri etkileyerek büyüme, gelişme ve ürün miktarını olumsuz yönde etkileyen biyotik ve abiyotik faktörlerin bitkide hasar verme potansiyelidir (Levitt 1980; Bray vd., 2000). Bitkinin stres faktörlerinden etkilenme düzeyi, çevresel genetik adaptasyon seviyesine ve strese karşı gösterilen içsel ve mekanik tepkilere bağlı olarak değişir (Taiz ve Zeiger 2002). Morfolojik, biyokimyasal ve fizyolojik değişikliklerin azaltılması veya onarılması, bitkilerin stres koşullarından korunmasını sağlar. Bitkilerdeki stres tolerans mekanizmaları, doku, organel ve moleküler düzeyde basit kimyasal ya da biyokimyasal tepkilerden karmaşık hormonal veya gelişimsel yanıtlar ve genetik kalıtsal etkileri içeren çok sayıda fizyolojik yanıt kapsayan karmaşık bir dizi olayı içerir (Edreva vd., 1998). Bitkilerde stres, hücrelerdeki anabolik ve katabolik reaksiyonların yavaşlamasına veya hatta durmasına neden olan koşullardır; bu da büyüme ve gelişmenin sekteye uğramasına yol açar (Babaoğlu vd., 2002). Biyotik ve abiyotik streslere bitkilerin verdiği tepkilerin temel mekanizmasının anlaşılması, stres koşullarına dayanıklı tarım bitkilerinin geliştirilmesi açısından son derece önemlidir.

Bitkilerin strese karşı verdikleri tepkiler, stresin şiddeti ve süresi, bitkinin gelişim evresi, doku tipi ve birden fazla stres etkeninin aynı anda bulunması gibi faktörlere bağlı olarak değişir (Koca vd., 2007). Bitkilerde stres dayanıklılık mekanizmaları, farklı seviyelerde etkili olur: doku ve hücre seviyesinde morfolojik, organel seviyesinde ise moleküler değişikliklerle ortaya çıkar. Bitkiler bu mekanizmaları iki ana yolla kullanır: mevcut koruyucu sistemlerle stresin olumsuz etkilerini azaltır veya tolerans mekanizmaları geliştirerek stres koşullarına uyum sağlar (Edreva et al., 1998). Stres altındaki bitkilerde yaprak ayası kalınlığı, stoma büyüklüğü ve sayısı, kutikula kalınlığı gibi morfolojik özelliklerde değişimler gözlemlenir (Acar, 1999). Hücresel düzeyde ise, stres toleransını artıran hücre döngüsü, hücre bölünmesi, endomembran sistemi, vakuolleşme ve hücre duvarındaki yapısal adaptasyonlar gibi tepkiler gelişir. Ayrıca, biyokimyasal olarak prolin ve glisin-betain gibi osmoregülatör bileşiklerin üretimi, bitkilerin çevresel streslere karşı dayanıklılığını destekler.

Stres sinyallerinin algılanması, bitkilerde tolerans oluşturan genetik tepkilerin temelini oluşturur (Taiz ve Zeiger, 2002). Dünya üzerindeki tarım alanlarının yalnızca %10'unun herhangi bir çevresel stres faktöründen etkilenmediği, geri kalan alanların ise sıcaklık, kuraklık, tuzluluk, ağır metaller ve mineral dengesizlikleri gibi çeşitli biyotik ve abiyotik stresler nedeniyle bitki gelişimini olumsuz etkileyerek ürün kayıplarına yol açtığı tahmin edilir. Tuzluluk, özellikle kurak ve yarı kurak bölgelerde çölleşmenin ana nedenlerinden biri olup, dünya genelinde tarımsal alanların yaklaşık %7'sini ve sulanan arazilerin üçte birini etkileyen önemli bir abiyotik stres faktörüdür (Cartwright vd., 1986; Maršálová vd., 2016). Türkiye'de 4,2 milyon hektar, Avrupa'da 50,8 milyon hektar ve Asya'da 320 milyon hektar alanın tuzluluktan etkilendiği; dünya genelinde ise 954 milyon hektarın verimliliğini kısmen ya da tamamen yitirdiği belirtilir (Güçdemir ve Sönmez, 2008).

Tuz stresinin bitkiler üzerindeki etkileri tohum çimlenmesi, kök ve gövde büyümesi, bitki yüksekliği ve döllenme gibi temel süreçlerde kısıtlamalar yaratırken fotosentezde azalma, prematüre yaprak dökümü ve verimde ciddi düşümlere yol açar (Liang vd., 2018; Munns et vd., 2020; Flowers vd., 2015). Örneğin, tuz stresinin patates bitkisi üzerinde yarattığı olumsuz etkiler arasında gövde, yaprak ve yumru büyümesinde azalma, yapraklarda kloroz, uç yanıklığı, köklerde su alımının kısıtlanması, erken yaşlanma, yumru veriminde azalma, ayrıca yumrulara kahverengi lekelenmeler ve çatlamlar bulunur (Levy ve Veilleux, 2007). Bu stresin etkileri, yumruların kuru madde ve çözünabilir madde içerikleri ile sekonder metabolitlerinde de değişiklikler olarak gözlenir (Levy ve Tai, 2013).

1.2. Sistein

Amino asitler, bitkilerde büyüme ve verimliliği destekleyen önemli biyo-düzenleyicilerdir. Bu moleküller, fotosentez, karbonhidrat ve protein sentezini artırarak, aynı zamanda spermin ve spermidin üretimini teşvik ederek bitki gelişimini olumlu yönde etkileyebilir. Ayrıca, bazı bitki biyo-düzenleyicilerinin koenzim ve öncülleri olarak işlev görebilirler. Sistein, enzimatik reaksiyonlarda önemli bir rol oynayan, tiyol grubu içeren bir α -amino asittir. Bu amino asit, sadece protein yapılarının işlevsel bütünlüğü için değil, aynı zamanda glutatyon (bir antioksidan), çeşitli vitaminler, glukozinolatlar ve tiyoinler gibi biyomoleküllerin yanı sıra savunma bileşiklerinin öncüsü olarak da kritik bir öneme sahiptir. Sistein, özellikle bitkilerin stres yanıtlarında önemli bir rol oynayan glutatyonun biyosentezinde yer alır. Bu bağlamda, sisteinin bitki sağlığı üzerindeki etkileri, tarımsal

uygulamalarda dikkate alınması gereken bir faktör olarak ön plana çıkmaktadır (Sadak vd., 2020).

Bitkilerde tuzluluk gibi abiyotik streslere karşı dayanıklılığı artırmak ve verimliliği korumak amacıyla çeşitli stratejiler geliştirilir (İhsan vd., 2019). Bu stratejilerden biri, bitkilere dışarıdan uygulanan bileşiklerle stres toleransını artırmaktır. Ancak, dışarıdan uygulanan bileşiklerin toksik etkilerinin olmaması gerektiği en önemli kriterlerden biridir. Bu amaçla, zirai alanlarda yaygın olarak uygulanan bileşiklerden biri amino asitlerdir. Literatürde, bitkilerde sistein uygulamasının bazı abiyotik streslerin olumsuz etkilerini hafiflettiği ve stres koşullarında daha yüksek verim sağlanmasına katkıda bulunduğu yönünde bulgular bulunur. Örneğin, Genisel ve arkadaşları (2014) arpa bitkisine dışarıdan uygulanan sisteinin tuz stresini hafiflettiğini bildirmiştir. Benzer şekilde, Nasibi ve ark. (2016) buğday bitkilerinde de tuz stresinin etkilerinin sistenin katkısıyla azaldığını gözlemlemişlerdir. Ayrıca, UV ışınına maruz kalan bitkilerde sisteinin iyileştirici etkileri olduğu kaydedilmiştir (Malanga vd., 1999). Kuraklık stresi altında ise sisteinin, yulaf bitkisinde stres tolerans mekanizmalarını uyardığı bulunmuştur (Perveen vd., 2019).

Sisteinin ağır metallerle ilişkisi de geniş çapta incelenmiştir, çünkü bu amino asit potansiyel bir ağır metal şelatörüdür. Örneğin, çeltik bitkilerinde sistein uygulaması ile daha fazla kadmiyum birikimi sağlanmış ve bu birikim, toksik etkileri azaltmıştır (Wang vd., 2017). Ayrıca, kadmiyum stresi altında arpa ve mısır bitkilerinde yapılan çalışmalar, dıştan uygulanan sisteinin metal stresini önemli ölçüde azalttığını gösterir (Sun vd., 2014; Erdal ve Türk, 2016). Sistein, metal kompleksleri oluşturarak Fenton reaksiyonunu tetikleyebilir ve bu süreç, toksik hidroksil radikallerinin üretimine yol açabilir (Bashir vd., 2012). Sistein, enzimatik olarak sistein disülfite dönüşebilir ve bu redoks sistemi hem insan sağlığı hem de bitkisel streslerde önemli bir biyokimyasal marker olarak kabul edilir (Brown vd., 1996; Arias vd., 2010).

Hayvansal organizmalarda antioksidan ve hücre çoğalmasını teşvik edici özellikleriyle bilinen sistein, kanser araştırmalarında da sıkça incelenir (Combs ve DeNicola, 2019; Bak vd., 2019). Ancak bitkilerde, özellikle tuzluluk stresi ve diğer abiyotik stres koşullarındaki iyileştirici etkilerine dair çalışmalar sınırlıdır. Bu bağlamda, bu tezde incelenen nohut (*Cicer arietinum*) bitkilerinde sisteinin tuzluluk stresine yanıtı üzerine bir araştırma yapılmamıştır ve bu konu literatürde henüz ele alınmamıştır.

Sonuç olarak, sistein, bitkilerde stres toleransını artırma ve verimliliği destekleme açısından önemli bir biyo-düzenleyici olarak öne çıkmaktadır. Özellikle tuzluluk ve ağır

metal gibi abiyotik stres faktörlerine karşı etkili olabileceği literatürde belirtilmiş olsa da, bu konuda yapılan çalışmaların sınırlı olduğu görülmüştür. Bu literatür boşluğunu gidermek amacıyla, bu tez çalışmasında nohut (*Cicer arietinum*) bitkilerinde sisteinin tuzluluk stresine karşı etkilerinin incelenmesi planlanmıştır. Çalışma kapsamında belirlenen hedefler aşağıda sıralanmıştır:

- 1) Dıştan uygulanan sisteinin, tuz stresi koşullarına maruz bırakılan nohut çeşitlerinde strese karşı tolerans geliştirilmesindeki rolü araştırılacaktır. Düşük tuz konsantrasyonunda (20 mM NaCl) bile nohut büyümesinin önemli ölçüde azaldığı bilinmektedir. Ayrıca, 25 mM NaCl varlığında büyümede %1'lik bir azalma olduğu gözlemlenmiştir (Sadiki ve Rabih, 2001). Bu nedenle, tez kapsamında daha yüksek tuz konsantrasyonlarına karşı nohut bitkisini sistein uygulaması ile dayanıklı hale getirmek amaçlanmaktadır.
- 2) Tuz stresine karşı gelişen toleransın antioksidan sistem ve osmotik düzenleme mekanizması ile ilişkisi incelenecektir. Bu bağlamda, bitkilerin tuz stresine dayanıklılık seviyelerini belirlemek için toplam kuru ağırlık, nisbi su içeriği, toplam klorofil içeriği, stomal açıklık, yaprak alanı ve lipid peroksidasyonu gibi parametreler değerlendirilecektir.
- 3) Tuz stresine dayanıklılığın osmotik düzenleme ile ilişkisini belirlemek için prolin, toplam şeker ve poliamin (putresin, spermin ve spermidin) içerikleri ile prolin 5 karboksilat sentaz (prolin sentezi), trehaloz 6 fosfat sentaz (şeker sentezi) ve arginin dekarboksilaz (poliamin sentezi) genlerinin ifadeleri incelenecektir.
- 4) Tuz stresine karşı dayanıklılığın antioksidan sistemle ilişkisini belirlemek amacıyla, süperoksit dismutaz, peroksidaz, katalaz ve askorbat peroksidaz gibi antioksidan enzim aktiviteleri, askorbik asit içerikleri ve katalaz gen ifadesi incelenecektir.

Bu tez çalışması, nohut bitkilerinin tuz stresine karşı geliştirdiği tolerans mekanizmalarını daha ayrıntılı bir şekilde ortaya konulması ve tarımsal uygulamalara yönelik yeni stratejiler geliştirilmesine katkı sağlaması amacıyla planlanmıştır. Sistein uygulamasının bitkilerin stres yönetiminde nasıl bir etki yarattığını araştırmak, tarımda tuz

stresi gibi abiyotik faktörlere karşı daha dayanıklı bitki çeşitlerinin geliştirilmesine önemli bir katkı sağlayabileceği düşünülmüştür.

1.3. Nohut

Bengal gramı, Garbanzo fasulyesi, Mısır bezelyesi, Chana veya Hamaz olarak da bilinen nohut (*Cicer arietinum* L.), Fabaceae familyasına aittir (Kupicha, 1981). Nohut, 740 Mbp/1C genom büyüklüğüne sahip, serin mevsimde kendi kendine tozlaşan diploid ($2n = 2x = 16$) ve taneli baklagildir (Arumuganathan ve Earle, 1991). Bilinen en eski kültür baklagilleri arasındadır ve bu, Orta Doğu'da bulunan 7500 yıllık nohut kalıntılarından açıkça görülmüştür (Bell vd., 2014). Nohutun evcilleştirildiğine dair ilk kanıtlar Türkiye'de yaklaşık M.Ö. 3000 yıllarında Neolitik döneme ait çanak çömleklerde bulunmuştur (Zohary ve Hopf, 2000). Antik çağda nohutun yüksek protein içeriği nedeniyle değer görmesinin yanı sıra tıbbi amaçlı da kullanıldığı, hatta kahve yerine demlendiği kesin kanıtlarla ortaya konmuştur. Nohutun yabani akrabaları üç gen havuzunda karakterize edilmiştir ancak en yakın ve olası menşee atası *Cicer reticulatum*'dur (Ladizinsky ve Adler, 1976). Diğer önemli yabani akrabalar arasında *Cicer judaicum*, *Cicer bijugum*, *Cicer echinospermum* ve *Cicer pinnatifidum* bulunur (Roorkiwal vd., 2014).

1.3.1. Nohut'un Önemi

Nohut, tropik, subtropik ve ılıman bölgelerde yetişen ikinci en önemli tahıl baklagilidir. Nohut, yüksek diyet proteinleri (%20-30), karbonhidratlar (%40), lifler ve yağlar (%3-6) nedeniyle değerlidir (Hulse, 1991, Alarcon-Valdez vd., 2005, Pushpavalli vd., 2015). Nohut besin değerlerinin detayları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1.100 g tohum başına nohutun besin değerleri

Besin	Birim	100 g başına değer
Ana bileşenler		
Su	G	71.22
Enerji	Kcal	109
Protein	G	23.72
Total lipid	G	0.9

Tablo 1'in devamı

Mineraller		
Kalsiyum, Ca	Mg	19
Demir, Fe	Mg	1.45
Magnezyum, Mg	Mg	38
Fosfor, P	Mg	183
Potasyum, K	Mg	533
Sodyum, Na	Mg	113
Çinko, Zn	Mg	0.59
Bakır, Cu	Mg	0.053
Mangan, Mn	Mg	0.019
Selenyum, Se	µg	46.8
Vitamin		
Vitamin C,	Mg	0
Tiamin	Mg	0.023
Riboflavin	Mg	0.085
Niasin	Mg	7.429
Pantotnik asit	Mg	0.865
Vitamin B-6	Mg	0.462

Nohut, yüksek protein içeriği nedeniyle esas olarak insan tüketiminde kullanılır. Taze ve yeşil nohut tohumları salata olarak kullanılırken, kavrulmuş, kızartılmış veya haşlanarak atıştırmalık yiyecek, tatlı veya çeşni yapımında da kullanılabilir. Tohumlar çorba ve ekmek yapımında kullanılabilen un yapmak için öğütülür (Saxena, 1990). Nohut, yüksek besin değerlerinden dolayı nutrasötik (veya sağlığa faydalı gıda) olarak bilinir (Millan vd., 2006).

Ayrıca, nohutun düşük bir 'glisemik indekse' (Walker ve Walker, 1984) ve ayrıca hipokolesteremik özelliklere (Geervani, 1991) sahip olduğu bilinir. Nohut, köklerinde nodül adı verilen özel yapılar aracılığıyla atmosferik nitrojeni sabitleme konusunda benzersiz bir yeteneğe sahiptir ve böylece toprak sağlığının iyileştirilmesine ve ekosistemin sürdürülebilirliğine yardımcı olur (Ahmad vd., 2005).

Yüksek besin içeriği, pazar değeri, uyarlanabilirliği ve nitrojeni sabitleme yeteneği göz önüne alındığında nohut, giderek artan bir şekilde "geleceğin temel gıda ürünü" olarak tanınır.

1.3.2. Nohutun Morfolojik Özellikleri ve Çiçek Biyolojisi

Nohut, yaklaşık 250-500 mm boyunda, yarı dik, dallanmış ve yayılan, tek yıllık serin mevsim baklagil bitkisidir. Nohut, kazık kök sistemine sahip olup, kökleri toprakta 2 metre derinliğe kadar büyüyebilir. Gövdeler ve salgı bezleri tüylüdür ve koyu yeşil, zeytin veya mavimsi yeşil renkte olabilir. Yapraklar imparipinnat olup, 3-8 çift salgı bezleri tüylü yaprakçıktan oluşur. Bu yaprakçıkların şekli ovalden eliptiğe kadar değişirken, boyutları 0,6-2,0 cm uzunluğunda ve 0,3-1,0 cm genişliğinde olabilir. Yapraklar, bitkileri böceklerle ve zararlılara karşı koruyan malik ve oksalik asit salgılayan tüyler taşır (Oplinger vd., 1997). Yaprak kenarları sivri uçlu bir tepe ve kama şeklinde bir taban ile 2-5 dişli stipül ile birlikte tırtıklıdır. Nohutta tek ve çiçeklenme bölgelerine ait 2 adet olan koltuk altı çiçekleri bulunur. Çiçek sapı uzunluğu 0,6-3 cm'dir; kaliks uzunluğu 7-10 mm, korolla ise 0,8-12 cm uzunluğundadır ve üçgen şeklinde olabilen brakteler taşır. Hermafrodit çiçek, yumurtalık sapsız ve üstte iken, stamenleri diyadelf (9-1) dizilimini gösterir (Duke, 1981; Cubero, 1987; Van der Maesen, 1987). Nohut dış çevresi eşkenar dörtgen şeklinde olup, kahverengi, beyaz, krem, sarı veya yeşil renkte olabilen yuvarlak ila gaga şeklinde 0-3 tohum taşır ve kriptokotil çimlenme gösterir (Duke, 1981; Cubero, 1987; Van der Maesen, 1987).

1.3.3. Nohutun Ekolojik İstekleri

Nohut, yağışlı serin mevsimde veya yarı kurak bölgelerdeki kuru iklim koşullarında yetiştirilir. Nohutun büyümesi için gündüz 18-26°C, gece ise 21-29°C arası optimum sıcaklığa ve yıllık 600-1000 mm yağışa ihtiyaç vardır. Vertisoller (siyah topraklar) gibi iyi drenajlı topraklar veya pH ~ 5,5-8,6 olan kırmızı topraklar nohut ekimi için en uygun olanlardır. Nohut genellikle uzun gün bitkisidir ancak her fotoperiyotta çiçek açabilir ve uygun tohum oluşumu için %21-41 bağıl neme ihtiyaç duyar (Smithson vd., 1985). Nohut katılımları Akdeniz bölgesi, Batı Asya, Orta Asya ve Hindistan'da genetik ve fenotipik özelliklerde büyük farklılıklar gösterir. Tropik ve subtropik iklim nohut yetiştirmek için çok uygundur ancak yetiştirme alanındaki ilerlemeler sayesinde bu önemli baklagil tanesi ılıman bölgenin iklim koşullarına da uyum sağlayabilir (Milan-Carrillo vd., 2007, Abbo vd., 2007).

