

Bazı Taze Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) Genotiplerinin Yüksek Sıcaklığa
Toleransları

Aslı Tokyol

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Şubat 2016

High Temperature Tolerance of Some Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.)
Genotypes

Aslı Tokyol

MASTER OF SCIENCE THESIS

Department of Horticulture

February 2016

Bazı Taze Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) Genotiplerinin Yüksek Sıcaklığa Toleransları

Aslı Tokyol

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Yönetmeliği Uyarınca
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Prof. Dr. Ece Turhan

Şubat 2016

ONAY

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Aslı Tokyol'un YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı "Bazı Taze Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) Genotiplerinin Yüksek Sıcaklığa Toleransları" başlıklı bu çalışma, jürimizce lisansüstü yönetmeliğin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek oybirliği ile kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Ece Turhan

İkinci Danışman : --

Yüksek Lisans Tez Savunma Jürisi:

Üye : Prof. Dr. Ece Turhan

Üye : Doç.Dr. Asuman Cansev

Üye : Yrd.Doç.Dr. Cenap Yılmaz

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun tarih ve
..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hürriyet ERŞAHAN
Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Prof. Dr. Ece Turhan danışmanlığında hazırlamış olduğum “Bazı Taze Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) Genotiplerinin Yüksek sıcaklığa Toleransları ” başlıklı YÜKSEK LİSANS tezimin özgün bir çalışma olduğunu; tez çalışmamın tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; tezimde verdiğim bilgileri, verileri akademik ve bilimsel etik ilke ve kurallara uygun olarak elde ettiğimi; tez çalışmamda yararlandığım eserlerin tümüne atıf yaptığımı ve kaynak gösterdiğimi ve bilgi, belge ve sonuçları bilimsel etik ilke ve kurallara göre sunduğumu beyan ederim.01/02/2016

Aslı TOKYOL

İmza

ÖZET

Taze fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) genotiplerinin yüksek sıcaklığa toleranslarında genotipik farklılığın belirlenmesi amacıyla fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerden yararlanılan bu çalışmada Balkız, Ferasettsiz ve Yerel Genotip kullanılmıştır.

Fideler, 3–4 gerçek yapraklı oluncaya kadar serada ortalama 15/30°C (gece/gündüz) sıcaklıkta, ~%65 nemde yetiştirilmiştir. Bitkiler yüksek sıcaklık stresi denemeleri için laboratuardaki iklimlendirme kabinine alınarak, kabin sıcaklığı kademeli olarak 35, 40,45 ve 50°C'ye yükseltilmiş ve her bir sıcaklık derecesinde 24 saat tutulmuştur. Her bir sıcaklık kademesindeki bitkilerden alınan yaprak örneklerinde, yaprak oransal sukapsamı (YOSK), turgor kaybı (TK), yaprak alanı, klorofil miktarı (KM) ve lipid peroksidasyonu (MDA) ölçümleri yapılmıştır. Ayrıca, SDS-PAGE yöntemiyle toplam çözünebilir protein profilleri çıkarılmıştır. YOSK sonuçlarına göre Ferasettsiz ve Yerel Genotip en yüksek YOSK'na sahip iken Balkız en düşük değere sahip olmuştur. Buna karşılık TK ve MDA miktarında Ferasettsiz ve Yerel Genotip en düşük değerlere sahipken Balkız en yüksek TK ve MDA miktarına sahip genotip olmuştur. Yaprak alanı ve KM ise genotiplerin sıcaklık toleransları ile ilişkili bulunmamıştır. SDS-PAGE'de uygulamalara göre değişen pek çok protein bandı görülmüştür.

Taze fasulye genotiplerinin yüksek sıcaklık toleranslarını belirlemek için, serada yetiştirilen bitkilerden alınan yaprak örnekleri, kontrollü olarak yüksek sıcaklık uygulamasının yapıldığı sıcak su banyosunda 60°C'ye kadar kademeli olarak tutulmuş ve iyon sızıntısı testi sonucuna göre her bir genotipe ait yüksek sıcaklık tolerans dereceleri belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre genotiplerin sıcaklık stres tolerans noktaları Balkız genotipinde 45,5 °C, Ferasettsiz ve Yerel Genotipte ise sırasıyla 50,8 ve 49,9 °C olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak, Ferasettsiz ve Yerel Genotip'in yüksek sıcaklığa tolerant, Balkız genotipinin ise daha hassas olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Taze Fasulye, *Phaseolus vulgaris* L., yüksek sıcaklık, stres toleransı.

SUMMARY

Physiological and biochemical parameters were used to investigate the effect of genotypic variation on the tolerance to high temperature in green bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes, (Balkız, Ferasetisiz, Yerel Genotip).

The seedlings were grown until 3-4 leaves stages under controlled conditions at 30/15°C (day/night) temperature with RH ~%65 then transferred to climate chamber to expose to heat stress. The temperature was increased stepwise to 35, 40, 45 and 50°C for 24 hours. Leaf relative water content (LRWC), loss of turgidity (LT), leaf area, chlorophyll content (CC) and lipid peroxidation (MDA) were measured in the leaves collected from the plants in each temperature step. Moreover, total soluble protein profiles were determined using SDS-PAGE method. According to LRWC results, Ferasetisiz and Yerel Genotype have the highest LRWC where the Balkız has the lowest value. On the other hand, Ferasetisiz and Yerel genotype have the lowest LT and MDA but Balkız has the highest. The leaf area and CC were not associated with the heat stress tolerance (HST) of genotypes. On SDS-PAGE many protein bands were detected depending on the treatments.

To determine HST of green bean genotypes, the leaf samples, collected from greenhouse, were kept gradually until 60°C. Each green bean genotype's heat stress tolerances was determined by ion leakage test results. According to results, HST was determined as 45,5 °C, 50,8 °C, 49,9 °C for Balkız, Ferasetisiz, Yerel Genotype respectively. As a result, Ferasetisiz and Yerel Genotype were heat tolerant genotypes, whereas Balkız was determined as more sensitive genotypes.

Key Words: Green Bean, *Phaseolus vulgaris* L., high temperature, stress tolerance.

TEŞEKKÜR

Bu konuda çalıőmam için beni yönlendiren, tez çalıőmam boyunca bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen Danışman Hocam Prof. Dr. Ece TURHAN' a sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

Laboratuar çalıőmalarım sırasında yardımını ve desteğini gördüğüm Arő. Gör. Çiğdem AYDOğAN ve Yüksek Kimyager Nilüfer ÖZTÜRK' e teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca olduğu gibi tez çalıőmam boyunca da desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen aileme teőekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

| | <u>Sayfa</u> |
|---|--------------|
| ÖZET | vi |
| SUMMARY | vii |
| TEŞEKKÜR | viii |
| İÇİNDEKİLER | x |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | xi |
| ÇİZELGELER DİZİNİ | xii |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ | xiii |
| 1.GİRİŞ VE AMAÇ | 1 |
| 2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI | 4 |
| 3. MATERYAL VE YÖNTEM | 11 |
| 3.1. Materyal..... | 11 |
| 3.2. Yöntem..... | 11 |
| 3.2.1. Denemenin kuruluşu..... | 11 |
| 3.2.2. Yüksek sıcaklık uygulamaları..... | 12 |
| 3.2.3. İncelenen parametreler..... | 14 |
| <u>3.2.3.1. Yaprak oransal su kapsamı (YOSK) ve turgor kaybı (TK)</u> | 14 |
| <u>3.2.3.2. Yaprak alanı</u> | 14 |
| <u>3.2.3.3. Toplam klorofil miktarı</u> | 14 |
| <u>3.2.3.4. Lipid peroksidasyonu</u> | 15 |
| <u>3.2.3.5. Hücre membran zararlanma oranı</u> | 16 |
| <u>3.2.3.6. Toplam çözünebilir protein analizi</u> | 17 |
| <u>3.2.3.7. SDS-PAGE analizi</u> | 18 |
| 3.3. İstatistiksel Analizler..... | 20 |
| 4. BULGULAR VE TARTIŞMA | 21 |
| 4.1. Yaprak Oransal Su Kapsamı (YOSK) ve Turgor Kaybı (TK)..... | 21 |
| 4.2. Yaprak Alanı..... | 26 |
| 4.3. Toplam Klorofil Miktarı (KM) | 29 |
| 4.4. Lipid Peroksidasyonu (MDA)..... | 32 |

İÇİNDEKİLER (devam)

| | <u>Sayfa</u> |
|---|---------------------|
| 4.5. Hücre Membran Zararlanma Oranı..... | 35 |
| 4.6. Yüksek Sıcaklığa Tolerans (LT ₅₀)..... | 38 |
| 4.7. Toplam Çözünebilir Protein Miktarı..... | 39 |
| 4.8. SDS-PAGE..... | 42 |
| 5.SONUÇLAR VE ÖNERİLER..... | 44 |
| KAYNAKLAR DİZİNİ..... | 46 |
| EK AÇIKLAMALAR LİSTESİ..... | 54 |
| EK AÇIKLAMALAR..... | 55 |
| Ek Açıklama-A:..... | 55 |
| Ek Açıklama-B: | 56 |
| Ek Açıklama-C: | 57 |
| Ek Açıklama-D:..... | 58 |
| Ek Açıklama-E:..... | 59 |
| Ek Açıklama-F:..... | 60 |
| Ek Açıklama-G:..... | 61 |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| <u>Sekil</u> | <u>Sayfa</u> |
|---|--------------|
| 3.1. Taze fasulye genotiplerinin tohumlarının görünümü..... | 12 |
| 3.2. Yüksek sıcaklık uygulaması öncesi taze fasulye genotiplerinin iklim kabinindeki görünümü | 13 |
| 3.3. Taze fasulye genotiplerinin yüksek sıcaklık uygulamaları sonrası görünümü..... | 13 |
| 4.1. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak taze fasulye genotiplerinin oransal su kapsamındaki (YOSK) değişim. Dikey barlar tekerrürlerin \pm SS' larını göstermektedir..... | 22 |
| 4.2. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak taze fasulye genotiplerinin turgor kaybındaki (TK) değişim. Dikey barlar tekerrürlerin \pm SS' larını göstermektedir..... | 24 |
| 4.3. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak taze fasulye genotiplerinin yaprak alanlarındaki değişim. Dikey barlar tekerrürlerin \pm SS' larını göstermektedir..... | 27 |
| 4.4. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak taze fasulye genotiplerinin toplam klorofil (mg/g TA) miktarı. Dikey barlar tekerrürlerin \pm SS' larını göstermektedir..... | 30 |
| 4.5. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak taze fasulye genotiplerinin yapraklarındaki MDA miktarı. Dikey barlar tekerrürlerin \pm SS' larını göstermektedir..... | 33 |
| 4.6. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak taze fasulye genotiplerinin yapraklarındaki hücre membran zararlanma oranları. Dikey barlar tekerrürlerin \pm SS' larını göstermektedir..... | 36 |
| 4.7. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak taze fasulye genotiplerinin yüksek sıcaklık tolerans (LT_{50}) değerleri. Dikey barlar tekerrürlerin \pm SS' larını göstermektedir..... | 38 |
| 4.8. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak taze fasulye genotiplerinin toplam çözünebilir protein miktarı. Dikey barlar tekerrürlerin \pm SS' larını göstermektedir..... | 40 |
| 4.9. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak taze fasulye genotiplerinin toplam protein profilleri..... | 42 |

ÇİZELGELER DİZİNİ

| <u>Cizelge</u> | <u>Sayfa</u> |
|--|---------------------|
| 3.1. Araştırmada kullanılan taze fasulye genotiplerinin orjinleri..... | 11 |
| 4.1. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak taze fasulye yapraklarındaki yaprak oransal su kapsamı (YOSK)..... | 23 |
| 4.2. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak taze fasulye yapraklarındaki turgor kaybı (TK)..... | 25 |
| 4.3. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak taze fasulye genotiplerinin yaprak alanı..... | 28 |
| 4.4. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak taze fasulye yapraklarındaki toplam klorofil miktarı (KM)..... | 31 |
| 4.5. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak taze fasulye yapraklarındaki lipid peroksidasyonu (MDA) | 34 |
| 4.6. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak taze fasulye yapraklarındaki yaprak zararlanma oranı | 37 |
| 4.7. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak taze fasulye yapraklarındaki toplam çözünebilir protein miktarı | 41 |

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

| | |
|----|------------------|
| °C | Santigrat derece |
| µg | Mikrogram |
| µl | Mikrolitre |
| cm | Santimetre |
| mL | Mililitre |

Açıklama

Kısaltmalar

| | |
|-------------------------------|---|
| AA | Askorbik Asit |
| ABA | Absisik Asit |
| AOT | Aktif Oksijen Türleri |
| APX | Askorbat Peroksidaz |
| BSA | Bovine Serum Albümin |
| CAT | Katalaz |
| CWB-POX | Hücre Duvarı Bağlı Peroksidaz |
| DHA | Dehidro askorbat |
| dH ₂ O | Saf su |
| DMF | Dimethylformamide (Dimetilformamid) |
| DNA | Deoksiribo nükleik asit |
| DTT | 1,4 dithiothreitol |
| EC | Elektiriksel iletkenlik |
| EDTA | Etilen diamin tetra asetik asit |
| FAO | Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü |
| GSH | Glutatyon |
| H ₂ O ₂ | Hidrojen peroksit |
| HSP | Heat şok protein |
| IPCC | Intergovernmental Panel on Climate Change (Hükümetlerarası İklim Değişikliği Paneli) |
| KM | Klorofil miktarı |
| MDA | Malondialdehyde (Malondialdehit) |
| PMSF | Phenylmethanesulfonyl fluoride |

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)

| | |
|----------|---|
| POX | Peroksidaz |
| PVPP | PolyVinyIPolyPyrrolidone |
| SDS | Sodyum dodesil sülfat |
| SDS-PAGE | Sodyum dodesil sülfat-Poliakrilamid jel elektroforezi |
| S-POX | Çözünabilir peroksidaz |
| SS | Standart Sapma |
| TBA | Thiobarbuturic Acid (Tiyobarbuturik Asit) |
| TCA | Trichloroacetic Acid (Trikloroasetik Asit) |
| TÇP | Toplam çözünabilir protein |
| TK | Turgor kaybı |
| YOSK | Yaprak Oransal Su Kapsamı |

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Stres; çevresel veya biyotik faktörlerin veya bunların çeşitli birleşimlerinin etkisiyle fizyolojik süreçte anormal değişimlerin meydana gelmesidir (Hale ve Orcutt, 1987). Bitkilerde stres çoğunlukla, bitkinin üzerinde olumsuz etki oluşturan dışsal bir etmen olarak tanımlanır. Bitkide strese neden olan etmenler; hastalık oluşturanlar ve zararlılar gibi biyotik kökenli olabilmesinin yanında; tuzluluk, kuraklık, düşük ve yüksek sıcaklıklar, besin elementlerinin eksiklik veya fazlalıkları gibi abiyotik kökenli de olabilmektedir (Mahajan ve Tuteja, 2005).

Bitki yetiştiriciliğinde normal ürün potansiyeline ulaşılabilecek uygun alanların bulunması, bitkisel üretimi sınırlandıran stres faktörlerinden dolayı oldukça zordur. Tarımsal üretimin azalmasına %71 oranda abiyotik stres faktörleri, % 29 oranında ise biyotik stres faktörleri etkilidir (Boer, 1982). Çevresel stres problemlerinin çözümünde en büyük engel olan ekonomik ve ekolojik zorluklar, marjinal alanlarda meydana gelen ürün kayıplarını azaltmak için genetik dayanıma yönelimi zorunlu hale getirmiştir. Abiyotik stres faktörlerine karşı dayanımı yüksek kültür bitkileri geliştirilerek, çok geniş alanların tarımsal üretime uygun hale gelmesi sağlanmış olur (Blum, 2001).

Türkiye karmaşık bir iklim yapısı içinde özellikle küresel ısınmaya bağlı olarak görülebilecek bir iklim değişikliğinden en fazla etkilenecek ülkelerden birisidir. Meydana gelecek iklim değişikliklerinin, tarımsal faaliyetlerde bitkiler ve hayvanların doğal yaşam alanlarında değişikliklere yol açarak, özellikle de kurak ve yarı kurak bölgelerde su kaynakları bakımından önemli sorunlar ortaya çıkmasına neden olacağı öngörülmektedir (Öztürk, 2002). Hükümetlerarası İklim Değişikliği Paneli (IPCC; Intergovernmental Panel on Climate Change)'nin yayınladığı en son rapora göre; 2030 yılına kadar küresel sıcaklığın 0,6 °C artması beklenmektedir (IPCC, 2007). Olası iklim değişikliklerinin bölgedeki bitki yapısını değiştirmesi kaçınılmaz bir makro sonuçtur. Ancak, kısa vadede yüksek sıcaklığa ve kuraklığa tolerant yeni çeşitlerin ıslahı ve özellikle sulama, gübreleme ve pestisit uygulamalarında yapılabilecek değişikliklerin iklim değişikliğinden kaynaklanan riskleri azaltabileceği bildirilmiştir (Downing vd., 1997).

Yüksek sıcaklık stresi, özellikle optimum büyüme sıcaklığındaki 1,5-6 °C' lik artış ile fotosentezin inhibisyonuna, hücre membran zararlanmasına ve senesense bağlı hücre ölümlerine neden olarak büyüme ve gelişmeyi sınırlandırmaktadır. Her bitki türünün optimum fonksiyon gösterdiği optimum sıcaklık aralığı vardır ve bu aralığın dışında hücrel metabolizma ve dolayısıyla bitki büyümesi olumsuz etkilenmektedir (Burke, 1990). Türe özgün bu sıcaklık aralığı 'Termal Kinetik Pencere' olarak tanımlanmaktadır (Burke vd., 1988).

Tarımsal ürünlerde sıcaklık stresi karmaşık bir konu olup (Mckersie ve Leshem, 1994), sıcaklık stresini kesin bir temele dayandırmak mümkün değildir (Levitt, 1980). Bu nedenle, sıcaklık stresi araştırmaları genellikle organ bazında yapılmaktadır. Bitkiler stres koşullarına farklı şekillerde cevap verirler (Taiz ve Zeiger, 2006). Sadece koşulların uygun olduğu dönemde büyüme, kaçış (escape) olarak tanımlanır. Sakınım (avoidance), bitkilerin stres faktörlerinin olumsuz etkilerini azaltması veya engellemesidir. Dış çevrede stres oluşturabilecek koşullar olmasına rağmen bitki hücrelerinin stresten uzak bir iç ortam oluşturmasıdır (Taiz ve Zeiger, 2006; Bailey-Seres ve Voasenck, 2008). Stres faktörlerinin etkisinin elimine edilmesi, azaltılması veya onarılması ise toleranstır. Uyum (acclimation) ve adaptasyonda (adaptation), öncül bir strese maruz kalmanın sonucu olarak tolerans artmışsa, bitki uyumlanmış olarak kabul edilir (Taiz ve Zeiger, 2006). Sessizlik, dinlenme (quiescence) ise, enerji ve karbonhidratların korunması, büyümenin kısıtlanması durumudur (Bailey-Seres ve Voesenek, 2008).

