T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

F_2 POPULASYONUNDAKİ BEZELYE HATLARININ SOĞUĞA DAYANIKLILIKLARININ BELİRLENMESİ

Nur Banu TEKİN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tarla Bitkileri Anabilim Dalını

Ocak-2018
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

F_2 POPULASYONUNDAKİ BEZELYE HATLARININ SOĞUĞA DAYANIKLILIKLARININ BELİRLENMESİ

Nur Banu TEKİN

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ercan CEYHAN

Yıl, 2018 Sayfa 36

Jüri
Prof. Dr. Ercan CEYHAN
Doç. Dr. Tolga KARAKÖY
Doç. Dr. Mehmet Ali AVCI

Araştırma "Tesadüf Parsellerinde iki Faktörlü Faktöriyel Deneme" desenine göre üç tekerrürlü olarak kurulmuş ve Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü tam kontrollü araştırma serası ve laboratuvarlarında 2015 yılında yürütülmüştür. Bu araştırma ile soğuk stresine dayanıklı uygun bezelye genotipleri belirlenmiştir. Ayrıca soğuk stresine karşı bitkiler tarafından oluşturulan biyokimyasal, fiziksel özellikler veya fiziksel savunma mekanizmaları ortaya konulmaya çalışılmıştır. Araştırma sonuçlarına göre; soğuk zararı bakımından Melrose, Şahin, Granger, 4053 x Melrose, 4053 x Hadim, Şahin x Hadim ve 3057 x Melrose, peroksidaz içeriği bakımından 3057 x Melrose, 4053 x Melrose, 3029 x Melrose, 3029 x Granger ve 4053 x Hadim, süperoksit dismutaz içeriği bakımından 3053 x Melrose, Şahin x Hadim, 4053 x Melrose, Şahin x Melrose ve 3029 x Melrose ve prolin içeriği bakımından 3031 x Granger, 3055 x Melrose, Ultrillo, 3057 x Hadim ve Şahin x Hadim genotipleri ilk sıralarda yer almıştır. Sonuç olarak, soğuk stresinin bezelye genotiplerinin yapraklarındaki enzim aktiviteleri üzerine etkileri ele alındığında; genotipler içerisinde en dayanıklı olarak 3031 x Granger ve 3055 x Melrose genotipleri ön plana çıkan bu genotipler daha sonra yapılacak olan soğuğa dayanıklılık ıslah çalışmalarında kullanılabilirler.

Anahtar Kelimeler: POX, Prolin, Soğuğa Tepki, Soğuk Stresi, SOD

ABSTRACT

MS THESIS

DETERMINATION OF COLD HARDINESS IN PEA F_2 POPULATION

Nur Banu TEKİN

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE PHY
IN MECHANICAL ENGINEERING

Prof. Dr. Ercan CEYHAN

Year, 2018 Pages 36

Jury
Prof. Dr. Ercan CEYHAN
Assoc. Prof. Dr. Tolga KARAKÖY
Assoc. Prof. Dr. Mehmet Ali AVCI

The experiment was designed according to the "Randomized Plots two Factorial Design" with three replications. The experiment was carried out at Selcuk University, Faculty of Agriculture, Field Crops Department in fully controlled research gardens and laboratories in 2015. Suitable pea genotypes resistant to cold stress was determined by the experiment. In addition, biochemical, physical properties or physical defense mechanisms constituted by plants against cold stress have been tried to be revealed. According to the results of the research; in terms of cold damage Melrose, Şahin, Granger, 4053 x Melrose, 4053 x Hadim, Şahin x Hadim and 3057 x Melrose genotypes, in terms of peroksidaz 3057 x Melrose, 4053 x Melrose, 3029 x Melrose, 3029 x Granger and 4053 x Hadim genotypes, in terms of süperoksid dismutaz 3053 x Melrose, Şahin x Hadim, 4053 x Melrose, Şahin x Melrose and 3029 x Melrose genotypes and in terms of proline 3031 x Granger, 3055 x Melrose, Ultrillo, 3057 x Hadim and Şahin x Hadim genotypes were in the first place. As a result, when the effects of cold stress on the enzyme activities on the leaves of the pea genotypes are considered; the most resistant genotypes are 3031 x Granger ve 3055 x Melrose in all examined genotypes. The genotypes in the foreground can be used for cold resistance to breeding studies to be performed later.

Keywords: Cold stress, cold reaktion, POX, proline, SOD

ÖNSÖZ

Bu çalışmada bezelyede, soğuk stresinin bitki büyümesi üzerindeki etkileri ve soğuğa karşı bitkiler tarafından oluşturulan biyokimyasal veya fiziksel savunma mekanizmaları arasındaki ilişki ortaya konulmaya çalışılmıştır. Günümüzde son derce önemli olan bu konuyu bana tez olarak veren ve her konuda yardım eden danışman hocam Prof. Dr. Ercan CEYHAN'a, değerli hocam Doç. Dr. Mehmet HAMURCU'ya ve Tarla Bitkileri bölümündeki diğer öğretim üyelerine, "TAGEM-15/ARGE/ 60" numaralı proje ile maddi destek sağlayan TAGEM'e ve araştırma görevlilerine, Zir. Yük. Müh. Zeynep Zuhal AVŞAROĞLU'na ve çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen aileme teşekkürü borç bilir ve sunarım.

Nur Banu TEKİN
Konya-2018

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **iv**

ABSTRACT ..... **v**

ÖNSÖZ ..... **vi**

İÇİNDEKİLER ..... **vii**

SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **viii**

1. GİRİŞ **1**

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI **5**

3. MATERYAL VE YÖNTEM **8**

3.1. Materyal 8
3.2. Metot 8
3.3. Gözlem ve Ölçümler 9
3.3.1. Soğuk zararı (skor) 9
3.4. Enzim Ekstraktlarının Hazırlanması 9
3.4.1. Peroksidaz (POX; EC 1.11.1.7) enzim analizi 10
3.4.2. Süperoksit dismutaz (SOD, EC 1.15.1.1) enzim analizi 10
3.4.3. Prolin analizi 10
3.4. İstatistiki Analizler ve Değerlendirme 11

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA **12**

4.1. Soğuk Zararı 12
4.2. Peroksidaz İçeriği (POX) 14
4.3. Süperoksit Dismutaz İçeriği (SOD) 16
4.4. Prolin İçeriği 18

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER **21**

5.1 Sonuçlar 21
5.2 Öneriler 22

KAYNAKLAR **23**

EKLER **28**

ÖZGEÇMİŞ **36**

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

CO_2: Karbondioksit
H_2O: Su
H_2O_2: Hidrojen peroksit

Kısaltmalar

AA: Askorbik asit
AsA: Askorbat
APX: Askorbat peroksidaz
CAT: Katalaz
Cu/Zn-SOD: Bakır/çinko-süperoksit dismutaz
Fe-SOD: Demir-süperoksit dismutaz
GR: Glutatyon redüktaz
MDA: Malondialdehit
MDHAR: Monodehidroaskorbat redüktaz
Mn-SOD: Mangan-süperoksit dismutaz
POX: Peroksidaz
ROT: Reaktif oksijen türleri
SOD: Süperoksit dismutaz

1. GİRİŞ

Son yıllarda dünya nüfusunun hızla artmasına paralel olarak, besin maddelerinin artışında yeterli düzeyde bir artış olmamıştır. Birçok ülkede açlık ve yetersiz beslenme, çok önemli bir sorun olduğu için, her yıl binlerce insanın hastalık sorunlarıyla karşı karşıya kalmasına ya da ölümlerine neden olmaktadır. Açlık ve dengesiz beslenme problemlerine çözüm bulabilmek için tarımsal üretimin öncelikli olarak da bitkisel ürünlerin üretimin arttırılması amaçlanmalıdır (Çiftçi, 2004).

Günümüzde tarımsal olarak işlenebilir durumdaki alanların sabit kalması, hatta tarım dışında başka amaçlar için kullanılarak kısıtlanması, bitkisel üretimi kötü yönde etkilemektedir. Türkiye'de hayvan kaynaklı proteinlerin üretim noksanlığı ve hayvan kaynaklı proteinlerin çok yüksek fiyatlarda satılması nedeniyle uzun vadede saklama, taşıma gibi zorluklardan dolayı bitki kaynaklı proteinlerin tüketim oranı yükselmiştir (Demirci ve Ünver, 2005).

Baklagiller 650 cins ve 18000 tür ile çiçekli bitkilerin üçüncü en büyük familyasını oluşturur (Lewis ve ark., 2005). Yemeklik tane baklagillerin yağ miktarı düşüktür ve yapılarında kolesterol barındırmazlar. Bu nedenle insan sağlığı için yarayışlıdır. Günlük besinlerle vücudumuza almamız gereken vitamin (A, B, E) ve mineral (kalsiyum ve demir) bakımından oldukça zengindir. Meyveleri taze iken C vitamini bakımından zengindir (Sarı ve Gülümser, 2015).