1.3.4. Nohutun Üretimi ve Verimi

Nohutta ortalama verim 400-600 kg/ha civarındadır ancak deneysel denemelerde 2000 kg/ha ile 5200 kg/ha arasında olduğu kaydedilmiştir. Sulanan mahsullerin veriminin, yağmurla beslenen mahsullere göre %20-28 daha yüksek olduğu görülmüştür. Önde gelen nohut üreticisi ülkeler arasında, küresel üretimin yüzde 85'inden fazlasına katkıda bulunan Hindistan, Avustralya, Pakistan, Myanmar ve Etiyopya yer alıyor. Son 50 yılda yıllık nohut üretimi 6,4 milyon tondan 14,2 milyon tona çıkmıştır. 2009'dan 2013'e kadar küresel nohut ekim alanı yüzde 25 artarak 11,5 milyon hektardan 13,5 milyon hektara çıkmıştır. 2009'dan 2014'e kadar son beş yılda ortalama olarak Asya, ortalama 9073 hg/ha verimle 10158710 ton üretim yaparken, onu 12135 hg/ha verimle 593568 ton üreten Avustralya takip etmiştir; Avrupa, 10215 hg/ha verimle 121889 ton üretmiştir; Amerika 16426 hg/ha verimle 451457 ton, Afrika ise 9661 hg/ha verimle 42432 ton üretmiştir (FAO 2014).

1.4. Nohutu Etkileyen Abiyotik Stres: Tuzluluk

Nohutun belirsiz bir büyüme alışkanlığı vardır, yani çiçek açtıktan sonra bile vejetatif olarak büyümeye devam eder (Samineni vd., 2011). Bu durum onu tuzluluk, kuraklık, sıcak ve soğuk gibi bir takım çevresel faktörlere karşı duyarlı hale getirir (Turner vd., 2007, Devasirvatham vd., 2012). Toprak tuzluluğu, mahsul verimliliğini sınırlayan önemli bir kısıtlamadır ve dünyadaki ekilebilir alanların neredeyse 80 milyon hektarı bu strese yatkındır (Flowers vd., 2010). Küresel olarak, sulanan alanların yüzde 20'si (45 milyon ha) ve kuru alanların yüzde 2'si (32 milyon ha) tuzluluk nedeniyle tarıma elverişli değildir. (Munns ve Tester, 2008). 21. yüzyılın ikinci yarısında, dünya genelinde tuzlanmış tarım alanlarının oranının %50'ye ulaşabileceği tahmin edilmektedir (Ladeiro, 2012). Ayrıca, 2050 yılına kadar dünya nüfusunun iki milyar daha artması beklenmektedir. Bu durum, toprak tuzluluğunu giderek büyüyen bir tehdit haline getirmekte ve gıda talebini karşılamada büyük bir engel oluşturur. Her yıl yaklaşık 6,4 milyon ton mahsul, toprak tuzluluğu nedeniyle kaybediliyor (Jha vd., 2014). Artan tuzluluk koşullarında, tarımsal üretkenliği koruma veya artırma zorunluluğu giderek daha belirgin hale gelmiştir (Munns ve Tester, 2008; Teakle ve Tyerman, 2010; Amin vd., 2016; Hong vd., 2016). Küresel gıda güvenliğini sağlamak için mahsul üretiminde yaklaşık %70'lik bir artışa ihtiyaç duyuluyor (Tester ve Langridge, 2010). Ancak, tuzluluk bitki büyümesini sınırlandırmakta ve üreme süreçlerini etkileyerek verimde ciddi düşümlere yol açmaktadır (Vadez vd., 2012). Özellikle nohut, tahıllardan farklı

olarak yapısı gereği tuzluluğa karşı daha hassastır. Bu nedenle, tuzluluğa tolerans gösteren genetik özelliklerin ve bu toleransı destekleyen moleküler mekanizmaların anlaşılması büyük önem taşır.

Strese verilen fenotipik tepkiler, bitkinin genetik yapısından ve çevresel değişkenlerle genotip etkileşiminden kaynaklanır (Krishnamurthy vd., 2011, Samineni vd., 2011). Bir gen havuzunda büyük genetik çeşitliliğin varlığı, olumsuz tuzlu koşullara dayanabilenler de dahil olmak üzere arzu edilen özellikleri veren genotiplerin tanımlanmasını sağlar (Vadez vd., 2007, Sohrabi vd., 2008). Tuzluluğa tolerans, toleranslı/hassas genotipleri tanımlamak için tuz stresine tepki olarak kaydedilen çeşitli fizyolojik faktörler tarafından sağlanır (Moses vd., 2008; Turner vd., 2013).

Tuza tolerant bitkilerin tolerans mekanizmalarının fizyolojik temellerini anlamak için, bitki büyümesinin hangi aşamasında kısıtlamalar yaşandığını belirlemek önemlidir. Bitkiler, tuz stresine karşı iki aşamalı bir yanıt geliştirebilir: ilk olarak, dış osmotik basıncın artışına hızlı bir şekilde cevap verirken; ikinci olarak, yapraklarda sodyum iyonlarının birikimine karşı daha yavaş bir yanıt oluştururlar (Munns ve Tester, 2008). Stres koşullarında hayatta kalabilmek için bitkiler çeşitli stratejiler geliştirmekte ve moleküler düzeyde transkripsiyon, mRNA düzenlenmesi, translasyon, protein modifikasyonları ve protein sentezinin durdurulması gibi yollarla stres faktörlerine tepki vermektedirler. Munns ve Tester (2008), bitkilerde tuz tolerans mekanizmasını dört ayrı kategoriye ayırmıştır:

1)Osmotik stres toleransı: Bitki, osmotik stresi algılar algılamaz, kök uçları ve genç yapraklardaki hücrelerin büyümesi üzerinde kısıtlayıcı etki yapar. Ayrıca, stoma hücrelerinin kapanması da bitkinin tolerans yanıtına katkıda bulunmaktadır.

2)Yaprak ayalarından Na^+ iyonlarının atılması: Bu özellik, tuzlu ortamlarda yetişen bitkilerde en çok arzu edilen özelliklerden biridir. Na^+ iyonlarının köklerden atılması, yapraklarda Na^+ birikimini önler. Na^+ iyonlarının atılmasında bir sorun yaşanırsa, bitki türüne bağlı olarak tuz stresinin etkileri günler veya haftalar sonra kendini gösterebilir. İlk aşamada ksileme hızlı Na^+ iyon yüklenmesi, ozmotik düzenlemeye yardımcı olur ve bu da tuz stresine tolerans yanıtında önemli bir rol oynar.

3)Doku toleransı: Bazı bitki türleri, dokularında Na^+ veya Cl^- iyonlarını biriktirerek tolerans yanıtını oluştururlar. Bu tolerans mekanizması, Na^+ ve Cl^- iyonlarının hücre

içinde ve hücreler arasında farklı bölgelere ayrılmasıyla sağlanır. Hücre içindeki özelleşmiş bu alanlarda iyonların toplanması, sitoplazmada birikimlerini engeller. Örneğin kinoa, yaprak torbacıklarında bu iyonların biriktirilmesi sayesinde su kaybını azaltmasına yardımcı olur (Adolf vd., 2013).

4)Osmotik çözücülerin birikmesi: Organik çözücülerin hücre sitoplazmasında birikmesi, osmotik düzenlenmeyi sağlayarak Na^+ iyonlarının hücre içinde birikmesini engeller. Ozmoprotektan olarak bilinen bu bileşiklerden bazıları prolin, glisin-betain, trehaloz, mannitol ve sorbitoldür (Rao vd., 2016). Stres koşulları altında bitkilerde prolin birikimi gözlemlendiğinde, bu durum genellikle bitkinin stres koşullarına karşı tolerans geliştirdiği şeklinde yorumlanmaktadır (Kishor vd., 2005).

1.5. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit (H_2O_2), bitki hücrelerinde kloroplastta, mitokondride, endoplazmik retikulumda, plazma membranının elektron taşıma reaksiyonlarında, yağ asidinin β -oksidasyonunda ve fotorespirasyonda oluşan bir bileşiktir (Mittler ve Zilinskas, 1991). Bitkilerin gelişimi ve büyümesi için önemli olan bu bileşik aynı zamanda ortaya çıkan streslerde hayatta kalabilmek için gerekli tepkimeleri düzenlemeye yardımcı olur. H_2O_2 'nin bitkilerin abiyotik ve biyotik stres tepkilerindeki rolü, özellikle bir sinyal molekülü olarak işlevi ve fitohormonlar ile redoks bağımlı sinyal yollarıyla etkileşimi nedeniyle büyük bir ilgi görmüştür. (Mhamdi A, 2023).

1.6. Prolin

Prolin, olağanüstü bir konformasyonel sertliğe sahip olan ve protein sentezi için gerekli bir amino asittir. Araştırmalar, yüksek yapılı bitkilerin çeşitli çevresel stres koşulları altında prolin seviyelerinde artış gösterdiğini ortaya koymaktadır. Prolin birikimi, kuraklık, yüksek tuzluluk, aşırı ışık ve UV ışınları, ağır metaller, oksidatif stres ve biyotik stres gibi faktörlere yanıt olarak gerçekleşmektedir. Prolin metabolizmasının gelişim ve stres yanıtları üzerindeki etkileri karmaşık bir yapıdadır ve prolin birikiminin belirli olumsuz çevresel koşullara karşı tolerans sağlamak için kritik bir öneme sahip olduğu bilinmektedir (Szabados ve Savouré, 2010).

1.7. Toplam Çözünebilir Şekerler

Çözünebilir şekerler, bitkilerin gelişim aşamalarında çeşitli süreçleri kontrol eden önemli metabolik substratlardır. Glikoz, sakkaroz ve fruktoz gibi şekerler, bitki dünyasında yaygın olarak bulunur ve tüm bitki düzeyinde yapı ve metabolizmanın belirleyici unsurlarıdır. Ayrıca, bitki gelişimini düzenleyen hayati sinyaller olarak işlev görürler ve çevresel streslere karşı son derece duyarlıdırlar. Abiyotik stresler, örneğin kuraklık, sıcaklık, tuzluluk, donma veya soğutma, karbonhidratların kaynaktan dokulara taşınmasını etkilerler. Çözünebilir şekerler, besin kaynağı, osmo koruyucu ve metabolit sinyal molekülleri olarak önemli roller üstlenir ve çeşitli abiyotik stres tepkimelerinde etkin bir şekilde rol alırlar (Afzal vd., 2021).

1.8. Poliaminler

Poliaminler (PA'lar), iki veya daha fazla amino grubu içeren düşük molekül ağırlıklı alifatik azotlu bileşenlerdir. Bu bileşikler, organizmalar tarafından metabolizma sırasında sentezlenir ve neredeyse tüm hücrelerde bulunur. Bitkilerdeki başlıca poliaminler putresin (Put), spermidin (Spd) ve spermin (Spm) olarak bilinir. Bu bileşikler, çiçek gelişimi, embriyogenez, organogenez, yaşlanma (senesens) ve meyve olgunlaşması gibi çeşitli fizyolojik süreçlerin düzenlenmesinde kritik rol oynar. Bitki büyüme ve gelişim süreçlerinde ve çevresel stres yanıtlarında önemli işlevleri nedeniyle, yeni nesil bitki biyostimülanları olarak değerlendirilirler (Chen vd., 2019).

1.9. Askorbik Asit

Askorbik asit, fotosentez, hormon biyosentezi ve diğer antioksidanların yenilenmesini düzenleyen enzimler için önemli bir yardımcı faktör ve etkili bir redoks tamponu görevi görmektedir. Hücre bölünmesi ve büyümesini düzenlerken, aynı zamanda sinyal iletiminde de rol oynamaktadır. Askorbik asit konsantrasyonu, bitkilerdeki diğer antioksidanların konsantrasyonlarından daha yüksek olması sebebiyle en önemli antioksidan olarak değerlendirilmektedir. Yüksek konsantrasyonu, askorbik asidin hücrel redoks dengesine en büyük katkıyı sağlamasını mümkün kılar ve fotosentetik işlevlerin sürdürülmesinde kritik bir rol oynar. Bu işlevlerinin yanında askorbik asit fotosentetik aparatı ve diğer hücrel

bileşenleri oksidatif hasardan korumak amacıyla reaktif oksijen türlerini (ROS) detoksifiye etmekte kullanılmaktadır (Gallie, 2013).

1.10. Yaprak Alanı

Toplam yaprak alanı, bireysel bitkilerin su kaybı üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Zira geniş yaprak alanlarına sahip bitkiler, genellikle daha dar yaprak alanlarına sahip olanlardan daha fazla transpirasyon gerçekleştirir. Yaprak alanı ve düzeni, bir bitkinin yaşam döngüsü boyunca değişiklik gösterir; bu değişiklikler, yaprak hareketleri çok hızlı bir şekilde meydana gelebilir (Bhattacharya, 2019). Bitki üzerinde oluşan abiyotik ve biyotik stresler yaygın olarak bitki yaprak alanlarında azalmaya neden olurlar.

1.11. Stoma Açıklığı

Stomalar, bitkilerin toprak üstü kısımlarındaki epidermiste bulunan ve bekçi hücreleri olarak adlandırılan iki hücreyle çevrili mikroskobik gözeneklerdir. Bekçi hücrelerinin turgor durumu, stomaların açılıp kapanma mekanizmasını yönetir. Bu süreç, fotosentez için gerekli olan karbondioksitin (CO_2) alımını sağlarken, aynı zamanda oksijenin (O_2) salınımını ve terleme yoluyla bitkinin iç sıcaklığının düzenlenmesini mümkün kılar. Böylece, bitkideki gaz dengesinin korunmasına katkıda bulunur. Gaz dengesinin korunmasına katkıda bulunan stomaların su kaybını düzenlemede temel rolü bulunmaktadır, stomaların farklı abiyotik stres koşulları altında bitkinin su kullanım verimliliğini önemli ölçüde etkileyeceği öngörülmektedir (Matkowski vd., 2023).

1.12. Enzimatik Antioksidanlar

Oksidatif stres, reaktif oksijen türlerinin (ROT) birikmesiyle ortaya çıkan bir stres türüdür. Bu stres faktörü, yüksek konsantrasyonlarda hücresel bileşenler üzerinde zararlı etkiler yaratabilir (McCord, 2000). Bitkiler, hem reaktif oksijen türlerinin oluşumunu sınırlayan hem de bu türlerin temizlenmesini sağlayan antioksidan sistemlere sahiptir. Bu sayede hücre ölümünü engelleme konusunda etkili bir savunma mekanizması geliştirmiş olurlar (Mittler vd., 2004).

1.12.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz (SOD), süperoksit radikalini ($O_2^{\cdot-}$) hidrojen peroksit (H_2O_2) haline dönüştüren bir enzimi temsil eder. Bu enzim, aktif bölgelerindeki metal iyonlarına göre bakır ve çinko (Cu/Zn SOD), manganez (MnSOD) veya demir (FeSOD) şeklinde sınıflandırılabilir. Yapılan araştırmalar, SOD'ların ifadesindeki artışların, biyotik ve abiyotik stres kaynaklı oksidatif stresle başa çıkmada ve bitkilerin stresli ortamlarda hayatta kalmalarını sağlamada kritik bir rol oynadığını göstermektedir (Sezgin-Muslu, 2020).

1.12.2. Katalaz (CAT)

Katalaz, peroksizomlarda bulunan enzimatik antioksidanlardan biridir. CAT molekülü, hidrojen peroksidi (H_2O_2) hızlı bir şekilde su (H_2O) ve oksijene (O_2) dönüştürebilir, böylece H_2O_2 'nin hücrelerdeki zararlı etkilerini azaltır (Shim vd., 2003). Stres koşulları altında oluşan zararlı H_2O_2 'nin doğrudan H_2O ve O_2 'ye dönüşümünü sağlayarak hücreleri strese karşı koruma işlevi gören enzimatik antioksidanlar arasında önemli bir yere sahiptir (Büyük vd., 2012).

1.12.3. Askorbat Peroksidaz (APX)

Birçok organizmada, stres koşulları altında APX enziminin aktivitesinde artışlar gözlemlenmiştir. Bitkilerde meydana gelen veya stres nedeniyle yükselen H_2O_2 'nin temizlenmesinde APX kritik bir işlev üstlenir. Askorbat peroksidaz (APX), askorik asit-glutasyon döngüsünün önemli bileşenlerinden biridir ve hücre içindeki reaktif oksijen türlerinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. APX, sitozolde ve kloroplastlarda bulunan H_2O_2 'yi etkili bir şekilde ortadan kaldırır (Sezgin Muslu, 2020).

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Bitkilerin Büyütülmesi ve Stres Uygulamaları

Bu tez çalışmasında Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen *Cicer arietinum* 'a ait Küsmen ve Gökçe çeşitleri kullanılmıştır. Gökçe kuraklık stresine dayanıklı, Küsmen ise hassas (Ardıç vd., 2009) olduğu için tercih edilmiştir. Yüzey sterilizasyonunun ardından (0.1 % çamaşır suyu, 5dk) hoagland sıvı besi ortamında vermikülit destek ortamı içerisinde büyütülen nohut bitkilerine 2 gün boyunca 100 μ M sistein(L-sistein,Sigma Aldrich,Katalog No:168149-25G) uygulanmıştır. Sistein belirlenen derişimde hoagland besiyerine ilave edilmiştir. Sistein uygulamasından takiben 5 gün süreyle 100 mM NaCl uygulaması yapılmıştır (Tablo 2).

Tablo 2.Deney grupları ve yapılacak uygulamalar

Gruplar	Hoagland	Sistein	Tuz	Süre
Kontrol	10 gün boyunca sadece hoagland ihtiva eden besiyerinde tutulmuştur.	Sistein uygulaması yapılmamıştır. Bitkiler 2 gün boyunca sadece hoagland ihtiva eden besiyerinde tutulmuştur.	Uygulama yapılmamıştır. Bitkiler 5 gün boyunca sadece hoagland ihtiva eden besiyerinde tutulmuştur.	17 gün
NaCl	10 gün boyunca sadece hoagland ihtiva eden besiyerinde tutulmuştur.	Sistein uygulaması yapılmamıştır. Bitkiler 2 gün boyunca sadece hoagland ihtiva eden besiyerinde tutulmuştur.	5 gün boyunca 100 mM NaCl uygulanmıştır.	17 gün

Tablo 2'nin devamı

Sistein	10 gün boyunca sadece hoagland ihtiva eden besiyerinde tutulmuştur.	2 gün boyunca 100 μ M sistein uygulanmıştır.	Tuz (NaCl) uygulaması yapılmamıştır. Bitkiler 5 gün boyunca sadece hoagland ihtiva eden besiyerinde tutulmuştur.	17 gün
Sistein+ NaCl	10 gün boyunca sadece hoagland ihtiva eden besiyerinde tutulmuştur.	2 gün boyunca 100 μ M sistein uygulanmıştır.	5 gün boyunca 100 mM NaCl uygulanmıştır.	17 gün

2.2. Sistein Uygulamasının Tuz Stresine Dayanıklılık Seviyesi Üzerinde Etkisinin Belirlenmesi

Tablo 2'deki uygulamaları takiben bitkilerin tuz stresine dayanıklılık seviyelerini belirlemek için toplam kuru ağırlık, nisbi su içeriği, toplam klorofil içeriği, stoma açıklığı ve lipid peroksidasyonu belirlenmiştir.

2.2.1. Bitki Toplam Kuru Ağırlığının Belirlenmesi

Her gruptan 10 adet bitki uygulamaların bitiminde hasat edilip analitik terazi ile tartıldıktan sonra 70 °C' de 24 saat etüvde kurutulup kuru ağırlıkları bir analitik terazi yardımıyla tartılmıştır.