Fasulye insan beslenmesinde çok önemli yeri olan bir sebzedir. Araştırmacılar, fasulyenin gelişmekte olan ülkelerin önemli protein kaynağı olduğunu ifade etmişlerdir (Duranti ve Gius, 1997). Taze fasulye, dünya üzerinde geniş alanlarda tarımı yapılan bir türdür. Bir ılıman iklim bitkisi olan fasulye yaz ortalama sıcaklığı 10-32 °C arasında olan alanlarda başarılı bir şekilde yetiştirilir. Ülkemizde yetiştirilen fasulyelerin hemen tamamı *Phaseolus vulgaris* türü içinde yer alır (Vural vd., 2000). Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) 2012 yılı verilerine göre 614,965 tonluk üretim miktarı ile taze fasulye Türkiye'de en fazla üretilen baklagil türü olup, bu üretim miktarı ile Çin, Endonezya ve Hindistan'dan sonra, 4. sırada yer almaktadır (FAO, 2015).

Artan sıcaklıklar bitki gelişiminin farklı evrelerini inhibe etmektedir (Ishag vd., 1996). Taze fasulye iklim isteği yönünden hassas olup özellikle bazı dönemlerinde çevre şartlarına karşı çok duyarlıdırlar. Çimlenme için yüksek sıcaklık isterler. Buna karşılık çiçeklenme ve meyve bağlama dönemlerinde yüksek sıcaklık büyük zararlara yol açar, verim ve kalite çok önemli ölçüde düşer. Meyve bağlama döneminde 18-25 °C sıcaklıklar optimum meyve tutumu ve gelişmesini sağlar (Vural vd., 2000). Ancak fasulye yetiştiriciliğinin çok farklı iklimlerde ve örtü altında da yapılabiliyor olması nedeni ile bitkiler sıklıkla yüksek sıcaklık stresine maruz kalabilmektedirler. Ayrıca küresel ısınmanın artması ile birlikte yüksek sıcaklıklar gelecekte pek çok bitki türü gibi taze fasulye yetiştiriciliğini de sınırlandırıcı bir faktör olacaktır. Bu durum; yüksek sıcaklığa toleranslı yeni çeşitlerin geliştirilmesini zorunlu kılacaktır. Bunun için ise, yüksek sıcaklık stresinin mekanizmasının iyi bir şekilde ortaya konulması gerekmektedir. Yüksek sıcaklık stresinin mekanizmasının anlaşılabilmesi için, öncelikle yüksek sıcaklık stresi koşullarında bitkide meydana gelen zararlanmanın tespit edilmesi, daha sonra bitkinin stres sırasında ortaya koyduğu değişimler ve geliştirdiği savunma mekanizmasının belirlenmesi gerekmektedir. Bu çalışma ile, ülkemizin farklı bölgelerinden toplanan üç taze fasulye genotipinde, yüksek sıcaklıklara bağlı olarak yaprak dokularında oluşan fizyolojik ve biyokimyasal değişimlerin belirlenmesi ve genotiplerin yüksek sıcaklığa toleransları bakımından farklılıklarının ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

Bitki büyüme ve gelişmesini etkileyen en önemli çevre faktörlerinden birisi de yüksek sıcaklıktır. Yüksek sıcaklık stresi bitki metabolizmasında fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler bazı değişikliklere neden olur (Levitt, 1980). Bitkilerde yüksek sıcaklıklara uyum sağlama sırasında ortaya çıkan değişikliklerin birçoğu geri dönüşümlüdür. Ancak, eğer stresin şiddeti çok büyük ise geri dönüşümü olmayan ve bitkinin ölümüne neden olan değişiklikler ortaya çıkabilir. Diğer taraftan, sıcaklık stresi, sıcaklığın yoğunluğuna (derece sıcaklık), süresine ve sıcaklık artış oranına bağlı karmaşık bir olaydır yani, uzun süreli daha az sıcaklık, kısa süreli yüksek sıcaklık kadar çok zarara yol açabilmektedir (Larcher, 1995). Yapılan çalışmalar, sıcağa alıştırmış bir bitkinin yüksek sıcaklığa maruz kaldığı zaman yaşamını devam ettirebilirken, alıştırmamış bir bitkinin devam ettiremediğini göstermektedir. Bu durum kazanılmış termotolerans olarak tanımlanmaktadır (Kumar vd., 2007).

Bitkilerin normal büyüme sıcaklıklarının üzerindeki sıcaklıklara maruz kalması hücre zarı yapısında geri dönüşümsüz değişikliklere ve kararsızlıklara neden olmaktadır. Hücre membranı zararlanmasının ölçülmesinde kullanılan iyon sızıntısı direkt sıcaklık zararının bir göstergesidir (Arora vd., 1998; Lester, 1985, Saelim ve Zwiazek, 2000). Zira, Camejo vd. (2005), yüksek sıcaklık stresine toleranslı Nagcarlang domates çeşidinde yüksek sıcaklık uygulamalarının iyon sızıntısında değişikliğe neden olmadığını, buna karşılık hassas Campbell-28 çeşidinde iyon sızıntısını arttırdığını belirlemişlerdir. Ayrıca, diğer abiyotik stres faktörlerinde olduğu gibi yüksek sıcaklık stresinde bitki bünyesinde pek çok metabolik olayın etkilendiği bir gerçektir. Örneğin, yüksek sıcaklık stresi koşullarının delice ve çayır otu bitkilerinde yaprak oransal su kapsamı (YOSK) nı azalttığı, iyon sızıntısını ise arttırdığı tespit edilmiştir (Jiang ve Huang, 2001; Xu vd., 2006). Bununla birlikte YOSK' ndaki azalma ön sıcaklık alıştırmaları uygulanmayan bitkilerde daha fazla olmuştur. Gulen ve Eris (2003, 2004) ise, "Camarosa" çilek çeşidinde sıcaklığın kademeli olarak arttırıldığı yüksek sıcaklık uygulamalarında iyon sızıntısının şok sıcaklık stresine maruz kalan bitkilere oranla daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar çilek bitkisinde yüksek sıcaklık uygulamalarının YOSK'nı azalttığı, turgor kaybı (TK) nı arttırdığını bildirmektedirler (Gulen ve Eris, 2003;

2004, Gülen vd., 2007; Kesici, 2009; Kesici vd., 2013). Benzer sonuçlar 'Gemlik' zeytin çeşidinde de elde edilmiştir (Cansev, 2012). Aydoğan ve Turhan (2013) ise 'Keklik' barbunya çeşidinde yüksek sıcaklık uygulamalarının YOSK oranını azalttığı, buna karşılık TK'nı ise arttırdığını belirlemişlerdir. Benzer şekilde bakla genotiplerinde de yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak YOSK'nın azaldığı belirlenmiştir (Siddiqui vd., 2015). Yüksek sıcaklıklar transpirasyon oranında artışa neden olarak YOSK'nı azaltmakta, TK'nı ise arttırmaktadır (Yamasaki ve Dillenburg, 1999; Farouk vd., 2011). Omea vd. (2005)' nin fasulye bitkisinde yapmış oldukları araştırmada, YOSK'nın daha iyi fotosentetik koşullar oluşturması açısından önemli rol oynadığı belirlenmiştir. Ayrıca, yapraktaki su potansiyelinin azalmasının sıcaklık stresine karşı verilmiş bir tepki olabileceğine dikkat çekilmiştir. Ayrıca yüksek sıcaklık stresinin bitkilerde yaprak su potansiyelini azaltması yanında bitkinin fotosentez kapasitesini de etkileyen yaprak alanını azaltıp, yaprak yaşlanmasını teşvik etmek suretiyle yaprak gelişimi üzerinde olumsuz etkileri olduğu bildirilmektedir (Young vd., 2004; Greer ve Weedon, 2010).

Sıcaklık stresine toleranslı varyetelerin geliştirilmesinde klorofil biyosentezi ve birikimindeki farklılıklar büyük öneme sahiptir (Yıldız ve Terzi, 2007). Yüksek sıcaklıklarda klorofil biyosentezinin inhibe olması nedeniyle fotosentetik aktivite azalmaktadır (Hodgins vd., 1989). Zira turuncgillerde (Guo vd., 2006) ve dutta (Chaitanya vd., 2001) yüksek sıcaklık stresinin toplam klorofil miktarını azalttığı belirlenmiştir. Yüksek sıcaklık stresi altındaki bitkilerde fotosentez oranındaki azalmalar, kloroplastların yapısal ve fonksiyonel olarak zarar görmeleri ve klorofil birikimindeki azalmadan kaynaklanmaktadır (Xu vd., 1995). Burke ve Mahony (2001) tarafından pamuk bitkisinde erken gelişme döneminde yapılan bir çalışmada ise sıcaklık stresinin çanak yapraklarının klorofil içeriğinin; 25 °C'nin altında ve 30 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda önemli düzeyde azaldığı saptanmıştır. Ayrıca, 44 °C sıcaklıkta klorofil birikiminin engellendiği ve bu sıcaklığı aşan sıcaklıklardan yaşlı dokuların daha fazla olumsuz etkilediği belirlenmiştir.

Membran lipit doygunluğunun, yüksek sıcaklık stresi toleransında önemli olduğu düşünülmektedir (Vigh vd., 1993). Yüksek sıcaklığa toleranslı ekmeklik buğday çeşitlerinin hassas çeşitlere göre daha fazla doymuş yağ asitli membranlara sahip olduğu belirlenmiştir (Yang vd., 1984). Tütün bitkisinde genetik modifikasyon sonucu olarak doymamış yağ asitlerindeki artışın yüksek sıcaklıklarda daha uzun süre hayatta kalmayı

sağladığı bildirilmiştir (Grover vd., 2000). Yağ asitlerinin parçalanması sonucu peroksid iyonları ve malondialdehit (MDA) açığa çıkmaktadır (Eiberger vd., 2002). Xu vd. (2006) sıcağa alıştırılmış bitkilerin iyi derecede zar termostabilitesi gösterirken, düşük oranda lipid peroksidasyon ürünü (MDA) oluşturduklarını bildirmektedirler. Yüksek sıcaklık stresinin zambak bitkisinde de artan sıcaklıklara paralel olarak MDA ve iyon sızıntısı farklılıkları meydana getirdiği, önemli oranda artışın ise 47 °C' de gerçekleştiği belirlenmiştir (Yin vd., 2008).

Bitkilerde sıcaklık stresinden kaynaklanan fizyolojik zararın oksidatif zararlanma ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (Larkindale ve Knight, 2002). Nitekim DongGi vd. (2007) tarafından çeltikte yapılan bir çalışmada yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak yükselen iyon sızıntısı ve lipid peroksidasyonu miktarının, bitkide oluşan oksidatif stresin belirtisi olduğuna dikkat çekilmiştir. Sıcaklık stresi, aktif oksijen türlerini (AOT) (süperoksid radikaller, hidrojen peroksit, hidroksi radikaller) üreterek bitkilerde oksidatif strese neden olmaktadır (Foyer vd., 1994, Foyer vd., 1997, Dat vd., 1998a). Zira yüksek sıcaklık uygulamalarının hardal bitkisinde (Dat vd., 1998b) H₂O₂, turunçgillerde (Guo vd., 2006), delice otu ve çayır otu bitkilerinde (Xu vd., 2006) ise, O₂⁻ ve hidrojen peroksit (H₂O₂) miktarını arttırdığı tespit edilmiştir. Herhangi bir koruma mekanizmasının olmadığı durumlarda AOT lipid, protein ve nükleik asitlerde oksidatif zararlanma yoluyla normal metabolizmayı ciddi şekilde zararlandırabilmektedir. Rivero vd. (2003) domates ve karpuz bitkilerini 10, 25 ve 35 °C'lik sıcaklıklarda 30 gün boyunca yetiştirmişlerdir. Domateste H₂O₂ miktarı 25 °C'de en düşük, 35 °C'de ise en yüksek düzeylerde bulunurken, karpuzda ise sıcaklık arttıkça miktar azalmıştır. Normal koşullarda düşük miktarlarda bulunan H₂O₂'nin, domates ve çeltikte small heat şok protein (sHSP) lerin (HSP26) sentezini indüklediği, böylece abiyotik stres toleransında sinyal iletiminde önemli bir rol oynadığı belirlenmiştir (Liu ve Shono, 1999; Uchida vd., 2002). Ancak stres koşullarında H₂O₂ miktarının artması hücre için ölümcül olabilmektedir (McKersie ve Leshem, 1994).

Stres altındaki canlıların genelinde olduğu gibi bitkilerde de stres karşısında serbest oksijen radikallerini zararsız bileşiklere dönüştüren antioksidan miktarları ve antioksidan enzim aktiviteleri yüksek olduğunda, o bitkiler oksidatif zararlanmaya karşı daha fazla dayanım göstermektedirler. Askorbik asit (AA), vitamin-E (α -tokoferol), glutatyon, β -

karoten ve zeaksantin karotenoidi gibi bazı bilinen maddeler, bitkilerin stres koşullarında ortaya çıkarak toksik etki yapan serbest oksijen radikallerine karşı kullandığı başta gelen antioksidanlardır (Cakmak ve Marschner, 1992). Gulen ve Eris (2004) 'Camarosa' çilek çeşidinde yüksek sıcaklık uygulamalarının peroksidaz (POX) aktivitesini arttırdığını tespit etmişlerdir. Araştırmacılar, sıcaklığın kademeli olarak arttırıldığı uygulamalarda POX aktivitesinin şok sıcaklık stresine maruz kalan bitkilere oranla daha yüksek olduğuna dikkat çekmektedirler. Balla vd. (2009) yüksek sıcaklığa toleranslı buğday genotiplerinde sıcaklık stresi sırasında antioksidatif enzim aktivitelerinin arttığını belirlemişlerdir. Gulen vd. (2012) fide döneminde kademeli ve şok yüksek sıcaklık stresine maruz bırakılan biber çeşitlerinden antioksidatif enzim aktivitesi daha yüksek olan 'Amazon' çeşidinin 'Kekova' çeşidine göre yüksek sıcaklık stresine daha toleranslı olduğunu belirlemişlerdir. Çilek bitkisinde yapılan bir çalışmada da benzer olarak toleranslı çeşidin yüksek sıcaklık koşullarında katalaz (CAT), akorbat peroksidaz (APX) ve POX gibi enzim aktivitelerini arttırarak antioksidatif savunma sistemini harekete geçirdiği saptanmıştır (Ergin, 2012).

Yüksek sıcaklık stresine maruz kalan buğday bitkisinde AA ve glutatyon (GSH) miktarının kontrole göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Dash ve Monhanty, 2002). Hardal bitkisinde ise, yüksek sıcaklık stresinin AA ve AA/dehidroaskorbat (DHA) oranını geçici bir süre azalttığı tespit edilmiştir (Dat vd., 1998a). Oksidatif koruma sıcaklık stresi sırasında bir bitkinin canlılığının belirlenmesi için önemli bir bileşendir. Yapılan çalışmalar sinyal molekülü olduğu düşünülen moleküllerin hücrelerin antioksidan kapasitesinde artışlara neden olduğunu göstermiştir (Dat vd., 1998a; 1998b).

Yüksek sıcaklığa adaptasyon konusunda ileri sürülen hipotezlerden bir diğeri de protein teşviki ve farklılaşmış protein fonksiyonunu kapsayan bazı adaptasyon mekanizmalarının varlığıdır (Teeri, 1980). Yüksek sıcaklığa adapte olamayan bitkiler proteinlerindeki yapısal veya fonksiyonel değişimlerini tamamlayamamaktadırlar (Gulen ve Eris, 2004). Stres proteinlerinin pek çoğu suda çözünür olduğundan, hücresel yapıların stres toleransına muhtemelen hidrasyon yoluyla katkıda bulunurlar (Wahid ve Close, 2007). Stres koşullarında protein yapılarının ve fonksiyonlarının korunması hücrenin yaşamını devam ettirebilmesi açısından çok önemlidir (Wang vd., 2004).

Çilek bitkisinde yüksek sıcaklık stresi koşullarında toplam protein miktarının azaldığı ve bu azalışın proteinlerin denaturasyonundan kaynaklanabileceği (Gulen ve Eris, 2004) ve bununla birlikte toplam genomik Deoksiribo nükleik asit (DNA) üretiminin de önemli bir oranda olumsuz bir şekilde etkilendiği (Gulen ve Eris, 2003) bildirilmiştir. Ledesma vd. (2004) ise, yüksek sıcaklık uygulaması yapılan çilek bitkilerinde protein miktarında önemli düşüş belirlemişlerdir. Buna karşın bitkilerin SDS-PAGE'deki protein profillerinde, yüksek sıcaklığa tepki olarak yeni proteinlerin sentezlendiğini tespit etmişlerdir. Çilek bitkisinde yapılan başka bir çalışmada ise 23 kDa heat şok protein (HSP), çilek yaprak dokularının yüksek sıcaklık toleransı ile ilişkilendirilmiştir (Ergin, 2012; Ergin vd., 2012). Yüksek sıcaklık stresinin dut yapraklarında da toplam protein miktarını azalttığı, toplam amino asit miktarını ve prolin birikimini ise, arttırdığı saptanmıştır (Chaitanya vd., 2001). Domateste yapılan bir çalışmada ise bitkiler 25/18 °C gündüz/gece sıcaklığında yetiştirildikten sonra sıcaklık kademeli olarak 2 saatte bir 1 °C artırılarak 42 °C'ye getirilmiş ve bu sıcaklıkta bitkiler 6 saat tutulmuştur. Daha sonra sıcaklık tekrar kademeli olarak düşürülerek normal koşullara getirilmiştir. Sıcaklık stresinin, kloroplastlarda küçük molekül ağırlıklı HSP'lerin sentezini arttırdığı belirlenmiştir (Heckathorn vd., 1998). Literatürde yer alan bir diğer bilgi ise HSP lerin, enzimleri ve nükleik asitleri denaturasyondan koruyarak sıcaklık toleransında rolü olduğudur (Salisbury ve Ross 1992). Bitkilerde yüksek sıcaklığa tolerans ve HSP arasında korelasyon olduğu belirlenmekle birlikte (Park vd., 1996; Lee ve Vierling, 2000) sıcaklığa toleransı sağlayan HSP nin fonksiyonları ile ilgili direkt bir kanıt mevcut değildir. Yüksek sıcaklık stresi sırasında ve sonrasında bitki solunumunda elektron transportu olumsuz etkilenmektedir. Stres durumlarında elektron transportunun devam etmesi için küçük sıcaklık şoku proteinlerinin önemli olduğu belirtilmiştir (Heckathor vd., 1999). Mitokondrilerin termal toleransı, mitokondriyal sıcaklık şoku protein birikimini de etkilemektedir (Chou vd. 1989; Sanmiya vd., 2004).

Bitkilerin sıcaklık, tuzluluk veya soğuk stresi altında su düzeyinin dengede tutulmasında ozmolitik maddeler büyük öneme sahiptir. Ozmolitik maddeler suyu bağlayabilmekte ve proteinlerin yapılarının korunmasında su moleküllerinin yerini alabilmektedirler. Ozmolitik maddeler çoğunlukta şeker ve amino asit döngüsünden oluşan düşük moleküler yapıli bileşiklerdir (Anon 2001; Kempken, 2004).

Yüksek sıcaklık stresine tepki, yüksek sıcaklığın derecesi, etki süresi ve bitkinin tür, çeşit ve gelişim evresi ile ilişkilidir (Mullarkey ve Jones, 2000). Turhan vd. (2014a) 'Çaltı', 'Pembe' ve 'Yaren' domates çeşitlerine ait yaprak örneklerini ilk çiçeklenme ve verim dönemlerinde yüksek sıcaklık uygulamalarına maruz bırakmışlardır. Sonuçlar, sıcaklık artışıyla beraber iyon sızıntısı ve turgor kaybının verim döneminde, ilk çiçeklenme dönemine göre daha yüksek olduğunu göstermiştir. Çözünebilir peroksidaz (S-POX) aktivitesi ise tüm genotiplerde ilk çiçeklenme döneminde verim dönemine göre daha yüksek bulunmuştur (Turhan vd., 2014a).