Türkiye'nin de Yakın Asya ve Akdeniz gen merkezinin içinde bulunmasından dolayı çoğu bitkide olduğu gibi bezelyenin de gen merkezi kaynağı içinde olduğu bilinmektedir (Akçin, 1988). Baklagil bitkisi olarak bezelye tanesinin bileşiminde %20-30 gibi yüksek oranda proteinden oluşması, içeriğinin karbonhidratlarca zengin olması ve dengeli kalsiyum içermesi, demir ve özellikle de fosforca zengin olması ayrıca çeşitli vitaminleri de bünyesinde barındırmasından dolayı çok iyi bir protein kaynağıdır (Akçin, 1988). Bu yönüyle bakıldığı zaman insanlarımızın beslenmesinde elzem olan protein ihtiyacını karşılamak için konserve ve dondurulmuş gıda sanayisinde bezelye kullanımı önemli bir yer almaktadır. Bezelye yalnızca insana yarayışlı olduğu için kullanılmazlar, farklı alanlarda da kullanımı söz konusudur, tarım ve hayvancılık alanlarında da kendine bir yer açmaktadır (Ceyhan, 2003). Tanenin içerisinde bulunan protein insan beslenmesi için elzem olan amino asitleri barındırır ve bunlar; leucine, lycine, isoleucine, phenylalanine, valine ve threonine içeriği yönünden oldukça zengindir (Eser, 1974).

Dünyada bezelye 6.326 bin ha ekim alanı, 9.861 bin ton üretimi ve 156 kg/da ile yemeklik tane baklagiller arasında üretim alanı ve üretim miktarı bakımından üçüncü sıradadır. Son yıllarda gıda sanayindeki gelişmeler ve refah seviyesindeki artış, gelişmekte olan ülkelerdeki yüksek pazar payı özellikle ABD, Fransa gibi gelişmiş ülkelerin bezelye yetiştirme isteğinin artmasına yol açmıştır. Bezelyenin dünyadaki ekim alanı yönü ile fasulye, börülce ve nohuttan sonra dördüncü sırada yer almasına rağmen, üretim açısından ise kuru fasulyeden sonra ikinci sırayı almaktadır. Türkiye'de 2016 yılında ekim alanı 10 882 da, üretim 14 489 ton, verim 268 kg/da olduğu gözlemlenmiştir (TÜİK, 2016).

Bir bitkiden en iyi verimi almak için, bitkinin ihtiyacı olan optimum koşullarda yetiştirmek gerekmektedir. Ancak bu her daim mümkün değildir. Çevrede devamlı olarak veya ara sıra ortaya çıkan ve bitkinin metabolizmasını, büyümesini ve gelişmesini durduran, bitki için uygun olmayan bir durum veya madde stres olarak görülmektedir (Üzal, 2009).

Sıcaklık bitki topluluklarının dünya üzerindeki dağılımlarını etkileyen çok önemli belirleyici bir faktördür. Birçok bitki tür ve çeşidi kendi genetiklerinin getirmiş olduğu özellikleri dolayısıyla canlılıklarını devam ettirebilmek için sınır dereceleriyle karşı karşıya kalabilmektedir. Dünya üzerinde karasal alanın yaklaşık olarak %25'lik kısmı 15°C'nin altına düşmeyen ve don zararlanmaları durumunda güvenilebilir olan bölgelerden meydana gelmektedir. Geri kalan bölgelerde belirli zaman periyotlarında sıcaklığın 0°C'nin altına inmesi halinde özellikle de soğuğa hassas bitkilerin zarara uğradığı görülmektedir (Sakai ve Larcher, 1987; Pearce, 1999; Scebba ve ark., 1999)

Bitkilerin yapısına etki eden atmosfer sıcaklıkları, bitkiyi iki farklı şekilde etkilemektedir. Birincisinde, bitki metabolizmasında farklılıkların olmasına sebep olan enzimlerin katalizledikleri tepkimelerin oranları ve aktiviteleri farklılaşmaktadır. İkincisinde ise ekstrem sıcaklıklar bitkilerde zararlanmalara yol açamaktadır (Nilsen ve Orcutt, 1996).

Bitkiler yaşama süreleri boyunca çeşitli stres faktörleri ile karşılaşmaktadırlar. Biyotik (patojen, diğer organizmalarla rekabet vb.) ve abiyotik (kuraklık, tuzluluk, radyasyon, yüksek sıcaklık veya don vb.) stresler ekonomik önemi olan bitkilerin normal fizyolojik işlevlerinde farklılıklara yol açmaktadır (Lichtenhaler, 1996).

Hemen hemen dünyanın tümünde bitkisel üretimde ürün kaybının ana sebepleri abiyotik streslerdir ve ekonomik önemi fazla olan tarımsal ürünlerin ortalama üretimini

yaklaşık olarak %50 düşürerek tarım endüstrisinin gelecek planlarını tehlikeye atmaktadır (Mahajan ve Tuteja, 2005).

Dünyada kullanılabilir tarım alanları stres etmenlerine göre sınıflandırıldığında % 26 kuraklık stresi, % 20 mineral stresi, % 15 ile soğuk ve don stresi takip etmektedir. Bunların haricindeki diğer streslerin tamamı % 29'luk bir paya sahipken, sadece % 10'luk bir alan herhangi bir stres etmeni ile karşı karşıya kalmamaktadır (Blum, 1986).

Ülkemizde görüldüğü gibi dünyanın pek çok bölgesinde de görülen en önemli streslerden olan çevresel stres koşullarından olan ekstrem sıcaklıklar ve bu konuda en çok çalışma yapılan konu ise düşük sıcaklık stresidir (Bruggemann ve ark., 1995; Saltweit, 2001). Bitkiler için çok düşük sıcaklıklar bitkinin çimlenmesini, büyümesini ve gelişmesini, reprodüktif organlar ve hasat sonrası depolama süresi olmak üzere bitkilerin yaşamsal döngüsü üzerinde etken bir çevresel faktördür (Wang, 1990).

Hayvanlardan farklı bir şekilde karada yaşamını sürdüren bitkiler, onları olumsuz olarak etkileyen çevre şartlarından kaçınmak ve korunmak için sabit olarak bulundukları yerde kaldıkları için farklı yerlere gidemezler. Bu sebeple bitkiler ekstrem çevre koşullarına karşı, yaşamlarını sürdürebilmek için fizyolojik ve biyokimyasal farklı stratejiler geliştirmeleri gerekmektedir. Bu sebeple bitkiler belirli zamanlarda olumsuz çevre şartlarına adaptasyon sağlamaktadırlar (Nilsen ve Orcutt, 1996).

Soğuk ile dış ortama alıştırma süresi boyunca oluşan biyokimyasal farklılaşmalar, bitki özsuyunda çözünebilen maddelerin değişimi, membran lipit bileşiminde, protein miktarında, enzim aktivitesinde, antioksidant sisteminde farklılaşım ve bitki besin elementi ihtivasında oluşan biyokimyasal farklılaşmalar bitkilerin düşük sıcaklığa karşı koyabilme mekanizmalarında çok önemli bir yer tutmaktadır (Aslantaş ve ark., 2010). Stres oluşması durumunda birikerek meydana gelen reaktif oksijen bileşikleri, asıl olarak hücre metabolizmasının doğasında bulunan bir yan ürün olarak meydana gelirler ve sinyal iletim mekanizmasında önemli rol oynamaktadırlar (Anjum ve ark., 2011; Cabello ve ark., 2014).

Bitkilerde, hücre zarı ve organelleri reaktif oksijen türlerinin (ROT) zarar meydana getirecek etkilerine karşı korunabilmek için antioksidant savunma sistemleri bitkiler için çok önemli bir yer tutmaktadır (Lee ve Lee, 2000). Soğuk stresi gibi doğada dış ortamda gerçekleşen stresler metabolik olarak fonksiyonlarını tam olarak yapamamalarına ve ROT ürünlerinin artışına sebep olurlar. Yarayışlı olmayan ROT ürünlerinin detoksifikasyonu için gerekli olan yüksek verimli antioksidant savunma sistemleri bütün bitki hücrelerinin tamamında bulunur (Seppänen ve Fagerstedt, 2000).