2.2.2. Nispi Su İçeriğinin (%NSİ) Belirlenmesi

Hasat sonrası, Tablo 2'de belirtilen her gruptan ayrı ayrı 3'er tekrar ile bitkilerden 3 yaprak alınmış, tartılarak yaş ağırlıkları (YA) belirlenmiştir. Yapraklar, turgor durumunu

sağlamak amacıyla saf suda yüzecek şekilde 24 saat boyunca kapaklı petri kaplarında +4 °C bekletilmiştir. Bu sürenin ardından, yaprakların turgorlu ağırlıkları (TA) kaydedilmiştir. Daha sonra, yapraklar 70 °C’de 24 saat süreyle etüvde kurutulmuş ve kuru ağırlıkları (KA) saptanmıştır. Elde edilen veriler ile % Niteliksel Su İçeri (NSİ) değeri formül yardımıyla hesaplanmıştır. (Barr ve Weatherley, 1962).

$$\% NSİ = \frac{Taze Ağırlık - Kuru Ağırlık}{Turgid Ağırlık - Kuru Ağırlık} \times 100$$

2.2.3. Toplam Klorofil İçeriğinin Belirlenmesi

Hasat sonrası, Tablo 2’de belirtilen her gruptan 0.1 yaprak örneği %80 aseton içerisinde homojenize edilmiştir. Homojenatlar 15 dakika boyunca 13 000 g’de santrifüj edilerek ve süpernatantlar toplam klorofil içeriğini belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Örneklerin absorbans değerleri Lichtenthaler ve Welburn (1983)’a göre 663, 645, 450 nm’de spektrofotometrede okunmuş ve hesaplanmıştır.

$$\text{Klorofil a (mg/g)} = (12.7 \times A_{663}) - (2.59 \times A_{645})$$

$$\text{Klorofil b (mg/g)} = (22.9 \times A_{645}) - (4.7 \times A_{663})$$

$$\text{Toplam klorofil (mg/g)} = (8.2 \times A_{663}) + (20.2 \times A_{645})$$

2.2.4. Yaprak Alanlarının Belirlenmesi

Yapraklar fotoğrafları ölçekli olarak (cetvel konularak) kaydedilmiştir. Daha sonra bu fotoğraflar imageJ yazılımı ile analiz edilmiş ve yaprak alanları hesaplanmıştır.

2.2.5. Stoma Açıklığının Belirlenmesi

10 adet yaprağın alt yüzeyindeki ana damar ile sağ ve sol lateral damarlar arasında kalan yaprak ucu bölgesinden yaklaşık 1 × 1 cm’lik alan üzerine ince bir tabaka hâlinde tırnak cilası uygulanmıştır. Uygulanan cilanın kısa bir süre içerisinde kurummasının ardından, bistüri ve pens yardımıyla yüzey dikkatlice çıkarılmıştır. Hazırlanan örnekler, 10x40 büyütme kapasitesine sahip Zeiss Primostar 3 mikroskobunda incelenerek ve görüntüleri

fotoğraflanarak bilgisayar ortamına aktarılmıştır. Kaydedilen bu görüntüler üzerinde, Zen Blue Edition yazılımı kullanılarak stomalar üzerinde gerekli ölçümler gerçekleştirilmiştir.

2.2.6. Lipid Peroksidasyonunun (Malondialdehit İçeriği) Belirlenmesi

Lipid peroksidasyonu, malondialdehit (MDA) konsantrasyonu ölçümü ile değerlendirilmiştir. 0.1 g yaprak örneği, % 0.1'lik trikloroasetik asit (TCA) ile homojenize edilip 10,000 g devirde santrifüjlenmiştir. Ardından, süpernatant kısmı % 0.5 tiobarbitürik asit (TBA) içeren % 20'lik TCA çözeltisi ile karıştırılmış ve elde edilen karışım 95 °C'deki su banyosunda 30 dakika bekletildikten sonra reaksiyon buz banyosunda sonlandırılmıştır. Tekrar santrifüj edilen örneklerin absorbans değerleri spektrofotometrede 532 ve 600 nm dalga boylarında ölçülmüştür. Hesaplama işlemi için aşağıdaki formül kullanılmıştır (Madhava Rao ve Sresty, 2000).

$$MDA = (532 - 600) \times \text{Ekstrakt hacmi (ml)} / (155 \text{ mM/cm} \times \text{örnek miktarı (mg)})$$

2.3. Tuz Stresine Dayanıklılığın Osmotik Düzenleme ile İlişkisinin Belirlenmesi

Tuz stresine dayanıklılığın osmotik düzenleme ile ilişkisini belirlemek için prolin, toplam şeker ve poliamin (putresin, spermin ve spermidin) içerikleri ile prolin 5 karboksilat sentaz (prolin sentezi), trehaloz 6 fosfat sentaz (şeker sentezi) ve arginin dekarboksilaz (poliamin sentezi) genlerinin ifadeleri incelenmiştir.

2.3.1. Prolin Miktarının Belirlenmesi

Prolin miktarının belirlenmesi, spektrofotometrik olarak asit-ninhidrin metoduyla yapılmıştır. Yapraklarda prolin tayini için her bir gruptan alınan 0,1g bitki örneği %40'lık etanol içerisinde homojenize edilmiştir. Homojenat +4°C'de bir gece bekletilir ve ardından 14,000 g'da (15 dk) santrifüjlenir. Santrifüj sonrası süpernatantlar alınarak asetik asit %60, %1 ninhidrin ve %20 etanol içeren reaksiyon çözeltisine eklenmiştir. Sonrasında örnekler 95°C'ye ayarlı etüve alınıp 30 dakika bekletilip ve ardından oda sıcaklığına inmesi amacıyla 15 dk. beklenilerek absorbans değerleri 520 nm' de ölçülmüştür (Carillo vd., 2008).

2.3.2. Toplam Çözünabilir Şeker İçeriğinin Belirlenmesi

Yapraklarda toplam şeker içeriğini belirlemek için her bir gruptan 0.1 g kuru yaprak örneği, %80 etanol ile homojenize edilip ardından santrifüjlenerek, 70 °C'deki su banyosunda 30 dakika bekletilmiştir. Bu işlemin ardından, karışım hemen buz ortamında soğutulmuş ve 14,000 devirde 30 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Elde edilen ekstrakta fenol ve sülfürik asit ilave edilerek spektrofotometrede 490 nm dalga boyunda absorbans ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar, glikoz kullanılarak oluşturulan standart eğriye göre $\mu\text{mol mg}^{-1}$ kuru yaprak olarak hesaplanmıştır (DuBois vd., 1956).

2.3.3. Poliamin İçeriğinin Belirlenmesi

Poliamin içeriği, Flores ve Galston (1982) yöntemine uygun olarak belirlenmiştir. Bu amaçla, 5 g taze yaprak dokusu 10 ml 0,4 M perklorik asit ile homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenat, 4 °C'de 18,000 g kuvvetinde 20 dakika santrifüjlenmiştir. Süpernatant dikkatlice ayrılmış, üzerine 10 ml 0,4 M perklorik asit eklenmiş ve aynı koşullarda yeniden santrifüjlenmiştir. Elde edilen süpernatantlar birleştirilmiş ve toplam hacim perklorik asit ile 25 ml'ye tamamlanmıştır. Daha sonra süpernatant, Whatman filtre kağıdı kullanılarak süzülmüştür. Süzüntünün 1 ml'sine 200 μl 1 M NaOH ve 300 μl sodyum hidrojen karbonat eklenmiş, karışım 30 saniye boyunca vorteks cihazında karıştırılmıştır. Bu karışıma 2 ml dansil klorit ilave edilmiş ve 40 °C'de 45 dakika boyunca inkübe edilmiştir. Reaksiyon, 100 μl %25 amonyum hidroksit eklenerek sonlandırılmıştır. Karışım oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra, toplam hacim asetonitril ile 5 ml'ye tamamlanmıştır. Daha sonra karışım, 2,500 g kuvvetinde 5 dakika santrifüjlenmiştir ve elde edilen süpernatant, 0,22 μm 'lik filtrelerden geçirilerek HPLC cihazına yüklenmiştir. Poliamin analizi, UV/VIS dedektöre sahip Shimadzu LC-20AT/Prominence HPLC cihazı (Japonya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kullanılan mobil faz oranı, amonyum asetat: asetonitril (%65: %35, v/v) olup, akış hızı 0,70 ml/dk ve kolon sıcaklığı 50 °C olarak belirlenmiştir. Analiz, C18 kolonunda (4.6 $\times$ 250 mm) 254 nm dalga boyunda yapılmış ve 20 μl ekstre enjekte edilmiştir. Putresin, spermin ve spermidin konsantrasyonları, bilgisayar yazılımı kullanılarak hesaplanmış ve sonuçlar gram taze ağırlık başına μg cinsinden ifade edilmiştir.

2.3.4. Gen İfade Analizi

Gen ifadeleri total RNA moleküllerinin kullanıldığı qPCR yöntemi ile analiz edilmiştir.

2.3.4.1. Total RNA İzolasyonu

Her bir gruptaki bitkilerden ayrı ayrı RNA izolasyonları gerçekleştirilmiştir. İzolasyon işlemi, FavorPrep Plant Total RNA Purification Mini Kit kullanılarak, kitin protokolüne uygun bir şekilde gerçekleştirilmiştir. RNA izolasyonu sırasında RNaz kontaminasyonunu önlemek amacıyla, denemede kullanılan tüm plastik ve cam malzemeler ile gerekli çözeltiler dietilpirokarbonat (DEPC) ile muamele edilmiştir. DEPC muamelesinin yanı sıra, malzemeler 121 °C ve 0.1 MPa basınçta 15 dakika otoklavlanmış ve ardından 105 °C’de en az bir gece bekletilmiştir. Havan ve havan kolları ise 300 °C’de bir gece boyunca muhafaza edilmiştir. RNA izolasyon işlemi, RNaz kontaminasyonunu engellemek için steril bir kabin içerisinde gerçekleştirilmiştir.

2.3.4.2. RNA Miktarının ve Saflığının Belirlenmesi

RNA örneklerinin miktarı ve saflığı RNA miktarı bir nanodrop kullanılarak ölçülmüştür. Saflık kontrolünde 260 ve 280 nm dalga boylarındaki absorbans değerlerinin oranı (A260/A280) kullanılmıştır. Bu oran 1.8-2.0 değer aralığında hesaplanmıştır. Elde edilen RNA’lar -80 ° C’de kullanılabilecek kadar muhafaza edilmiştir.

2.3.4.3. Kantitatif Real-Time PCR (qRT-PCR) Ölçümü

Kantitatif RT-PCR analizi aşağıdaki şekilde gerçekleştirilmiştir. İzole edilen toplam RNA örneklerinden, grup başına 2000 ng olacak şekilde yüksek kapasiteli cDNA ters transkripsiyon kiti (Applied Biosystems) kullanılarak cDNA sentezi yapılmıştır. Ters transkriptaz (RT)-PCR işlemi, cDNA örnekleri ile Eva Green qPCR Supermix (Solis Biodyne) çözeltisi kullanılarak CFX Connect Real Time PCR System (BioRad) cihazında gerçekleştirilmiştir. Standart protokol, 30 döngü boyunca 95 °C’de 45 saniye, 65 °C’de 45 saniye ve 72 °C’de 60 saniye süreyle ayarlanmıştır. Kullanılan primerler Tablo 3’te sunulmaktadır.

Tablo 3.Gen ve primer bilgileri

Gen	Primer Çifti	Sekans	PCR Ürün Boyutu (bp)	GenBank Erişim No.
Delta-1- proline-5- karboksilat sentaz	P5CS-F P5CS-R	TTCGCAGCTCGTTCTATCCG CCTCGACGACAACACGATTG	138	NM_0013 09676.2
Trealoz 6 fosfat sentaz	T6PS-F T6PS-R	ACAGGGTGTGAGCAAGGGATTAG CCGACAAACGGTGCAAGCGAA	190	CD05130 5
Arjinin dekarboksilaz	ADC-F ADC-R	CGCCGTTTACATTTTCTGCT AGTAAGGAAAACCCCAGCCG	126	XM_0045 07452.3
Katalaz	CAT-F CAT-R	AGGCTTTATCTGACCCACGC TGGTTGGCGAGGACCTTAAC	145	XM_0045 00820.3
Aktin-1	ACT-F ACT-R	TGTCTTGAGTGGTGGTTCTAC TTCATCATATTCTGCCTTTG	202	XM_0045 00820.3

2.4. Tuz Stresine Karşı Dayanıklılığın Antioksidan Sistemle İlişisinin Belirlenmesi

Tuz stresine karşı dayanıklılığın antioksidan sistemle ilişkisinin belirlenmesi amacıyla antioksidan enzim aktiviteleri (süperoksit dismutaz, peroksidaz, katalaz ve askorbat peroksidaz), askorbik asit düzeyleri ve katalaz gen ifadesi araştırılmıştır.

2.4.1. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

Ekstraksiyon işlemi için her bir gruptaki bitkiden 0.1 g bitki yaprağı, sıvı azot ile homojenize edildikten sonra üzerine 5 ml soğuk homojenat tamponu (%1 PVP ve 1 mM EDTA içeren 0.1 M KH_2PO_4 , pH: 7.0) eklenmiş ve karışım bir santrifüj tüpüne

aktarılmıştır. Bu karışım, 15,000 g ve +4 °C'de 15 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası elde edilen süpernatant, antioksidan enzimlerin aktivite ölçümleri için kaynak olarak kullanılmıştır (Angelini vd. 1990).

2.4.1.1 Katalaz Aktivitesi (CAT)

Katalaz (EC 1.11.1.6) aktivitesi, Aebi (1983) yöntemine uygun olarak belirlenmiştir. Enzim aktivitesi, 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7,0), 30 mM H₂O₂ ve 20 µl enzim ekstraktı içeren toplam 1 ml hacmindeki reaksiyon karışımının 240 nm dalga boyunda, 5 dakika boyunca ölçülmesiyle değerlendirilmiştir. Aktivite hesaplamalarında, H₂O₂ için molar ekstinksiyon katsayısı ($\epsilon=39,4 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$) kullanılmıştır.

2.4.1.2.Peroksidaz Aktivitesi (POD)

Peroksidaz (EC 1.11.1.7) aktivitesi, Urbanek ve arkadaşlarının (1991) tanımladığı yöntem doğrultusunda belirlenmiştir. Enzim aktivitesi, 100 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7,0), 0,1 mM EDTA, 5 mM guaiakol, 15 mM H₂O₂ ve 50 µl enzim ekstraktı içeren toplam 2 ml hacmindeki reaksiyon karışımının 470 nm dalga boyunda, 1 dakika boyunca ölçülmesiyle tespit edilmiştir. Aktivite hesaplamalarında, guaiakol için molar ekstinksiyon katsayısı ($\epsilon=26,6 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$) kullanılmıştır.

2.4.1.3.Süperoksit Dismutaz Aktivitesi (SOD)

Süperoksit dismutaz (EC 1.15.1.1) aktivitesi, Beauchamp ve Fridovich (1971) tarafından geliştirilen yöntem esas alınarak belirlenmiştir. Analiz, 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7,8), 0,1 mM EDTA, 13 mM metiyonin, 75 µM nitro blue tetrazolyum (NBT) ve 50 µl enzim ekstraktı içeren toplam 1 ml reaksiyon karışımına, 2 µM riboflavin ilavesiyle reaksiyonun başlatılmasıyla gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan karışım, 375 µmol m⁻² s⁻¹ şiddetindeki beyaz ışığa 10 dakika süreyle maruz bırakıldıktan sonra, 560 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülerek enzim aktivitesi hesaplanmıştır.

2.4.1.4. Askorbat Peroksidaz Aktivitesi (APX)

Askorbat peroksidaz enzim aktivitesi, Nakano ve Asada (1987) tarafından önerilen yöntem doğrultusunda ölçülmüştür. Reaksiyon karışımı, 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7,0), 0,25 mM askorbik asit, 1 mM H₂O₂ ve 50 µl protein içermektedir. Hazırlanan

karışımındaki absorbans değışimleri, 290 nm dalga boyunda 3 dakika boyunca kaydedilmiştir. Askorbat peroksidaz aktivitesi, 1 µM askorbatın oksidasyonu için gerekli enzim miktarı olarak ifade edilmiştir.

2.4.1.5 Protein Tayini

Analizler için yapraktan izole edilen protein örneklerinden 100 µl alınarak üzerine 5 ml Bradford Reagent eklenmiştir. Hazırlanan örnekler 10 dakika karanlıkta bekletildikten sonra köre karşı 595 nm’de okutulmuştur. Deney sonunda standart eğriye bağılı olarak örneklerdeki toplam protein konsantrasyonu hesaplanmıştır (Bradford 1976).

2.4.2. Askorbik Asit İçeriğı (ASC)

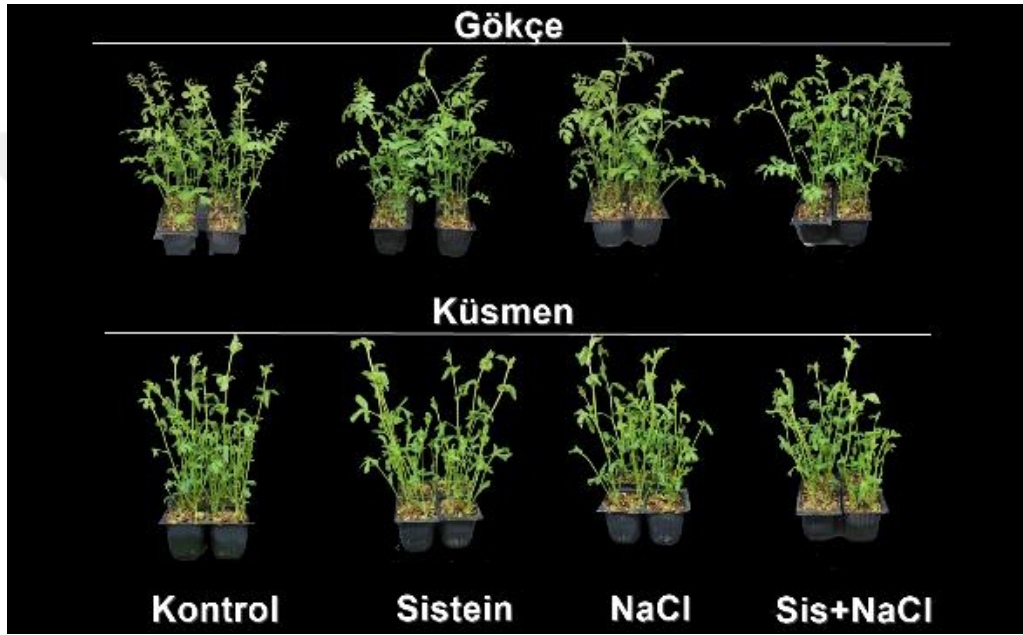
Yaprak askorbik asit içeriğı, Jagota ve Dani (1982) yöntemine uygun olarak belirlenmiştir. Bu amaçla, 0,1 g yaprak numunesi %10 trikloroasetik asit (TCA) içeren 1,5 ml çözeltide homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenat, 4 °C’de 3,000 g kuvvetinde 5 dakika santrifüjlenmiştir. Süpernatantın 0,2 ml’si alınarak damıtılmış su ile toplam hacim 2 ml’ye tamamlanmıştır. Folin–Ciocalteu reaktifi (2 M) damıtılmış su ile 0,2 M’ye seyreltilmiştir. Seyreltilmiş süpernatant ve reaktiften her birinden 0,2 ml alınarak vorteks cihazında karıştırılmıştır. Hazırlanan karışım, oda sıcaklığında karanlık ortamda 10 dakika süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından, karışımın absorbansı, kör olarak damıtılmış suya karşı 760 nm dalga boyunda ölçülmüştür.