Fasulye yetiştiriciliği ve elde edilen ürünün kalitesi ekolojik koşullardan (özellikle hava sıcaklığı ve nem) etkilenmekte ve bu etki tohum ekiminden başlayarak değişim göstermektedir. Akçin (1974) fasulyede en iyi çimlenmenin toprak sıcaklığının 20-30 °C arasında olduğu zaman gerçekleştiği ve maksimum büyümenin 30 °C' de olduğu, daha yüksek sıcaklıklarda büyümenin yavaşladığı, çiçek dökülmelerinin arttığı ve iyi tohum bağlama için nisbi nemin %50' den aşağı olmaması gerektiğini bildirmiştir (Akçin, 1974). Wallace ve Enriquez (1980) ise, fasulyede 21-43 °C arasındaki yürüttükleri denemede çiçeklenme tarihinde ve bunun bir gün öncesi ve sonrasındaki sıcaklıkların 21°C'in üzerine çıktığında bitkideki bakla ve bakladaki tane sayısının azaldığını tespit etmişlerdir. Ayrıca, sıcaklık ile bu özellikler arasında ters bir ilişki olduğunu saptamışlardır. Başka bir araştırmaya göre, fasulyede optimum bir çimlenme elde etmek için 18-20 °C toprak sıcaklığında ekimlerin yapılması gerektiği belirtilmiştir. Çiçeklenme zamanında görülen yüksek sıcaklıkların çiçek oluşum yüzdesini, bakla sayısını, dane ağırlığını ve verimi (%65 oranda) azalttığı bildirilmiştir (Vural vd., 1991).

Sıcaklık stresi ürün verimini de olumsuz yönde etkilemektedir. Yüksek sıcaklık stresi, bitki gelişiminin kritik evresine tesadüf ettiği zaman bitkinin adaptasyon ve verimini sınırlandırır. Bitki gelişiminin yüksek sıcaklık tarafından hızlandırılması genellikle ürün üzerinde olumsuz etki oluşturur. Buğdayın erken gelişim evresinde, yüksek sıcaklık başak oluşum süresini kısaltarak tahıl tanelerinin azalmasına neden olur. Ayrıca sıcaklık artışı, tane dolun süresi ve tane boyutlarında da azalmaya neden olmaktadır. Yüksek sıcaklıktan dolayı bitki gelişiminin hızlandırılması ile erken yaşlanma görülmektedir (Gusta ve Chen, 1987).

Yüksek sıcaklık stresine tolerans çeşitler ve genotiplere göre de farklılık gösterebilmektedir. Örneğin domateste hücre duvarı peroksidaz (CWB-POX) aktivitesinin sıcaklık stresi uygulamasıyla beraber arttığı ve bu artışın en yüksek 'Çaltı', en düşük 'Pembe' çeşidinde olduğu bulunmuştur. En yüksek S-POX aktivitesi 'Yaren', en düşük S-POX aktivitesi ise 'Pembe' çeşidinde bulunmuştur. S-POX aktivitesinin genellikle sıcaklık artışı uygulamalarına bağlı olarak azaldığı belirlenmiştir (Turhan vd., 2014a).

Bitkiye dışarıdan verilen bazı maddeler bitkinin yüksek sıcaklığa toleransını etkilemektedir. Askorbik asidin (AA) 'Redlans Hope' ve 'Festival' çilek çeşitlerinde yüksek sıcaklık toleransına etkisinin araştırıldığı çalışmada 3 hafta boyunca (7 uygulama) 3mM AA uygulaması ile 'Festival' in turgor kaybı 'Redlans Hope' a göre daha yüksek bulunurken, AA uygulamasının her iki çeşitte de turgor kaybını azalttığı tespit edilmiştir (Ergin vd., 2014).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bazı taze fasulye genotiplerinin fide dönemindeki yüksek sıcaklık stresi koşullarına toleransının incelendiği bu çalışma; 2011-2014 yıllarında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü ve Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü sera ve laboratuvarlarında yürütülmüştür.

3.1. Materyal

Denemede Balkız, Ferasetsiz ve Yerel Genotip olmak üzere 3 farklı taze fasulye genotipi kullanılmıştır. Denemede kullanılan genotiplere ait tohumlar Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü öğretim üyesi Yrd.Doç.Dr. Nezihe Köksal'dan temin edilmiştir. Kullanılan genotiplerin orjinleri Çizelge 3.1' de, genotiplere ait tohumlar ise Şekil 3.1' de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan taze fasulye genotiplerinin orjinleri.

| GENOTİP | ORJİNİ |
|---------------|-----------------|
| Balkız | Samsun-Bafra |
| Ferasetsiz | Bursa-Karacabey |
| Yerel Genotip | Mersin |

3.2. Yöntem

3.2.1. Denemenin kuruluşu

Denemede yetiştirme ortamı olarak; torf, perlit ve toprak (1:1:1) karışımı kullanılmıştır. Hazırlanan karışım 14x12 cm çapındaki saksılara doldurulmuştur. Her saksıda 3 bitki olacak şekilde tohum ekimi yapılmıştır. Fideler 3-4 yapraklı döneme gelinceye kadar ortalama 3-4 hafta boyunca, ~%65 oransal nemde, 15-30°C (gece-gün) sıcaklıkta kontrollü serada yetiştirilmiştir.



BALKIZ

FERASETSİZ

YEREL GENOTİP

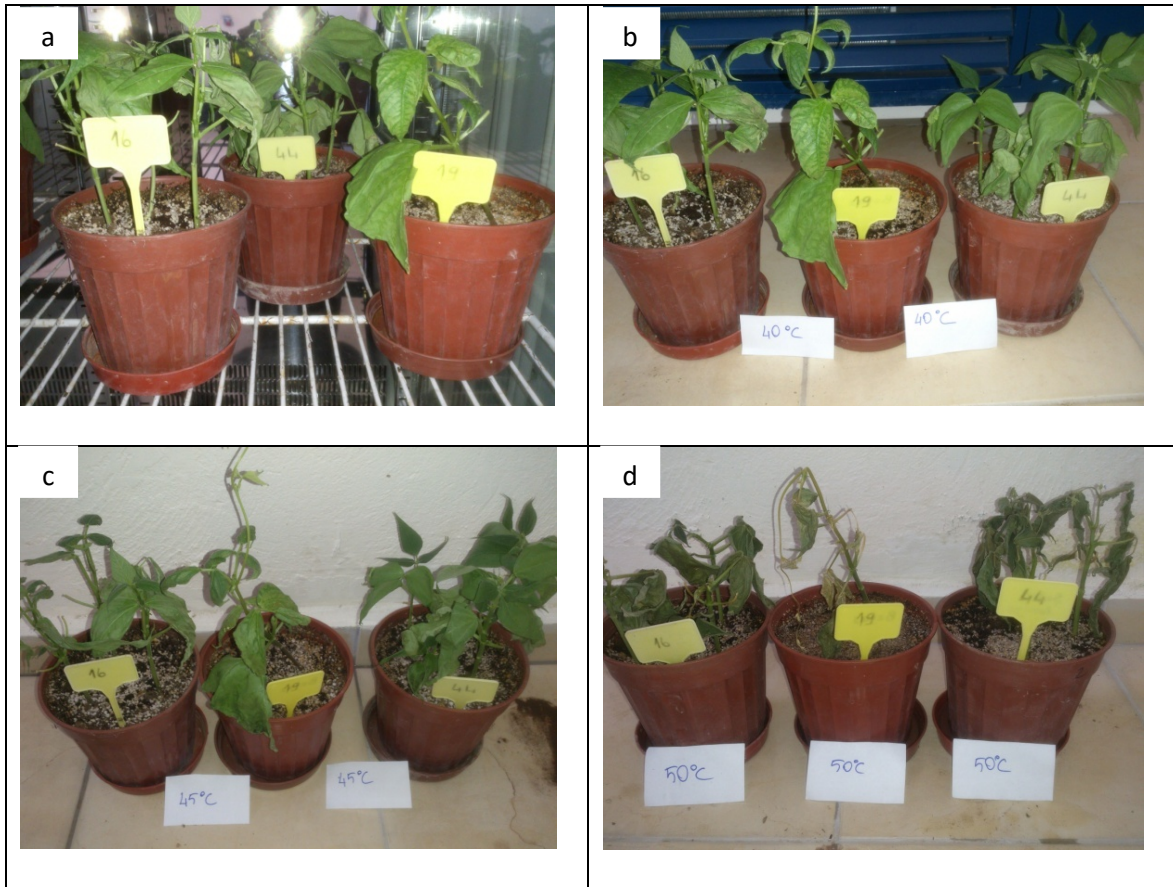
Şekil 3.1. Taze fasulye genotiplerinin tohumlarının görünümü.

3.2.2. Yüksek sıcaklık uygulamaları

Serada yetiştirilen saksılı fasulye bitkileri kontrollü koşullarda yüksek sıcaklık uygulamaları için laboratuvarındaki iklimlendirme kabine (DAIHAN WGC-1000, South Korea) yerleştirilmiştir (Şekil 3.2). % 70 nem ve $450 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ışık şiddetinin (14 saat) uygulandığı (Khadri vd., 2006) kabinin sıcaklığı $30 \text{ }^\circ\text{C}$ ' den başlayarak her 24 saatte $5 \text{ }^\circ\text{C}$ artırılarak $35, 40, 45, 50 \text{ }^\circ\text{C}$ ' ye kadar yükseltilmiştir. Deneme sonunda bitkilerin görünümleri Şekil 3.3' de verilmiştir. Deneme tesadüf blokları deneme desenine göre 3 tekerrürlü olarak ve her tekerrürde 3 bitki olacak şekilde kurulmuş ve 2 kez tekrarlanmıştır. Her sıcaklık kademesinde bitkilerden alınan yaprak örneklerinin bir kısmında yaprak oransal su kapsamı (YOSK), turgor kaybı (TK), toplam klorofil miktarı (KM), lipid peroksidasyonu analizleri ve yaprak alanı ölçümlerinde kullanılırken diğer kısmı ise sıvı azot içerisinde dondurularak toplam çözünebilir protein ve SDS PAGE analizleri için $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ ' de derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.2. Yüksek sıcaklık uygulamaları öncesi taze fasulye genotiplerinin iklim kabinindeki görünümü.



Şekil 3.3. Taze fasulye genotiplerinin yüksek sıcaklık uygulamaları sonrası görünümü.
a) Kontrol b) 40°C c) 45°C d) 50°C

3.2.3. İncelenen parametreler

3.2.3.1. Yaprak oransal su kapsamı (YOSK) ve turgor kaybı (TK)

Yüksek sıcaklık stresine maruz bırakılan bitkilerde yaprak oransal su kapsamı (YOSK) ve turgor kaybı (TK) Barr ve Weatherley (1962)'e göre yapılmıştır. Alınan yaprak örneklerinden 1,5 cm çaplı 3' er disk çıkartılmış; disklerin öncelikle taze ağırlıkları, 4 saat saf suda bekletildikten sonra turgor ağırlıkları ve 70 °C' deki etüvde 24 saat tutulduktan sonra kuru ağırlıkları kaydedilmiştir. Elde edilen verilere göre YOSK ve TK hesaplanarak değerler % olarak ifade edilmiştir. Taze fasulye genotiplerinin YOSK ve TK, 3.1 ve 3.2' deki formüle göre hesaplanmıştır.

$$3.1: YOSK = (Y. A. - K. A.) / (T. A. - K. A.)$$

$$3.2: TK = (T.A. - Y.A.) / T.A. \times 100$$

YOSK= Yaprak oransal su kapsamı

TK= Turgor kaybı

Y. A.= Yaş Ağırlık

K. A. = Kuru Ağırlık

T. A. = Turgor Ağırlığı

3.2.3.2. Yaprak alanı

Bitki yaprak alanı Portable Area Meter (LICOR – 3000 C, USA) ile ölçülmüş ve değerler cm² cinsinden verilmiştir. Ölçümler her sıcaklık uygulaması sonunda üstten ikinci kademedeki bileşik yapraklarda yapılmıştır.

3.2.3.3. Toplam klorofil miktarı (KM)

Üç taze fasulye genotipinin, yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak toplam klorofil miktarındaki değişimleri belirlemek amacıyla Moran ve Porath (1980)' in yöntemi esas alınmıştır. Bu amaçla her bir yüksek sıcaklık uygulamasından alınan yapraklardan 1,5 cm çaplı 3 adet disk alınarak cam şişelere konulmuştur. Her örnek üzerine 3 mL DMF (Dimetil Formamid) eklenmiştir. Bu örnekler +4 °C' de buzdolabında 72 saat karanlık ortamda bekletilmiştir. Okuma yapılmadan önce örneklerin karanlık bir ortamda oda

sıcaklığına gelmesi sağlanmış ve daha sonra spektrofometrede (Perkin Elmer Lambda 25, USA) 652 nm dalga boyunda absorbans okuması yapılmıştır. Toplam klorofil miktarı ise 3.3' deki formülle belirlenmiştir.

$$3.3: \text{Toplam Klorofil (mg/g/T.A.)} = \text{O.D652nm} \times 29 \times \text{seyreltme faktörü} \times 7 \text{ mg T.A.}$$

mg / g T.A = 1 gram taze ağırlıktaki mg cinsinden klorofil miktarı

O.D652nm = 652 nm' deki okuma değeri

T.A = Taze Ağırlık

3.2.3.4. Lipid peroksidasyonu

Hücrelerde lipid peroksidasyonu sonucu oluşan Malondialdehyde (MDA) miktarının ölçülmesi şeklinde uygulanan analiz, Rajinder vd. (1981)' nin yöntemiyle belirlenmiştir. Ekstraksiyon için kullanılan havanlara, öğütmeyi kolaylaştırmak amacıyla deniz kumu ve örnekteki MDA' nın ekstrakte edilmesini sağlayan PolyVinylPolyPyrrolidone (PVPP) konulmuştur. Tüpteki ~ 100 mg yaprak örneği %0,1' lik 5 mL trichloroacetic acid (TCA) çözeltisiyle birlikte havana boşaltılmıştır ve öğütülmüştür. Meydana gelen homojenize bitki örnekleri, 4 °C' de 10 000 g' de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj edildikten sonra ayrılan sıvı kısımdan, 1,5 mL' lik mikro santrifüj tüplerine 300 ml aktarılmıştır ve üzerine 1200 mL ekstraksiyon çözeltisi [Thiobarbuturic acid+saf su (TBA+dH₂O)] eklenmiştir. Spektrofotometrede okuma yapılabilmesi için gerekli olan kör örneğin (blank-şahit) hazırlanması için, 300 mL % 0,1 TCA ve 1,2 mL' lik ekstraksiyon solüsyonu kullanılmıştır. Tüm örnekler ve şahit örnek ısıtıcı bloğa konulmadan önce kapaklarına delik açılarak asidin uçması sağlanmıştır. 95 °C' de ısıtıcı bloğa yerleştirilen örnekler 30 dakika bekletilmiştir. Bu zaman sonunda çıkarılan tüpler 5 dakika boyunca oda sıcaklığına dönmesi için buz içerisinde bekletilmiş ve ardından 25 °C' de 10 dakika 10 000 g' de santrifüj (Beckman Coulter Allegra 64R and Avanti 30 Compact Centrifuges, USA) edilmiştir. Santrifüjden çıkarılan örnekler, spektrofotometrede (Perkin Elmer Lambda 25, USA) 532 ve 600 nm dalga boylarında okunmuştur. Yapılan analizle MDA miktarı 3.4' deki formülle hesaplanmıştır.

$$3.4: \text{MDA (nmol/g T.A)} = \text{O.D farkı} \times 32,2 \times \text{seyreltme faktörü} / \text{g T.A}$$

O.D farkı = 532 ve 600 nm dalga boyunda okunan değerlerin farkı

T.A = Taze ağırlık

3.2.3.5. Hücre membran zararlanma oranı

Hücre membran zararlanması ve yüksek sıcaklık toleransı, Arora vd. (1998)' nin yöntemine göre belirlenmiştir. Yüksek sıcaklık toleransının tespiti amacıyla yapılan uygulamada, her bir fasulye genotipinden 3' er tekerrür olmak üzere 1,5 cm' lik yaprak diski alınmıştır (her tüpe 1 yaprak diski konulmuştur). Kültür tüpleri içerisine 500 µL saf su konularak, ağızları kapalı olacak şekilde sıcak su banyosuna yerleştirilmiştir. Daha sonra sıcaklık 45 °C' ye kadar her yarım saatte bir 5 °C yükseltilmiştir. 45 °C' den itibaren sıcaklık her 5 dakikada 1°C olacak şekilde 60 °C' ye kadar yükseltilmiştir ve 60 °C' de yarım saat tutulmuştur. Her örnek grubu belirlenen sıcaklık derecesine gelince yarım saat bekletilmiştir ve ardından su banyosundan çıkartılmıştır. Son sıcaklık grubu da su banyosundan çıkartılarak, tüm örneklerin 1 saat boyunca oda sıcaklığına gelmesi beklendikten sonra, üzerine 10 mL saf su eklenmiştir. Örnekler gece boyunca çalkalayıcıda inkübasyona bırakılmıştır. Meydana gelen iyon sızıntısını belirlemek amacıyla ilk okumalar EC metre (YSI 3200, USA) vasıtası ile yapılmıştır. Daha sonra otoklavda (Hirayama Hiclave HG-80, Japan) 121°C' de 15 dakika tutularak dokuların öldürülmesi sağlanmıştır. Örnekler otoklavdan çıkarıldıktan sonra 4 saat süre ile çalkalayıcıda inkübasyona bırakılmış ve sonra yine EC metre ile ikinci okuma oda sıcaklığında yapılmıştır. Hücre membran zararlanması 3.5 ve 3.6' daki formüllerle hesaplanmıştır.

$$3.5: \% \text{ İyon sızıntısı} = (\text{O.D1} / \text{O.D2}) \times 100$$

O.D1= 1. Okuma Değeri

O.D2= 2. Okuma Değeri

$$3.6: \% \text{ Zararlanma} = [(\text{İyon sız. (U.)} - \% \text{ İyon sız. (K} / 100 - \% \text{ İyon sız. (K.)}] \times 100$$

U= Uygulama

K= Kontrol

Bu yöntemle genotiplerin hücre membran zararlanmaları yüzde (%) olarak belirlenmiştir. Buna göre de çeşitlerin ortalama yüksek sıcaklık toleransları belirlenmiştir. Ayrıca LT₅₀ (Lethal temperature: bir popülasyondaki bireylerin % 50' sinin yüksek zarara maruz kaldığı veya öldüğü sıcaklık derecesi) değeri hesaplanmıştır.

3.2.3.6. Toplam çözünebilir protein analizi

Toplam çözünebilir protein ekstraksiyonu Turhan vd. (2015)'nin yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Ekstraksiyon çözeltisi (50 mL, pH 7.8) hazırlamak için;

25mM Tris base 0,151g

275mM Sakkaroz 4,705g

2mM EDTA 1mL (0,1M stok EDTA çözeltisinden)

10mM DTT 0,0771g

0,5mM PMSF 0,25mL (0,1M stok PMSF çözeltisinden)

%1 PVPP 0,5g kullanılmıştır.