Bu antioksidant savunma sistemleri enzimatik antioksidant sistemleri ve enzimatik olmayan antioksidant sistemleri olarak iki şekilde sınıflandırılır (Hernández-Nistal ve ark., 2002). Enzimatik antioksidant savunma sistemleri süperoksit dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (APX), katalaz (CAT), peroksidaz (POX), glutatyon redüktaz (GR) ve monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR) enzimlerinden meydana gelirken, enzimatik olmayan antioksidant savunma sistemleri de askorbat (AsA), glutatyon, karotenoid, α-tokoferol, antosiyanin ve flavonoidlerden meydana gelirler (Choi ve ark., 2002)

Bu araştırmada da Prof. Dr. Ercan CEYHAN'ın tohum koleksiyonundan temin edilen 25 saf hat, yüksek verimli soğuğa hassas 1 tescilli bezelye çeşidi ile soğuğa dayanıklı 2 bezelye çeşidinin süperoksit dismutaz (SOD), peroksidaz (POX) ve prolinden oluşan enzimatik antioksidant savunma sistemlerinin etkileri belirlenmeye çalışılmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Düşük sıcaklık, bitkilerin yeryüzündeki dağılımını, büyümesini ve verimini etkileyen önemli çevresel etmenlerden biridir ve son günlerde dünyadaki kullanılabilir tarım arazilerinin tümünün %6'sı soğuk stresine maruz kalmaktadır. Her yıl ortalama 90 milyonluk yükseliş gözlemlenen dünyada nüfusunun 2050 yılında 8.5 milyara erişebileceği tahmin edilirse; dünyada nüfusun artması ile birlikte tarımsal olarak işlenebilir alanların ve tarımsal üretimin biyotik ve abiyotik streslerden kaynaklı küçülmesinin, özellikle insan beslenmesi tarafından bakıldığı zaman büyük bir zarar meydana getirebileceği düşünülmektedir. Bu yüzden; tarımsal faaliyetlerin gerçekleşmediği bu soğuk alanların ziraat uygulamasının yapılabilmesi için açılmasına, yapılarında yüksek oranda besinsel içerik bulundurabilen tarla bitkilerinin soğuğa karşı dayanım güçlerinin incelenmesine ve soğuğa dayanıklı bitkilerin yetiştirilmesine gereksinim duyulmuştur. Bunun yanında bitkilerde soğuğa karşı dayanımın gerçekleşmesini sağlayan ve uyumun olmasına yardımcı olan fizyolojik ve biyokimyasal mekanizmaların anlaşılabilirliğinin sağlanması tarımsal açıdan üretimi sağlanan ürünlerin yetiştiriciliğinin genişletilmesi ve dayanma yeteneğine sahip bitkilerin yetiştirilebilmesi açısından büyük bir önem arzetmektedir (Turan, 2007).

Soğuğa maruz kalma durumunda bitkiye dayanma gücünü kazanmasını sağlayarak fazlalaşan antioksidan savunma sistemlerinin hayati bir önem arzettiği pek çok araştırma sonucunda araştırmacılar sayesinde ortaya konulmuştur (Yang ve ark., 2001; Taşgın ve ark., 2003; Posmyk ve ark., 2005)

Antioksidanlar, enzimatik olmayan antioksidanlar ve enzimatik antioksidanlar olmak üzere iki ayrı kısımda tetkik edilmektedir. Enzimatik olmayanlar, askorbik asit (AA), tokoferoller (vitamin E), karotenoidler, glutatyon ve fenolik bileşiklerdir. Enzimatik antioksidanlar ise süperoksid dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (APX), glutatyon peroksidaz (GPX) ve katalaz (CAT) olarak bilinmektedir. Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar hücredeki bölgelerine göre ve görevlerine göre farklılık gözlenmektedir (Smirnoff, 1998).

Peroksidazlar, SOD ve CAT ile eşgüdümlü olarak ROT'ların temizlenmesinde önemli görev alarak HEM prostetik grubuna üye olan bir enzimdir (Banci, 1997; Kim ve ark., 2000). POD'lar H_2O_2'yi kullanarak fenoller ve hidrokinonlar gibi çok sayıda aromatik bileşenlerin dehidrojenasyonunu katalizlerler (Bergmeyer ve Grabl, 1983).

POX; abiyotik stres oluşumunda karşı bir savaşım başlatan çok önemli bir antioksidan enzimdir (Duman ve ark., 2016). POX'un bitkilerde lignifikasyon, fenoliklerin oksidasyonu, hücre uzamasının düzenlenmesi, ve oksidatif stres neticesinde bitki dokularında ortaya çıkan H_2O_2 gibi zehirli bileşiklerin detoksifikasyonu gibi pek çok işlemin içeriğinde aktif olarak yer aldığı bilinmektedir (Scebba ve ark., 1998).

Bitkilerde POX; yapraklarda, zarar görmüş gövdelerde, kotiledon yapraklarda, çiçek saplarında bulunmaktadır ve bu doku hücrelerinde nukleus, mitokondri, ribozom, hüre membranları ve hücre haricindeki (apoplast) bölgelerde de lokalize olduğu görülmüştür (Bergmeyer ve Grabl, 1983; Banci, 1997; Kim ve ark., 2000; Taşgın ve ark., 2003; Mutlu ve ark., 2009).

Süperoksit dismutaz (SOD) aerobik canlıların organizmaların bütün hücrelerinde bulunmaktadır ve süperoksit radikalinin hidrojen peroksite dönüşmüş olarak katalizlenirler. Reaktif oksijen çeşitlerinde enzimatik olarak ortadan kaldırma sistemindeki başlangıç zincirini meydana getirirler (Møller, 2001). SOD, metalloenzimler sınıfındadırlar (Lee ve Lee, 2000) ve metal kofaktörlerine ve hücre altına yer etmelerine göre gruplandırılırlar. Dominant olan biçimleri mitokondrial mangan-süperoksit dismutaz (Mn-SOD), sitozolik ve kloroplastik bakır/çinko-süperoksit dismutaz (Cu/Zn-SOD) ve pek çok bitki çeşidinde kloroplastik demir-süperoksit dismutaz (Fe-SOD)'dır (Scandalios, 1993; Allen, 1995).

SOD aktivitesindeki artış abiyotik strese bağlı olarak oluşan oksidatif strese karşı kendini koruması bakımından ve bitkilerin stres şartları altında yaşamsal fonksiyonlarını devam ettirebilmesi için destek sağlama açısından çok önemli rol oynamaktadır (Duman ve ark., 2016).

Bitkilerde görülen prolin aminoasidi, genel olarak çevresel olarak oluşan streslere cevap verebilmek için çok fazla oluşturarak biriktirdiği gözlemlenmiştir. Bu amino asitin osmotik, zar bütünlügü ve enzim koruyucu ve reaktif oksijen çeşitlerinin uzaklaşması için pek çok bitki yaşamı için önemli görevleri olduğu bilinmektedir (Öztürk ve Demir, 2002; Nayyar ve ark., 2005). Kışlık arpada yapılmış olan bir ıslah çalışması sonucunda, soğuğa uyum süresinin neticesi olarak yaprak dokularındaki serbest prolin miktarının gerekli bir seçim ölçütü olarak yararlanıldığı açıklanmıştır (Sutka ve Galiba, 2003).

Soğuğa maruz kalarak stres ile karşı karşıya kalan çeşitli bitkilerin yapısında bulunan SOD, POX ve prolin miktarını çoğalttığını pek çok çalışma ile birlikte ortaya

koymuşlardır (Scebba ve ark., 1998; Atıcı ve Nalbantoğlu, 1999; Lee ve Lee, 2000; Öztürk ve Demir, 2002; Nayyar ve ark., 2005).

Kışlık çavdar bitkisinin 4 ºC sıcak ile karşı karşıya gelmesi neticesinde SOD ve GR enziminin etkinliklerinde yükselişlerin meydana geldiğini gözlemlemişlerdir (Keleş ve Öncel, 2002). Strese maruz kalan bitkilerde peroksidaz etkinliğinin artışa geçtiği tanımlanmıştır (Asada, 1992).

Farklı bitkiler üzerinde yapılan çalışmalarda da soğuk stresine maruz bırakılmış bitkilerde antioksidan enzimler üstüne yapılmış olan var olan çalışmadan elde etmiş olduklarına benzer etkiler meydana getirdiğini gözlemlemişlerdir. Soğuk stresi etkisi altına alınan nohut bitkilerinde SOD, CAT, APX ve GR aktivitelerinde önemli artışların olduğunu ortaya çıkarmışlardır (Turan ve Ekmekci, 2011; Genisel ve ark., 2013).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Yapmış olduğumuz bu çalışmada soğuğa toleranslı iki çeşit (Şahin ve Melrose) ile soğuktan çok çabuk etkilenen bir çeşit (Ultrillo) ve bunların melezlerinden elde edilen yirmi beş adet F_2 generasyonundaki bezelye hatları materyal olarak kullanılmıştır.

Genotiplere ait tohumların ekimi için önce 14 x 13 cm ebatlarındaki saksılar yıkanmış ve strelize edilmiştir. Genotiplere ait tohumlar % 5'lik sodyum hipoklorid ile 10'ar dakika muamele edildikten sonra deiyonize su (dI -H_2O) ile 3 kez yıkanarak sterilize edilmiştir. Genotiplere ait tohumlar 1 kg toprak içeren 14 x 13 cm ebatlarındaki plastik saksılara ekilmiştir.