2.4.3. İstatistikî Analizler

Denemeler, tesadüf parselleri deneme desenine göre planlanmış ve her bir muamele üç tekerrür olacak şekilde düzenlenmiştir. Elde edilen verilerin ortalamaları, “SPSS 20 for Windows” yazılımı kullanılarak varyans analizine tabi tutulmuş, gruplar arası farkların karşılaştırılmasında Duncan testi uygulanmıştır.

3. BULGULAR

Uygulamaları takiben bitkilerin, tuz stresine dayanıklılıkları ve sisteinin buradaki rolü hususunda görsel bilgi edinmek amacıyla fotoğraflama yapılmıştır (Şekil 1). Buna göre Gökçe çeşidinin, Küsmen çeşidine göre, tuz stresine (100 mM NaCl) daha dayanıklı olduğu ve sisteinin tuz stresinin olumsuz etkilerinin iyileştirilmesinde rolü olabileceği konusunda fikir edinilmiştir.

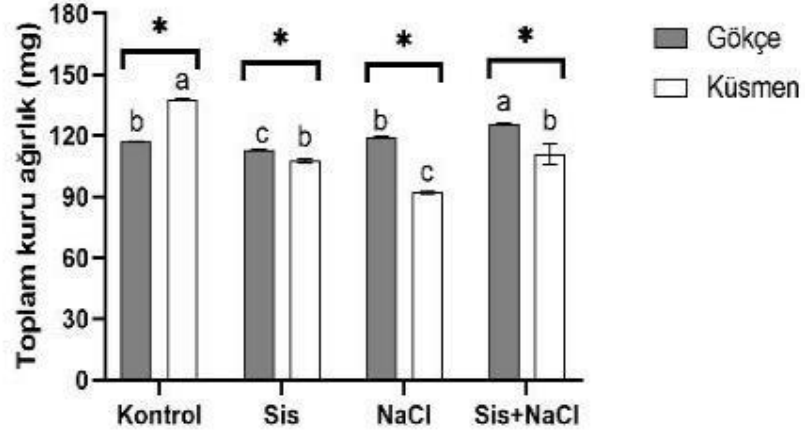


Şekil 1. Gökçe ve Küsmen çeşitleri için kontrol bitkilerinin ve uygulama yapılan bitkilerin görselleri

3.1. Sistein Uygulamasının Tuz Stresine Dayanıklılık Seviyesi Üzerinde Etkisinin Belirlenmesi

3.1.1. Kuru Ağırlık

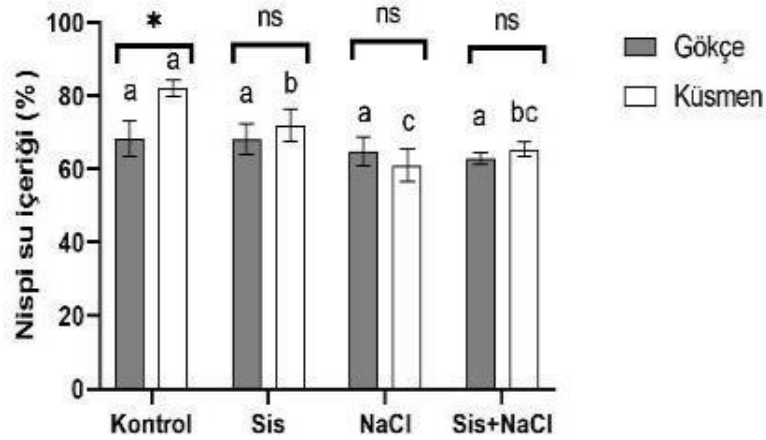
Yapılan uygulamalar sonucunda, toplam kuru ağırlığın kontrol grubuna kıyasla NaCl stresi altında Küsmen çeşidinde %33, Gökçe çeşidinde ise %2 azaldığı belirlenmiştir. Bununla birlikte, sistein uygulaması (Sistein+NaCl) ile toplam kuru ağırlığın NaCl stresi grubuna göre Küsmen çeşidinde %20, Gökçe çeşidinde %5 arttığı belirlenmiştir (Şekil 2.).



Şekil 2.Kuru ağırlıkta meydana gelen değişimler Sütunlar üzerindeki barlar standart sapmayı temsil etmektedir. Farklı küçük harfler çeşitlerin kendi içerisindeki uygulamalar arasında $p < 0.05$ önem seviyesinde fark olduğu ifade etmektedir. Yıldızlar ise farklı çeşitler arasında aynı uygulamalar açısından $p < 0.05$ önem seviyesinde fark olduğunu göstermektedir.

3.1.2. Nispi Su İçeriği (NSİ)

NaCl stresi uygulaması sonucunda, Küsmen çeşidinde nispi su içeriğinde kontrol grubuna kıyasla %26 azalma gözlemlenmiştir. Öte yandan, Gökçe çeşidinde nispi su içeriğinde belirgin bir değişim tespit edilmemiştir (Şekil 3).

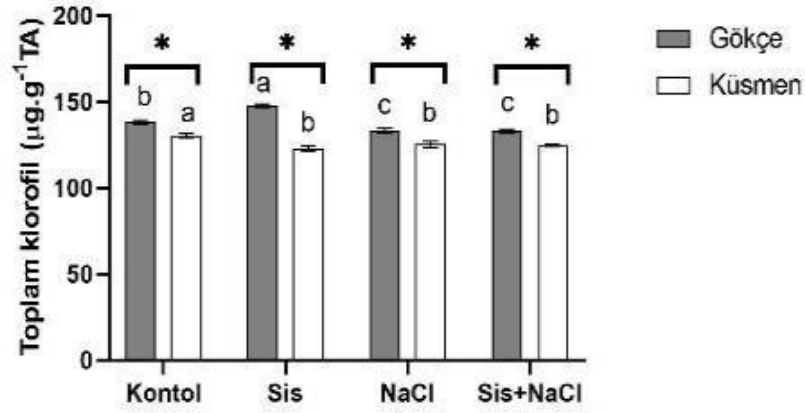


Şekil 3.Nispi su içeriğinde meydana gelen değişimler Sütunlar üzerindeki barlar standart sapmayı temsil etmektedir. Farklı küçük harfler çeşitlerin kendi içerisindeki uygulamalar

arasında $p<0.05$ önem seviyesinde fark olduğu ifade etmektedir. Yıldızlar ise farklı çeşitler arasında aynı uygulamalar açısından $p<0.05$ önem seviyesinde fark olduğunu göstermektedir.

3.1.3. Toplam Klorofil İçeriği

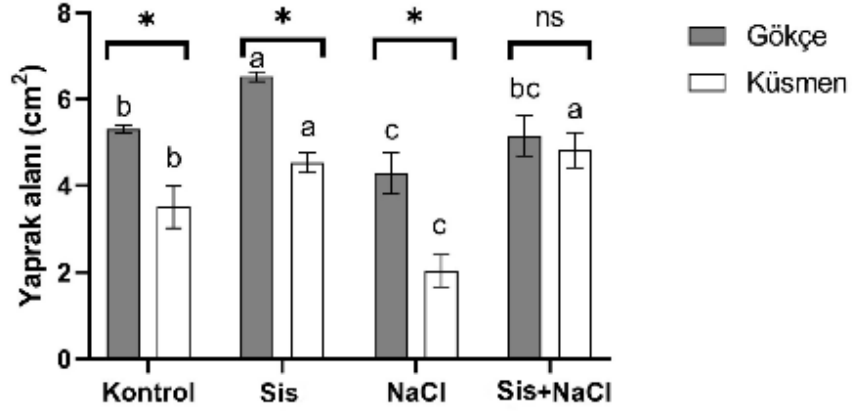
Toplam klorofil içeriği, Gökçe çeşidinde Küsmen çeşidine kıyasla daha yüksek belirlenmiştir. Bununla birlikte, her iki çeşitte de NaCl uygulaması sonucunda klorofil içeriğinde kontrol grubuna göre %3 azalma gözlemlenmiştir. Ayrıca, sistein uygulamasının toplam klorofil içeriğini artırmada etkili olmadığı belirlenmiştir (Şekil 4.).



Şekil 4. Toplam klorofil içeriğinde meydana gelen değişimler Sütunlar üzerindeki barlar standart sapmayı temsil etmektedir. Farklı küçük harfler çeşitlerin kendi içerisindeki uygulamalar arasında $p<0.05$ önem seviyesinde fark olduğu ifade etmektedir. Yıldızlar ise farklı çeşitler arasında aynı uygulamalar açısından $p<0.05$ önem seviyesinde fark olduğunu göstermektedir.

3.1.4. Yaprak Alanı

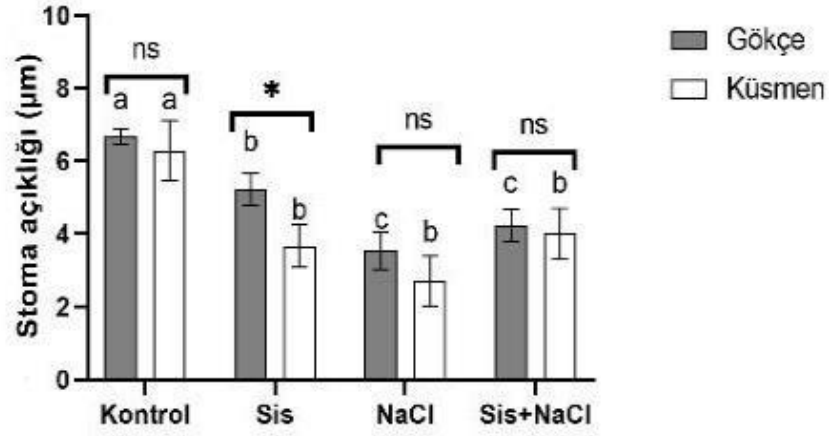
NaCl uygulamasında kontrol grubuna göre Küsmen çeşidinde %42, Gökçe çeşidinde ise %5 azaldığı belirlenmiştir. Sistein+NaCl grubunda ise yaprak alanında NaCl stresi grubuna kıyasla Küsmen çeşidinde %137, Gökçe çeşidinde ise %20 artış gözlemlenmiştir. Sistein uygulamasında kontrol grubuna göre Küsmen çeşidinde %30 artış belirlenmiştir (Şekil 5.).



Şekil 5.Yaprak alanında meydana gelen değişimler. Sütunlar üzerindeki barlar standart sapmayı temsil etmektedir. Farklı küçük harfler çeşitlerin kendi içerisindeki uygulamalar arasında $p<0.05$ önem seviyesinde fark olduğu ifade etmektedir. Yıldızlar ise farklı çeşitler arasında aynı uygulamalar açısından $p<0.05$ önem seviyesinde fark olduğunu göstermektedir.

3.1.5. Stoma Açıklığı

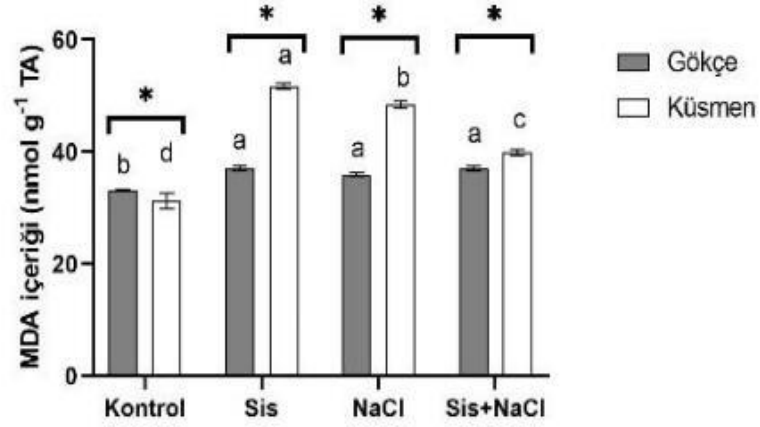
Stoma açıklığının NaCl stresi etkisiyle kontrole göre Küsme çeşidinde %57, Gökçe çeşidinde %47 azaldığı belirlenmiştir. Bu sonuçların yanında NaCl stresi koşullarında sistein uygulamasıyla (Sistein+NaCl) her iki çeşitte de belirgin bir farklılık gözlenmemiştir. NaCl uygulamasıyla birlikte sistein uygulamasına göre Küsme çeşidinde %42, Gökçe çeşidinde %22 azalma olduğu belirlenmiştir (Şekil 6.)



Şekil 6.Yaprak stoma açıklığında meydana gelen değişimler. Sütunlar üzerindeki barlar standart sapmayı temsil etmektedir. Farklı küçük harfler çeşitlerin kendi içerisindeki uygulamalar arasında $p<0.05$ önem seviyesinde fark olduğu ifade etmektedir. Yıldızlar ise farklı çeşitler arasında aynı uygulamalar açısından $p<0.05$ önem seviyesinde fark olduğunu göstermektedir.

3.1.6. Lipid Peroksidasyonu (Malondialdehit İçeriği)

Malondialdehit (MDA) içeriğinin sistein uygulamasıyla kontrole kıyasla Küsme çeşidinde %65, Gökçe çeşidinde %12 arttığı belirlenmiştir. Küsme çeşidinde malondialdehit içeriği NaCl uygulamasıyla kontrole kıyasla %55 artarken; Sistein+NaCl uygulaması NaCl uygulaması kıyaslandığında malondialdehit içeriğini %17 azaltmıştır. Gökçe çeşidinde ise NaCl uygulaması ve kontrol grubu uygulamaları ve NaCl ve Sistein+NaCl uygulamaları arasında istatistik açıdan bir değişim belirlenmemiştir (Şekil 7).

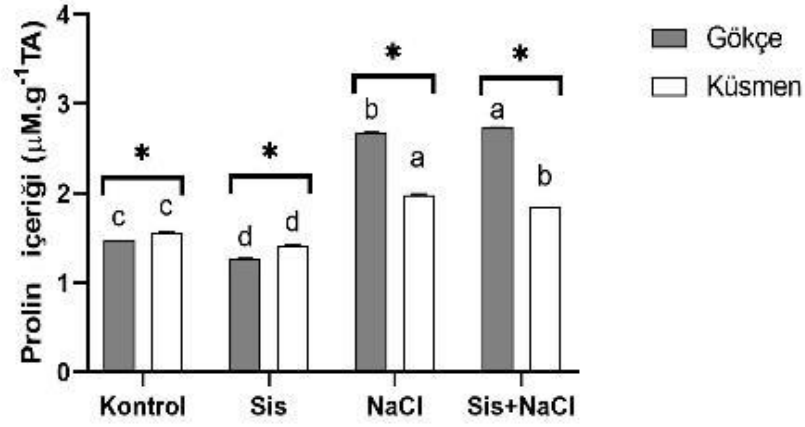


Şekil 7. Lipid peroksidasyonunda meydana gelen değişimler. Sütunlar üzerindeki barlar standart sapmayı temsil etmektedir. Farklı küçük harfler çeşitlerin kendi içerisindeki uygulamalar arasında $p < 0.05$ önem seviyesinde fark olduğu ifade etmektedir. Yıldızlar ise farklı çeşitler arasında aynı uygulamalar açısından $p < 0.05$ önem seviyesinde fark olduğunu göstermektedir.

3.2. Tuz Stresine Dayanıklılığın Osmotik Düzenleme ile İlişkisinin Belirlenmesi

3.2.1. Prolin İçeriği

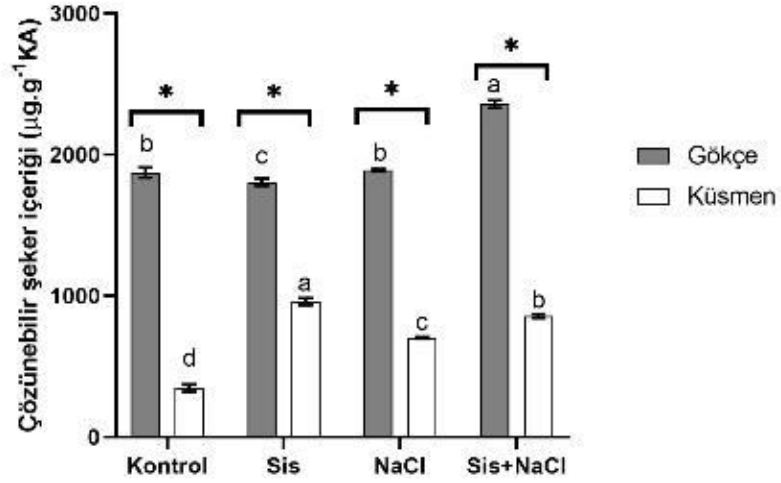
Yapılan uygulamalar sonucunda, prolin içeriğinin kontrol grubuna kıyasla NaCl uygulamasıyla Küsmen çeşidinde %27, Gökçe çeşidinde %81 arttığı belirlenmiştir. Sistein+NaCl uygulaması ile arttığı gözlemlenmiştir. Öte yandan, Sistein+NaCl uygulaması sonucunda prolin içeriğinin kontrol grubuna göre Küsmen çeşidinde %5 azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 8).



Şekil 8. Prolin içeriğinde meydana gelen değişimler Sütunlar üzerindeki barlar standart sapmayı temsil etmektedir. Farklı küçük harfler çeşitlerin kendi içerisindeki uygulamalar arasında $p < 0.05$ önem seviyesinde fark olduğu ifade etmektedir. Yıldızlar ise farklı çeşitler arasında aynı uygulamalar açısından $p < 0.05$ önem seviyesinde fark olduğunu göstermektedir.

3.2.2. Toplam Çözünabilir Şeker İçeriği

NaCl uygulaması sonucu toplam şeker içeriğinde Gökçe çeşidinde kontrol grubuna kıyasla önemli bir değişimin olmadığı, Küsme çeşidinde ise %102 artış olduğu belirlenmiştir. Toplam şeker içeriğinin Sistein+NaCl uygulamasıyla NaCl uygulamasına kıyasla Küsme çeşidinde %21, Gökçe çeşidinde %24 arttığı tespit edilmiştir (Şekil 9).

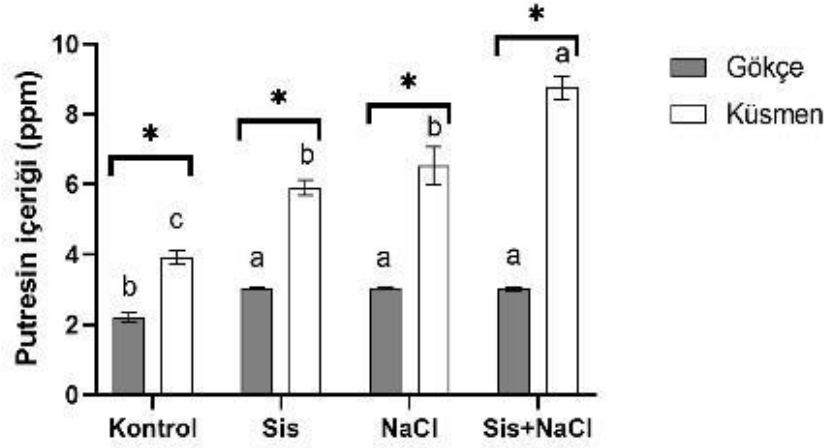


Şekil 9. Toplam şeker içeriğinde meydana gelen değişimler. Sütunlar üzerindeki barlar standart sapmayı temsil etmektedir. Farklı küçük harfler çeşitlerin kendi içerisindeki uygulamalar arasında $p < 0.05$ önem seviyesinde fark olduğu ifade etmektedir. Yıldızlar ise farklı çeşitler arasında aynı uygulamalar açısından $p < 0.05$ önem seviyesinde fark olduğunu göstermektedir.