Yöntem basamakları aşağıdaki gibidir:

- ~250 mg örnek 1 mL ekstraksiyon çözeltisiyle birlikte havana boşaltılmıştır ve homojenize edilmiştir.
- Homojenize edilen örnekler 2mL'lik santrifüj tüplerine alınarak 10 000 rpm'de 4°C'de 10 dakika santrifüj edilmiştir.
- Santrifüjden sonra üstteki sıvı fazdan 5-10 µL alınarak toplam çözünebilir protein miktarı belirlenmiştir.

Toplam çözünebilir protein miktarı Bradford (1976) yöntemine göre belirlenmiştir. Protein ekstraksiyonundan elde edilen süzüntüdeki protein miktarı spektrofotometrik ölçümlerle belirlenmiştir. Ölçümler 595 nm dalga boyunda 0, 10, 20, 30, 40, 50 µg/µL'lik Bovine serum albumin (BSA) standartları kullanılarak yapılmıştır.

3.2.3.7. SDS-PAGE analizi

Uygulamaların çeşitlerin protein profillerine olan etkisi SDS-PAGE (Sodyum dodesilsülfat- Poliakrilamid jel elektroforezi) yöntemi ile belirlenmiştir. Bu amaçla;

- Ekstrakte edilen toplam protein çözeltisinden her bir örnek için 7,5µg olacak şekilde hesaplanmıştır.
- Hazırlanan örneklerin üzerine toplam hacmin 1/6'sı kadar 6XSample Buffer eklenmiştir.
- Bütün örneklerin hacmi saf su ile eşitlendikten sonra 3 dakika kaynar suda bekletilerek proteinlerin denatürasyonu sağlanmıştır.
- Bu zaman sonunda çıkarılan örnekler 5 dakika buz üzerinde bekletilmiştir.
- Kısa süreli santrifüjlenen örnekler SDS-PAGE için yüklemeye hazır hale getirilmiştir.

SDS-PAGE analizinde Mini PROTEAN Tetra (Bio-Rad) elektroforez sistemi kullanılmıştır. SDS-PAGE jeli, %12,5'luk ayırma jeli ve %4'lük yükleme jelinden oluşmaktadır. Jel kalınlığının 0,75 mm olmasını sağlayan jel kasetleri kullanılmıştır.

% 12,5 ayırma jeli bileşenleri

- | | |
|------------------------------|---------|
| • Saf su | 1000 µL |
| • 1 M Tris-HCl pH 8,8 | 2200 µL |
| • % 1 SDS | 600 µL |
| • % 36 Acrylamide/Bis (29:1) | 2100 µL |
| • % 3 Amonyum persülfat | 100 µL |
| • TEMED | 4 µL |

Yukarıda verilen kimyasallar karıştırıldıktan hemen sonra mikro pipet yardımıyla bu karışımdan jel kaseti içerisine 3,5 mL dökülmüştür. Jelin havayla temasını kesmek için üzerine 200 µL saf su eklenerek 45 dakika boyunca polimerizasyona bırakılmıştır.

% 4 örnek yükleme jeli bileşenleri

- | | |
|----------|---------|
| • Saf su | 1662 µL |
|----------|---------|

- 1 M Tris-HCl pH 6,8 620 μ L
- % 36 Acrylamide/Bis (29:1) 500 μ L
- % 3 Amonyum persülfat 25 μ L
- TEMED 4 μ L

Polimerize olmuş ayırma jeli üzerindeki saf su peçete ile alındıktan sonra, taraklar takılarak örnek yükleme jeli, ayırma jeli üzerine mikro pipet yardımıyla dökülmüştür. Jelin polimerizasyonu için 45 dakika beklendikten sonra jel kasetleri elektroforez işlemi için tank içerisine yerleştirilmiştir.

Elektroforezde yürütme tamponu olarak aşağıda bileşimi verilen Tris-Glisin-SDS çözeltisi kullanılmıştır (1L, 10X), hazırlanan çözelti stok olarak tutulup kullanım sırasında 1X' e seyreltilmiştir.

- 250 mM Tris base 30 g
- 1,92 M Glycine 144 g
- % 0.5 SDS 5 g

Çözelti elektroforez tankı içerisine yerleştirilmiş jellerin üzerini örtecek şekilde boşaltılmıştır. Hazırlanan örneklerden her bir kuyucuğa 7,5 μ g protein alacak şekilde mikro pipet yardımıyla yüklenmiştir. Bio-Rad PowerPac™ Basic güç kaynağı kullanılarak jele 250 V, 40 mA ve 50 W elektrik akımı verilerek örneklerin jelin sonuna kadar yürümleri sağlanmıştır. Elektroforez oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Jel üzerindeki toplam protein bantları “Coomassie Brilliant Blue G-250” çözeltisi kullanılarak görüntülenmiştir. Elektroforezin tamamlanmasıyla kasetten çıkarılan jeller oda sıcaklığında % 12 TCA içerisine konularak 2 saat süreyle bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda jel üzerindeki proteinlerin sabitlenmesi sağlanmıştır. Jel üzerindeki TCA kalıntılarının uzaklaştırılması için jel 3 kez saf su ile yıkanmıştır. Bunu takiben jeller “Coomassie Brilliant Blue G-250” boya (1:4, metanol:boya solüsyonu) çözeltisi içerisine alınmıştır. Jeller gece boyunca çalkalayıcı üzerinde normal bir devirde bırakılarak boyanmaları sağlanmıştır. Bu sürenin sonunda jel üzerindeki bantların koyu mavi olarak boyandığı görülmüştür. Jel üzerindeki boya fazlalığının giderilmesi için jel saf su ile çalkalandıktan sonra % 25'lik metanol içerisinde ~ 5 dakika bekletilmiş ve daha sonra 3 kez saf su ile yıkanarak protein bantları

görüntüleme sisteminde incelenmiştir. Örneklerin elektroforezi sırasında SDS-PAGE moleküler ağırlık standardı kullanılmış (BioRad, SDS-PAGE Molecular Weigh Standards, Low Range) böylece moleküler ağırlıkları bilinen bantlar temel alınıp, örneklere ait protein bantlarının molekül ağırlıkları hesaplanmıştır.

3.3. İstatiksel Analizler

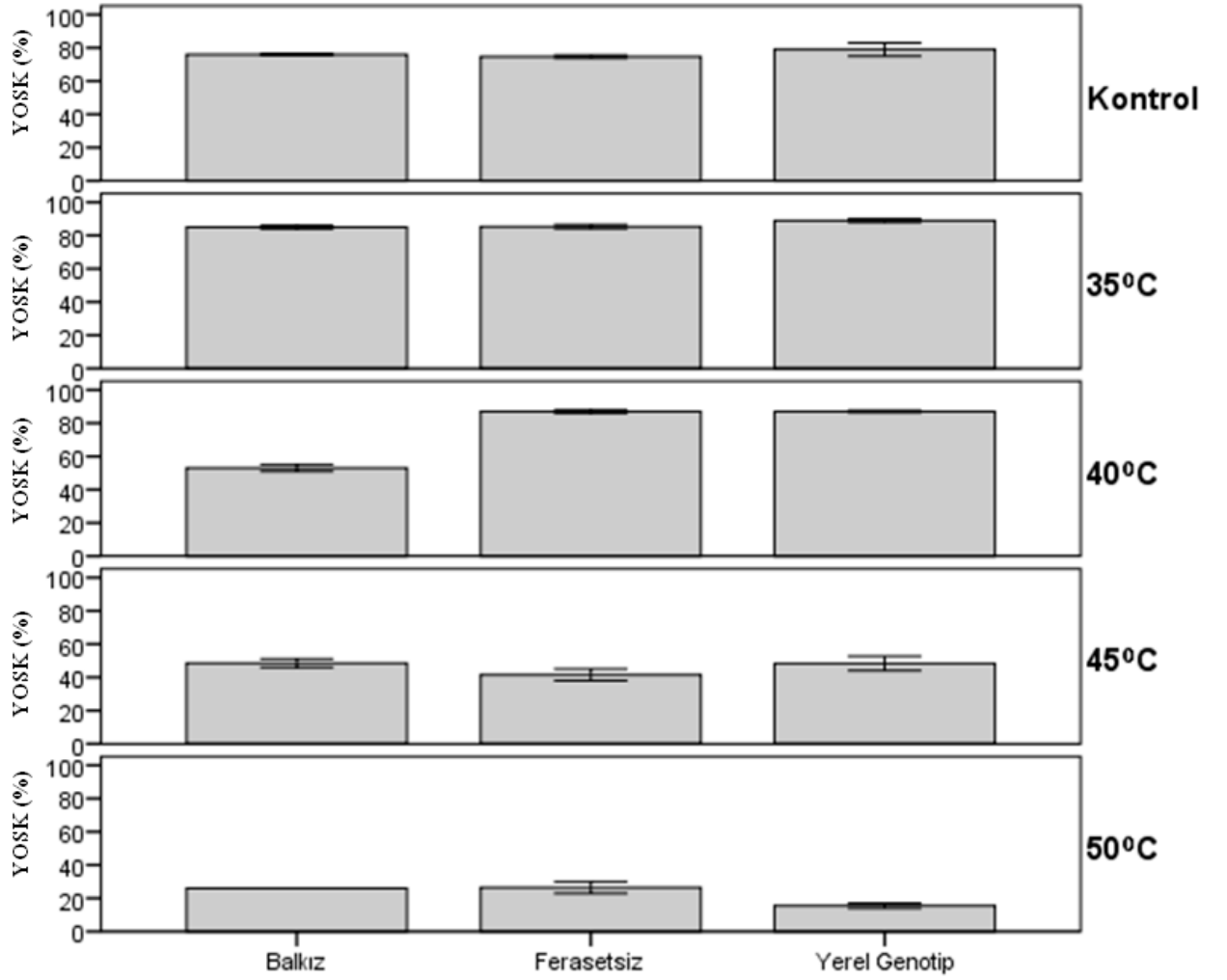
Elde edilen sonuçlar ‘SPSS Statistics for Windows 20’ istatistik programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Uygulamalar arasındaki farklılık ‘Duncan’ testi ile 0,05 önem seviyesinde ortaya konulmuştur.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Yaprak Oransal Su Kapsamı (YOSK) ve Turgor Kaybı (TK)

Genel olarak genotiplerin YOSK' larında 40 °C' ye kadar önemli bir değişim görülmemekle beraber, 45°C'ye gelindiğinde dikkat çekici bir değişim göze çarpmaktadır (Şekil 4. 1). Çizelge 4. 1'de, uygulama sıcaklıklarının taze fasulye genotiplerinin YOSK oranları üzerindeki önem derecesi gösterilmiştir. Kontrol grubu ile 35 ve 40°C uygulamalarında uygulamalar ve genotiplere göre ortalama YOSK oranları değerlendirildiğinde Ferasetsiz (%65,83) ve Yerel Genotip (%64,42) Balkız (%57,70) genotipine göre daha yüksek YOSK 'na sahip bulunmuştur. Uygulamalar karşılaştırıldığında ise 35 °C uygulamasında ortalama %86,29 ile en yüksek YOSK tespit edilirken, 50 °C uygulamasında ortalama % 22,67 ile en düşük YOSK değeri belirlenmiştir. Buna göre genotipler arasındaki fark istatistikî olarak önemli bulunmuştur. Kontrol ve 40°C uygulamaları arasında istatistikî olarak önemli bir fark bulunmamıştır. Ayrıca genotip ve sıcaklık uygulamaları arasındaki interaksiyon %5 seviyesinde önemli olmuştur (EkA).

Taze fasulye genotiplerinin TK değerlerindeki değişimin genel olarak YOSK ile benzer şekilde olduğu belirlenmiştir. Genotiplerin TK' larında 40 °C' ye kadar önemli bir değişim göstermediği, 45 °C' ye gelindiğinde ise bir değişim olduğu belirlenmiştir (Şekil 4. 2). Çizelge 4.2' de ise uygulama sıcaklıklarının taze fasulye genotiplerinin yapraklarındaki TK oranları üzerindeki önem derecesi gösterilmiştir. Uygulamalar ve genotiplere göre ortalama TK oranları değerlendirildiğinde; Kontrol grubu ile 35 ve 40 °C uygulamalarında TK değerlerinin YOSK değerlerinin tersine Balkız genotipinde (%37,00), Ferasetsiz (%29,17) ve Yerel Genotip (%32,42)' e göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Uygulamalar karşılaştırıldığında ise 35 °C uygulamasında ortalama %11,29 ile en düşük TK değeri tespit edilirken, 50 °C uygulamasında ortalama % 62,17 ile en yüksek TK değeri belirlenmiştir. Buna göre genotipler ve uygulamalar arasındaki fark istatistikî olarak önemli bulunmuştur. Kontrol ve 40 °C uygulamaları istatistikî olarak aynı grupta yer almıştır. Ayrıca genotip ve sıcaklık uygulamaları arasındaki interaksiyon %5 seviyesinde önemli bulunmuştur (Ek B).

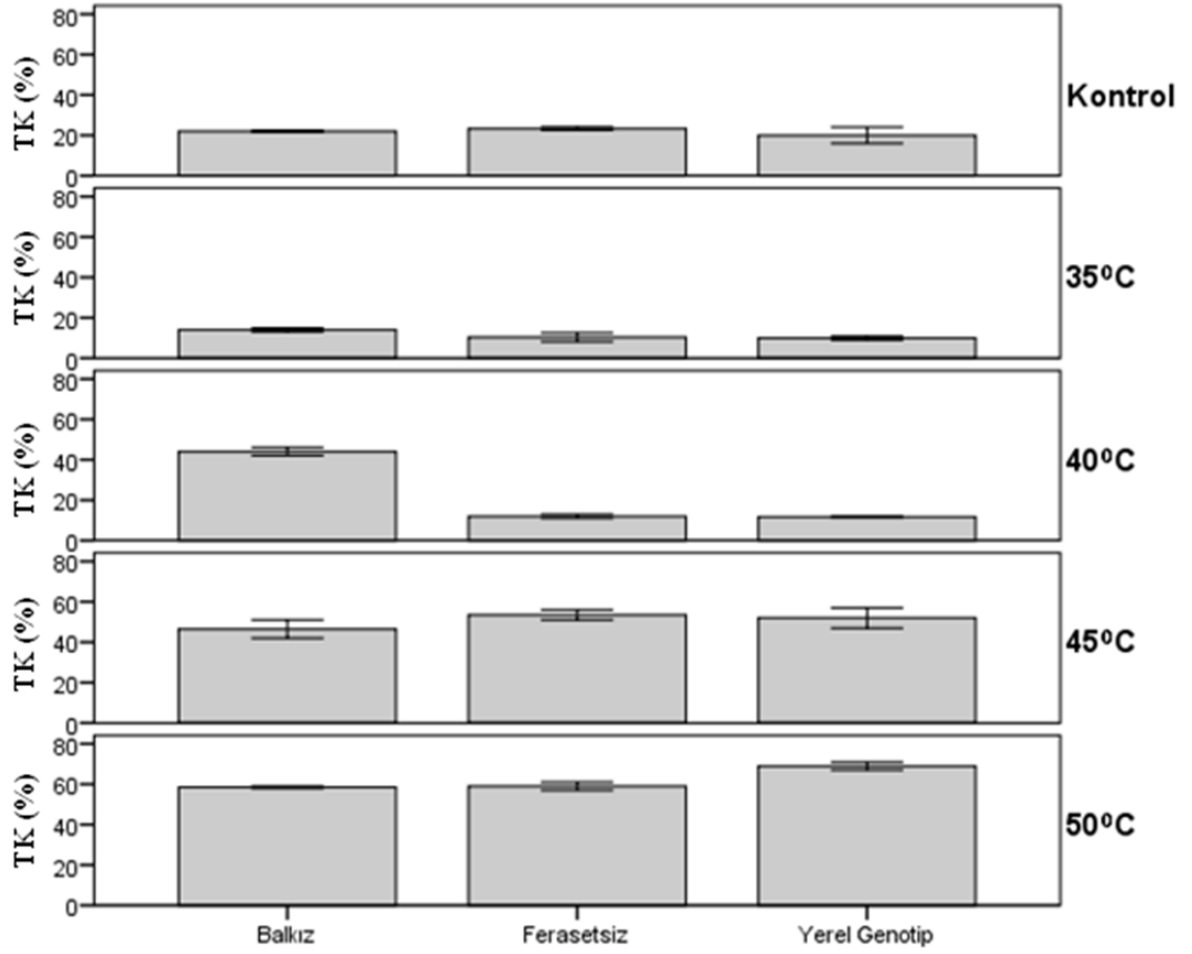


Şekil 4.1. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak taze fasulye genotiplerinin yaprak oransal su kapsamındaki (YOSK) değişim. Dikey barlar tekerrürlerin \pm SS' larını göstermektedir.

Çizelge 4.1. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak taze fasulye yapraklarındaki yaprak oransal su kapsamı (YOSK).

| Genotip | YOSK (%) |
|-------------------------|--------------------|
| Balkız | 57,70 ^b |
| Ferasetsiz | 65,83 ^a |
| Yerel Genotip | 64,42 ^a |
| Uygulamalar (°C) | |
| Kontrol | 76,29 ^b |
| 35 | 86,29 ^a |
| 40 | 77,29 ^b |
| 45 | 46,43 ^c |
| 50 | 22,67 ^d |
| ANOVA | |
| Genotip | * |
| Uygulama | * |
| Genotip x Uygulama | * |

*0,05 seviyesinde önemli



Şekil 4. 2. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak taze fasulye genotiplerinin turgor kaybındaki (TK) değişim. Dikey barlar tekerrürlerin \pm SS' larını göstermektedir.