3.2. Metot

Araştırma "Tesadüf Parsellerinde Deneme" desenine göre üç tekerrürlü olarak kurulmuştur. Ekim işlemi 15 Eylül 2016 tarihinde daha önce hazırlanan saksılara elle yapılmıştır. Ekimi yapılan saksılar, 25 ºC sıcaklıkta, % 40-50 nem koşullarında kontrollü serada ekimi izleyen 7 gün boyunca üstleri kapalı olarak tutulmuştur. Her genotipe ait tohumlar çimlendikten sonra üstleri açılmıştır. Çıkış yapan fideler 25 ºC sıcaklıkta, % 40-50 nem koşullarında, tam kontrollü serada 2 hafta büyütülmüştür. Bu işlemlerden sonra bitkiler büyüme kabininde 2 hafta 4 °C'de sıcaklığa tutulmuştur. Son işlem olarak da minimum sıcaklık uygulaması yapılarak -8 °C ve -12 °C düşene denk kabinin içerisindeki sıcaklık aşamalı bir şekilde bir saatte bir 2 °C düşürülmüştür. -8 °C ve -12 °C sıcaklıkta bitkiler bir saat bekletildikten sonra 4 °C'ye kadar sıcaklık derecesi yeniden bir saatte bir 2 ^{0}C yükseltilmiştir. Sıcaklık 4 °C'ye ulaşınca bitkiler, yeniden kontrolü seraya konulmuştur. Hemen enzim analizleri için örnekler alınmıştır. Bir hafta sonra ise bitkilerde 1-9 skalası kullanılarak soğuk zararı tespit edilmiştir. Böylece melezlerin ve kontrol çeşitlerin soğuğa dayanma güçleri bu yolla tespit edilmiştir (Fiebelkorn, 2013).

3.3. Gözlem ve Ölçümler

3.3.1. Soğuk zararı (skor)

Bitkilerin soğuğa dayanma güçlerini değerlendirmesini yapmak için aşağıdaki skala kullanılmıştır (Fiebelkorn, 2013).

1. Bitkinin tamamı yeşil ve zarar yok

2. Bitkide minimum zarar

3. Bitkinin en az % 75 yeşil

4. Bitkinin dokularının % 50-75 arası yeşil

5. Bitkinin % 50 yeşil

6. Bitkinin dokularının % 25-50 arası yeşil

7. Bitkinin % 25 yeşil

8. Bitkinin çok azı yeşil (ölüme çok yakın)

9. Bitki tamamen ölü

3.4. Enzim Ekstraktlarının Hazırlanması

Süperoksit dismutaz (SOD, EC 1.15.1.1), peroksidaz (POX; EC 1.11.1.7), enziminin ekstraktlarının hazırlanması için kontrol ve soğuk stresi uygulanmış 0.5 g ayrı bezelye yaprak örnekleri (3 adet) sıvı azotta dondurularak -80 ^{o}C'lik derin dondurucuda saklanmıştır. Ayrıca prolin analizi için yine kontrol ve soğuk stresi uygulanmış 0.1 g bezelye yaprak örnekleri (2 adet) sıvı azotta dondurularak – 80 ^{o}C'lik derin dondurucuda saklanmıştır. Antioksidan enzimlerin ekstraksiyonu için derin dondurucuda saklanmış olan bezelye yaprakları, soğutulmuş havanda 0.5 gr yaprak örnekleri sıvı azotta % 2 w/v polyvinylpolyprrolidone (PVPP) ve 1 mM EDTA içeren pH 7,8'de 50 mM Na-fosfat tamponuyla homojenize edilmiştir ve daha sonra filtrasyon yapılmış +4°C'de, 14 000 rpm'de 30 dakika santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatant, Süperoksit Dismutaz (SOD, EC 1.15.1.1) ve Peroksidaz (POX; EC 1.11.1.7) enzim aktivitesi analizlerinde kullanılmıştır. Ekstraksiyon prosedürünün tümü ±4°C'de gerçekleştirilmiştir. Bu işlemler yapılmakta olup her bir analiz için ayrı ayrı yapılmaktadır.

3.4.1. Peroksidaz (POX; EC 1.11.1.7) enzim analizi

Peroksidaz enzim aktivitesinin belirlenmesinde Kumar ve Khan (1982)'ın belirttiği metot kulanılmıştır. POX tayini için kullanılan karışım 0.1 M tampon fosfat (pH=6.8) çözeltisinden 2 ml, 0.01 M pyrogallol dan 1 ml, 0.005 M H_2O_2'den 1 ml ve enzim ekstraktından 0.5 ml alınarak hazırlanmıştır. Hazırlanan bu çözeltiye 2.5 M H_2SO_4'ten 1 ml ilave edildikten sonra 25 °C'de 5 dk inkübasyona bırakılmıştır ve daha sonra oluşan purpurogallin miktarı 420 nm'de ölçülerek belirlenmiştir (Kumar ve Khan, 1982; Gökmen ve Ceyhan, 2015). Enzim aktivitesi Ünite mg^{-1} protein olarak ifade edilmiştir.

3.4.2. Süperoksit dismutaz (SOD, EC 1.15.1.1) enzim analizi

Süperoksit Dismutaz aktivitesi Beauchamp ve Fridovich (1971) tarafından belirtilen metoda göre yapılmıştır. 1.17 M riboflavin, 0.1 M methionin, $2x10^{-5}$ M KCN ve $5.6x10^{-5}$ M NBT tuzu içeren reaksiyon karışımı 0.05 M sodyum fosfat (pH=7.8) tampon çözeltisinin 3 ml'sinde çözülmesi sağlanmıştır. Ortama 1 ml enzim ekstraktı ilave edilmiştir. Spektrofotometrede ışık boyu 560 nm'de okunmuştur (Beauchamp ve Fridovich, 1971; Gökmen ve Ceyhan, 2015). SOD aktivitesi Ünite mg^{-1} protein olarak belirlenmiştir.

3.4.3. Prolin analizi

Serbest prolin içeriğinin belirlenmesin Bates ve ark. (1973)'nın belirttiği metot kullanılmıştır. Sıvı fazdan aspire edilen toluen fraksiyonunun 520 nm'deki absorbansı spektrofotometreden okunmuştur. Prolin konsantrasyonu, kalibrasyon eğrisi kullanılarak hesaplanmış ve µmol prolin g^{-1} taze ağırlık olarak ifade edilmiştir.

3.4. İstatistiki Analizler ve Değerlendirme

Bu çalışmada, incelenen özelliklere ait değerler "Tesadüf Parsellerinde iki Faktörlü Faktöriyel Deneme" desenine göre varyans analizine tabi tutulmuş ve aralarında isatistiki olarak farklılık bulunan özellikler üzerinde lsd analizi ile gruplandırmalar yapılmıştır (Düzgüneş ve ark., 1987). Bu analiz ve hesaplamalarda MSTAT-C paket programı kullanılmıştır.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Soğuk Zararı

Soğuk streslerinde genotiplerin soğuk zararının skala değerlerine ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.1'de, ortalama değerleri ve "lsd" testi sonuçları ise Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Soğuk streslerinde genotiplerin soğuk zararının skala değerlerine ait varyans analizleri

Varyans Kaynakları	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri
Genel	167	766,571		
Stres Uygulaması (SU)	2	466,667	233,333	1285,246**
Genotipler (G)	27	221,571	8,206	22,601**
SU x G İnt.	27	37,667	0,698	3,842**
Hata	112	40,667	0,363	

** : $p < 0.01$

Soğuk zararının skala değerleri bakımından genotipler arasındaki farklılıklar soğuk streslerinin %1 ihtimal sınırında istatistiki olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 4.1). Bu denemede genotiplerin ortalamasına göre en düşük soğuk zararı 3.190 ile -8 ^{o}C soğuk stresinde belirlenirken, en yüksek soğuk zarı ise 6.524 ile -12 ^{o}C soğuk stresinde belirlenmiştir (Çizelge 4.3).

Daha önce yapılan birçok araştırmada bezelye bitkisinin soğuktan etkilendiğini birçok araştırıcı tarafından ortaya koyulmuştur (Auld ve ark., 1983a; Auld ve ark., 1983b; Eteve, 1985; Bourion ve ark., 2003; Ceyhan, 2003). Bu çalışmada sıcaklık düştükçe bezelye bitkisinde soğuk zararının daha fazla gerçekleşmiştir. – 12 ^{o}C sıcaklık uygulamasında bitkilerin daha fazla zarar gördüğü tespit edilmiştir. Bezelye bitkisinin – 8 ^{o}C sıcaklıktan bezelye bitkisinin çok fazla etkilenmediği belirlenmiştir. Bundan sonra yapılacak soğuk zararı tespitlerinde – 8 ^{o}C sıcaklıktan sonrasının uygulanmasının daha uygun olacağı kanaatindeyiz.