3.2.3. Poliamin İçeriği

3.2.3.1. Putresin İçeriği

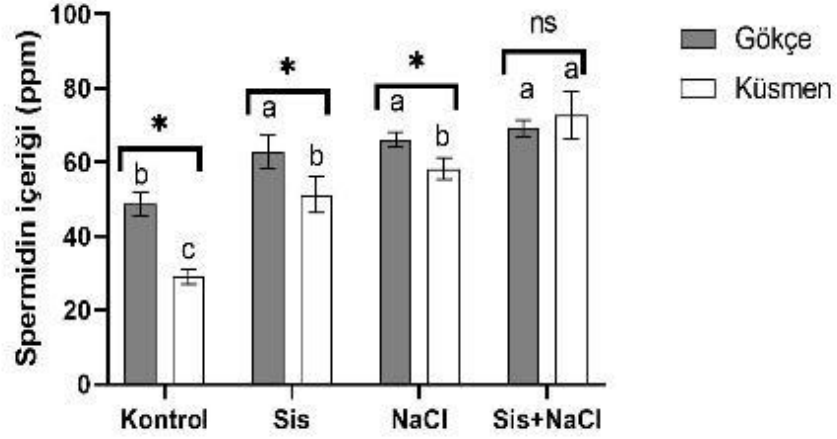
Putresin içeriğinin sistein uygulamasıyla kontrol grubuna kıyasla Küsme çeşidinde %50, Gökçe çeşidinde %38 arttığı saptanmıştır. NaCl uygulamasında kontrol grubuna kıyasla Küsme çeşidinde %67, Gökçe çeşidinde %39 artış belirlenmiştir. Sistein+NaCl grubunda putresin içeriğinde NaCl grubuna kıyasla Küsme çeşidinde %34 artış gözlenirken Gökçe çeşidinde ise önemli bir fark gözlenmemiştir (Şekil 10.).



Şekil10.Putresin içeriğinde meydana gelen değişimler Sütunlar üzerindeki barlar standart sapmayı temsil etmektedir. Farklı küçük harfler çeşitlerin kendi içerisindeki uygulamalar arasında $p<0.05$ önem seviyesinde fark olduğu ifade etmektedir. Yıldızlar ise farklı çeşitler arasında aynı uygulamalar açısından $p<0.05$ önem seviyesinde fark olduğunu göstermektedir.

3.2.3.2. Spermidin İçeriği

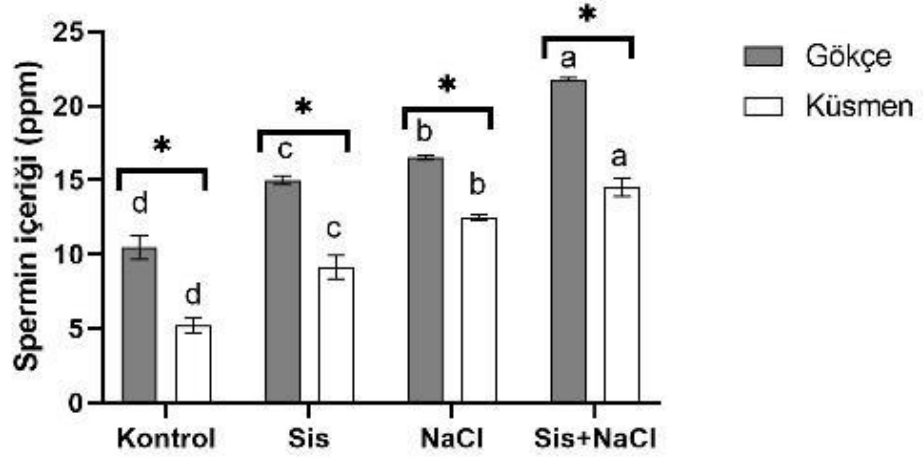
Spermidin içeriğinin sistein uygulamasıyla kontrol grubuna göre Küsme çeşidinde %77, Gökçe çeşidinde %29 arttığı saptanmıştır. Spermidin içeriğinin NaCl uygulaması neticesinde kontrol grubuna göre Küsme çeşidinde %100, Gökçe çeşidinde %36; Sistein+NaCl uygulaması sonucunda ise kontrol grubuna göre Küsme çeşidinde %41, Gökçe çeşidinde ise %150 arttığı belirlenmiştir. Bu sonuçların yanında Küsme çeşidinde Sistein+NaCl uygulamasındaki spermidin içeriği kontrol grubuna kıyasla %24 artmıştır (Şekil 11).



Şekil 11.Spermidin içeriğinde meydana gelen değişimler. Sütunlar üzerindeki barlar standart sapmayı temsil etmektedir. Farklı küçük harfler çeşitlerin kendi içerisindeki uygulamalar arasında $p < 0.05$ önem seviyesinde fark olduğu ifade etmektedir. Yıldızlar ise farklı çeşitler arasında aynı uygulamalar açısından $p < 0.05$ önem seviyesinde fark olduğunu göstermektedir.

3.2.3.3. Spermin İçeriği

Spermin içeriğinin sistein uygulamasıyla kontrol gurubuna göre Küsme çeşidinde %75, Gökçe çeşidinde %43; NaCl uygulamasıyla kontrol gurubuna göre Küsme çeşidinde %140, Gökçe çeşidinde %57 ve Sistein+NaCl uygulamasıyla kontrol gurubuna göre Küsme çeşidinde %179, Gökçe çeşidinde %108 arttığı belirlenmiştir. Buna ilaveten, Sistein+NaCl uygulamasıyla spermin içeriğinin NaCl uygulamasına göre Küsme çeşidinde %16, Gökçe çeşidinde %31 arttığı tespit edilmiştir (Şekil 12).

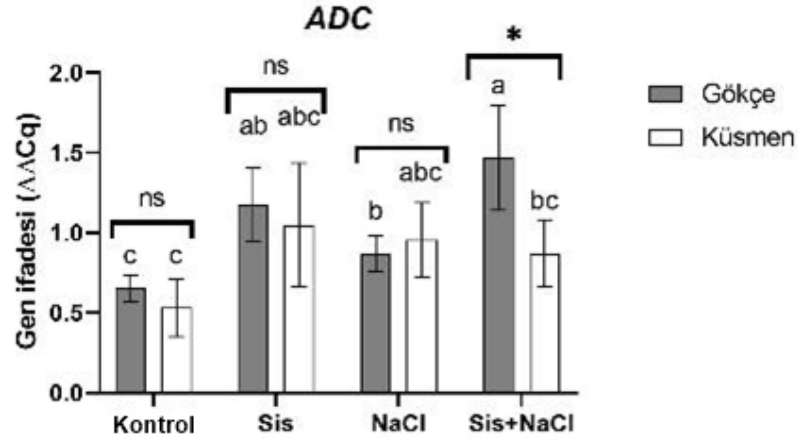


Şekil12.Spermin içeriğinde meydana gelen değişimler. Sütunlar üzerindeki barlar standart sapmayı temsil etmektedir. Farklı küçük harfler çeşitlerin kendi içerisindeki uygulamalar arasında $p<0.05$ önem seviyesinde fark olduğu ifade etmektedir.

3.2.4. Gen İfade Değişimleri

3.2.4.1. Arginin dekarboksilaz (ADC) Gen İfadesi

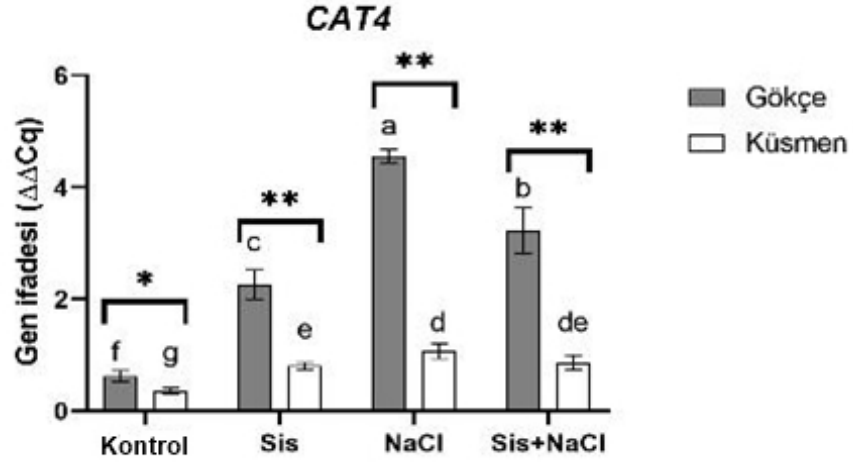
Arginin dekarboksilaz (ADC) gen ifadesinin NaCl uygulamasıyla kontrol grubuna göre Küsmen çeşidinde %80, Gökçe %32 uyarıldığı belirlenmiştir. Sistein uygulamasının kontrol grubuna göre ADC gen ifadesini Küsmen çeşidinde %97, Gökçe çeşidinde %79 arttırdığı belirlenmiştir. Sistein+NaCl uygulaması ADC gen ifadesini Gökçe çeşidinde NaCl uygulamasına göre %68 artırırken, Küsmen çeşidinde NaCl ve Sistein+NaCl uygulamaları arasında fark bulunmadığı belirlenmiştir (Şekil 13).



Şekil 13.ADC gen ifadesinde meydana gelen değişimler. Sütunlar üzerindeki barlar standart sapmayı temsil etmektedir. Farklı küçük harfler çeşitlerin kendi içerisindeki uygulamalar arasında $p < 0.05$ önem seviyesinde fark olduğu ifade etmektedir. Yıldızlar ise farklı çeşitler arasında aynı uygulamalar açısından $p < 0.05$ önem seviyesinde fark olduğunu göstermektedir.

3.2.4.2. Katalaz (CAT) Gen İfadesi

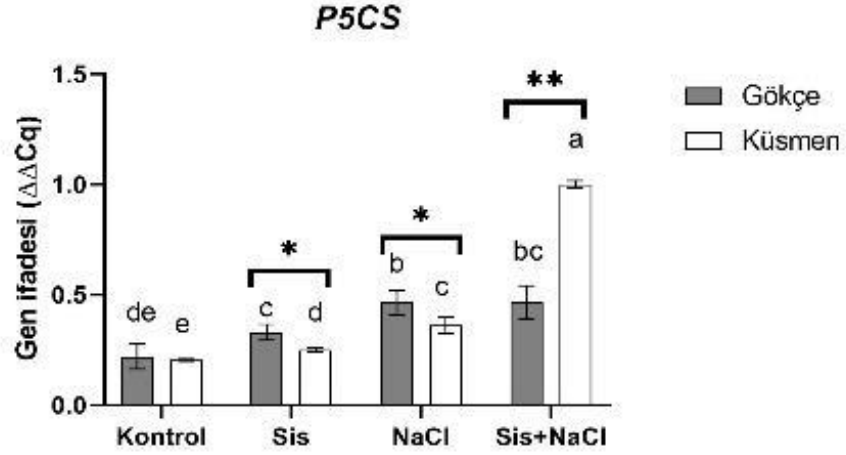
Katalaz (CAT) gen ifadesi sisteinin uygulamasıyla kontrol grubuna kıyasla Küsme çeşidinde %124, Gökçe çeşidinde %260 arttığı görülmüştür. (Şekil 19). NaCl stresi uygulaması kontrol grubuna göre Küsme çeşidinde %198, Gökçe çeşidinde %627 arttığı belirlenmiştir. NaCl uygulamasının sistein uygulamasına göre CAT gen ifadesini Küsme çeşidinde %32, Gökçe çeşidinde %102 arttırdığı belirlenmiştir. Sistein+NaCl uygulamasının, NaCl uygulamasına göre Gökçe çeşidinde gen ifade seviyesini %30, Küsme çeşidinde %20 azalttığı belirlenmiştir. Küsme çeşidinde ise sistein ve sistein+NaCl uygulamaları arasında fark bulunamamıştır (Şekil 14).



Şekil 14.CAT gen ifadesinde meydana gelen değişimler. Sütunlar üzerindeki barlar standart sapmayı temsil etmektedir. Farklı küçük harfler çeşitlerin kendi içerisindeki uygulamalar arasında $p < 0.05$ önem seviyesinde fark olduğu ifade etmektedir. Yıldızlar ise farklı çeşitler arasında aynı uygulamalar açısından $p < 0.05$ önem seviyesinde fark olduğunu göstermektedir.

3.2.4.3. Prolin-5-karboksilat sentaz (P5CS) Gen İfadesi

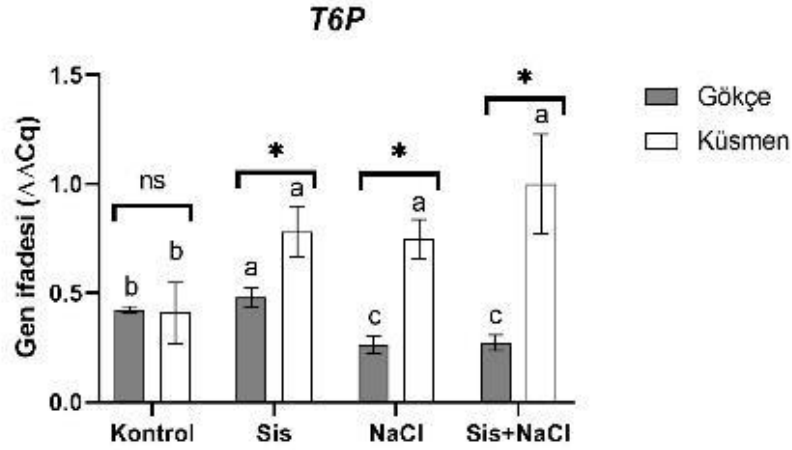
Prolin-5-karboksilat sentaz (P5CS) gen ifadesinin NaCl uygulamasıyla kontrol grubuna göre Küsmen çeşidinde %77, Gökçe çeşidinde %111 arttığı belirlenmiştir. Sistein+NaCl uygulaması P5CS gen ifadesini NaCl uygulamasına kıyasla Küsmen çeşidinde %175, Gökçe çeşidinde istatistiki olarak belirgin bir fark bulunamamıştır. Sistein+NaCl uygulamasının P5CS gen ifadesini kontrol grubuna kıyasla Küsmen çeşidinde %388, Gökçe çeşidinde %111 arttırdığı belirlenmiştir (Şekil 15).



Şekil 15.P5CS gen ifadesinde meydana gelen değişimler Sütunlar üzerindeki barlar standart sapmayı temsil etmektedir. Farklı küçük harfler çeşitlerin kendi içerisindeki uygulamalar arasında $p < 0.05$ önem seviyesinde fark olduğu ifade etmektedir. Yıldızlar ise farklı çeşitler arasında aynı uygulamalar açısından $p < 0.05$ önem seviyesinde fark olduğunu göstermektedir.

3.2.4.4. Trehaloz-6-fosfat sentaz (T6P) Gen İfadesi

Trehaloz-6-fosfat sentaz (T6P) gen ifade düzeyi, sistein uygulamasıyla kontrol grubuna göre Küsmen çeşidinde %90 artış göstermiştir. NaCl stresi uygulaması T6PS gen ifade düzeyini kontrol grubuna göre Küsmen çeşidinde %82 daha fazla uyarmıştır. Küsmen çeşidinde Sistein+NaCl uygulaması, NaCl uygulamasına göre gen ifade düzeyini %34 artırırken, Gökçe çeşidinde NaCl ve Sistein+NaCl uygulamaları arasında fark belirlenememiştir. Küsmen çeşidinde Sistein+NaCl uygulaması, kontrol uygulamasına göre gen ifade düzeyini %144 artırırken, Gökçe çeşidinde NaCl ve Sistein+NaCl uygulamaları arasında istatistiki olarak belirgin bir fark bulunamamıştır (Şekil 16).



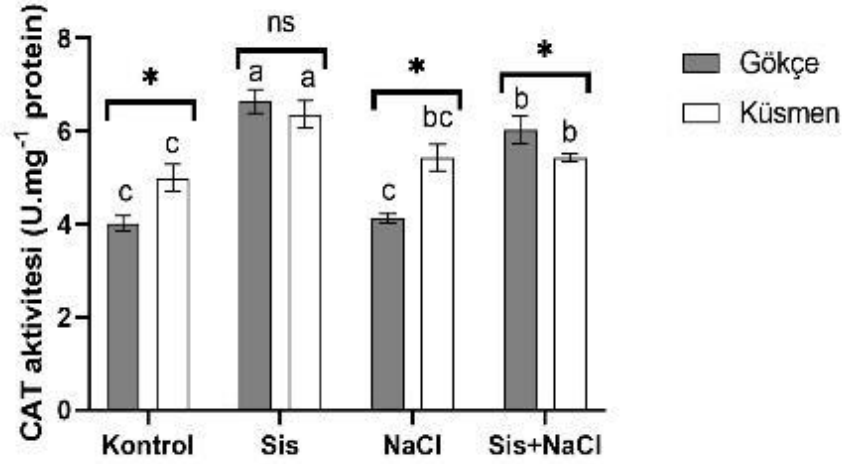
Şekil 16.T6P gen ifadesinde meydana gelen değişimler Sütunlar üzerindeki barlar standart sapmayı temsil etmektedir. Farklı küçük harfler çeşitlerin kendi içerisindeki uygulamalar arasında $p < 0.05$ önem seviyesinde fark olduğu ifade etmektedir. Yıldızlar ise farklı çeşitler arasında aynı uygulamalar açısından $p < 0.05$ önem seviyesinde fark olduğunu göstermektedir.

3.3. Tuz Stresine Dayanıklılığın Antioksidan Sistem ile İlişkisinin Belirlenmesi

3.3.1. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

3.3.1.1. Katalaz Aktivitesi (CAT)

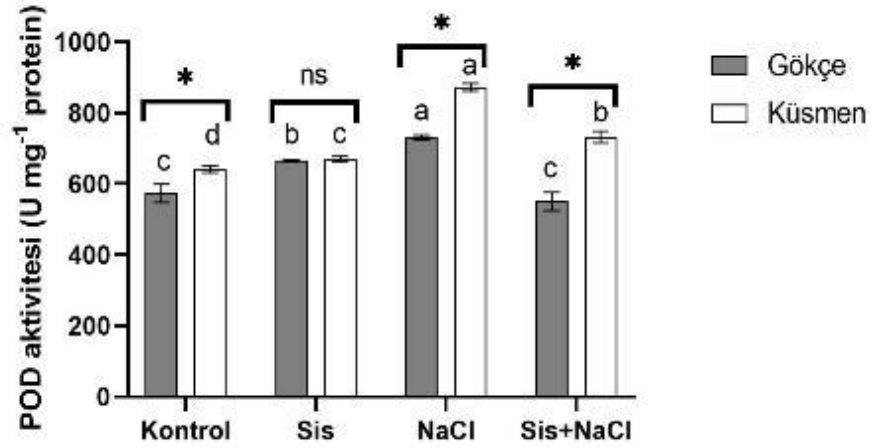
Katalaz aktivitesinin sistein uygulamasıyla kontrol gurubuna göre Küsmen çeşidinde 27, Gökçe çeşidinde %65 arttığı belirlenmiştir. NaCl ve sitein+NaCl uygulamasıyla kontrol gurubuna göre her iki çeşitte de istatistiki olarak önemli bir fark meydana gelmediği belirlenmiştir. Buna ilaveten, Sistein+NaCl uygulamasıyla Gökçe çeşidinde CAT aktivitesinin NaCl uygulamasına göre %65 arttığı, Küsmen çeşidinde ise değişmediği tespit edilmiştir (Şekil 17.).



Şekil 17. Katalaz aktivitesinde meydana gelen değişimler Sütunlar üzerindeki barlar standart sapmayı temsil etmektedir. Farklı küçük harfler çeşitlerin kendi içerisindeki uygulamalar arasında $p < 0.05$ önem seviyesinde fark olduğu ifade etmektedir. Yıldızlar ise farklı çeşitler arasında aynı uygulamalar açısından $p < 0.05$ önem seviyesinde fark olduğunu göstermektedir.