Çizelge 4.2. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak taze fasulye yapraklarındaki turgor kaybı (TK).

| Genotip | TK (%) |
|-------------------------|--------------------|
| Balkız | 37,00 ^a |
| Ferasetsiz | 29,17 ^b |
| Yerel Genotip | 32,42 ^b |
| Uygulamalar (°C) | |
| Kontrol | 22,00 ^c |
| 35 | 11,29 ^d |
| 40 | 21,00 ^c |
| 45 | 50,86 ^b |
| 50 | 62,17 ^a |
| ANOVA | |
| Genotip | * |
| Uygulama | * |
| Genotip x Uygulama | * |

*0,05 seviyesinde önemli

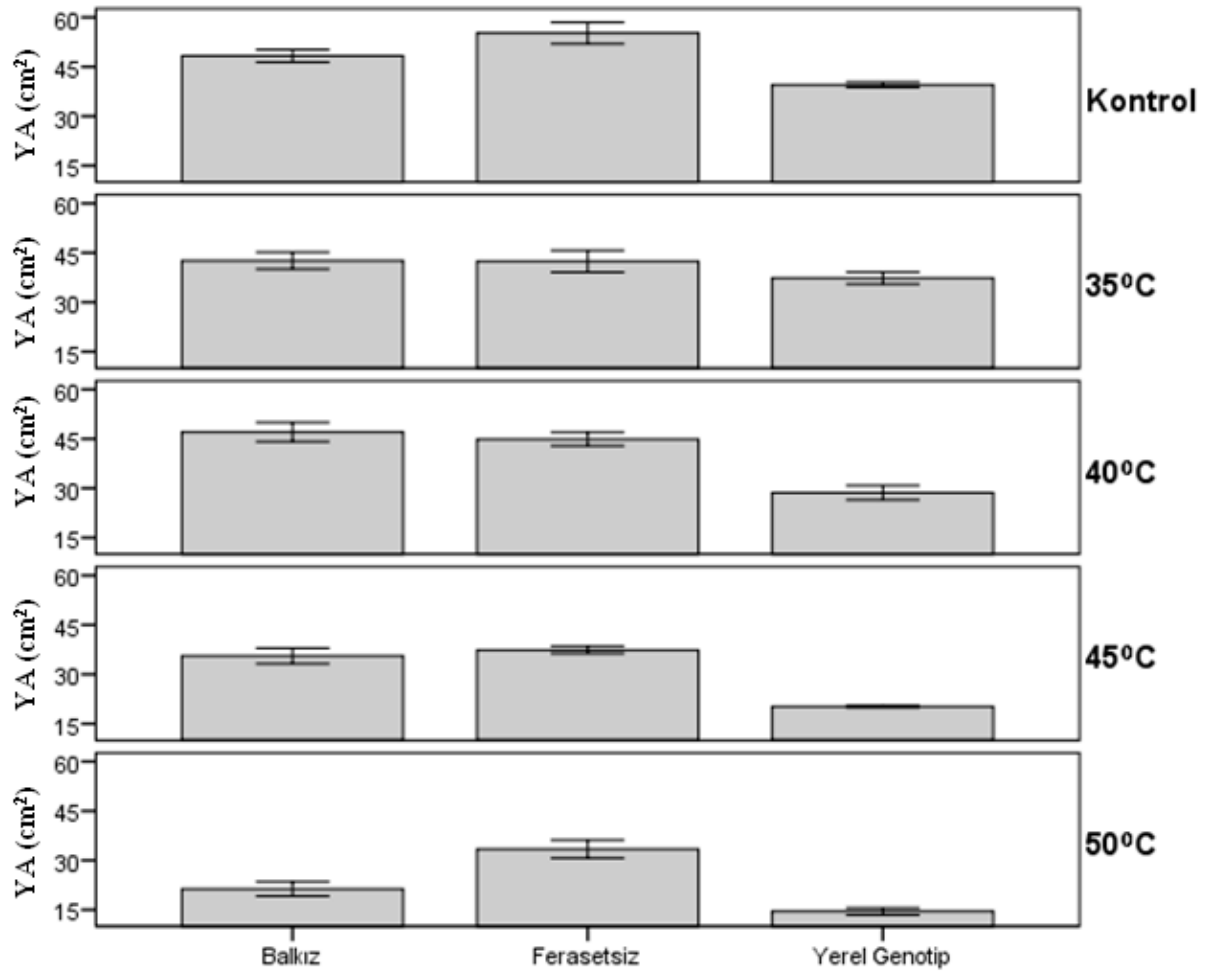
Yaprak oransal su kapsamı ve TK bitkinin su dengesini belirlemede önemli bir göstergedir (Siddiqui vd., 2015). Çünkü bitkinin tam doyumluğa ulaşabilmesi için gerekli olan net ve kaybedilen su miktarını ifade eder (Gonzalez ve Gonzalez-Vilar, 2001). Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak değerlendirilen 3 taze fasulye genotipinde yüksek sıcaklığın oluşmasıyla birlikte transpirasyon artışına bağlı olarak yapraklarda su kapsamı azalmış, TK ise artmıştır. Genotipler arasında YOSK değerlerinin farklı olması, bitkilerde yaprak hidrasyonu, yaprak su noksanlığı ve fizyolojik su durumlarındaki farklılığın bir göstergesi olabilir. Yüksek sıcaklığın oluşmasıyla birlikte transpirasyon artmakta ve bu da yapraklardaki turgor kaybının artmasına neden olmaktadır. Himmelbach

vd. (1998), bir bitki büyüme hormonu olan ABA (Absisik asit) nın, kuraklık, tuzluluk ve ekstrem sıcaklığın sonucu olarak dokularda fazla miktarda biriktirildiğini ve ABA birikiminin hücrenin turgorunu kaybetmesine ve stres sinyalinin oluşmasına neden olduğunu bildirmişlerdir. De Belie vd. (2000) ise yüksek sıcaklık stresi koşullarında meydana gelen turgor kaybının nedeninin, yüksek sıcaklıkta hücre membranının geçirgenliği ile ilgili olabileceğine dikkat çekmişlerdir.

4.2. Yaprak Alanı

Sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak taze fasulye genotiplerinin yaprak alanı değerlerindeki değişimler Şekil 4.3 ve Çizelge 4.3' de verilmiştir. Genotiplerin yaprak alanlarında 45 °C' ye kadar önemli bir değişim görülmemekle beraber, 45 °C'den itibaren özellikle 50 °C' ye gelindiğinde çarpıcı bir değişim göze çarpmaktadır (Şekil 4.2.1). Uygulamalar ve genotiplere göre ortalama yaprak alanı oranları değerlendirildiğinde; en yüksek yaprak alanı değerine 42,09 cm² ile Ferasetsiz genotipi sahip olmuş, bunu 37,86 cm² ile Balkız genotipi takip etmiştir. Yerel Genotip ise 27,70 cm² yaprak alanı değeri ile en düşük değere sahip olmuştur. Uygulamalar karşılaştırıldığında ise Kontrol uygulamasında ortalama 47,66 cm² ile en yüksek yaprak alanı değeri tespit edilirken, 50 °C uygulamasında ortalama 23,09 cm² ile en düşük yaprak alanı değeri tespit edilmiştir (Çizelge 4.2.1). Buna göre genotipler arasındaki fark istatistikî olarak önemli bulunmuştur. Ayrıca genotip ve sıcaklık uygulamaları arasındaki interaksiyon istatistikî olarak önemli bulunmamıştır (Ek C).

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre, yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak genotiplerinin genellikle yaprak alanlarının azaldığı tespit edilmiştir. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak sorgum bitkisinde de yaprak alanının önemli derecede azaldığı bildirilmektedir (Djanaguiraman vd., 2010). Bu durumun yüksek sıcaklığa bağlı olarak bitki büyüme ve gelişmesinin yavaşlamasına paralel olarak yaprak alanının azalması ve fotosentetik aktivitede meydana gelen azalışlardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Zira yüksek sıcaklık stresi, özellikle optimum büyüme sıcaklığındaki 1,5-6 °C'lik artış ile fotosentezin inhibisyonuna, hücre membran zararlanmasına ve senesense bağlı hücre ölümlerine neden olarak büyüme ve gelişmeyi sınırlandırmaktadır (Levitt, 1980).



Şekil 4.3. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak taze fasulye genotiplerinin yaprak alanlarındaki değişim. Dikey barlar tekerrürlerin \pm SS' larını göstermektedir.

Çizelge 4.3. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak taze fasulye yapraklarındaki, yaprak alanı.

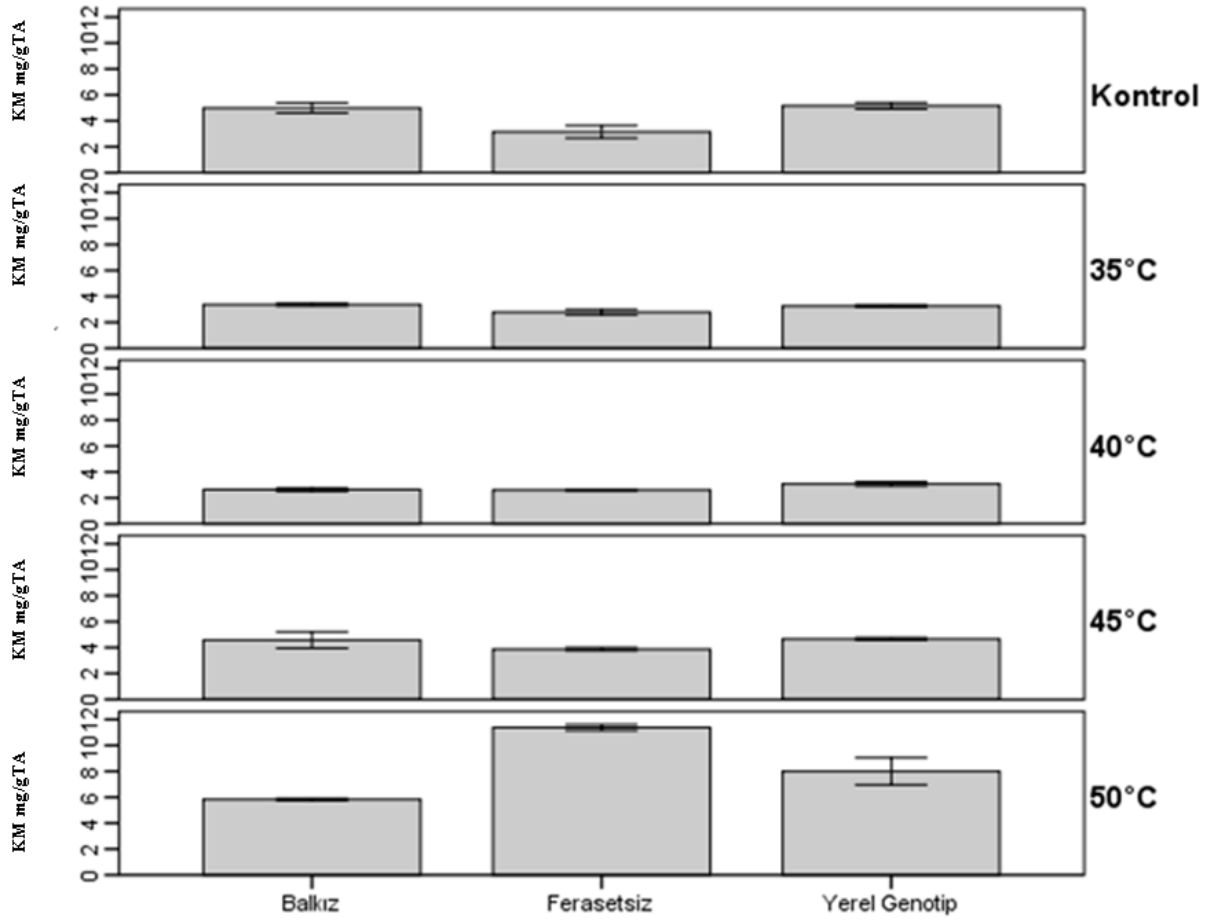
| Genotip | Yaprak Alanı (cm²) |
|-------------------------|--------------------------------------|
| Balkız | 37,86 ^b |
| Ferasesiz | 42,09 ^a |
| Yerel Genotip | 27,20 ^c |
| Uygulamalar (°C) | |
| Kontrol | 47,66 ^a |
| 35 | 40,79 ^b |
| 40 | 40,20 ^b |
| 45 | 31,06 ^c |
| 50 | 23,09 ^d |
| ANOVA | |
| Genotip | * |
| Uygulama | * |
| Genotip x Uygulama | öd |

*0,05 seviyesinde önemli

4.3. Toplam Klorofil Miktarı (KM)

Yüksek sıcaklık uygulamaları ile birlikte taze fasulye genotiplerinin toplam klorofil miktarındaki değişimler Şekil 4.4 ve Çizelge 4.4' de verilmiştir. Genotipler arasındaki yüksek sıcaklık uygulamasının etkisine bağlı olarak toplam klorofil miktarları incelendiğinde, Balkız 4,28 mg/g TA, Ferasettsiz ise 4,31 mg/g TA klorofil miktarına sahip iken, Yerel Genotip'in 4,83 mg/g TA ile en yüksek toplam klorofil miktarına sahip olduğu tespit edilmiştir. Uygulamalar karşılaştırıldığında kontrolde ortalama 4,4 mg/g TA tespit edilirken, 50 °C uygulamasında ortalama 8,35 mg/g TA ile en yüksek klorofil miktarı belirlenmiştir. Buna göre uygulamalar arasındaki fark istatistikî olarak önemli bulunmuştur. Genotip ve uygulama arasındaki interaksiyon % 5 seviyesinde önemli olmuştur (Ek D).

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre, yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak genotiplerin toplam KM'da artış olduğu tespit edilmiştir. Bu konu da literatürde farklı sonuçlar mevcuttur. Örneğin, turunçgillerde (Guo vd., 2006) ve dutta (Chaitanya vd., 2001) yüksek sıcaklık stresinin toplam KM azalttığı belirlenmiştir. Cansev (2012) ise yüksek sıcaklık uygulamalarının 'Gemlik' zeytin çeşidinde 45 °C'ye kadar toplam KM'nı etkilemediğini, ancak 50 °C'den itibaren klorofil miktarını azalttığını bildirmiştir. Liu ve Huang (2000) ise *Agrostis palustris*'de yaptıkları çalışmada klorofil içeriğinin uygulanan yüksek sıcaklık (35/25°C) ile arttığını bildirmiştir. Diğer taraftan Kesici (2009) ve Kesici vd. (2013) yüksek sıcaklık uygulamaları ile çilek bitkisinde toplam KM arttığına dikkat çekmiştir. Bu durum bitkilerin stres koşullarına verdikleri fizyolojik tepkilerin büyük ölçüde türe, çeşide, stresin şiddetine ve kaynağına bağlı olarak değişmesi ile açıklanabilir.



Şekil 4.4. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak taze fasulye genotiplerinin toplam klorofil (mg/g TA) miktarı. Dikey barlar tekerrürlerin \pm SS' larını göstermektedir.

Çizelge 4.4. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak taze fasulye yapraklarındaki klorofil Miktarı (KM).

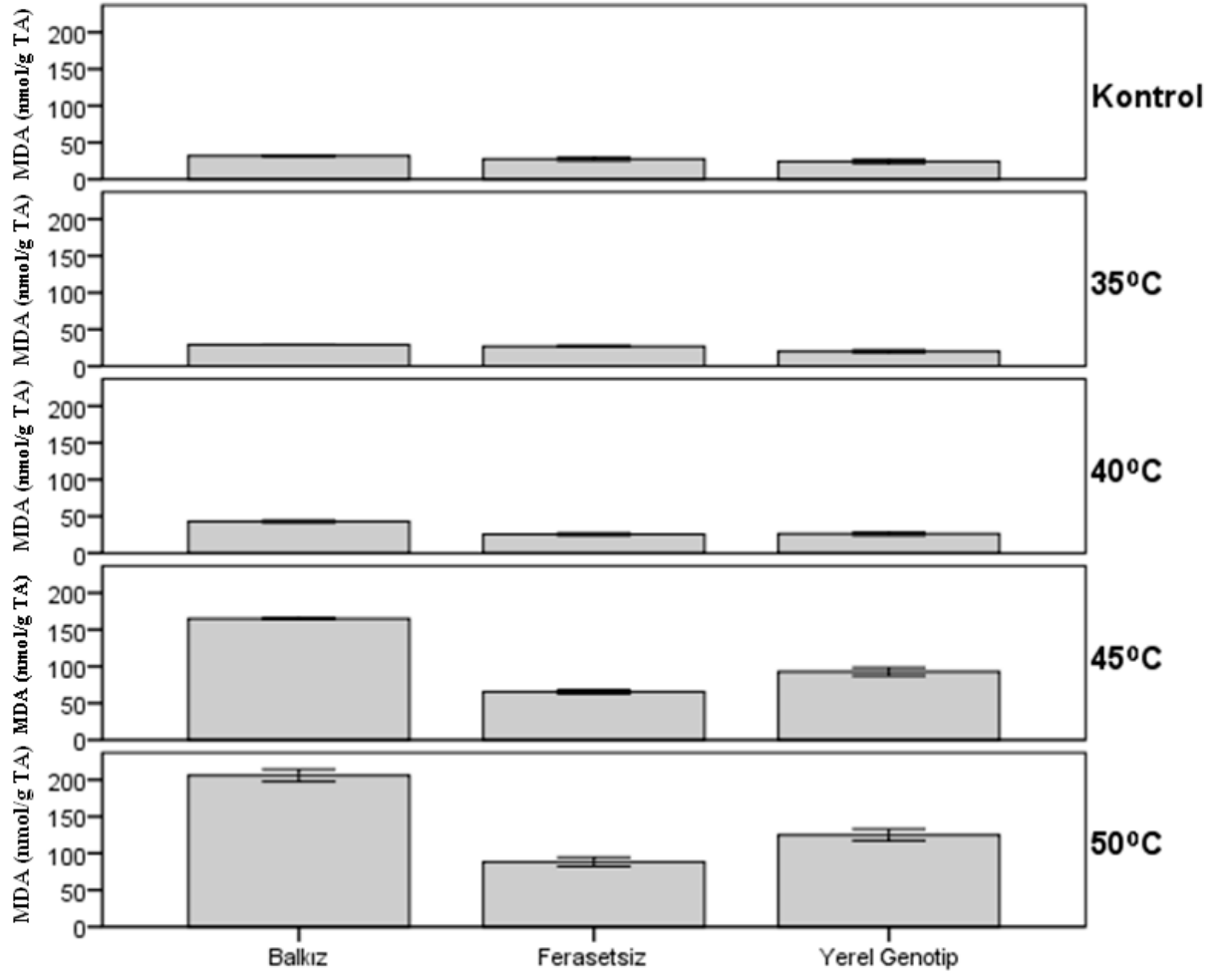
| Genotip | KM (mg/g TA) |
|-------------------------|---------------------|
| Balkız | 4,31 |
| Ferasettsiz | 4,28 |
| Yerel Genotip | 4,83 |
| Uygulamalar (°C) | |
| Kontrol | 4,36 ^b |
| 35 | 3,10 ^c |
| 40 | 2,79 ^c |
| 45 | 4,37 ^b |
| 50 | 8,35 ^a |
| ANOVA | |
| Genotip | öd |
| Uygulama | * |
| Genotip x Uygulama | * |

*0,05 seviyesinde önemli

4.4. Lipid Peroksidasyonu (MDA)

Yüksek sıcaklık uygulamalarına maruz bırakılan taze fasulye genotiplerinin yapraklarındaki MDA miktarları karşılaştırıldığında, genotipler arasında farklılıklar olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.5ve Çizelge 4.5). Ferasetsiz 46,8 nmol/g TA ile en düşük MDA miktarına sahip olmuştur. Bunu 49,8 nmol/g TA ile Yerel Genotip izlemiştir. Balkız ise 90,3 nmol/g TA ile en yüksek MDA miktarına sahip genotip olarak belirlenmiştir. Uygulamalar karşılaştırıldığında ise, 35 °C uygulamasında ortalama 24,7 nmol/g TA ile en düşük MDA miktarı tespit edilirken, 50 °C uygulamasında ortalama 139,7 nmol/g TA ile en yüksek MDA miktarı belirlenmiştir. Ayrıca genotip ve sıcaklık uygulamaları ile genotip ve sıcaklık uygulamaları arasındaki interaksiyon %5 seviyesinde önemli olmuştur (Ek E).

Denemeden elde edilen MDA sonuçlarına göre, yüksek sıcaklık uygulamaları ile birlikte bitkinin yapraklarındaki MDA oluşumunda artış olduğu belirlenmiştir. Benzer sonuçlar çeltik, çilek vb bitkilerde de elde edilmiştir (DongGi vd., 2007; Kesici, 2009, Kesici vd., 2013). Sairam vd. (2000) ise lipid peroksidasyonundaki (MDA içeriği) artışın hücre membran zararlanmasıyla bağlantılı olduğunu bildirmektedirler.