Varyans analizi sonuçlarına göre peroksidaz içeriği bakımından genotipler arasındaki farklılıklar istatistiki olarak %1 düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.1). Araştırma sonuçlarına göre en düşük soğuk zararı 2.333 ile Melrose genotipinden elde edilirken, en yüksek soğuk zararı ise 7.500 ile Şahin x Ultrillo genotipinden elde edilmiştir. Araştırmada kullanılan diğer genotiplerin soğuk zararları bu değerler

arasında değişim göstermektedir. Melrose, Şahin, Granger, 4053 x Melrose, 4053 x Hadim, Şahin x Hadim ve 3057 x Melrose genotipleri ilk sıralarda yer almıştır (Çizelge 4.2). Genotiplerin çoğunluğu – 12 ^{o}C soğuk stresinde büyük zararlar görürken, – 8 ^{o}C'de soğuk stresi uygulamasında ise genotiplerin tamamı yakını ayakta kalmış soğuktan büyük zarar görmemiştir.

Çizelge 4.2. Soğuk streslerinde genotiplerin soğuk zararı skala değerleri ortalaması ve lsd değerleri (%)

Genotipler	-8 ^{o}C Sıcaklık		-12 ^{o}C Sıcaklık		Ortalama	
Şahin	2,000	mno	4,333	hij	3,167	jk
4009 x Melrose	3,000	klm	6,333	def	4,667	d-h
Bolero x Melrose	3,667	ijk	7,333	bcd	5,500	cd
3057 x Melrose	2,000	mno	6,000	ef	4,000	g-j
4053 x Melrose	2,333	l-o	4,333	hij	3,333	ij
3029 x Melrose	3,667	ijk	6,667	cde	5,167	cde
3029 x Granger	2,667	k-n	5,667	efg	4,167	f-i
3053 x Hadim	4,333	hij	6,667	cde	5,500	cd
3048 x Melrose	4,333	hij	7,333	bcd	5,833	bc
Ultrillo	5,667	efg	8,667	a	7,167	a
3053 x Melrose	3,667	ijk	6,667	cde	5,167	cde
Şahin x Hadim	2,333	l-o	5,333	fgh	3,833	hij
3031 x Granger	3,667	ijk	6,667	cde	5,167	cde
3053 x Ultrillo	5,667	efg	7,667	abc	6,667	ab
3055 x Melrose	3,667	ijk	6,667	cde	5,167	cde
4028 x Hadim	3,333	jkl	7,667	abc	5,500	cd
Melrose	1,333	o	3,333	jkl	2,333	k
3057 x Granger	3,000	klm	6,667	cde	4,833	d-g
Şahin x Melrose	2,667	k-n	5,667	efg	4,167	f-i
4053 x Hadim	2,000	mno	5,667	efg	3,833	hij
3029 x Ultrillo	2,333	l-o	8,000	ab	5,167	cde
3057 x Hadim	2,333	l-o	6,667	cde	4,500	e-h
Şahin x Ultrillo	6,333	def	8,667	a	7,500	a
3048 x Ultrillo	3,667	ijk	6,667	cde	5,167	cde
4028 x Melrose	2,667	k-n	7,333	bcd	5,000	c-f
Granger	1,667	no	4,667	ghi	3,167	jk
3057 x Granger	2,667	k-n	7,667	abc	5,167	cde
4028 x Granger	2,667	k-n	7,667	abc	5,167	cde
Ortalama	3,190		6,524		4,857	

Genotipler (G) $lsd_{\%1}$: 0,9115; SU x G İnt. $lsd_{\%1}$: 1,289

Bezelyede soğuğa dayanıklılık, genotip yanında çevre şartlarına da bağlıdır (Auld ve ark., 1983a; Auld ve ark., 1983b; Eteve, 1985; Bourion ve ark., 2003; Ceyhan, 2003). Çevre şartları her yıl az yada çok değişim gösterir. Bazı yıllarda kışın havalar bölge için beklenmedik derecede yumuşak geçerken, bazı yıllar ise beklenmedik şekilde sert ve çok soğuk geçmektedir. Bu bakımdan genotiplerin soğuğa dayanıklılık testlerinin yapılması ekstrem soğukların olduğu yıllar büyük önem taşımaktadır (Auld ve ark., 1983a; Auld ve ark., 1983b; Eteve, 1985; Bourion ve ark., 2003; Ceyhan, 2003).

Bizde bu çalışmada kar örtüsü olmadan -12 ^{o}C sıcaklık uygulaması yaptık ve bu sıcaklık uygulamasına dayanan genotipler Orta Anadolu Bölgesi için son derece önemlidir.

4.2. Peroksidaz İçeriği (POX)

Soğuk streslerinde genotiplerin peroksidaz içeriği değerlerine ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.3'de, ortalama değerleri ve "lsd" testi sonuçları ise Çizelge 4.4'de verilmiştir.

Çizelge 4.3. Soğuk streslerinde genotiplerin peroksidaz içeriği değerlerine ait varyans analizleri

Varyans Kaynakları	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri
Genel	251	1394,154		
Stres Uygulaması (SU)	2	523,432	261,716	1735,776**
Genotipler (G)	27	599,348	22,198	147,224**
SU x G İnt.	54	246,044	4,556	30,219**
Hata	168	25,331	0,151	

** : $p < 0.01$

Peroksidaz içeriği bakımından stres grupları arasındaki farklılıklar 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.3). Genotiplerin ortalamasına göre en yüksek peroksidaz içeriği 11.050 Ünite mg^{-1} protein ile -8 ^{o}C soğuk stres grubunda elde edilirken, en düşük peroksidaz içeriği ise 7.532 Ünite mg^{-1} protein ile kontrol grubundan elde edilmiştir. Yapılan Lsd testine göre -8 ^{o}C soğuk stresi birinci gruba (a), -12 ^{o}C soğuk stresi ikinci gruba (b) kontrol ise son gruba (c) girmiştir (Çizelge 4.4).

Daha önce yapılan çalışmalarda birçok farklı bitkide soğuk stresine karşı verdiği en önemli tepkilerden bir tanesininde peroksidaz içeriğini büyük miktarlarda biriktirmeleridir (Scebba ve ark., 1998; Atıcı ve Nalbantoğlu, 1999; Lee ve Lee, 2000; Öztürk ve Demir, 2002; Nayyar ve ark., 2005). Bizim bu çalışmada da bezelye genotiplerinin soğuk stresinde peroksidaz içerikleri büyük oranda artış göstermiştir. Bu sonuçlar daha önce yapılan çalışmalarla büyük oranda benzerlik göstermektedir.

Çizelge 4.5'in incelenmesinden de anlaşılacağı gibi varyans analizi sonuçlarına göre peroksidaz içeriği bakımından genotipler arasındaki farklılıklar istatistiki olarak %1 düzeyinde önemli bulunmuştur. Araştırmada soğuk streslerinin ortalaması olarak en yüksek peroksidaz içeriği 12.376 Ünite mg^{-1} protein ile 3029 x Melrose genotipinde tespit edilmiştir. Araştırmada en düşük peroksidaz içeriği 7.040 Ünite mg^{-1} protein ile 4028 x Granger genotipinde tespit edilmiştir. Araştırmada yer alan diğer genotiplerin

peroksidaz içerikleri bu değerler arasında yer almaktadır. Denemede kullanılan genotipler arasında 3057 x Melrose, 4053 x Melrose, 3029 x Melrose, 3029 x Granger ve 4053 x Hadim genotipleri ilk sıralarda yer almıştır (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. Soğuk stres uygulamalarında genotiplerin peroksidaz içerikleri ve lsd değerleri (Ünite mg^{-1} protein)

Genotipler	Kontrol	-8 °C Sıcaklık	-12 °C Sıcaklık	Ortalama	
Şahin	6,651	9,207	8,819	8,226	ijk
4009 x Melrose	6,817	8,819	8,238	7,958	jkl
Bolero x Melrose	9,219	11,303	11,029	10,517	d
3057 x Melrose	9,037	14,743	12,830	12,203	a
4053 x Melrose	9,753	16,782	10,490	12,341	a
3029 x Melrose	7,388	16,270	13,470	12,376	a
3029 x Granger	7,115	14,620	12,919	11,551	b
3053 x Hadim	7,950	11,316	9,327	9,531	ef
3048 x Melrose	7,065	10,376	8,554	8,665	hi
Ultrillo	9,265	11,970	10,951	10,729	cd
3053 x Melrose	6,588	13,476	11,950	10,671	cd
Şahin x Hadim	6,707	13,404	11,443	10,518	d
3031 x Granger	7,491	9,636	8,127	8,418	ij
3053 x Ultrillo	8,278	9,791	8,746	8,938	gh
3055 x Melrose	6,421	8,800	7,408	7,543	lm
4028 x Hadim	7,403	9,505	8,388	8,432	i
Melrose	7,447	10,802	9,403	9,217	fg
3057 x Granger	7,015	9,015	7,640	7,890	kl
Şahin x Melrose	9,396	10,462	9,812	9,890	e
4053 x Hadim	7,368	13,679	11,956	11,001	c
3029 x Ultrillo	7,250	9,291	8,788	8,443	i
3057 x Hadim	7,758	9,267	8,548	8,524	hi
Şahin x Ultrillo	7,339	9,839	8,288	8,489	hi
3048 x Ultrillo	6,230	8,636	7,082	7,316	mn
4028 x Melrose	6,571	9,440	7,720	7,910	kl
Granger	8,195	10,846	9,839	9,627	ef
3057 x Granger	7,682	8,893	8,116	8,230	ijk
4028 x Granger	5,458	9,261	6,402	7,040	n
Ortalama	7,531 c	11,052 a	9,510 b	9,364	