3.3.1.2. Peroksidaz Aktivitesi (POD)

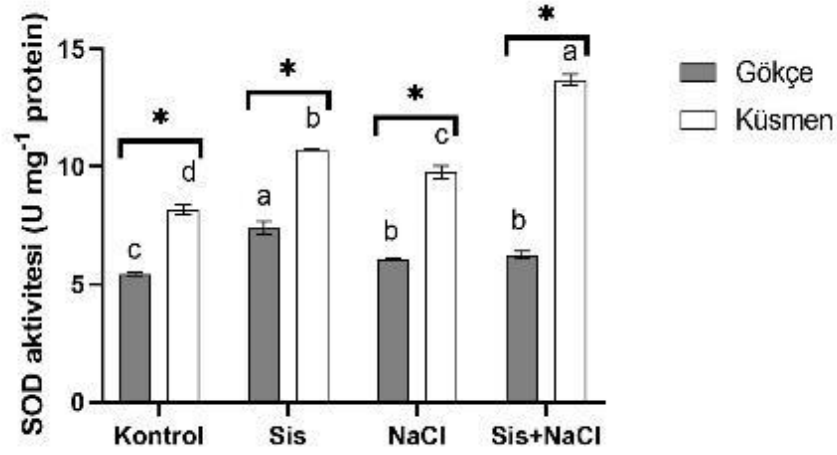
Peroksidaz aktivitesinin sistein uygulamasıyla beraber kontrol grubuna kıyasla Gökçe çeşidinde %15, Küsme çeşidinde ise %5 arttığı belirlenmiştir. Benzer bir biçimde NaCl uygulaması neticesinde peroksidaz aktivitesinde kontrol grubuna kıyasla Küsme çeşidinde %36, Gökçe çeşidinde %27 arttığı belirlenmiştir. Sistein+NaCl uygulamasıyla peroksidaz aktivitesinin NaCl uygulamasına kıyasla Küsme çeşidinde %16, Gökçe çeşidinde %25 azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 18).



Şekil 18. Peroksidaz aktivitesinde meydana gelen değişimler Sütunlar üzerindeki barlar standart sapmayı temsil etmektedir. Farklı küçük harfler çeşitlerin kendi içerisindeki uygulamalar arasında $p < 0.05$ önem seviyesinde fark olduğu ifade etmektedir. Yıldızlar ise farklı çeşitler arasında aynı uygulamalar açısından $p < 0.05$ önem seviyesinde fark olduğunu göstermektedir.

3.3.1.3. Süperoksit Dismutaz Aktivitesi (SOD)

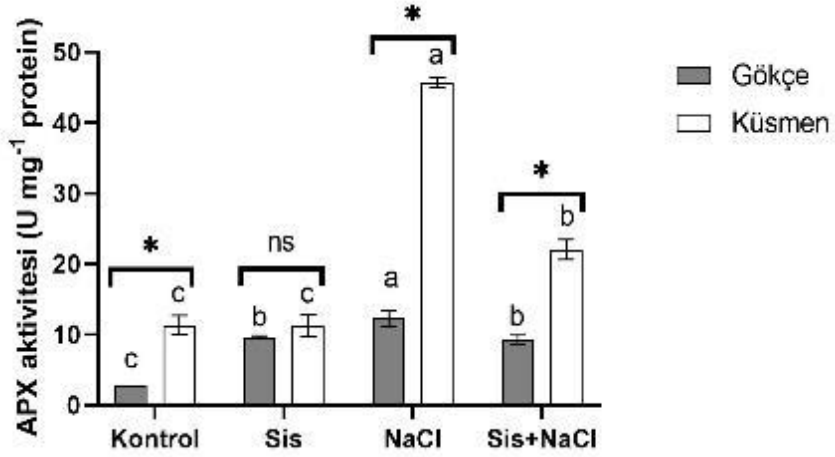
Süperoksit dismutaz aktivitesinin sistein uygulamasıyla kontrol grubuna kıyasla Küsme çeşidinde %31, Gökçe çeşidinde %35 arttığı belirlendi. Küsme çeşidinde NaCl uygulamasıyla kontrol grubuna göre %20 artış saptanırken, Gökçe çeşidinde %11 artış saptanmıştır. Küsme çeşidinde Sistein+NaCl uygulamasıyla, NaCl grubuna kıyasla %40 artış gözlenirken, Gökçe çeşidinde fark tespit edilmemiştir (Şekil 19).



Şekil 19. Süperoksit dismutaz aktivitesinde meydana gelen değişimler Sütunlar üzerindeki barlar standart sapmayı temsil etmektedir. Farklı küçük harfler çeşitlerin kendi içerisindeki uygulamalar arasında $p < 0.05$ önem seviyesinde fark olduğu ifade etmektedir. Yıldızlar ise farklı çeşitler arasında aynı uygulamalar açısından $p < 0.05$ önem seviyesinde fark olduğunu göstermektedir.

3.3.1.4. Askorbat Peroksidaz Aktivitesi (APX)

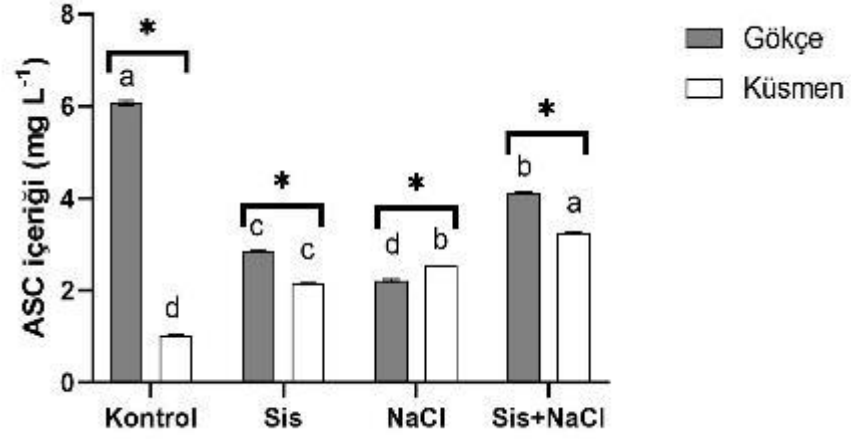
Gökçe çeşidinde sistein uygulamasıyla askorbat peroksidaz aktivitesinde kontrol grubuna göre %241 oranında artış belirlenirken, Küsme çeşidinde bir farklılık belirlenmemiştir. NaCl uygulamasıyla kontrol grubuna kıyasla askorbat peroksidaz aktivitesinde Küsme çeşidinde %303, Gökçe çeşidinde %336 oranında artış gözlemlenmiştir. Sistein+NaCl uygulaması sonrası enzim aktivitesinin NaCl uygulamasına göre Küsme çeşidinde %51, Gökçe çeşidinde %24 azaldığı belirlenmiştir (Şekil 20).



Şekil 20. Askorbat peroksidaz aktivitesinde meydana gelen değişimler Sütunlar üzerindeki barlar standart sapmayı temsil etmektedir. Farklı küçük harfler çeşitlerin kendi içerisindeki uygulamalar arasında $p < 0.05$ önem seviyesinde fark olduğu ifade etmektedir. Yıldızlar ise farklı çeşitler arasında aynı uygulamalar açısından $p < 0.05$ önem seviyesinde fark olduğunu göstermektedir.

3.3.2. Askorbik Asit (ASC) İçeriği

Küsme çeşidinde, askorbik asit içeriğinin sistein uygulamasıyla %107 arttığı belirlenirken Gökçe çeşidinde ise sistein uygulaması sonrasında askorbik asit içeriğinin %52 azaldığı görülmüştür. Küsme çeşidinde NaCl uygulamasıyla askorbat içeriğinin kontrol grubuna göre %145 arttığı görülürken, Gökçe çeşidinde %63 azaldığı görülmüştür. Sistein+NaCl uygulamasıyla NaCl uygulamasına göre askorbik asit içeriğinin Küsme çeşidinde %28, Gökçe çeşidinde %85 arttığı belirlenmiştir (Şekil 21).



Şekil 21. Askorbik asit içeriğinde meydana gelen değişimler Sütunlar üzerindeki barlar standart sapmayı temsil etmektedir. Farklı küçük harfler çeşitlerin kendi içerisindeki uygulamalar arasında $p < 0.05$ önem seviyesinde fark olduğu ifade etmektedir. Yıldızlar ise farklı çeşitler arasında aynı uygulamalar açısından $p < 0.05$ önem seviyesinde fark olduğunu göstermektedir.

4. TARTIŞMA

Bitkiler, optimum gelişim koşullarında en iyi performanslarını sergilerler. Günlük ve mevsimsel değişimlere uyum sağlamak için normal metabolizma esneklik gösterir. Ancak, beklenmedik çevresel koşullara sürekli veya aralıklı olarak maruz kalmaları durumunda, büyüme ve gelişimleri olumsuz etkilenebilir. Bu durum, çeşitli fizyolojik değişimlerin yanı sıra hastalıklar ve hasarlar şeklinde kendini gösterebilir (Shao ve ark., 2008). Bitkilerin maruz kaldığı bu olumsuz çevresel faktörler "stres" olarak tanımlanır.

Tarımsal üretim üzerinde önemli bir stres kaynağı olan tuz stresi, özellikle verimli toprakların büyük bir kısmını tehdit etmektedir. Dünyada 800 milyon hektardan fazla alanın tuzdan etkilendiği, her yıl yaklaşık 2 milyon hektar tarım arazisinin de tuzlanma nedeniyle zarar gördüğü raporlanmıştır (Türkan ve Demiral, 2009; Tuteja, 2007). Tuz stresi, bitkilerin yapısal, fizyolojik ve biyokimyasal süreçlerini bozarak büyüme ve verim üzerinde ciddi olumsuz etkiler yaratır.

Nohut (*Cicer arietinum* L.), kültüre alınmış ilk yemeklik baklagillerden biri olup, dünya genelinde en fazla yetiştirilen üçüncü baklagil bitkisidir. Ancak, nohut üretimi son yıllarda önemli ölçüde azalmıştır. Bu düşüş, bitkilerin kuraklık, tuzluluk ve hastalıklar gibi çeşitli biyotik ve abiyotik streslere maruz kalmasıyla ilişkilendirilmektedir. Özellikle tuz stresi, nohut bitkisinin büyümesini ve verimliliğini olumsuz etkileyerek tarımsal üretimi tehdit eden başlıca faktörlerden biri haline gelmiştir.

Bu çalışmada, tuz stresinin nohut bitkisi üzerindeki olumsuz etkilerinin hafifletilmesinde sistein uygulamasının potansiyel faydaları araştırılmıştır. Sisteinin bitkilerdeki morfolojik, biyokimyasal ve moleküler biyolojik değişimler üzerindeki etkileri detaylı bir şekilde incelenerek, tuz stresine karşı bitkisel savunma mekanizmalarını destekleme kapasitesi değerlendirilmiştir.

Tez çalışmasında, tuz stresinin her iki nohut çeşidinde de toplam kuru ağırlığı kontrol grubuna kıyasla azalttığı, ancak sistein uygulamasıyla (Sistein+NaCl) bu azalmanın önüne geçilerek toplam kuru ağırlığın arttığı tespit edilmiştir. Tuz stresi sonrası, Küsmen çeşidinde kontrol grubuna göre nispi su içeriğinde belirgin bir düşüş gözlenirken, Gökçe çeşidinde bu parametrede anlamlı bir değişiklik görülmemiştir.

Troncoso ve ark. (1999), 11 farklı asma anacının artan tuz konsantrasyonlarına (0, 50, 85, 120, 155 mM NaCl) *in vitro* koşullardaki tepkilerini incelemiştir. Çalışmada, tohumların çimlenme oranı ve köklenme yetenekleri tuz seviyelerine göre değerlendirilmiş ve anaçlar

tuza tolerans düzeylerine göre üç gruba ayrılmıştır: hassas (41 B, R.Lot, 110 R, 140 R, 161-49), orta derecede toleranslı (13.5 ve Ramsey) ve tamamen toleranslı (196-17, CH-1, CH-2, Superior). Tuz stresinin, bitki aksamalarının besin elementi içeriği ve nispi su içeriği üzerinde etkili olduğu, tüm bitkilerde kök ve sürgünlere su alımını azalttığı belirtilmiştir. Tuz toleransı yüksek yapılı bitkilerde sodyum (Na) ve klor (Cl) birikiminin daha fazla olduğu vurgulanmıştır. Benzer şekilde, Sivritepe ve Eriş (1999), üç üzüm çeşidini (Çavuş, Müşküle ve Sultani Çekirdeksiz) farklı NaCl konsantrasyonlarına (%0.00, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00) maruz bırakmışlardır. Artan tuz seviyelerinin ve uygulama süresinin, bitki büyümesi, toplam klorofil miktarı ve canlılık üzerinde olumsuz etkiler oluşturduğu saptanmıştır. Bu tez çalışmasında da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Tuz stresi, her iki nohut çeşidinde klorofil miktarını düşürmüştür. Ancak, Gökçe çeşidinin klorofil içeriği Küsmen çeşidine kıyasla anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur.

Brugnoli ve Lauteri (1990), tuz stresinin *Gossypium hirsutum* L. (pamuk) ve *Phaseolus vulgaris* L. (fasulye) bitkilerinde büyüme ve yaprak alanı gelişimini anlamlı düzeyde azalttığını rapor etmiştir. Bunun yanı sıra, artan tuz konsantrasyonlarının stomatal iletkenlik ve fotosentez oranında belirgin bir azalmaya yol açtığı gözlemlenmiştir. Benzer şekilde, Abbruzzese ve arkadaşları (2009), tuz stresine maruz bırakılan *Populus alba* L. türüne ait üç genotipte (6K3, 2AS11 ve 14P11), kontrol bitkileri ile karşılaştırıldığında, en düşük tuz konsantrasyonunda dahi stomatal alanın anlamlı ölçüde azaldığını bildirmiştir.

Bu çalışmada da benzer bir şekilde, tuz stresine maruz kalan Küsmen ve Gökçe çeşitlerinde yaprak alanı ve stomatal açıklıkların azaldığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, sistein+NaCl uygulamasının bu azalmaları iyileştirdiği belirlenmiştir.

Fisarakis ve ark. (2001), Sultani Çekirdeksiz üzüm çeşidini kum ve perlit karışımında yetiştirerek, bitkileri 5, 25, 50 ve 100 mM NaCl içeren besin çözeltileriyle sulamışlardır. Çalışmada, 70 gün boyunca tuz stresine karşı stomal direnç, mineral konsantrasyonları ve büyüme parametrelerindeki değişiklikler incelenmiştir. Sonuçlar, artan tuz seviyelerinin dokulardaki tuz konsantrasyonunu önemli ölçüde artırdığını, sodyum birikimine kıyasla klor birikiminin daha fazla olduğunu, ayrıca sürgün gelişimi, toplam kuru ağırlık ve yaprak alanında azalmalar meydana geldiğini göstermiştir. Benzer şekilde, bu çalışmada da iki nohut çeşidinde tuz stresi altında yaprak alanında azalma tespit edilmiştir. Ancak, Sistein+NaCl uygulaması, tuz stresine kıyasla yaprak alanında bir iyileşme sağlamış ve bu etkiler özellikle Küsmen çeşidinde daha belirgin olmuştur.

Membran lipidlerinin peroksidasyonu, serbest radikallerin neden olduğu hücresel stresin önemli bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Jain ve ark., 2001). Bu süreçte MDA (malondialdehit) düzeyleri, membran lipid peroksidasyonu ve oksidatif hasarın bir belirteci olarak kullanılmaktadır (Güneş ve ark., 2007). Çalışmamızda, lipid peroksidasyonunun her iki nohut çeşidinde de sistein uygulamasıyla kontrol grubuna kıyasla arttığı belirlenmiştir. Küsmen çeşidinde, Sistein+NaCl uygulamasının, yalnızca NaCl uygulamasına göre lipid peroksidasyonunu azalttığı gözlemlenmiştir. Ancak, Gökçe çeşidinde NaCl ve Sistein+NaCl uygulamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bu bulgular, tuz stresi nedeniyle her iki çeşitte de membran bütünlüğünün bozulduğunu ve bunun sonucunda lipid peroksidasyonu ile prolin içeriğinde artış meydana geldiğini göstermektedir.

Lipid peroksidasyonu ile membran permeabilitesi ve prolin içeriği arasında doğrusal bir ilişki bulunduğunu, stres koşullarında bitki membranlarında oluşan hasarın bu bileşenlerde artışa yol açtığını bildiren çalışmalar (Sairam ve Srivastava, 2002; Sairam vd., 2002; Procházková vd., 2001), bu araştırmanın bulgularını desteklemektedir. Çalışmamızda, prolin içeriğinin her iki nohut çeşidinde de tuz stresi (NaCl) ve Sistein+NaCl uygulamaları ile kontrol grubuna kıyasla arttığı tespit edilmiştir. Buna karşılık, yalnızca sistein uygulamasında prolin düzeyinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğu gözlenmiştir. Prolin artışının, P5CS ve P5CR genlerinin yukarı regülasyonu ve prolin dehidrojenazı kodlayan genin aşağı regülasyonu ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Bu genlerin benzer ekspresyon sonuçları, daha önce buğdayda tuz stresi altında da rapor edilmiştir (Tavakoli vd., 2016).

Literatürde, bitkilerin yüksek tuzluluk koşullarına maruz kaldıklarında fruktoz, glikoz ve sakkaroz gibi indirgenmiş şekerlerin üretimini artırdığı belirtilmektedir. Bu şekerler, membran bütünlüğünü koruyarak proteinlerin denatürasyonunu ve agregasyonunu önler (Arif vd., 2020). Tuz stresi altında arpanın hem kök hem de sürgün dokularında toplam çözünebilir şeker miktarının arttığı rapor edilmiştir (Narimani ve ark., 2020). Buna karşılık, buğdayda tuz stresi koşullarında toplam çözünebilir şeker içeriği kökte azalırken, sürgünde artış göstermiştir (Soni vd., 2021).

Bu çalışma kapsamında, sistein+tuz uygulamasının toplam çözünebilir şeker içeriğini artırdığı ve bu durumun nohut çeşitlerinin tuz stresine tolerans geliştirmesine katkı sağlayabileceği sonucuna varılmıştır. Benzer şekilde, Sairam ve arkadaşları (1998), üç farklı buğday genotipinde su stresine karşı antioksidan sistemlerin toleransını inceledikleri

çalışmalarında, kuraklık koşullarının H_2O_2 birikimi ve lipid peroksidasyonu düzeylerinde artışa, askorbik asit içeriğinde ise azalmaya neden olduğunu tespit etmişlerdir.

Buna karşın, su stresi altındaki hassas genotiplerde antioksidan enzim aktiviteleri ve askorbik asit içeriği düşük, H_2O_2 birikimi ve lipid peroksidasyonu ise daha yüksek düzeylerde gözlemlenmiştir.

Procházková ve arkadaşları (2001), çimlenmeden itibaren erken ve geç olgunlaşan iki mısır bitkisinin yapraklarında oksidatif stres ve antioksidan enzimlerin etkilerini tüm gelişim dönemleri boyunca incelemiştir. Araştırmada, lipid peroksidasyonu ve hidrojen peroksit (H_2O_2) miktarının genç yapraklardan olgun yapraklara doğru arttığı, süperoksit dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (APX), peroksidaz (POD) ve katalaz (CAT) aktivitelerinin de bu süreçte artış gösterdiği tespit edilmiştir.