Şekil 4.5. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak taze fasulye genotiplerinin yapraklarındaki MDA miktarı. Dikey barlar tekerrürlerin \pm SS' larını göstermektedir.

Çizelge 4.5. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak taze fasulye yapraklarındaki lipid peroksidasyonu (MDA).

| Genotip | MDA (nmol/gTA) |
|-------------------------|-----------------------|
| Balkız | 90,32 ^a |
| Ferasesiz | 46,77 ^b |
| Yerel Genotip | 49,83 ^b |
| Uygulamalar (°C) | |
| Kontrol | 27,54 ^{cd} |
| 35 | 24,69 ^c |
| 40 | 32,33 ^c |
| 45 | 101,77 ^b |
| 50 | 139,72 ^a |
| ANOVA | |
| Genotip | * |
| Uygulama | * |
| Genotip x Uygulama | * |

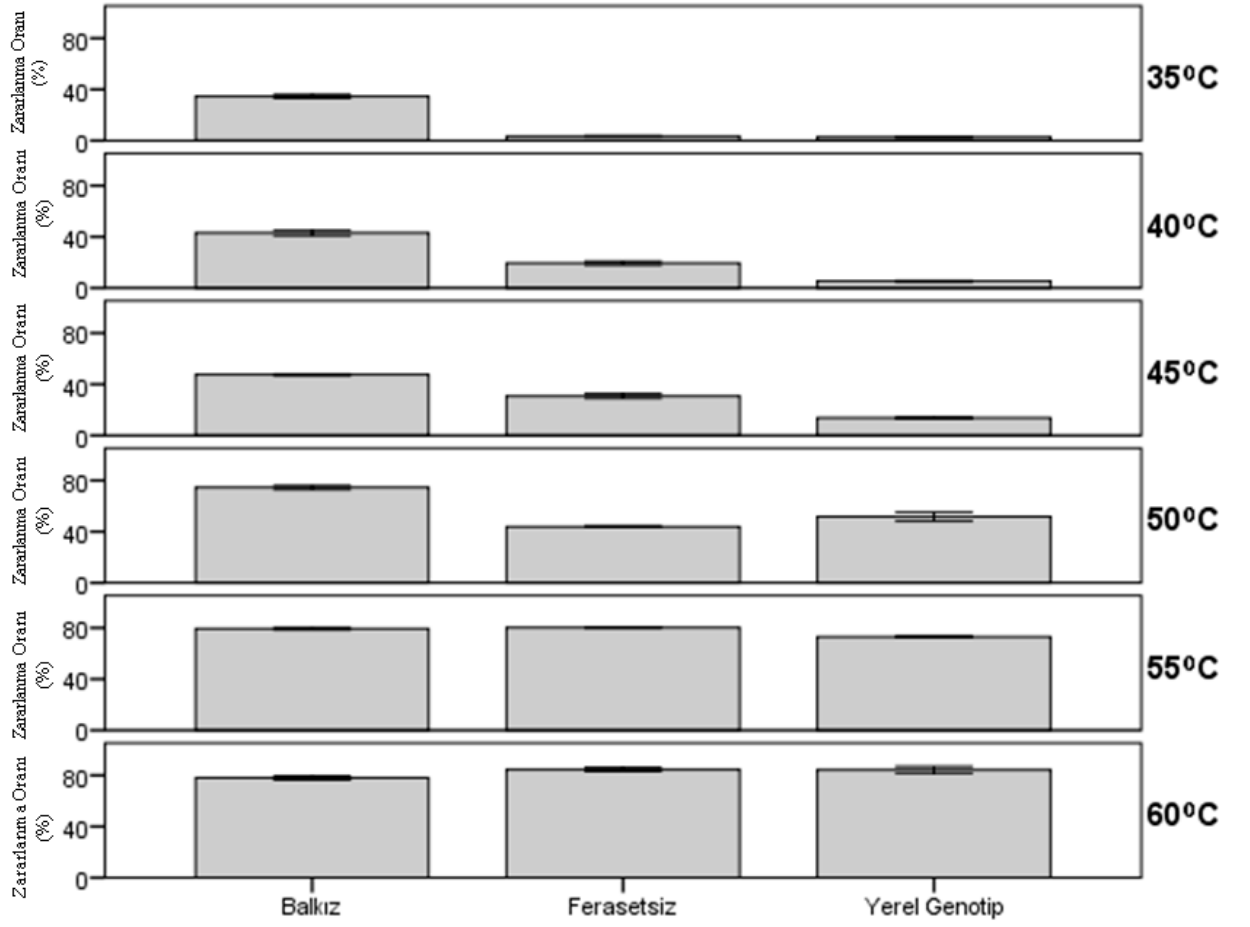
*0,05 seviyesinde önemli

4.5. Hücre Membran Zararlanma Oranı

Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak taze fasulye genotiplerinin hücre membran zararlanma oranlarının karşılaştırıldığı çalışmada değerlendirilen genotipler arasında önemli farklılıklar görülmüştür (Şekil 4.6 ve Çizelge 4.6). Özellikle 50 °C' ye gelindiğinde, genotiplerin zararlanma oranları arasındaki farklılıklar oldukça çarpıcı olmuştur (Şekil 4.6). Buna göre, 35°C' de Ferasettsiz % 3,28, Yerel Genotip %2,7 zararlanma gösterirken, Balkız % 34,4' le en yüksek oranda zarar göstermiştir. 50 °C' ye gelindiğinde ise, Ferasettsiz % 43,9, Yerel Genotip % 51,7 Balkız % 74,7 oranında zararlanma göstermişlerdir. 60 °C' de ise Ferasettsiz % 84,3, Yerel Genotip %84,5 oranında zararlanma gösterirken, Balkız % 77,8 oranında zararlanma oranına sahip olmuştur.

Uygulamalar ve genotiplere göre ortalama hücre membran zararlanma oranları değerlendirildiğinde; Yerel Genotip % 38,4, Ferasettsiz % 46,1 değerine sahipken, Balkız % 62,2 ile en yüksek zararlanma oranına sahip olmuştur. Uygulamalar karşılaştırıldığında ise 35°C' de % 10,9 ile en düşük ve 60 °C' de ise % 82,3 ile en yüksek zararlanma oranı tespit edilmiştir. Buna göre genotipler arasındaki fark istatistikî olarak önemli bulunmuştur. Ayrıca genotip ve sıcaklık uygulamaları arasındaki interaksiyon, %5 seviyesinde önemli olmuştur. (Ek F)

Hücre membranı zararlanmasının ölçülmesinde kullanılan iyon sızıntısı direkt sıcaklık zararının bir göstergesidir (Arora vd., 1998;Lester, 1985, Saelim veZwiazek, 2000). Almeselmani vd. (2006)'ne göre, yapılan araştırmaların genelinde sıcaklığın artışıyla orantılı olarak iyon sızıntısı meydana gelmektedir. Bu çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Ancak Ferasettsiz ve Yerel Genotip'te özellikle 50 °C'den itibaren % 50'nin üzerinde zararlanma oranı görülürken bu değer Balkız genotipinde 45 °C'den itibaren elde edilmiştir. Benzer şekilde Cansev (2012) 'Gemlik' zeytin çeşidinde 50 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda azalan su miktarı ve fotosenteze bağlı olarak hücre membran zararlanmasının olduğunu bildirmiştir. 'Keklik' barbunya çeşidinde de yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak hücre membran zararlanmasının arttığı, bu artışın özellikle 50 °C'nin üzerinde daha belirgin olduğu tespit edilmiştir (Aydoğan ve Turhan, 2015).



Şekil 4.6. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak taze fasulye genotiplerinin yapraklarındaki hücre membran zararlanma oranları. Dikey barlar tekerrürlerin \pm SS' larını göstermektedir.

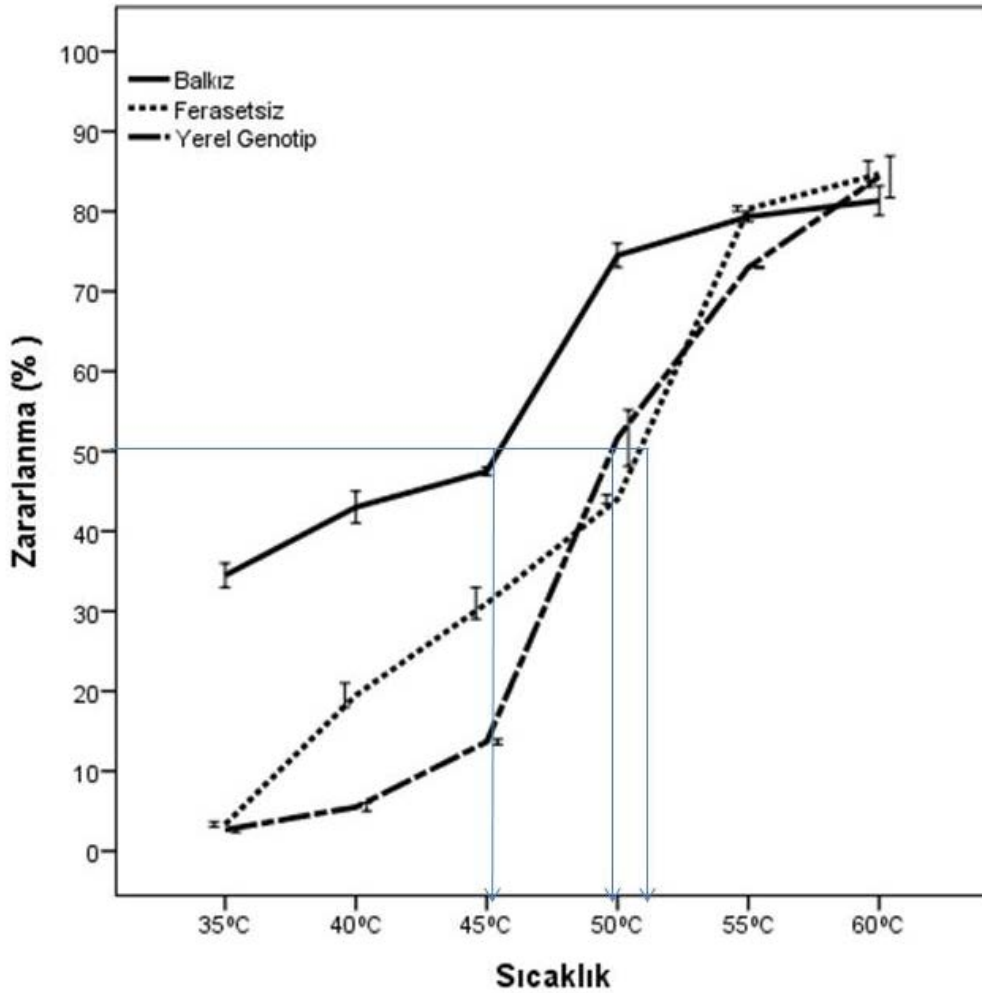
Çizelge 4.6. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak taze fasulye yapraklarındaki hücre membran zararlanması (%).

| Genotip | Zararlanma Oranı (%) |
|-------------------------|-----------------------------|
| Balkız | 62,21 ^a |
| Ferasetsiz | 46,06 ^b |
| Yerel Genotip | 38,38 ^c |
| Uygulamalar (°C) | |
| 35 | 10,90 ^f |
| 40 | 22,63 ^e |
| 45 | 28,23 ^d |
| 50 | 54,46 ^c |
| 55 | 78,12 ^b |
| 60 | 82,30 ^a |
| ANOVA | |
| Genotip | * |
| Uygulama | * |
| Genotip x Uygulama | * |

*0,05 seviyesinde önemli

4.6.Yüksek Sıcaklığa Tolerans (LT_{50})

Değerlendirmeye alınan 3 taze fasulye genotipinin hesaplanan stres tolerans noktası (LT_{50}) değerleri Şekil 4.7' de verilmiştir. Sonuçlar genotiplerin stres tolerans noktalarının $45,5^{\circ}\text{C}$ ve $50,8^{\circ}\text{C}$ arasında değiştiğini göstermiştir. Genotipler arasında $45,5^{\circ}\text{C}$ ile Balkız en düşük toleransa sahip iken, $50,8^{\circ}\text{C}$ ile Ferasettsiz toleransı en yüksek genotip olarak tespit edilmiştir. Yerel Genotipte ise bu değer $49,9^{\circ}\text{C}$ olarak tespit edilmiştir. LT_{50} (Lethal temperature) değeri, bir popülasyondaki bireylerin % 50' sinin yüksek zarara maruz kaldığı veya öldüğü sıcaklık derecesidir.



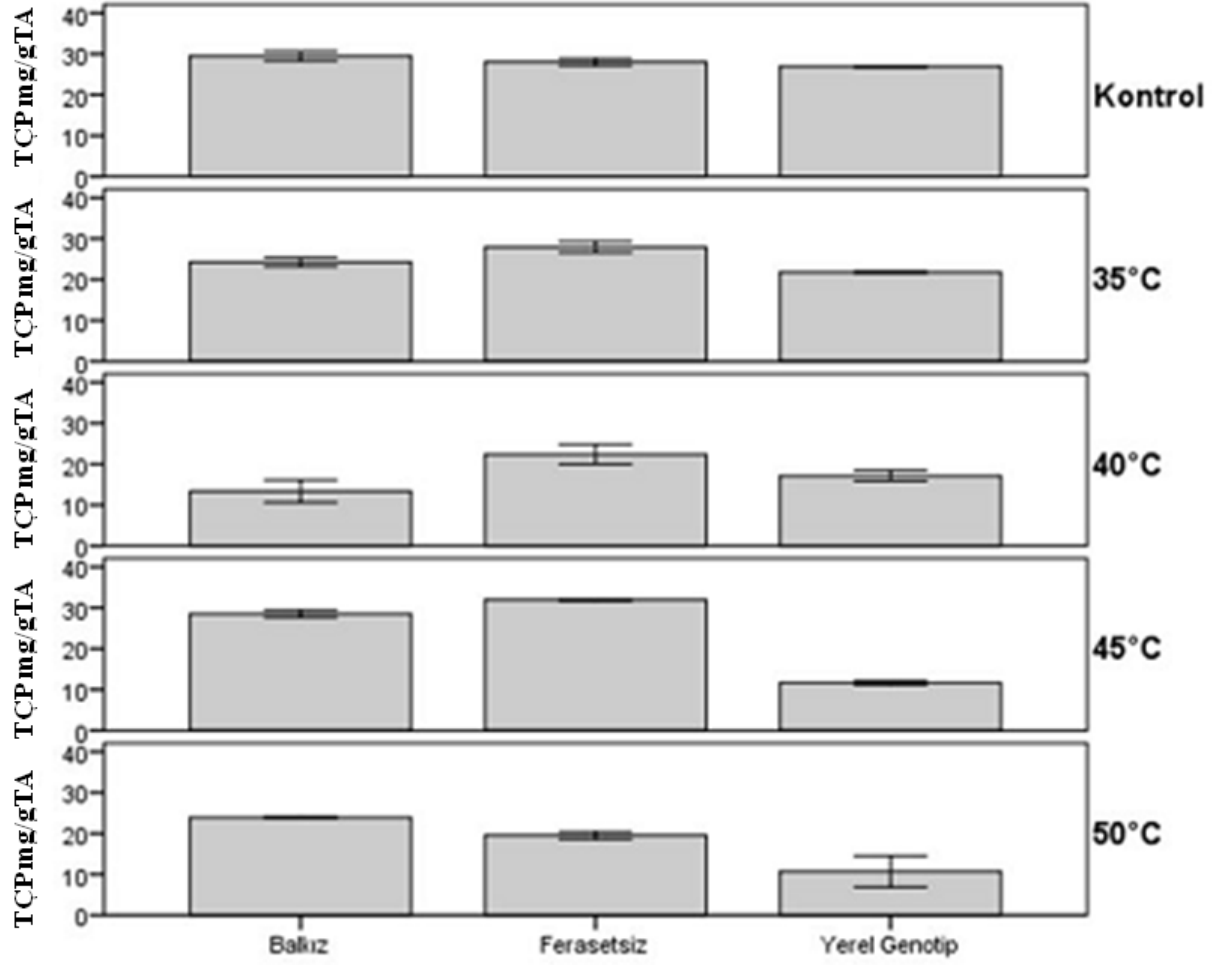
Şekil 4.7. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak taze fasulye genotiplerinin yüksek sıcaklık tolerans (LT_{50}) değerleri. Dikey barlar tekerrürlerin \pm SS' larını göstermektedir.

Küresel ısınma sebebiyle artan sıcaklıklar, fasulye gibi hem örtü altı hem de açıkta yetiştiriciliği yapılan bitkiler için verimi sınırlandıran nedenlerin başında gelmektedir. Deschampsiaantarctica Desv. çim çeşidinde yapılan bir çalışmada membran zararlanmasına bağlı olarak tolerans noktasının (LT₅₀) değerinin 48,3 °C olduğu tespit edilmiştir. (Reyes vd., 2003). Turhan vd. (2015) ise 'Çarli', 'Çoban' ve 'Demre' biber çeşitlerinde yüksek sıcaklık stresi koşullarında LT₅₀ değerlerini sırasıyla 36,9, 37,0 ve 42,3 olarak belirlemişlerdir.

4.7. Toplam Çözünabilir Protein Miktarı

Şekil 4.8 ve Çizelge 4.7 genel olarak incelendiğinde; genotiplerin ve sıcaklık uygulamalarının, taze fasulye genotiplerinin yaprak dokularındaki toplam protein miktarı üzerine etkisinin farklı olduğu gözlenmiştir. 40 °C'den itibaren genotiplerin toplam protein miktarlarında, kontrol uygulamasına göre önemli derecede azalma meydana gelmiştir. 45 °C' ye gelindiğinde ise Balkız ve Ferasetsiz genotiplerinin protein miktarlarında artış meydana geldiği tespit edilmiştir. 50 °C' de Balkız ve Ferasetsiz genotiplerinin protein miktarlarında tekrar bir azalış meydana gelmiştir. Yerel Genotip' te ise en belirgin azalma 45 °C' de tespit edilirken bunu 50 °C takip etmiştir. Genotip*uygulama interaksyonunun toplam çözünabilir protein miktarına etkisi de önemli bulunmuştur (Ek G).

Ledesma vd. (2004) "Nyoho" ve "Toyonaka" çilek çeşitlerinde sıcaklık artışına bağlı olarak toplam protein miktarının azaldığını, buna karşılık artan sıcaklıklara tepki olarak yeni proteinlerin sentezlendiğini bildirmiştir. Yüksek sıcaklık stresinin dut yapraklarında da toplam protein miktarını azalttığı, toplam amino asit miktarını ve prolin birikimini ise, arttırdığı isaptanmıştır (Chaitanya vd., 2001). Benzer şekilde Turhan vd. (2015) tarafından biber bitkisinde yapılan çalışmada da yüksek sıcaklık uygulamalarının toplam protein miktarını belli sıcaklık derecelerine kadar azalttığı belirlenmiştir. Yüksek sıcaklık stresi proteinlerin yapısal değişimine yol açar. Böylece proteinler denatüre olur, proteolitik enzimler duyarlı hale gelir. Yüksek sıcaklığa adaptasyonun gelişmesi belli amino asitlerin birbirine göre yer değiştirmesi ile sağlanmaktadır. Proteinlerin denatürasyonu genellikle farklı hücresel çözeltiler (şekerler, organik asitler) tarafından korunmaktadır (Levitt, 1980).