Stres Uygulaması (SU) $lsd_{\%1}$: 0,1562; Genotipler (G) $lsd_{\%1}$: 0,4773; SU x G İnt. $lsd_{\%1}$: 0,8266

Araştırmada yapılan varyans analizi sonuçlarına göre peroksidaz içeriği bakımından genotip x stres grupları interaksiyonu arasındaki farklılıklar istatistiki olarak %1 düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.3). Denemede kullanılan genotiplerin peroksidaz içerikleri soğuk stresinine bağlı olarak artmıştır. Ancak tüm genotiplerin peroksidaz içeriği en yüksek –8 °C soğuk stresi uygulamasında elde edilmiştir (Çizelge 4.4).

Scebba ve ark. (1998); Atıcı ve Nalbantoğlu (1999); Scebba ve ark. (1999); Lee ve Lee (2000); Öztürk ve Demir (2002); Nayyar ve ark. (2005) bitkilerin soğuk stresinin sebep olduğu etkilerinden en az zarar görmek için peroksidaz gibi enzimatik

antioksidant savunma mekanizmalarını kullandığını bildirmişlerdir. Daha önce yapılan birçok araştırmada POX'un soğuk stresinden etkilediğini bildirilmektedir (Scebba ve ark., 1998; Atıcı ve Nalbantoğlu, 1999; Scebba ve ark., 1999; Lee ve Lee, 2000; Öztürk ve Demir, 2002; Nayyar ve ark., 2005). Scebba ve ark. (1998); Atıcı ve Nalbantoğlu (1999); Scebba ve ark. (1999); Lee ve Lee (2000); Öztürk ve Demir (2002); Nayyar ve ark. (2005) yaptıkları araştırmalarda birçok bitkide soğuk stresinin artmasıyla POX içeriğinin dayanıklı olan bitkilerde daynıksız olan bitkilere göre daha yüksek sevilerde olduğunu bildirmişlerdir. Bu araştırcıların sonuçları ile bizim sonuçlarımız uyum içerisinde yer almıştır.

4.3. Süperoksit Dismutaz İçeriği (SOD)

Soğuk streslerinde genotiplerin süperoksit dismutaz içeriği değerlerine ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.5'de, ortalama değerleri ve "lsd" testi sonuçları ise Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.5. Soğuk streslerinde genotiplerin süperoksit dismutaz içeriği değerlerine ait varyans analizleri

Varyans Kaynakları	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri
Genel	251	3390,469		
Stres Uygulaması (SU)	2	1795,471	897,736	22583,410**
Genotipler (G)	27	1197,325	44,345	1115,551**
SU x G İnt.	54	390,995	7,241	182,146**
Hata	168	6,678	0,040	

** : $p < 0.01$

Süperoksit dismutaz içeriği bakımından stres grupları arasındaki farklılıklar istatistiki olarak %1 düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.5). Genotiplerin ortalamasına göre en yüksek süperoksit dismutaz içeriği 13.267 Ünite mg^{-1} protein ile -8 ^{o}C soğuk stres grubunda elde edilirken, en düşük süperoksit dismutaz içeriği ise 6.789 Ünite mg^{-1} protein ile kontrol grubundan elde edilmiştir. Yapılan lsd testine göre -8 ^{o}C soğuk stresi birinci gruba (a), -12 ^{o}C soğuk stresi ikinci gruba (b) kontrol ise son gruba (d) girmiştir (Çizelge 4.6).

Araştırmada yapılan varyans analizi sonuçlarına göre süperoksit dismutaz içeriği bakımından genotipler arasındaki farklılıklar istatistiki olarak %1 düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.5). Araştırmada stres gruplarının ortalaması olarak en yüksek süperoksit dismutaz içeriği 15.567 Ünite mg^{-1} protein ile 3053 x Melrose genotipinde

belirlenmiştir. Araştırmada en düşük süperoksit dismutaz içeriği 6.714 Ünite mg^{-1} protein ile 3053 x Ultrillo genotipinde tespit edilmiştir (Çizelge 4.6). Diğer genotiplerin süperoksit dismutaz eğerleri bu değerler arasında yer almaktadır. Bu araştırmada kullanılan genotipler arasında 3053 x Melrose, Şahin x Hadim, 4053 x Melrose, Şahin x Melrose ve 3029 x Melrose genotipleri ilk sıralarda yer almıştır (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.6. Soğuk streslerinde genotiplerin süperoksit dismutaz içerikleri ve lsd değerleri (Ünite mg^{-1} protein)

Genotipler	Kontrol	-8 °C Sıcaklık	-12 °C Sıcaklık	Ortalama	
Şahin	7,533	12,040	11,560	10,378	j
4009 x Melrose	7,240	10,793	10,167	9,400	l
Bolero x Melrose	5,250	11,313	10,200	8,921	n
3057 x Melrose	6,057	14,537	12,443	11,012	h
4053 x Melrose	7,167	19,000	14,597	13,588	c
3029 x Melrose	6,093	16,890	15,623	12,869	e
3029 x Granger	4,760	17,760	13,410	11,977	f
3053 x Hadim	6,260	11,660	9,743	9,221	lm
3048 x Melrose	5,963	9,583	8,957	8,168	pq
Ultrillo	4,730	10,437	8,717	7,961	q
3053 x Melrose	9,760	20,173	16,767	15,567	a
Şahin x Hadim	8,647	20,570	15,337	14,851	b
3031 x Granger	4,820	10,170	9,003	7,998	pq
3053 x Ultrillo	4,440	8,890	6,813	6,714	s
3055 x Melrose	7,813	15,227	11,023	11,354	g
4028 x Hadim	6,340	10,743	8,430	8,504	o
Melrose	5,973	14,590	11,570	10,711	i
3057 x Granger	9,007	13,757	9,920	10,894	hi
Şahin x Melrose	10,063	16,790	12,637	13,163	d
4053 x Hadim	7,443	12,610	9,743	9,932	k
3029 x Ultrillo	8,887	13,567	10,887	11,113	gh
3057 x Hadim	6,140	11,100	9,270	8,837	n
Şahin x Ultrillo	7,700	13,750	9,123	10,191	j
3048 x Ultrillo	6,817	10,883	8,803	8,834	n
4028 x Melrose	5,297	9,647	7,737	7,560	r
Granger	7,303	13,590	11,780	10,891	hi
3057 x Granger	5,380	10,523	8,777	8,227	p
4028 x Granger	7,197	10,883	9,143	9,074	mn
Ortalama	6,789 c	13,267 a	10,792 b	10,283	

Stres Uygulaması (SU) $lsd_{\%1}$: 0,0804; Genotipler (G) $lsd_{\%1}$: 0,2456; SU x G İnt. $lsd_{\%1}$: 0,4255

Çizelge 4.5'in incelenmesinden de anlaşılacağı gibi varyans analizi sonuçlarına göre süperoksit dismutaz içeriği bakımından genotip x stres grupları interaksiyonu arasındaki farklılıklar istatistiki olarak %1 düzeyinde önemli bulunmuştur. Genotiplerin süperoksit dismutaz içeriği en yüksek –12 °C soğuk stresi uygulamasında elde edilmiştir (Çizelge 4.6).