Benzer şekilde, bu çalışmada sistein uygulamasının POD, CAT, APX ve SOD aktivitelerini kontrol grubuna kıyasla artırdığı belirlenmiştir. NaCl uygulaması, her iki nohut çeşidinde de POD ve APX aktivitelerinde kontrol grubuna göre anlamlı artışlara neden olmuştur. Tuz toleranslı nohut çeşitlerinde SOD, CAT ve APX genlerinin göreceli ifadelerinde önemli artışlar gözlenmiştir (Rasool vd., 2013). Ayrıca, toleranslı genotiplerde tuzluluk seviyesi arttıkça antioksidatif enzim aktivitelerinin yükseldiği ve bu eğilimin nohutta da görüldüğü rapor edilmiştir (Khamesi vd., 2020). Bu tez çalışmasında ise CAT gen ifadesinin Sistein+NaCl uygulaması ile uyarıldığı tespit edilmiştir.

Poliaminler, spermidin (Spd), spermin (Sm) ve bu moleküllerin diamin yapılı öncülü olan putresin (Put), hücresel büyüme ve farklılaşma süreçlerinde önemli işlevlere sahip, düşük molekül ağırlıklı temel bileşiklerdir. Poliamin biyosentezinde rol oynayan başlıca enzimler arasında arginin dekarboksilaz (ADC), ornitin dekarboksilaz (ODC) ve S-adenozilmetiyonin dekarboksilaz (SAMDC) bulunmaktadır (Roy ve Wu, 2001). Esmailpournoghadam ve arkadaşları kuraklık ve tuz gibi abiyotik stres koşullarına dayanıklılığı ile bilinen bir model bitki olarak seçilmiş olan *Festuca arundinacea* Schreb. bitkisine 200 mM ve 400 mM NaCl konsantrasyonlarında tuz stresi uygulamıştır. Çalışma, ADC gen ekspresyonunun özellikle orta düzey NaCl uygulamalarında kademeli bir artış gösterdiğini, ancak şiddetli tuz stresi altında başlangıçta bir düşüş sergilediğini ve daha sonra yeniden yükseldiğini ortaya koymuştur. Araştırmacılar, yüksek seviyeli stres uygulamalarının ADC gen ifadesinde geçici bir baskılama etkisi yaratabileceğini öne sürmüşlerdir.

Sonuç olarak, ADC geninin ekspresyon profilinin tuz stresine yanıt olarak osmotik dengenin korunmasında kritik bir rol oynadığı belirlenmiştir. Genin ifade düzeyleri, stresin şiddetine ve süresine bağlı olarak değişiklik göstermekte olup, bu durum ADC'nin abiyotik streslere adaptasyonda önemli bir mekanizmayı temsil ettiğini göstermektedir (Esmailpourmoghdam vd., 2024).

Bu çalışmada da Küsmen ve Gökçe çeşitlerinde NaCl uygulamasıyla birlikte ADC gen ekspresyon seviyesinin arttığı belirlenmiştir.

Stres kaynaklı poliamin birikimi ile reaktif oksijen türleri (ROS) arasındaki dengenin, bitkilerin tuz stresine toleransında kritik bir rol oynadığı bilinmektedir. Poliaminler, özellikle putresin, spermidin ve spermin, tuz stresi altında bitkilerde birikerek hücrel ROS homeostazisinin korunmasına katkı sağlar.

Bu çalışmada, tuz stresine maruz kalan nohut bitkilerinde poliamin içeriklerinde (putresin, spermidin ve spermin) artış tespit edilmiştir. Sistein+NaCl uygulaması ile bu artışın daha belirgin hale geldiği gözlenmiştir. Poliamin birikiminin, tuz stresi kaynaklı ROS'un temizlenmesi amacıyla antioksidan sistemin tetiklenmesine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir. Nitekim, Gupta ve arkadaşları (2013), poliaminlerin stres koşullarında antioksidan enzimleri aktive ederek ROS bozunmasını teşvik ettiğini rapor etmişlerdir. Bu bulgular, poliaminlerin tuz stresine karşı koruyucu rolünü desteklemektedir.

Trehaloz, alfa, alfa-1 ve 1 bağlı karbon bağları içeren bir glikoz disakkaritidir. Trehaloz, angiospermelerde az miktarda bulunur ve abiyotik streslerin, bitkilerdeki seviyelerini orta düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Trehaloz-6-fosfat (*T6P*), glikoz-6-fosfat ve UDP-glikozdan Trehaloz-6-fosfat sentaz (*T6P*) tarafından üretilir, ardından Trehaloz-6-fosfat fosfataz (*TPP*) tarafından trehaloza defosforile edilir ve trehaloz enzimi trehalozu glikoz moleküllerine ayırır. Trehaloz biyosentezine dahil olan *T6P* ve diğer önemli enzim genleri, tuz stresine karşı koruma sağlar. Abiyotik stres toleransında trehaloz metabolizmasının pozitif bir düzenlemesi gerçekleşir. Trehaloz yolak gen ifadesi, çeşitli bitki türlerinde kuraklık ve tuz stres toleransını artırır. Pirinçte farklı *T6P* izoformlarının yüksek ifadesi, kuraklık, tuzluluk ve soğuk stresine karşı dayanıklılığından sorumlu bulunmuştur. *Arabidopsis* bitkilerinde trehalozun aşırı ifadesi, kuraklık stresine toleransı artırmış ve stomatal kapanmayı düzenlemede önemli bir rol oynamıştır.

Jang ve arkadaşlarının (2003) gerçekleştirdiği çalışmada, trehaloz-6-fosfat sentaz ve trehaloz-6-fosfat fosfataz genlerini taşıyan *Escherichia coli* kaynaklı genlerin pirinç bitkilerine aktarılması sonucunda, bitkilerde trehaloz birikiminin arttığı ve bu durumun bazı

abiyotik stres faktörlerine toleransı olumlu yönde etkilediği tespit edilmiştir. Bitkilerin tuz stresine maruz kaldıklarında trehaloz-6-fosfat sentaz gen ekspresyonunda artış gözlemlendiği, bu artışın trehaloz miktarını artırarak bitkilerin stres koşullarına karşı koruma mekanizmalarını desteklediği belirlenmiştir.

Bu tez çalışmasında, her iki çeşitte de sistein uygulamasının *T6P* ifadesini kontrol grubuna kıyasla yukarı yönde düzenlediği gözlemlenmiştir. Ancak, NaCl uygulaması Gökçe’de *T6P* ifadesini aşağı yönde düzenlerken, Küsmen’de ifade düzeyini artırmıştır. Bu durum, Küsmen’in trehaloz birikimi yoluyla ozmolit düzenlemesi yaparak tuzun olumsuz etkilerini azaltmaya çalıştığını göstermektedir. Gökçe ise trehaloz yerine glikoz ve benzeri şekerleri biriktirme eğilimindedir.



5. SONUÇLAR

Farklı nohut çeşitlerinin tuz toleranslarının çeşitlilik gösterdiği tespit edilmiştir. Genel olarak, tuz stresi altında anaçların toplam sürgün ağırlıkları ve nispi nem içeriklerinde belirgin azalmalar gözlemlenmiştir. Tuz stresi, nohut bitkilerinde savunma mekanizmalarının devreye girmesine neden olmuş; bu süreçte membran hasarı sonucunda prolin birikimi ve lipid peroksidasyonu düzeylerinde artış meydana gelmiştir. Ayrıca, tuz stresine karşı savunma mekanizmalarının sistein uygulaması ile teşvik edilerek bitkilerin tuza dayanıklılık kapasitesinin artırılabilceği belirlenmiştir. Antioksidan enzimler, prolin ve poliaminler, bitkilerin oksidatif strese karşı dayanıklılıklarında kritik bir savunma mekanizması oluşturmuş ve bu durum çalışmanın bulgularıyla uyumlu olarak ortaya konulmuştur.

Sonuç olarak, Küsmen çeşidinin tuza karşı daha hassas bir yapıya sahip olduğu ve bu hassasiyetin sistein uygulaması ile belirli seviyelerde azaltılabildiği tespit edilmiştir. Gökçe çeşidinin ise tuza karşı dayanıklılığının sistein uygulamasıyla güçlendirildiği sonucuna ulaşılmıştır. Bu bulgular, farklı nohut çeşitlerinde tuz stresi yönetiminde sistein gibi biyokimyasal uygulamaların potansiyel faydalarını vurgulamaktadır.

6. ÖNERİLER

Sisteinin, nohut bitkilerinde tuz stresine karşı sağladığı toleransı daha ayrıntılı olarak incelemek amacıyla, sistein uygulanmış ve uygulanmamış kontrol bitkilerinin tuz stresine maruz bırakılarak transkriptomik analizlerinin gerçekleştirilmesi önerilmektedir. Bu analizler, sisteinin bitki metabolizması üzerindeki etkilerini moleküler düzeyde anlamaya katkı sağlayacaktır.

Buna ek olarak, tuz stresi koşullarında nohut bitkilerinin verimliliğini artırabilecek ve besin değerlerini iyileştirebilecek genlerin tespit edilmesi ve bu genlerle ilgili düzenlemelerin yapılması, yeni araştırma projeleri geliştirilmesi açısından önem taşımaktadır. Bu çalışmalar, küresel iklim değişikliğinin tarımsal üretim üzerindeki olumsuz etkileriyle mücadelede önemli bir adım oluşturabilecektir. Bu doğrultuda, genetik ve biyoteknolojik yaklaşımlar kullanılarak tuza dayanıklı nohut çeşitlerinin geliştirilmesi hem tarımsal sürdürülebilirliğe hem de gıda güvenliğine önemli katkılar sağlayacaktır.

7. KAYNAKLAR

- Abbo, S., Saranga,Y., Peleg, Z.,Kerem, Z., Lev-Yadun, S., & Gopher, A., 2009. Reconsidering domestication of legumes versus cereals in the ancient near east. *Q Rev Biol*, 84(1), 29-50.
- Abbruzzese G., Beritognolo I., Muleo R., Piazzai M., Sabatti M., Scarascia M. G., & Kuzminsky E., 2009. Leaf morphological plasticity and stomatal conductance in three *Populus alba* L. genotypes subjected to salt stress. *Environmental and Experimental Botany*, 66, 381–388.
- Acar, O., 1999. *Kurağa Duyarlı ve Dayanıklı Bazı Arpa (Hordeum Spp.) Çeşitlerinde Süperoksit Dismutaz (SOD, EC 1.15.1.1) Aktivitelerinin Araştırılması*. Ege Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, İzmir, s 87.
- Adolf, V. I., Jacobsen, S.-E., & Shabala, S., 2013. Salt tolerance mechanisms in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Environmental and Experimental Botany*, 92, 43-54. doi: 10.1016/j.envexpbot.2009.04.008
- Aebi, H.E., 1983. Catalase. In: *Methods of Enzymatic Analysis*. Bergmeyer, H.U., Ed., Verlag Chemie, Weinheim, 273-286.
- Afzal, S., Chaudhary, N. & Singh, NK., 2021. Role of Soluble Sugars in Metabolism and Sensing Under Abiotic Stress. In: Aftab, T., Hakeem, KR (editörler) *Plant Growth Regulators*, Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-61153-8_14
- Ahmad F., Gaur P.M. & Croser J, 2005. Genetic resources, chromosome engineering and crop improvement-Grain Legumes , Chickpea (*Cicer arietinum* L.). In: Singh, R.J., Jauhar, P.P., editors. Boca Raton: CRC Press 2005, 187-217.
- Alarcon-Valdez, C., Milan-Carrillo, J., Cardenas-Valenzuela, O. G., Mora-Escobedo, R., Bello-Perez, L. A., & Reyes-Moreno, C., 2005. Infant food from quality protein maize and chickpea: optimization for preparing and nutritional properties. *Int J Food Sci Nutr*, 56(4), 273-285. doi: 10.1080/09637480500146804
- Ali, Q., Athar, H.R., Haider, M.Z., Shahid, S., Aslam,N., Shehzad, F., Naseem, J. Ashraf, R., Ali ,A. & Hussain,S.M., 2019. Role of Amino Acids in Improving Abiotic Stress Tolerance to Plants. In *Plant Tolerance to Environmental Stress: Role of Phytoprotectants*. Editörler: Hasanuzzaman, M., Fujita, M., Oku, H., Islam, M.T. Taylor ve Francis group, Boca Raton, CRC Press.
- Amin, U. S., Biswas, S., Elias, S. M., Razzaque, S., Haque, T., Malo, R., & Seraj, Z. I., 2016. Enhanced Salt Tolerance Conferred by the Complete 2.3 kb cDNA of the Rice Vacuolar Na(+)/H(+) Antiporter Gene Compared to 1.9 kb Coding Region with 5' UTR in Transgenic Lines of Rice. *Front Plant Sci*, 7, 14. doi: 10.3389/fpls.2016.00014

- Angelini, R., Manes, F. & Federico, R., 1990. Spatial And Functional Correlation Between Diamine-Oxidase And Peroxidase Activities And Their Dependence Upon De-Etiolation And Wounding In Chick-Pea Stems. *Planta* 182: 89-96.
- Ardic, M., A.H. Sekmen, S. Tokur, F. Ozdemir & I. Turkan, 2009. Antioxidant response of chickpea plants subjected to boron toxicity. *Plant Biol.*, 11: 328-338. PMID: 19470104.
- Arias D.G., Marquez V.E., Beccaria A.J., Guerrero S.A. & Iglesias A.A., 2010. Purification And Characterization of A Glutathione Reductase from *Phaeodactylum tricornutum*. *Protist*. 2010;161:91–101.
- Arif Y., Singh P., Siddiqui H., Bajguz A. & Hayat, S., 2020. Salinity Induced Physiological and Biochemical Changes in Plants: An Omic Approach Towards Salt Stress Tolerance. *Plant Physiol. Biochem.* 2020;156:64–77.
- Arumuganathan, K. & Earle, E. D., 1991. Nuclear DNA Content of Some Important Plant Species. *Plant Mol Biol Report*, 9(3), 208-218. doi: 10.1007/bf02672069
- Babaoğlu, M., Gürel, E. & Özcan, S., 2002. *Bitki Biyoteknolojisi, Doku Kültürü ve Uygulamaları*. Selçuk Üniversitesi Vakıf Yayınları, 374, Konya.
- Bak, D.W., Bechtel, T.J., Falco, J.A. & Weerapana, E., 2019. Cysteine Reactivity Across The Subcellular Universe. *Current Opinion in Chemical Biology*, 48, 96–105.
- Barr, H.D. & Weatherley, P.E., 1962. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficit in leaves. *Aust. J. Biol. Sci.* 15:413-428.
- Bashir, H., Ahmad, J., Bagheri, R., Nauman, M. & Qureshi, M.I., 2012. Limited sulfur resource forces *Arabidopsis thaliana* to shift towards non-sulfur tolerance under cadmium stress. *Environmental and Experimental Botany*, 94, 19-32.
- Beauchamp, C. & Fridovich, I., 1971. Superoxide Dismutase: Improved Assays and An Assay Applicable to Acrylamide Gels. *Analytical Biochemistry*, 44, 276-287.
- Bell, S., 2014. The Small But Mighty Chickpea. *Phys.org*. Retrieved Oct, 2015, from <https://phys.org/news/2014-03-small-mighty-chickpea.html>
- Bhattacharya A., 2019. Radiation-Use Efficiency Under Different Climatic Conditions. *Changing Climate and Resource Use Efficiency in Plants*, Pages 51-109. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816209-5.00002-7>
- Bradford, M.M., 1976. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities Utilizing the Principle of Protein Dye Binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254.
- Bray E., Bailey-Serres J. & Weretilnyk E., 2000. Responses to abiotic stress. In Buchanan BB, Editörler: Guissem W, Jones RL, *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, pp. 1158-1203. ASPP, Rockville, Ma.

- Brown, D.M., Upcroft, J.A. & Upcroft, P. A., 1996. Thioredoxin Reductase-Class of Disulphide Reductase in The Protozoan Parasite *Giardia Duodenalis*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 83, 211–220.
- Brugnoli E. & Lauteri M., 1990. Effects of Salinity on Stomatal Conductance, Photosynthetic Capacity, and Carbon Isotope Discrimination of Salt Tolerant (*Gossypium hirsutum* L.) and Salt-Sensitive (*Phaseolus vulgaris* L.) C3 Non-Halophytes. *Plant Physiol.*, 95, 628-635.
- Carillo P. & Gibon Y., 2012. PROTOCOL: Extraction and determination of proline.
- Cartwright, B., Zarcinas, BA. & Spouncer, LR., 1986. Boron toxicity in South Australian barley crops. *Australian Journal of Agricultural Research* 37(4) 351 – 359.
- Chen D., Shao O., Yin L., Younis A. & Zheng B., 2019. Polyamine Function in Plants: Metabolism, Regulation on Development, and Roles in Abiotic Stress Responses. *Front Plant Sci.*, 2018;9:1945. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01945>
- Combs, J.A. & DeNicola, G.M. 2019. The Non-Essential Amino Acid Cysteine Becomes Essential for Tumor Proliferation and Survival. *Cancers*, 11, 678.
- Cubero, J. I. (1987). Morphology of chickpea. *The Chickpea*, s. 35-66. UK.: CAB. International, Wallingford, Oxon.
- Devasirvatham, V., Tan, D. K. Y., Gaur, P. M., Raju, T. N., & Trethowan, R. M., 2012. High Temperature Tolerance in Chickpea and Its Implications for Plant Improvement. *Crop and Pasture Science*, 63(5), 419-428. doi: <https://doi.org/10.1071/CP11218>.
- DuBois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.T. & Smith, F., 1956. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350-356.
- Duke, J. A. (1981). Handbook of Legumes of World Economic Importance. *New York: Plenum Press*, s. 52- 57.
- Edreva, A., Yordanov I., Kardjieva R., & Gesheva E., 1998. Heat Shock Responses of Bean Plants: Involvement of Free Radicals, Antioxidants and Free Radical/Active Oxygen Scavenging Systems. *Biol. Plant.*, 41,185-191.
- Erdal, S. & Turk, H., 2016. Cysteine-induced Upregulation of Nitrogen Metabolism-related Genes and Enzyme Activities Enhance Tolerance of Maize Seedlings to Cadmium Stress. *Environmental and Experimental Botany*, 132, 92-99.
- FAO. 2014. FAOSTAT. Online statistical database (retrieved November 2014) (available at <http://faostat.fao.org>)

- Fisarakis, I., Chartzoulakis, K. & Stavrakas, D., 2001. Response of Sultana Vines (*V. vinifera* L.) on Six Rootstocks to NaCl Salinity Exposure and Recovery. *Agric. Water Management*, 51 (1), 13-27.
- Flores, H.E. & Galston, A.W., 1982. Analysis of Polyamines in Higher Plants by High Performance Liquid Chromatography. *Plant Physiology*, 69,3, 701-6.
- Flowers, T. J., Gaur, P. M., Gowda, C. L., Krishnamurthy, L., Samineni, S., Siddique, K. H. & Colmer, T. D., 2010. Salt Sensitivity in Chickpea. *Plant Cell Environ*, 33(4), 490-509. doi: 10.1111/j.1365-3040.2009.02051.x.
- Flowers, T.J., Munns, R. & Colmer, T.D., 2015. Sodium Chloride Toxicity and the Cellular Basis of Salt Tolerance in Halophytes. *Annals of Botany*, 115, 419–431.
- Gallie D. R., 2013. L-Ascorbic Acid: A Multifunctional Molecule Supporting Plant Growth and Development. *Scientifica* (Cairo), 795964. doi: [10.1155/2013/795964](https://doi.org/10.1155/2013/795964)
- Geervani, P., 1991. Utilization of Chickpea in India and Scope for Novel and Alternative Uses. In *Uses of Tropical Grain Legumes*, Proceedings of Consultants Meeting, ICRI SAT Center, Patancheru, Andhra Pradesh, India, s. 47–54.
- Genisel, M., Erdal, S. & Kızılkaya, M., 2014. The Mitigating Effect of Cysteine on Growth Inhibition in Salt-Stressed Barley Seeds is Related To Its Own Reducing Capacity Rather Than Its Effects on Antioxidant System. *Plant Growth Regulation*, 75(1), 187-197.
- Gunes, A., Inal, A., Bagci, G. E. & Pilbeam, D. J., 2007. Silicon-mediated Changes of Some Physiological and Enzymatic Parameters Symptomatic for Oxidative Stress in Spinach and Tomato Grown in Sodic-B Toxic Soil. *J. Plant and Soil*, 290, 103-114.
- Gupta, K., Dey, A. & Gupta, B., 2013. Plant Polyamines in Abiotic Stress Responses. *Acta Physiol.Plant*. 35, 2015–2036.doi:10.1007/s11738-013-1239-4.
- Güçdemir, İ. & Sönmez, B., 2008. Toprak Analizi Yapmanın Önemi. *Tarım Türk Dergisi*, 12, 28-30.
- Hong, Y., Zhang, H., Huang, L., Li, D., & Song, F., 2016. Overexpression of a Stress-Responsive NAC Transcription Factor Gene ONAC022 Improves Drought and Salt Tolerance in Rice. *Front Plant Sci*, 7, 4. doi: 10.3389/fpls.2016.00004.
- Hulse, J. H., 1994. Expanding the Production and Use of Cool Season Food Legumes: A Global Perspective of Persistent Constraints and of Opportunities and Strategies for Further Increasing The Productivity and Use Of Pea, Lentil, Faba Bean, Chickpea and Grasspea in Different Farming Systems. *Nature, composition, and utilization of food legumes*, Springer Netherlands, s. 77-97.
- Ihsan, M.Z., Daur, I., Alghabari, F., Alzamanan, S., Rizwan, S., Ahmad, M., Waqas, M. & Shafqat, W., 2019. Heat stress and plant development: role of sulphur metabolites

and management strategies. *Acta Agriculturae Scandinavica*, Section B — Soil & Plant Science, 69:4, 332-342.