Şekil 4.8. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak taze fasulye genotiplerinin toplam çözünebilir protein miktarı. Dikey barlar tekerrürlerin \pm SS' larını göstermektedir.

Çizelge 4.7. Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak taze fasulye yapraklarındaki toplam çözünebilir protein miktarı

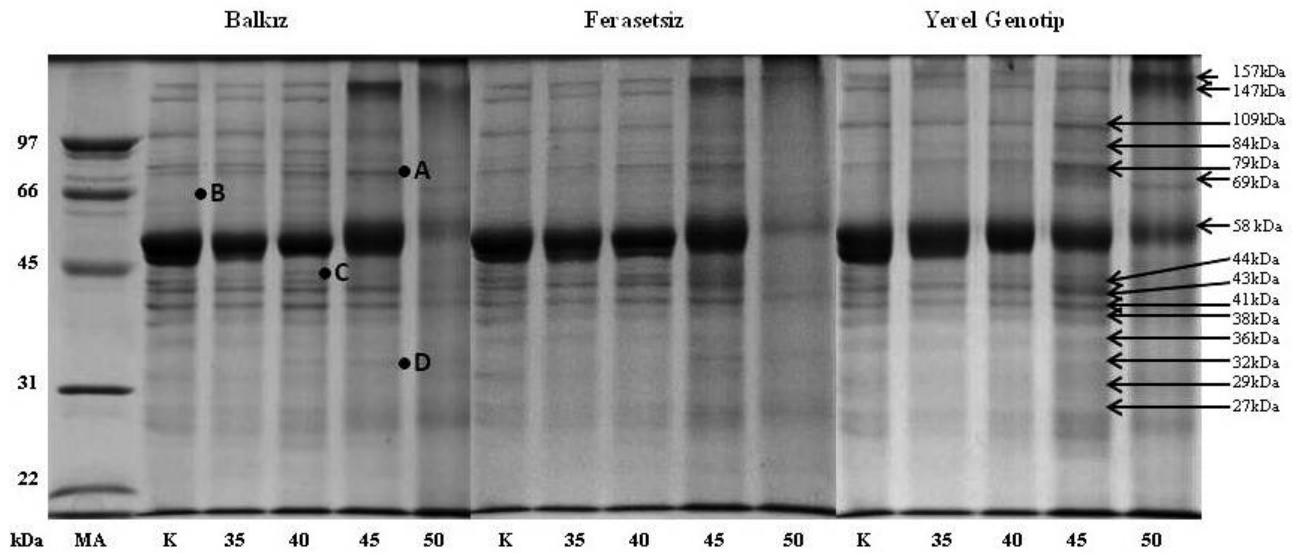
| Genotip | mg protein/ gTA |
|-------------------------|------------------------|
| Balkız | 23,90 ^b |
| Ferasetsiz | 25,96 ^a |
| Yerel Genotip | 17,66 ^c |
| Uygulamalar (°C) | |
| Kontrol | 28,15 ^a |
| 35 | 24,66 ^b |
| 40 | 17,64 ^c |
| 45 | 24,05 ^b |
| 50 | 18,03 ^c |
| ANOVA | |
| Genotip | * |
| Uygulama | * |
| Genotip x Uygulama | * |

*0,05 seviyesinde önemli

4.8. SDS-PAGE

Şekil 4.9'de yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak Balkız, Ferasettsiz ve Yerel Genotip taze fasulye genotiplerinde toplam protein profilleri gösterilmiştir. Genotiplerin profilleri incelendiğinde; 27-157 kDa arası molekül ağırlığına sahip bantlar olduğu belirlenmiştir. Balkız genotipinde Ferasettsiz ve Yerel Genotipten farklı olarak 45, 65 ve 78 kDa'luk, Yerel Genotipten farklı olarak ise 34 kDa'luk protein bantları belirlenmiştir. Bantların yoğunluğu her üç genotipte de artan sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak azalmış, bu azalış özellikle 50 °C'de belirgin olmuştur. 58 kDa büyüklüğündeki protein bandı her üç genotipte de en yoğun gözlenen protein bandı olmuştur. 58 kDa'luk protein bandının muhtemelen yapısal proteinlerden oluşan baskın bir bant olduğu ve bu bandın 50 °C'de tüm genotiplerde azaldığı belirlenmiştir. Diğer taraftan bazı protein bantlarının 50 °C'de tamamen kaybolduğu görülmüştür. Ayrıca Balkız genotipinde 40 °C'de 45 kDa'luk protein bandının sentezlendiği ve 45-50 °C'de bu bantın tekrar kaybolduğu belirlenmiştir.

Protein bantlarında yüksek sıcaklığa bağlı olarak meydana gelen bu azalmanın, artan sıcaklıklarda protein yapısının bozulmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.



Şekil 4.9.Yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak taze fasulye genotiplerinde toplam protein profilleri. A: 78kDa, B:65 kDa, C:45 kDa, D:34 kDa

Literatürde konu ile ilgili yapılan çalışmalarda da benzer sonuçlar alınmıştır. Örneğin, domates (Heckathorn, 1998, Turhan vd., 2014b) ve çilekte (Ergin 2012; Ledesma, 2004) yüksek sıcaklığa tepki olarak yeni proteinlerin sentezlendiği ve yüksek sıcaklıklara bağlı olarak protein bantlarında azalmalar ve neredeyse tamamen kaybolmaların olduğu bildirilmektedir. Öte yandan Ergin (2012) kademeli ve şok yüksek sıcaklık uygulamalarında çilek yapraklarında 40 ve 23 kDa büyüklüğünde iki protein bandının yüksek sıcaklıklarda (46 °C'den itibaren) biriktiğini belirlemiştir. Benzer şekilde Turhan vd. (2015) yüksek sıcaklık stresi koşullarında biber bitkisinde 7-54 kDa arası büyüklükte değişen bantlar tespit etmişler ve 40 kDa büyüklüğünde protein bandının yüksek sıcaklığa toleransla ilişkili olabileceğine dikkat çekmişlerdir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bitki büyüme ve gelişmesini etkileyen en önemli çevre faktörlerinden birisi de yüksek sıcaklıktır. Yüksek sıcaklık stresi bitki metabolizmasında fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler bazı değişikliklere neden olur. Bitkilerde yüksek sıcaklıklara uyum sağlama sırasında ortaya çıkan değişikliklerin birçoğu geri dönüşümlüdür. Ancak, eğer stresin şiddeti çok büyük ise geri dönüşümü olmayan ve bitkinin ölümüne neden olan değişiklikler ortaya çıkabilir. Bu çalışmanın konusunu oluşturan bitki örneklerinde yüksek sıcaklık stresinin hücre düzeyinde neden olduğu zararlanmayı belirleyebilmek için; iyon sızıntısı, yaprak oransal su kapsamı, turgor kaybı, toplam klorofil ve MDA miktarı ölçülerek tespit edilmiştir.

İyon sızıntısı testi ile belirlenen zararlanma oranı, YOSK, TK ve MDA sonuçları ile paralellik göstermektedir. Sonuçlar, her üç genotipte de kademeli olarak artan yüksek sıcaklık uygulamalarının YOSK'nı azalttığını, TK'nı ve MDA miktarını arttırdığını göstermiştir. Sonuçlar incelendiğinde; YOSK sonuçlarına göre Ferasetsiz ve Yerel Genotip en yüksek YOSK'na sahip iken Balkız en düşük değere sahip olmuştur. Buna karşılık TK ve MDA miktarında Ferasetsiz ve Yerel Genotip en düşük TK ve MDA değerlerine sahip iken Balkız en yüksek TK ve MDA miktarına sahip genotip olmuştur. Ayrıca genotiplerin hücre membran zararlanmaları % olarak belirlenmiş ve hücre membran zararlanmasını gösteren veriler kullanılarak her genotipin % 50 zararlanma gösterdiği sıcaklık değerleri belirlenmiştir. Buna göre de genotiplerin yüksek sıcaklık toleransları ayrı ayrı belirlenmiştir. Elde edilen veriler genotipler arasında yüksek sıcaklık toleransı bakımından önemli farklılıklar olduğunu göstermiştir. Bu verilere göre yüksek sıcaklığa tolerans noktası 50,8 °C ile Ferasetsiz ve 49,9 °C ile Yerel Genotipin toleranslı genotipler olduğu belirlenmiştir. 45,5 °C ile Balkız en düşük sıcaklık toleransına sahip bulunmuştur.

Taze fasulye genotiplerinde; yüksek sıcaklığa bağlı olarak özellikle 50 °C'de toplam çözünebilir protein miktarının ve bazı protein bantlarının azaldığı, yüksek sıcaklığa toleransla yeni sentezlenen bazı proteinlerin ilişkili olabileceği belirlenmiştir. Diğer taraftan sıcaklık uygulamalarıyla birlikte Toplam KM'nda artış, yaprak alanı değerlerinde ise azalış görülmesine rağmen, çalışmanın amacına yönelik doğrudan etkisi olduğu tespit

edilmemiştir. Toplam KM ve yaprak alanı değerleri ile genotiplerin sıcaklık toleransları arasında doğrusal bir ilişki saptanamamıŐtır.

Tüm bu sonuçlar değerlendirildiğinde bazı taze fasulye genotiplerinin yüksek sıcaklıklara toleranslarının belirlenmesinde zararlanma oranı, YOSK, TK ve MDA'nın etkili olduğunu göstermiştir. Fasulyede yüksek sıcaklığa dayanımı veya toleransı yüksek genotiplerin ıslahı için var olan genotiplerin toleransının belirlenmesi verimli genotipler elde edilmesi açısından önem taŐımaktadır. Bu da bitkilerin yüksek sıcaklık stresine karşı geliŐtirdikleri mekanizmanın ağıklanabilmesi ile mümkün olacaktır. Bu bilgiler ve elde edilen sonuçlar doğrultusunda LT_{50} 'nin, tür, çeşit ve genotiplerin yüksek sıcaklığa toleranslarını belirlemede önemli bir parametre olduğu görölmektedir.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçların yüksek sıcaklık stresinin moleküler mekanizmasına ve yüksek sıcaklığa toleranslı taze fasulye genotiplerinin geliŐtirilmesine yönelik ileriki çalıŐmalara ışık tutacağı düŐünölmektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Akçin, A., 1974. Erzurum Şartlarında Yetiştirilen Kuru Fasulye Çeşitlerinde Gübreleme, Ekim Zamanı ve Sıra Aralığının Tane Verimine Etkisi ile Bu Çeşitlerin Bazı Fenolojik, Morfolojik ve Teknolojik Karakterleri Üzerinde Bir Araştırma. Atatürk Üniversitesi Yayınları, No:324
- Almeselmani, M., Deshmukh, P.S., Sairam, S.R., Kuswaha, S.R., Singh, T.P., 2006. Protective Role of Antioxidant Enzymes Under High Temperature Stress. *Plant Science*, 171:382-388.
- Arora, R., Pitchay, D.S., Bearce, B.C., 1998. Water-Stress-Induced Heat Tolerance in Geranium Leaf Tissues: A Possible Linkage Through Stress Proteins. *Physiologica Plantarum*, 103:24-34.
- Aydoğan, Ç. , Turhan, E. 2013. Yüksek Sıcaklık Uygulamasının Keklik Barbunya Çeşidinin Bazı Fizyolojik Özelliklerine Etkisi"" İç Anadolu Bölgesi 1. Tarım ve Gıda Kongresi, Bildiriler, Cilt I, Bitkisel Üretim, s:278-283.
- Aydogan, C., Turhan, E. 2015. Antioxidative enzyme activity alterations of small reddish bean induced by heat stress. VIth International Scientific Symposium for PhD Students and Students of Agricultural Colleges. Innovative Researches for the Future of Agriculture and Rural Areas Development. 17-19 September 2015 Bydgoszcz - Ciechocinek, Poland, p:29.
- Bailey-Seres, J. and Voesenek, L.A.C.J., 2008. Flooding Stress: Acclimations and Genetic Diversity. *Annual Review of Plant Biology*, 59: 313-339.
- Balla, K. Bencze, S., Janda, T., Veisz, O. 2009. Analysis of Heat Stress Tolerance in Winter Wheat. *Acta Agron Hung* 57:437-444.
- Barr, H.D. and 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.
- Blum, A., vd., 2001. Wheat Cellular Thermotolerance is Related to Yield under Heat Stress, *Euphytica*, 117, 117-123.
- Boer, J.,1982. *Plant Productivity an Environment Science* (Washington, D.C.) 218: 443-448.
- Bradford, M.M., 1976. A Rrapid and Sensitive method For Quantitation of Microgram Quantities of Protein Using the Principle of Protein-Dye Binding. *Ann. Biochem.*, 72: 248-254.
- Burke, J.J., Mahony, J.O., 2001. Protective Role in Acquired Thermotolerance of Developmentally Regulated Heat Shock Proteins in Cotton Seeds. *The Journal of Cotton Sei.* 5:174-183.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Burke, J.J., 1990. High Temperature Stress and Adaptation in Crops, In: Alscher, R.G., Cummings, J.R. (Eds.), *Stress Response in Plants: Adaptation and Acclimation Mechanisms*, pp.295-309, WileyLiss, New York.
- Burke, J.J., J. R. Mahan and J. L. Hatfield. 1988. Crop-Specific Thermal Kinetic Windows in Relation to Wheat and Cotton Biomass Production, *Agron. J.*, 80, 553-556.
- Cakmak, I., Marschner, H., 1992. Magnesium Deficiency and High Light Intensity Enhance Activities of Superoxide Dismutase, Ascorbate Peroxidase and Glutathione Reductase in Bean Leaves. *Plant Physiol*, 98:122-1226.
- Camejo, D., Rodriguez, P., Morales, M.A., Dell'amico, J.M., Torrecillas, A., Alarcon, J.J. 2005. High Temperature Effects on Photosynthetic Activity of Two Tomato Cultivars With Different Heat Susceptibility. *J. Plant Physiol.* 162: 281-289.
- Cansev, A. 2012. Physiological Effects of High Temperature Treatments on Leaves of Olive cv. Gemlik. *Plant Archives Vol. 12 No. 1, 2012 pp. 521-525.*
- Chaitanya KV, Sundar D, Ramachandra Reddy A. 2001. Mulberry leaf metabolism under high Temperature stress, *Biologia Plant.* 44: 379-384.
- Chou M., Chen, Y.M., Lin, C.Y., 1989. Thermotolerance of Isolated Mitochondria Associated With Heat Shock Proteins. *Plant Physiology*, 89: 617-621.
- Dash, S., Mohanty, N., Evaluation of Assay for the Analysis of Thermotolerance and Recovery Potentials of Seedlings of Wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivars, *J. Plant Physiol.*, 158, 1153-1165, 2001.
- Dat, JF. Foyer, CH, Scott IM 1998a. Changes in Salicylic Acid and Antioxidants During Induction of Thermotolerance in Mustard Seedlings. *Plant Physiol.* 118: 1455-1461.
- Dat, JF., Lopez-Delgado H, Foyer, CH, Scott IM 1998b. Parallel Changes in Hydrogen Peroxide and Catalase During Thermotolerance Induced by Salicylic Acid or Heat Acclimation in Mustard Seedlings. *Plant Physiol.* 116: 1351-1357. Greer D.H., Weedon M.M. Modelling Photosynthetic Responses to Temperature of Grapevine (*Vitis vinifera* cv. Semillon) Leaves on Vines Grown in a Hot Climate. *Plant Cell Environ.* 2012;35:1050–1064.
- Downing, D.E., Ringius, L., Hulme, M., Waughray D., 1997. Adapting to Climate Change in Africa. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change.* 2(1):19-44.
- De Belie, N., Herppich, W., De Baerdemaeker, J. 2000. A Kinetic Model For Turgor Loss in Red Cabbage Cells During Mild Heat Treatment. *Journal of Plant Physiology*, 157(3):263–272.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Djanaguiraman M., Prasad P.V.V., Seppanen M. Selenium Protects Sorghum Leaves From oxidative damage under High temperature Stress by Enhancing Antioxidant defense System. *Plant Physiol. Biochem.* 2010;48:999–1007.
- DongGi, L., Ahsan, N., Young, K., 2007. A Proteomic Approach in Analyzing Heat-Responsive Proteins in Rice Leaves. *Proteomics*, 7(18):3369-3383.
- Duranti, M., Gius, C., 1997. Legume seeds: Protein Content and Nutritional Value. *Field Crop Research*, 53:31-45.
- Eiberger, M.S., Haefs, R., Noga, G.. 2002. Calcium Deficiency-Influence on the Antioxidative Defense System in Tomato Plants. *J. Plant Physiol.*, 159:733–742.
- Ergin, S. 2012. Yüksek Sıcaklık Stresinin Çilek Bitkisinde Enzimatik ve Enzimatik Olmayan Antioksidanlar ile Protein Metabolizmasına Etkileri. Doktora Tezi, Uludağ Üniv. Fen Bil. Ens. Bursa, 92 s.
- Ergin, S., Aydoğan, Ç., Öztürk, N., Turhan, E., 2014. Effects of Ascorbic Acid Application in Strawberry Plants During Heat Stress. *Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences Special Issue*, 2:1486-1491.
- FAO, 2015. FAO: Food and Agricultural Organization of United Nations: Economic and Social Department: Statistical Division. www.fao.org.
- Farouk, S. 2011.. Osmotic adjustment in wheat flag leaf in relation to flag leaf area and grain yield per plant. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 7(2) : 117-138.
- Foyer, C.H, Descourvieres, P., Kunert, K. 1994. Protection Against Oxygen radicals: Important Defence Mechanisms Studied in Transgenic Plants. *Plant Cell Environ.* 17: 507-523.
- Foyer, C.H., Lopes-Degado, H., Dat, J.F., Scott, I.M. 1997. Hydrogen Peroxide- and Glutathione-Associated Mechanisms of Acclamatory Stres tolerance and Signaling. *Plant Physiol.* 100, 241-254.
- Gonzalez, L., Gonzalez-Vilar, M. 2001. Determination of Relative Water Content. *Handbook of Plant Ecophysiology Techniques*, 14:207–212.
- Grover, A., Agarwal, M. Katiyar-Agarwal, S., Sahi, C., Agarwal, S. 2000. Production of High Temperature Tolerant Transgenic Plants Through Manipulation of Membrane Lipids, *Curr. Sci.*, 79, 557-559.
- Gulen, H., Eris, A. 2003. Some Physiological Changes in Strawberry (*Fragaria x ananassa* cv. Camarosa) Plants Under Heat Stres. *J. Hort. Sci. Biotech.* 78: 894-898.
- Gulen, H., Eris, A., 2004. Effect of HeatStress on Peroxidase Activity and Total Protein