SOD aktivitesindeki artış abiyotik strese bağlı olarak oluşan oksidatif strese karşı kendini koruması bakımından ve bitkilerin stres şartları altında yaşamsal

fonksiyonlarını devam ettirebilmesi için destek sağlama açısından çok önemli rol oynamaktadır (Duman ve ark., 2016). Soğuk stresine maruz kalarak stres ile karşı karşıya kalan çeşitli bitkilerin yapısında bulunan SOD içeriğini arttırdığı birçok çalışma ile birlikte ortaya koymuşlardır (Scebba ve ark., 1998; Atıcı ve Nalbantoğlu, 1999; Lee ve Lee, 2000; Öztürk ve Demir, 2002; Nayyar ve ark., 2005). Kışlık çavdar bitkisinin 4 ºC sıcak ile karşı karşıya gelmesi neticesinde SOD ve GR enziminin etkinliklerinde yükselişlerin meydana geldiğini gözlemlemişlerdir (Keleş ve Öncel, 2002). Strese maruz kalan bitkilerde peroksidaz etkinliğinin artışa geçtiği tanımlanmıştır (Asada, 1992). Farklı bitkiler üzerinde yapılan çalışmalarda da soğuk stresine maruz bırakılmış bitkilerde antioksidan enzimler üstüne yapılmış olan var olan çalışmadan elde etmiş olduklarına benzer etkiler meydana getirdiğini gözlemlemişlerdir. Soğuk stresi etkisi altına alınan nohut bitkilerinde SOD aktivitelerinde önemli artışların olduğunu ortaya çıkarmışlardır (Turan ve Ekmekci, 2011; Genisel ve ark., 2013). Bu araştırma sonuçları ile bizim araştırma sonuçlarımız büyük oranda uyum içerisinde yer almıştır.

4.4. Prolin İçeriği

Soğuk streslerinde genotiplerin prolin içeriği değerlerine ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.7'de, ortalama değerleri ve "lsd" testi sonuçları ise Çizelge 4.8'de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Soğuk streslerinde genotiplerin prolin içeriği değerlerine ait varyans analizleri

Varyans Kaynakları	SD	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F Değeri
Genel	251	32,572		
Stres Uygulaması (SU)	2	6,724	3,362	1766,809**
Genotipler (G)	27	16,723	0,619	325,495**
SU x G İnt.	54	8,805	0,163	85,684**
Hata	168	0,320	0,002	

** : $p < 0.01$

Prolin içeriği bakımından stres grupları arasındaki farklılıklar istatistiki olarak %1 düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.7). Genotiplerin ortalamasına göre en yüksek prolin içeriği 0.510 µmol g FW^{-1} ile -12 ^{o}C soğuk stres grubunda elde edilirken, en düşük prolin içeriği ise 0.142 µmol g FW^{-1} ile kontrol grubundan elde edilmiştir. Yapılan Lsd testine göre -12 ^{o}C soğuk stresi birinci gruba (a), -8 ^{o}C soğuk stresi ikinci gruba (b) kontrol ise son gruba (d) girmiştir (Çizelge 4.8).

Araştırmada yapılan varyans analizi sonuçlarına göre prolin içeriği bakımından genotipler arasındaki farklılıklar istatistiki olarak %1 düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.7). Araştırmada stres gruplarının ortalaması olarak en yüksek prolin içeriği 1.365 µmol g FW^{-1} ile 3031 x Granger genotipinde belirlenmiştir. Araştırmada en düşük prolin içeriği 0.101 µmol g FW^{-1} ile 4009 x Melrose genotipinde tespit edilmiştir. Diğer genotiplerin prolin değerleri bu değerler arasında yer almaktadır (Çizelge 4.8). 3031 x Granger, 3055 x Melrose, Ultrillo, 3057 x Hadim ve Şahin x Hadim genotipleri ilk sıralarda yer almıştır (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. Soğuk streslerinde genotiplerin prolin içerikleri ve lsd değerleri (µmol g FW^{-1})

Genotipler	Kontrol	-8 °C Sıcaklık	-12 °C Sıcaklık	Ortalama
Şahin	0,030	0,436	0,648	0,371 g
4009 x Melrose	0,016	0,136	0,151	0,101 pq
Bolero x Melrose	0,047	0,105	0,129	0,094 q
3057 x Melrose	0,074	0,120	0,178	0,124 opq
4053 x Melrose	0,026	0,168	0,256	0,150 n-q
3029 x Melrose	0,203	0,569	0,645	0,472 f
3029 x Granger	0,058	0,271	0,289	0,206 klm
3053 x Hadim	0,056	0,329	0,272	0,219 kl
3048 x Melrose	0,427	0,457	0,268	0,384 g
Ultrillo	0,053	0,934	1,074	0,687 c
3053 x Melrose	0,449	0,581	0,200	0,410 g
Şahin x Hadim	0,227	0,641	0,760	0,543 e
3031 x Granger	0,139	2,072	1,883	1,365 a
3053 x Ultrillo	0,164	0,265	0,470	0,300 ij
3055 x Melrose	0,233	0,888	1,142	0,754 b
4028 x Hadim	0,099	0,231	0,264	0,198 k-n
Melrose	0,161	0,307	0,355	0,274 ij
3057 x Granger	0,087	0,483	0,510	0,360 gh
Şahin x Melrose	0,074	0,616	0,708	0,466 f
4053 x Hadim	0,134	0,192	0,202	0,176 l-o
3029 x Ultrillo	0,134	0,190	0,202	0,175 l-o
3057 x Hadim	0,127	0,765	0,977	0,623 d
Şahin x Ultrillo	0,126	0,197	0,156	0,159 m-p
3048 x Ultrillo	0,141	0,196	0,398	0,245 jk
4028 x Melrose	0,122	0,484	0,575	0,394 g
Granger	0,343	0,513	0,610	0,488 f
3057 x Granger	0,121	0,385	0,417	0,308 hi
4028 x Granger	0,116	0,429	0,546	0,364 g
Ortalama	0,142 c	0,463 b	0,510 a	0,732

Stres Uygulaması (SU) $lsd_{\%1}$: 0,0311; Genotipler (G) $lsd_{\%1}$: 0,0549; SU x G İnt. $lsd_{\%1}$: 0,0952

Çizelge 4.7'in incelenmesinden de anlaşılacağı gibi varyans analizi sonuçlarına göre prolin içeriği bakımından genotip x stres grupları interaksiyonu arasındaki farklılıklar istatistiki olarak %1 düzeyinde önemli bulunmuştur. Genelde genotiplerin (3031 x Granger hariç) prolin içeriği en yüksek – 12 °C soğuk stresi uygulamasında elde edilmiştir (Çizelge 4.8).

Bitkiler soğuk stresine karşı verdiği en önemli tepkilerden biriside farklı osmotik koruyucuları büyük oranda biriktirmeleridir. Prolinde bu osmolitlerden birisi bitkilerde yaygın olarak bulunmakta ve özelliklede bitkilerin soğuk stresine tepkilerinde önemli miktarlarda birikmektedir (Scebba ve ark., 1998; Atıcı ve Nalbantoğlu, 1999; Lee ve Lee, 2000; Öztürk ve Demir, 2002; Nayyar ve ark., 2005). Yapılan bu çalışmada bezelye genotiplerinin prolin içerikleri soğuk stresinin artmasıyla artış göstermiştir. Öztürk ve Demir (2002); (Nayyar ve ark., 2005) prolinin turgoru kontrol ederek hücresel suyun alıkonmasını sağladığını ve aynı zamanda membran ve makromoleküllerin çevresinde sudan bir kılıf oluşmasına yol açarak bu yapıları koruduğunu ve serbest radikallerin uzaklaştırılmasında görev aldığını belirtmiştir. Bizim araştırma sonuçlarımıza da bakıldığında 3031 x Granger, 3055 x Melrose genotiplerinin yüksek prolin değerlerine sahip olduğu görülecektir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1 Sonuçlar

Bu araştırmada, 2015 yılında Konya'da Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü tam kontrollü bitki ıslahı serası ve laboratuvarlarında 28 bezelye genotipinde, soğuk stresinin bitki büyümesi üzerindeki etkileri ile soğuk stresine karşı bitkiler tarafından oluşturulan biyokimyasal veya fiziksel savunma mekanizmaları arasındaki ilişkilerin ortaya konulmaya çalışılmıştır.

Araştırma "Tesadüf Parsellerinde Deneme" desenine göre üç tekerrürlü olarak kurulmuştur. Ekim işlemi 15 Eylül 2016 tarihinde daha önce hazırlanan saksılara elle yapılmıştır. Genotiplere ait tohumların ekimi için saksılar yıkanmış ve strelize edilmiştir. Genotiplere ait tohumlar % 5'lik sodyum hipoklorid ile 10'ar dakika muamele edildikten sonra deiyonize su (dI -H_2O) ile 3 kez yıkanarak sterilize edilmiştir.

Ekimi yapılan saksılar, 25 ºC sıcaklıkta, % 40-50 nem koşullarında kontrollü serada ekimi izleyen 7 gün boyunca üstleri kapalı olarak tutulmuştur. Her genotipe ait tohumlar çimlendikten sonra üstleri açılmıştır. Çıkış yapan fideler 25 ºC sıcaklıkta, % 40-50 nem koşullarında, tam kontrollü serada 2 hafta büyütülmüştür. Bu işlemlerden sonra bitkiler büyüme kabininde 2 hafta 4 °C'de sıcaklığa tutulmuştur. Son işlem olarak da minimum sıcaklık uygulaması yapılarak -8 °C ve -12 °C düşene denk kabinin içerisindeki sıcaklık aşamalı bir şekilde bir saatte bir 2 °C düşürülmüştür. -8 °C ve -12 °C sıcaklıkta bitkiler bir saat bekletildikten sonra 4 °C'ye kadar sıcaklık derecesi yeniden bir saatte bir 2 ^{0}C yükseltilmiştir. Sıcaklık 4 °C'ye ulaşınca bitkiler, yeniden kontrolü seraya konulmuştur. Hemen enzim analizleri için örnekler alınmıştır. Bir hafta sonra ise bitkilerde 1-9 skalası kullanılarak soğuk zararı tespit edilmiştir.