Jagota S.K. & Dani H.M., 1982. A new calorimetric technique for the estimation of vitamin C using Folin phenol reagent. *Anal Biochem*, 127:178–182.

Jain, M., Mathur, G., Koul, S. & Sarin, N.B., 2001. Ameliorative effects of proline on salt stressed lipid peroxidation in cell lines of groundnut (*Arachis hypogae* L.). *Plant Cell Rep.* 20, 463-468.

Jang I.C., Oh S.J., Seo J.S., Choi W.B., Song S.I., Kim C.H., Kim Y.S., Seo H.S., Choi Y.D., Nahm B.H. & Kim J.K., 2003. Expression of A Bifunctional Fusion of The *Escherichia Coli* Genes for Trehalose-6-Phosphate Synthase and Trehalose-6-Phosphate Phosphatase in Transgenic Rice Plants Increases Trehalose Accumulation and Abiotic Stress Tolerance Without Stunting Growth. *Plant Physiol.* Feb;131(2):516-24. doi: 10.1104/pp.007237.

Jha, U. C., Chaturvedi, S. K., Bohra, A., Basu, P.S., Khan, M.S., & Barh, D., 2014. Abiotic Stresses, Constraints and Improvement Strategies in Chickpea. *Plant Breeding*, 133(2), 163–178. doi: DOI: 10.1111/pbr.12150.

Khamesi F., Amini A. & Ehsanzadeh P., 2020. Chickpea Response to Saline Water: Concurrence of Ion Homeostasis Sustainment and Antioxidative Defense Measures. *South Afr. J. Bot.* 2020;133:245–252.

Kishor, P. K., Sangam, S., Amrutha, R., Laxmi, P. S., Naidu, K., Rao, K., Rao, S., Reddy, K., Theriappan, P. & Sreenivasulu, N., 2005. Regulation of Proline Biosynthesis, Degradation, Uptake and Transport in Higher Plants: Its Implications in Plant Growth and Abiotic Stress Tolerance. *Current science*, 424-438.

Koca, H., Bor, M., Özdemir, F. & Türkan, İ., 2007. The Effect of Salt Stress on Lipid Peroxidation, Antioxidative Enzymes and Proline Content of Sesame Cultivars. *Environmental and Experimental Botany*, 60: 344-351.

Krishnamurthy, L., Turner, N. C., Gaur, P. M., Upadhyaya, H. D., Varshney, R. K., Siddique, K. H. M. & Vadez, V., 2011. Consistent Variation Across Soil Types in Salinity Resistance of a Diverse Range of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Genotypes. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 197(3), 214-227. doi: DOI: 10.1111/j.1439-037X.2010.00456.x

Kupicha, F. K., 1981. Viciaeae. *Advances in Legume Systematics*. Kew.

Ladeiro, B., 2012. Saline Agriculture in the 21st Century: Using Salt Contaminated Resources to Cope Food Requirements. *Journal of Botany*, 7. doi: doi:10.1155/2012/310705.

Ladizinsky, G. & A. Adler, 1976. The Origin of Chickpea *Cicer arietinum* L. *Euphytica*, 25, 211-217.

- Levitt J., 1980. Responses of Plants to Environmental Stress. *Volume II: Water, Radiation, Salt, and Other Stresses*, Academic Press, New York.
- Levy, D. & Tai, G. C. C., 2013. Differential Response of Potatoes (*Solanum tuberosum* L.) to Salinity in an Arid Environment and Field Performance of the Seed Tubers Grown with Fresh Water in the Following Season. *Agricultural Water Management*, 116, 122-127.
- Levy, D. & Veilleux, R. E., 2007. Adaptation of Potato to High Temperatures and Salinity- a Review. *American Journal of Potato Research*, 84(6), 487-506.
- Li, Z., Zhou, M., Hu, Q., Reighard, S., Yuan, S., Yuan, N. & Luo, H., 2012. Manipulating Expression of Tonoplast Transporters. In *Plant Salt Tolerance*, Humana Press, New York, 432p.
- Liang, W., Ma, X., Wan, P. & Liu, L., 2018. Plant Salt-Tolerance Mechanism: A Review. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 495(1): 286-291.
- Lichtenthaler, K. & Welburn, A.R., 1983. Determination of Total Carotenoids and Chlorophylls A and B of Leaf Extracts in Different Solvents. *Botanisches Institut der Univeristat*, Kaiserstran ße 12, Postfach s. 591-592.
- Madhava Rao, K.V. & Sresty, T.V.S., 2000. Antioxidative Parameters in the Seedlings of Pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millspaugh in Response to Zn and Ni Stresses. *Plant Science*, 157, 113-128.
- Malanga, G., Kozak, R.G. & Puntarulo, S., 1999. N-acetylcysteine-dependent Protection Against UV-B Damage in Two Photosynthetic Organisms. *Plant Science*, 141, 129-137.
- Maršálová L., Vítámvás P., Hynek R, Prášil I.T. & Kosová K., 2016. Proteomic Response of *Hordeum Vulgare* cv. Tadmor and *Hordeum marinum* to salinity stress: similarities and differences between a glycophyte and a halophyte, *Plant Sci*, 7:1154.
- Matkowski H. & Daszkowska-Golec A., 2023. Update on Stomata Development and Action Under Abiotic Stress. *Plant Sci., Plant Physiology*, Volume 14-2023. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1270180>
- Mhamdi A., 2023. Hydrogen peroxide in plants. *Advances in Botanical Research*, Volume 105, Pages 43-75.
- Milan-Carrillo, J., Valdez-Alarcon, C., Gutierrez-Dorado, R., Cardenas-Valenzuela, O. G., Mora-Escobedo, R., Garzon-Tiznado, J. A., & Reyes-Moreno, C., 2007. Nutritional Properties of Quality Protein Maize and Chickpea Extruded Based Weaning Food. *Plant Foods Hum Nutr*, 62(1), 31-37. doi: 10.1007/s11130-006-0039-z.
- Millan, T., Clarke, H. J., Siddique, K. H. M., Buhariwalla, H. K., Gaur, P. M., Kumar, J. & Winter, P., 2006. Chickpea Molecular Breeding: New Tools and Concepts. *Euphytica*, 147(1), 81-103.

- Moses F. A. Maliro, D. M., Bob Redden, Kollmorgen J. F. & Pittock C., 2008. Sampling Strategies and Screening of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Germplasm for Salt Tolerance. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 55(1), 53-63.
- Munns, R., & Tester, M., 2008. Mechanisms of Salinity Tolerance. *Annu Rev Plant Biol.*, 59, 651-681. doi: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911
- Munns, R., Day, D. A., Fricke, W., Watt, M., Arsova, B., Barkla, B. J., Bose, J., Byrt, C. S., Chen, Z-H, Foster, K.J., Gilliam, M., Henderson, S. W., Jenkins, C. L. D., Kronzucker, H. J., Miklavcic, S. J., Plett, D., Roy, S. J., Shabala, S., Shelden, M. C., Soole, K. L., Taylor, N. L., Tester, M., Wege, S., Wegner, L. H. & Tyerman, S.D., 2020. Energy Costs of Salt Tolerance in Crop Plants. *New Phytologist*, 225(3), 1072-1090.
- Nakano Y. & Asada K., 1987. Purification of Ascorbate Peroxidase in Spinach Chloroplasts—its Inactivation in Ascorbate-depleted Medium and Reactivation by Monodehydroascorbate Radical. *Plant Cell Physiol*, 28:131–140.
- Narimani T., Toorchi M., Tarinejad A.R., Mohammadi S.A. & Mohammadi H., 2020. Physiological and Biochemical Evaluation of Barley (*Hordeum vulgare* L.) Under Salinity Stress. *J. Agric. Sci. Technol.* 2020;22:1009–1021.
- Nasibi, F., Kalantari, K.M., Zanganeh, R., Mohammadinejad, G. & Oloumi, H., 2016. Seed Priming with Cysteine Modulates the Growth and Metabolic Activity of Wheat Plants Under Salinity and Osmotic Stresses at Early Stages of Growth. *Indian Journal of Plant Sciences*, 21, 279–286.
- Oplinger, E. S., Hardman, L.L., Oelke, E.A., Kaminski, A.R., Schulte, E.E. & Doll, J.D., 1997. Chickpea (garbanzo bean). *Alternative Field Crops Manual. Sugar and Tuber Crops*.
- Perveen, S., Iqbal, M., Saeed, M., Iqbal, N., Zafar, S. & Mumtaz, T., 2019. Cysteine-induced Alterations in Physicochemical Parameters of Oat (*Avena sativa* L. var. Scott and F-411) Under Drought Stress. *Biologia Futura*, 70, 16–24.
- Prochazkova, D., Sairam R. K., Srivastava, G. C. & Singh D. V., 2001. Oxidative Stress and Antioxidant Activity as The Basis of Senescence in Maize Leaves. *Plant Science*, 161, 765-771.
- Pushpavalli, R., Krishnamurthy, L., Thudi, M., Gaur, P. M., Rao, M. V., Siddique, K. H. & Vadez, V., 2015. Two Key Genomic Regions Harbour QTLs for Salinity Tolerance in ICCV 2 x JG 11 Derived Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Recombinant Inbred Lines. *BMC Plant Biol*, 15, 124. doi: 10.1186/s12870-015- 0491-8.
- Rao, A. Q., ud Din, S., Akhtar, S., Sarwar, M. B., Ahmed, M., Rashid, B., Khan, M. A. U., Qaisar, U., Shahid, A. A. & Nasir, I. A., 2016. Genomics of Salinity Tolerance in Plants. In: *Plant Genomics*, Eds: InTech.

- Rasool S., Ahmad A., Siddiqi T.O. & Ahmad P., 2013. Changes in Growth, Lipid Peroxidation and Some Key Antioxidant Enzymes in Chickpea Genotypes Under Salt Stress. *Acta Physiol. Plant.* 2013;35:1039–1050.
- Roorkiwal, M., von Wettberg, E. J., Upadhyaya, H. D., Warschefsky, E., Rathore, A., & Varshney, R. K., 2014. Exploring Germplasm Diversity to Understand the Domestication Process in *Cicer spp.* Using SNP and DArT Markers. *PLoSOne*, 9(7), e102016. doi: 10.1371/journal.pone.0102016
- Roy M. & Wu R., 2001. Arginine Decarboxylase Transgene Expression and Analysis of Environmental Stress Tolerance in Transgenic Rice. *Plant Science*, Volume 160, Issue 5, Pages 869-875. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(01\)00337-5](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00337-5)
- Sadak, M.S., Abd El-Hameid, A.R. & Zaki, F.S.A., 2020. Physiological and Biochemical Responses of Soybean (*Glycine max* L.) to Cysteine Application Under Sea Salt Stress. *Bull Natl Res Cent* 44, 1 (2020). <https://doi.org/10.1186/s42269-019-0259-7>
- Sadiki M. & Rabih K., 2001. Selection of Chickpea (*Cicer arietinum*) for Yield and Symbiotic Nitrogen Fixation Ability Under Salt Stress. *Agronomy*, 21: 659-666.
- Sairam, R. K. & Srivastava, G. C., 2002. Changes in Antioxidant Activity in Sub-cellular Fractions of Tolerant and Susceptible Wheat Genotypes in Response to Long Term Salt Stress. *Plant Science*, 162, 897-904.
- Sairam, R.K., Deshmukhi, P.S. & Saxena, D.C., 1998. Role of Antioxidant Systems in Wheat Genotypes Tolerance to Water Stress. *Biologia Plantarum*, 41(3), 387-394.
- Samineni, S. S., K.H.M. , 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. *Environ Exp Bot*, 71(2), 260–268. doi: doi:10.1016/j.envexpbot.2010.12.014
- Saxena, M. C., 1990. Problems and Potential of Chickpea Production in Nineties. In *Chickpea in the nineties: proceedings of the second international workshop on chickpea improvement*, 4–8 Dec 1989, ICRISAT Center, Patancheru, India.
- Shao, H-B., Chu, L-Y., Jaleel, C.A. ve Zhao, C-X., 2008. “Water-deficit Stress-induced Anatomical Changes in Higher Plants”, *Comptes Rendus Biologies*, 331(3), 215-225.
- Sivritepe, N. & Eris, A., 1999. Determination of Salt Tolerance in Some Grapevine Cultivars (*Vitis vinifera* L.) Under in Vitro Conditions. *Tr. J. of Biolog*, 23, 473- 485.
- Smithson, J. B., J.A. Thompson & R.J. Summerfield., 1985. Chickpea (*Cicer arietinum* L.). U.K.: Collins, London.
- Sohrabi, Y., Heidari, G. & Esmailpoor, B., 2008. Effect of Salinity on Growth and Yield of Desi and Kabuli Chickpea Cultivars. *Pak J Biol Sci*, 11(4), 664-667.

- Soni S., Kumar A., Sehrawat N., Kumar N., Kaur G., Kumar A. & Mann A., 2021. Variability of Durum Wheat Genotypes in Terms of Physio-Biochemical Traits Against Salinity Stress. *Cereal Res. Commun.*, 2021;49:45–54.
- Sun, H., Zhang, X., He, X., Ahmed, I. M., Cao, F., Zhang, G. & Wu, F., 2014. N-acetyl-Cysteine Alleviates Cd Toxicity and Reduces Cd Uptake in The Two Barley Genotypes Differing in Cd Tolerance. *Plant Growth Regulation*, 74, 93–105.
- Szabados L. & Saviouré A., 2010. Proline: a Multifunctional Amino Acid. *Trend in plant science*, Volume 15, Issue 2, Pages 89-97.
- Taiz L. & Zeiger E., 2002. Plant Physiology (3rd edition). *Sinauer Associates Inc.*, Sunderland, MA, USA, p. 224
- Tavakoli M, Poustini K. & Alizadeh H., 2016. Proline Accumulation and Related Genes in Wheat Leaves Under Salinity Stress. *J Agric Sci Technol.* ;18:707–716.
- Teakle, N. L., & Tyerman, S. D., 2010. Mechanisms of Cl⁻ transport Contributing to Salt Tolerance. *Plant Cell Environ*, 33(4), 566-589. doi: 10.1111/j.1365-3040.2009.02060.
- Tester, M., & Langridge, P., 2010. Breeding Technologies to Increase Crop Production in a Changing World. *Science*, 327(5967), 818-822. doi: 10.1126/science.1183700
- Troncoso, A., Matte, C., Cantos, M. & Lavee S., 1999. Evaluation of Salt Tolerance of in Vitro-grown Grapevine Rootstock Varieties. *Vitis*, 38(2), 55-60.
- Turner, N. C., Abbo, S., Berger, J. D., Chaturvedi, S. K., French, R. J., Ludwig, C. & Yadava, H. S., 2007. Osmotic Adjustment in Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Results in No Yield Benefit Under Terminal Drought. *J Exp Bot*, 58(2), 187-194. doi: 10.1093/jxb/erl192
- Tuteja, N., 2007. Mechanisms of High Salinity Tolerance in Plants. *Methods Enzymol*, 428, 419-438. doi: 10.1016/S0076-6879(07)28024-3.
- Türkan, I. & Demiral, T., 2009. Recent Developments in Understanding Salinity Tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 67: 2-9.
- Urbanek, H., Kuzniak-Gebarowska, E. & Herka, K., 1991. Elicitation of Defense Responses in Bean Leaves By *Botrytis cinerea* Polygalacturanase. *Acta Physiologiae Plantarum*, 13, 43-50.
- Vadez, V., Rashmi, M., Sindhu, K., Muralidharan, M, Pushpavalli, R., Turner, N.C., Krishnamurthy, L., Gaur, P.M. & Colmer, T.D., 2012. Large Number of Flowers and Tertiary Branches, and Higher Reproductive Success Increase Yields Under Salt Stress in Chickpea. *European Journal of Agronomy*, 41, 42–51. doi: 10.1016/j.eja.2012.03.008
- Vadez, V., Krishnamurthy, L., Serraj, R., Gaur, P.M., Upadhyaya, H.D. & Siddique, K.H.M., 2007. Large Variation in Salinity Tolerance in Chickpea is Explained By Differences

in Sensitivity at the Reproductive Stage. *Field Crops Research*, Volume 104(1-3), 123-129. doi: doi:10.1016/j.fcr.2007.05.014.

Van der Maesen, L. J. G., 1987. *Cicer L.* Origin, History and Taxonomy of Chickpea. *The Chickpea*, UK: C.A.b.International Cambrian News Ltd, Aberystwyth, pp. p.11-34.

Walker A.R.P. & Walker B.F., 1984. Glycaemic Index of South African Foods Determined in Rural Blacks—a Population at Low Risk Of Diabetes. *Hum Nutr Clin Nutr.* 1984;38C:215–22.

Wang, W., Cang, L., Zhou D.M. & Yu, Y.C., 2017. Exogenous Amino Acids Increase Antioxidant Enzyme Activities and Tolerance of Rice Seedlings to Cadmium Stress. *American Institute of Chemical Engineers Environ Prog*, 36, 155–161.

Zohary, D. & Hopf., M., 2000. Domestication of Plants in the Old World: The Origin and Spread of Cultivated Plants in West Asia. Europe, and the Nile Valley: Oxford University Press.

ÖZGEÇMİŞ

Ece Nisa İMAMOĞLU, İlk ve orta öğrenimini Trabzon'da tamamladı. 2017 yılında KTÜ Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü'nü kazandı. Lisans eğitiminde TÜBİTAK 2209-A projesinde yürütücü, TÜBİTAK 119Z885 kodlu projede ARGE elemanı olarak görev aldı. 2021 yılında Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümünden mezun oldu. Ara vermeyerek, 2021 yılında KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda Prof. Dr. Aykut SAĞLAM danışmanlığında Yüksek Lisans eğitime başladı. Lisansüstü eğitiminde TÜBİTAK 219Z014 kodlu projede bursiyer olarak görev aldı. 2024 yılında ETKA Biyoteknoloji ve Danışmanlık Ltd. Şti'nde Moleküler Biyolog ve Genetikçi olarak çalışmaya başladı.