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Content in Strawberry Plants. *PlantScience*, 166:739-744.
- Gulen, H., Ipek, A. and Turhan, E. Effects of Antioxidant Enzymes on Heat Stress Tolerance of Pepper (*Capsicum annum* L.) Seedlings. International Symposium on Biotechnology and Other Omics in Vegetable Science. April 29- May 2, Antalya, Turkey (2012) (*Acta Horticulturae*'de basım aşamasında).
- Guo, Y.P., Zhou, H.F., Zhang, L.C. 2006. Photosynthetic Characteristics and Protective Mechanisms Against Photooxidation During High temperature Stress in Two Citrus Species. *Scientia Hort.*, 108: 260-267.
- Gusta, L.V., Chen. T.H.H., The Physiology of Water and Temperature Stress, In: Heyne, E.G. (Ed.), *Wheat and Wheat Improvement* (2nd ed.), pp.115-149, ASA, CSSA, and SSSA, Madison, WI, 1987.
- Gülen, H., Turhan, E., İpek, A., Köksal, N., Cansev, A., Kesici, M., Eriş, A. 2007. Bazı Çilek Çeşitlerinde Yüksek Sıcaklığa Toleransın Belirlenmesi. V. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, 4-7 Eylül 2007, Erzurum, Bildiriler Kitabı, Cilt 1, 32-36.
- Hale, M.G., Orcutt, D.M.. 1987. *The Physiology of Plants Under Stress*, p.206.
- Heckathorn, S.A., Downs, C.A., Sharkey, T.D., Coleman, J.S. 1998. The Small, Methionine-Rich Chloroplast Heat Shock Protein Protects Photosystem II Electron Transport During Heat Stress. *Plant Physiol.*, 116: 439-444.
- Hodgings R., Van Huystee, R.B., 1989. Porphyrin Metabolism in Chill Stressed Maize (*Zea mays* L.), *J. Plant Physiol.* 126:257-268.
- IPCC 2007. *Climate Change 2007: Synthesis Report*. IPCC, Geneva.
- Ishag, H.M., Mohammed, A.B., 1996. Phasic Development of Spring Wheat and Stability of Yield and Its Components in Hot Environments, *Field Crops Res.*, 46, 169-176.
- Jiang, Y., Huang, B., 2001. Drought and Heat Stress Injury to Two Cool-Season Turfgrasses in Relation to Antioxidant Metabolism and Lipid Peroxidation. *Crop Science*, 41(2):436-442.
- Kesici, M. 2009. Bazı çilek (*Fragaria x ananassa*) Çeşitlerinin Yüksek Sıcaklığa Toleransları. Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniv. Fen Bil. Ens. Bursa, 49 s.
- Kesici, M., H.Gulen, S. Ergin, E.Turhan, A. Ipek, N. Koksal. 2013. Heat-stress Tolerance of Some Strawberry (*Fragaria x ananassa*) Cultivars. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 41(1):244-249.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Khadri, M., Tejera, N.A. and Lluch, C. 2006. Alleviation of Salt Stress in Common Bean (*Phaseolus vulgaris*) by Exogenous Abscisic acid Supply. *J. Plant Growth Regulation*, 25: 110-119.
- Kumar, M., Kumar, G. Srikanthbabu, V., Udayakumar, M.. 2007. Assessment of Variability in Acquired Thermotolerance: Potential Option to Study Genotypic Response and the Relevance of Stress Genes. *Journal of Plant Physiology*, 164:111–125.
- Larcher, W. 1995. *Physiological Plant Ecology: Ecophysiology and Stress Physiology of Functional Groups*, Springer- Verlag, Berlin.
- Larkindale J., Knight M.R. 2002. Protection Against Heat Stress-induced Oxidative Damage in Arabidopsis Involves Calcium, Abscisic Acid, Ethylene, and Salicylic Acid. 2002. *Plant Physiol.* 128:682-695.
- Lee, G.J., Vierling, E. 2000. A Small Heat Shock Protein Cooperates With Heat shock protein 70 systems to Reactivate A Heat-denatured Protein. *Plant Physiol.* 122: 189-197.
- Ledesma, N.A., Kawabata, S., Sugiyama, N. 2000. Effect of high temperature on protein expression in strawberry plants. *Biol. Plant.* 48(1): 73-79.
- Lester, G.E. 1985. Leaf cell membrane thermostabilities of *Cucumis melo*, *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 110:506-509.
- Levitt, J., 1980. Responses of Plants to Environmental Stresses. *Academic Press*, 347-370, 497.
- Liu, J., Shono, M. 1999. Characterization of Mitochondria-Located Small heat Shock pProtein From Tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Plant Cell Physiol.*, 40: 1297-1304.
- Mahajan, S., And Tuteja, N., 2005, ‘‘Cold, Salinity and Drought Stress: an Overview’’, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 444: 139-158.
- McKersie B.D., Leshem, Y.Y. 1994. *Stress and Stress Coping in Cultivated Plants*. Kluwer Academic Publishers, 256 pp.
- Moran R, Porath D (1980). Chlorophyll Determination in Intact tissues Using n,n-Dimethylformamide. *Plant Physiol.* 65:478-479.
- Mullarkey, M., Jones, P., Isolation and Analysis of Thermotolerant Mutants of Wheat, *J. Exp. Bot.*, 51, 139-146, 2000.
- Omea, H., Kumar, A., Hahiwaba, K., Shono, M., 2005. Midday Drop in Leaf Water Content is an Effective Trait for Evaluating Germplasm for Heat and Drought Tolerance in Snap Bean (*Phaseolus vulgaris*). *JIRCAS Research Highlights*, 25.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Öztürk, K., 2002. Küresel İklim Değişikliği ve Türkiye' ye Olası Etkileri. Gazi Üniversitesi Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi, 22(1), 47-65.
- Park, S.Y., Shivaji, R., Krans, J.V., Luthe, D.S. 1996. Heat - Shock Response in heat-Tolerant and Nontolerant Variants of *Agrostis Palustris* Huds. *Plant Physiol.* 111: 515-524.
- Rajinder, S.D., Dhinsa, P.P., Thorpe, T.A. 1981. Leaf Senescence: Corralated with Increased Levels of Membrane Permability and Lipid Peroxidation and Decreased Levels of Superoxide Dismutase and Catalase. *J. Exp. Botany*, 32(126):93–101.
- Reyes, M.A., Corcuera, L.J., Cardemil, L.. 2003. Accumulation of HSP70 in *Deschampsia Antarctica* Desv. Leaves Under Thermal Stress. *Antarctic Science*, 15:345–352.
- Rivero, R.M., Sanchez, E., Ruiz, J.M. Romero, L. 2003. Influence of temperature on biomass, iron metabolism and some related bioindicators in tomato and watermelon plants. *J. Plant Physiol.*, 160: 1065-1071.
- Saelim, S., Zwiazek, J.J. 2000. Preservation of Thermal Stability of Cell Membranes and gas Exchange in High Temperature-acclimated *Xylia xylocarpa* Seedlings, *J.Plant Phsiol.* 156:380-385.
- Salisbury, F.B., Ross, C.W. 1992. *Plant Physiology* Fourth ed., Wadsworth Inc., Belmont, CA, pp:575-600.
- Sanmiya K., Suzuki K., Egawa, Y., Shono, M., 2004.Mitochondrial Small Heat Shock Protein Enhances Thermotolerance in Tobacco Plants. *Federation of European Biochemical Societies.* 557:265-268.
- Siddiqui, M.H., Al-Khaishany, M.Y., Al-Qutami, M.A., Al-Whaibi, M.H., Grover, A., Hayssam M.A., Al-Wahibi, M.S., 2015. Morphological and Physiological Characterization of Different Genotypes of Faba Bean under Heat Stres. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22: 656-663.
- Taiz, L. and Zeiger, E., 2006. *Plant Physiology*, Fourth Edition, Sinuaer Associates, Inc., Publishers Sunderland, Massachusetts, 792 p.
- Teeri, J.A. 1980. Adaptation of kinetic properties of Enzymes To Temperatures Variability, in:N.C. Turner, P.J. Kramer (Eds.), *Adaptation of plants to Water And High Temperature Stres*, Willey-Interscience, New York, pp: 251-260.
- Turhan, E., Aydogan, C., Ergin, S., Ozturk, N., 2015. Proteins in pepper plants (“*Capsicum annuum*” L.) Under Heat Stres. *Journal of Biotechnology (European BiotechnologyCongress 2015, Bucharest)* 208:31.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Turhan, E., Aydaoğan, Ç., Ergin, S., Öztürk, N., 2014a. Variation in Heat Stress-Induced Some Physiological Changes and Peroxidase Activities Among Three Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Cultivars. Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences Species Issue. 2:1492-1498.
- Turhan, E., Aydaoğan, Ç., Ergin, S. 2014b. Yüksek Sıcaklık Stresinin Domates Bitkisinde Antioksidan ve Protein Metabolizmasına Etkileri. ESOĞÜ BAP Projesi Sonuç Raporu, (Proje No: 201323006), 71 s, Eskişehir.
- Uchida, A., Jagendorf, A.T., Hibino, T., Takabe, T., Takabe, T. 2002. Effects of hydrogen peroxide and nitric oxide on both salt and heat stress tolerance in rice. Plant Sci., 163: 515-523.
- Vigh, L., et al., The Primary Signal in the Biological Perception of Temperature: Pd-catalyzed Hydrogenation of Membrane Lipids Stimulated the Expression of the desA Gene in *Synechocystis* PCC6803, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90, 9090-9094, 1993.
- Vural H., Eşiyok D., Duman İ. 2000. Kültür Sebzeleri (Sebze Yetiştirme), Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 440s.
- Wahid, A., Close T.J., 2007. Expression of Dehydrins Under Heat Stress and Their Relationship With Water Relations of Sugarcane Leaves. *Biologia Plantarum*, 51(1):104-109.
- Wahid, A., Gelani, S., Ashraf, M., Foolad, M.R., 2007. Heat Tolerance in Plants: An Overview. *Environmental and Experimental Botany*, Doi: 10.1016/J.Envexpbot.2007.05.011.
- Wallace, D.H., Enriquez, G.A., 1980. Daylength and Temperature effects on Days to Flowering of Early and Late Maturing Beans (*P. vulgaris* L.) *The Journal of The American Society for Horticultural Science* 105:583-591.
- Wang, W., Vinocur, B., Shoseyov, O., Altman, A. 2004. Role of Plant Heat-Shock Proteins and Molecular Chaperones in Abiotic Stress Response. *Trends in Plant Sci.*, 9(5): 244-253.
- Xu, Q., 1995. Structural Organization of Photosystem I, In: Mathis, P. (Ed.), *Photosynthesis: Light to Biosphere*, pp.87-90, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Xu, S., Li, X., Zhang, X., Wei, H., Cui, L., 2006. Effects of Heat Acclimation Pretreatment on Changes of Membrane Lipid Peroxidation, Antioxidant Metabolites and Ultrastructure of Chloroplasts in Two Cool-Season Turfgrass Species Under Heat Stress. *Environmental and Experimental Botany*, 56:274-285.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Yamasaki, S. and L. R. Dillenburg 1999. Measurements of leaf relative water content in *Araucaria angustifolia*. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 11(2) : 69-75.
- Yang, J.F., et al., Influence of High Temperature and Low Humidity on the Fatty Acid Composition of Membrane Lipids in Wheat, *Acta Bot. Sin.*, 26, 386-391, 1984.
- Yıldız, M., ve Terzi, H., 2007. Bitkilerin Yüksek Sıcaklık Stresine Toleransının Hücre Canlılığı Ve Fotosentetik Pigmentasyon Testleri İle Belirlenmesi. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 23(1-2):47-60.
- Yin, H., Chen, Q., Yi, M., 2008. Effects of Short-Term Heat Stress on Oxidative Damage and Responses of Antioxidant System in *Lilium longiflorum*. *Plant Growth Regulation*, 54(1):45-54.
- Young L.W., Wilen R.W., Bonham-Smith P.C., 2004. High Temperature stress of *Brassica napus* During Flowering Reduces Micro and Megagametophyte Fertility, Induces Fruit Abortion, and Disrupts Seed Production. *J. Exp. Bot.* 55:485-495.

EK AÇIKLAMALAR LİSTESİ

- Ek Açıklama-A: Yaprak Oransal Su Kapsamı İnteraksiyon Tablosu
- Ek Açıklama-B. Turgor Kaybı İnteraksiyon Tablosu
- Ek Açıklama-C. Yaprak Alanı İnteraksiyon Tablosu
- Ek Açıklama-D. Toplam Klorofil Miktarı İnteraksiyon Tablosu
- Ek Açıklama-E. Lipid Peroksidasyonu İnteraksiyon Tablosu
- Ek Açıklama-F. Zararlanma Oranı İnteraksiyon Tablosu
- Ek Açıklama-G. Toplam Çözünebilir Protein İnteraksiyon Tablosu

EK AÇIKLAMALAR

Ek Açıklama-A: Yaprak Oransal Su Kapsamı İnteraksiyon Tablosu

Bağımlı Değişken: %YOSK

| Kaynak | Kareler Toplamı | Serbestlik Derecesi | Ortalama Kareler Toplamı | F | Ö.D |
|--------------------|-----------------|---------------------|--------------------------|---------|-------|
| Düzeltilmiş Model | 20059,882 (a) | 14 | 1432,849 | 113,434 | , 000 |
| Kesişme | 124492,504 | 1 | 124492,5 | 9855,66 | , 000 |
| Genotip | 228,742 | 2 | 114,371 | 9,054 | , 002 |
| Uygulama | 17706,369 | 4 | 4426,592 | 350,439 | , 000 |
| Genotip*Uyg. | 1659,529 | 8 | 207,441 | 16,422 | , 000 |
| Hata | 240,000 | 19 | 12,632 | | |
| Toplam | 154994,000 | 34 | | | |
| Düzeltilmiş Toplam | 20299,882 | 33 | | | |

Ö.D: Önem Derecesi (%5)

Ek Açıklama-B. Turgor Kaybı İnteraksiyon Tablosu

Bağımlı Değişken: % TK

| Kaynak | Kareler Toplamı | Serbestlik Derecesi | Ortalama Kareler Toplamı | F | Ö.D |
|--------------------|-----------------|---------------------|--------------------------|----------|-------|
| Düzeltilmiş Model | 14198,529 (a) | 14 | 1014,181 | 63,912 | , 000 |
| Kesişme | 37444,004 | 1 | 37444,004 | 2359,655 | , 000 |
| Genotip | 173,326 | 2 | 86,663 | 5,461 | , 013 |
| Uygulama | 11933,477 | 4 | 2983,369 | 188,007 | , 000 |
| Genotip*Uyg. | 1533,989 | 8 | 191,749 | 12,084 | , 000 |
| Hata | 301,500 | 19 | 15,868 | | |
| Toplam | 50673,000 | 34 | | | |
| Düzeltilmiş Toplam | 14500,029 | 33 | | | |

Ö.D: Önem Derecesi (%5)

Ek Açıklama-C. Yaprak Alanı İnteraksiyon Tablosu

Bağımlı Değişken: cm²

| Kaynak | Kareler Toplamı | Serbestlik Derecesi | Ortalama Kareler Toplamı | F | Ö.D |
|--------------------|-----------------|---------------------|--------------------------|----------|-------|
| Düzeltilmiş Model | 6105,494 (a) | 14 | 1432,849 | 27,772 | , 000 |
| Kesişme | 63312,107 | 1 | 124492,5 | 4031,803 | , 000 |
| Genotip | 1825,190 | 2 | 114,371 | 58,115 | , 000 |
| Uygulama | 3805,784 | 4 | 4426,592 | 60,589 | , 000 |
| Genotip*Uyg. | 415,588 | 8 | 207,441 | 3,308 | , 007 |
| Hata | 518,205 | 33 | 12,632 | | |
| Toplam | 67859,210 | 48 | | | |
| Düzeltilmiş Toplam | 6623,699 | 47 | | | |

Ö.D: Önem Derecesi (%5)

Ek Açıklama-D. Toplam Klorofil Miktarı İnteraksiyon Tablosu

Bağımlı Değişken: mg/g T:A.

| Kaynak | Kareler Toplamı | Serbestlik Derecesi | Ortalama Kareler Toplamı | F | Ö.D |
|--------------------|-----------------|---------------------|--------------------------|----------|-------|
| Düzeltilmiş Model | 183,436 (a) | 14 | 13,103 | 27,745 | , 000 |
| Kesişme | 824,233 | 1 | 824,233 | 1745,329 | , 000 |
| Genotip | 2,093 | 2 | 1,047 | 2,216 | , 130 |
| Uygulama | 140,582 | 4 | 35,146 | 74,421 | , 000 |
| Genotip*Uyg. | 38,852 | 8 | 4,857 | 10,284 | , 000 |
| Hata | 11,806 | 25 | ,472 | | |
| Toplam | 1003,504 | 40 | | | |
| Düzeltilmiş Toplam | 195,242 | 39 | | | |

Ö.D: Önem Derecesi (%5)

Ek Açıklama-E. Lipid Peroksidasyonu İnteraksiyon Tablosu

Bağımlı Değişken: nmol/g taze ağırlık

| Kaynak | Kareler Toplamı | Serbestlik Derecesi | Ortalama Kareler Toplamı | F | Ö.D |
|--------------------|-----------------|---------------------|--------------------------|----------|-------|
| Düzeltilmiş Model | 100892,810 (a) | 14 | 7206,629 | 262,727 | , 000 |
| Kesişme | 153144,903 | 1 | 153144,903 | 5583,103 | , 000 |
| Genotip | 14152,448 | 2 | 7076,224 | 257,973 | , 000 |
| Uygulama | 75439,427 | 4 | 18859,857 | 687,561 | , 000 |
| Genotip*Uyg. | 13807,957 | 8 | 1725,995 | 62,923 | , 000 |
| Hata | 576,031 | 21 | 27,430 | | |
| Toplam | 236217,792 | 36 | | | |
| Düzeltilmiş Toplam | 101468,842 | 35 | | | |

Ö.D: Önem Derecesi (%5)

Ek Açıklama-F. Zararlanma Oranı İnteraksiyon Tablosu

Bağımlı Değişken: % zararlanma

| Kaynak | Kareler Toplamı | Serbestlik Derecesi | Ortalama Kareler Toplamı | F | Ö.D |
|--------------------|-----------------|---------------------|--------------------------|-----------|-------|
| Düzeltilmiş Model | 41425,506 (a) | 17 | 2436,794 | 382,600 | , 000 |
| Kesişme | 98538,182 | 1 | 98538,182 | 15471,416 | , 000 |
| Genotip | 3382,495 | 2 | 1691,247 | 265,542 | , 000 |
| Uygulama | 32866,525 | 5 | 6573,305 | 1032,070 | , 000 |
| Genotip*Uyg. | 2897,629 | 10 | 289,763 | 45,495 | , 000 |
| Hata | 178,333 | 28 | 6,369 | | |
| Toplam | 148936,100 | 46 | | | |
| Düzeltilmiş Toplam | 41603,839 | 45 | | | |

Ö.D: Önemli Değişken (%5)

Ek Açıklama-G. Toplam Çözünabilir Protein İnteraksiyon Tablosu

Bağımlı Değişken: mg protein/ gTA

| Kaynak | Kareler Toplamı | Serbestlik Derecesi | Ortalama Kareler Toplamı | F | Ö.D |
|-----------------------|-----------------|------------------------|-----------------------------|----------|-------|
| Düzeltilmiş Model | 1910,431 (a) | 14 | 136,459 | 18,749 | , 000 |
| Kesişme | 22793,402 | 1 | 22793,402 | 3131,704 | , 000 |
| Genotip | 561,229 | 2 | 280,614 | 38,555 | , 000 |
| Uygulama | 743,631 | 4 | 185,908 | 25,543 | , 000 |
| Genotip*Uyg. | 605,571 | 8 | 75,696 | 10,400 | , 000 |
| Hata | 218,348 | 30 | 7,278 | | |
| Toplam | 24922,181 | 45 | | | |
| Düzeltilmiş Toplam | 2128,779 | 44 | | | |

Ö.D: Önemli Değişken (%5)