Genotiplerin soğuk stresine gösterdikleri tepkilerin belirlenmesi amacıyla yapılan bu araştırmada;

1. Soğuk zararı bakımından Melrose, Şahin, Granger, 4053 x Melrose, 4053 x Hadim, Şahin x Hadim ve 3057 x Melrose genotipleri,
2. Peroksidaz içeriği bakımından 3057 x Melrose, 4053 x Melrose, 3029 x Melrose, 3029 x Granger ve 4053 x Hadim genotipleri,
3. Süperoksit dismutaz içeriği bakımından 3053 x Melrose, Şahin x Hadim, 4053 x Melrose, Şahin x Melrose ve 3029 x Melrose genotipleri,

4. Prolin içeriği bakımından 3031 x Granger, 3055 x Melrose, Ultrillo, 3057 x Hadim ve Şahin x Hadim genotipleri ön plana çıkmışlardır.

5.2 Öneriler

Sonuç olarak, soğuk stresinin genotiplerin yapraklarındaki enzim aktiviteleri üzerine etkisi dikkate alındığında; genotipler içerisinde en dayanıklı olarak 3031 x Granger ve 3055 x Melrose genotipleri görülmektedir. Soğuk stresinin tüm genotiplerin antioksidant enzim aktivitelerini önemli ölçüde değiştirdiği belirlenmiş ve soğuk stresine karşı geliştirilen antioksidant savunma sistemi bakımından genotiplerin büyük ölçüde varyasyon gösterdiği görülmüştür. Bundan sonraki araştırmalarda, bu araştırmada öne çıkan genotiplerle beraber, ülkemizdeki tüm bezelye genotiplerinin soğuk stres toleransları açısından taranması ile belirlenecek dayanıklı genotiplerin ıslah programlarına alınmasının teşvik edilmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

Akçin, A., 1988, Yemeklik Dane Baklagiller, *Konya*, Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi p. 377.

Allen, R. D., 1995, Dissection of Oxidative Stress Tolerance using Transgenic Plants, *Journal of Plant Physiology*, 107, 1049-1054.

Anjum, S. A., Xie, X., Wang, L., Saleem, M. F., Man, C. ve Lei, W., 2011, Morphological, Physiological and Biochemical Responses of Plants to Drought Stres, *African Journal of Agricultural Research*, 6, 2026-2032.

Asada, K., 1992, Ascorbate Peroxidase-a Hydrogen Peroxides Cavenging Enzyme in Plants, *Journal of Plant Physiology*, 85, 235-241.

Aslantaş, R., Karakurt, H. ve Karakurt, Y., 2010, Bitkilerin Düşük Sıcaklıklara Dayanımında Hücresel ve Moleküler Mekanizmalar, *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 41 (2), 157-167.

Atıcı, Ö. ve Nalbantoğlu, B., 1999, Effect of Apoplastic Proteins on freezing Tolerance in Leaves, *Phytochemistry*, 50, 755-761.

Auld, D. L., Adams, K. J., Swensen, J. B. ve Murray, G. A., 1983a, Diallel Analyses of Winter Hardiness in Peas, *Crop Science*, 23, 763-766.

Auld, D. L., Dittterline, R. L., Murray, G. A. ve Swensen, J. B., 1983b, Screening Peas for Winterhardiness under Field and Laboratory Conditions, *Crop Science*, 23, 85-88.

Banci, L., 1997, Structural Properties of Peroxidase, *Journal of Biotechnology*, 53, 253-263.

Bates, L. S., Waldren, R. P. ve Teare, I. D., 1973, Rapid Determination of Free Proline for Water Stress Studies, *Plant Soil*, 39, 205-207.

Beauchamp, C. ve Fridovich, I., 1971, Superoxide Dismutase: Improved Assays and Applicable to Acrylamide Gels, *Analytical Biochemistry*, 44, 276-287.

Bergmeyer, J. ve Grabl, M., 1983, Methods of Enzymatik Analysis, *Germany*, p.

Blum, A., 1986, Breeding Crop Varieties for Stress Environments, *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2, 199-237.

Bourion, V., Lejeune-Henaut, I., Munier-Jolain, N. ve Salon, C., 2003, Cold Acclimation of Winter and Sring Peas: Carbon Partitioning as Affected by Light Intensty, *European Journal of Agronomy*, 23, 1-14.

Bruggemann, W., Dauborn, B. ve Klaucke, S., 1995, Chilling Sensitivity of Photosynthesis: Ecophysiological Studies in two Lycopersicon Species of Different Chilling Tolerance, *Acta Physiologiae Plantarum*, 17, 113-122.

Cabello, J. V., Lodeyro, A. F. ve Zurbriggen, M., 2014, Novel Perspectives for the Engineering of Abiotic Stress Tolerance in Plants, *Current Opinion in Biotechnology*, 26, 62-70.

Ceyhan, E., 2003, Bezelye Ebeveyn ve Melezlerinde Bazı Tarımsal Özelliklerin ve Kalıtımlarının Çoklu Dizi Analiz Metoduyla Belirlenmesi, Doktora Tezi, *Selçuk Üniversitesi*, Konya, 103.

Choi, S. M., Jeong, S. W., Jeong, W. J., Kwon, S. Y., Chow, W. S. ve Park, Y., 2002, Chloroplast Cu/Zn-Superoxide Dismutase is a Highly Sensitive Site in Cucumber Leaves Chilled in the Light, *Planta*, 216, 315-324.

Çiftçi, C. Y., 2004, Dünyada ve Türkiye'de Yemeklik Tane Baklagiller Tarımı, *Ankara*, TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası, p. 305.

Demirci, G. ve Ünver, S., 2005, Ankara Kosullarında Bezelye'de (*Pisum Sativum* L.) Farklı Ekim Zamanlarının Verim ve Verim Öğelerine Etkileri, *Anadolu*, 15 (1), 49-60.

Duman, Y., Acemi, A., Toygar, H., Yüzügüllü, Y. ve Özen, F., 2016, Tuz Stresi ve BAP Varlığında Amsonia Orientalis'in Antioksidan Enzimlerinin İncelenmesi, *CBÜ Fen Bilimleri Dergisi*, 12 (3), 543-551.

Düzgüneş, O., Kesici, T., Kavuncu, O. ve Gürbüz, F., 1987, Araştırma ve Deneme Metodları (İstatiksel Metodlar-II), *Ankara*, Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, p.

Eser, D., 1974, Yemeklik Tane Baklagillerde Çiçek Yapısı ve Melezleme Tekniği, *Ankara*, Ankara Çayır, Mera ve Zootekni Araştırma Enstitüsü, p.

Eteve, G., 1985, Breeding for Tolerance and Winter Hardiness in Pea, In: The pea Crop: A Basis for Improvement, Eds: Hebblethwaite, P. D., Heath, M. C. ve T.C.K., D., *London. UK*: Butterworths., p.

Fiebelkorn, D. M., 2013, Characterization of Selected Winter Hardiness Traits in Pea (*Pisum sativum* L.), *North Dakota State University,*, North Dakota, USA, 76.

Genisel, M., Türk, H. ve Erdal, S., 2013, Exogenous Progesterone Application Protects Chickpea Seedlings Against Chilling-Induced Oxidative Stres, *Acta Physiologiae Plantarum*, 35, 241-251.

Gökmen, E. ve Ceyhan, E., 2015, Effects of Drought Stress on Growth Parameters, Enzyme Activates and Proline Content in Chickpea Genotypes, *Bangladesh Journal of Botany*, 44 (2), 177-183.

Hernández-Nistal, J., Dopico, B. ve Labrador, E., 2002, Cold and Salt Stress Regulates the Expression and Activity of a Chickpea Cytosolic Cu/Zn Superoxide Dismutase, *Plant Science*, 163, 507-514.

Keleş, Y. ve Öncel, I., 2002, Response of Antioxidative Defence System to Temperature and Water Stress Combination in Wheat Seedlings, *Plant Science*, 163, 783-790.

Kim, K. Y., Kwon, S. Y., Lee, H. S., Hur, Y., Bang, C. W., Choi, K. S. ve Kwak, S. S., 2000, Differantial Expression of Four Sweet Potato Peroxidase Genes in Respons to Abscisic Acid and Ethaphon, *Phytochemistry*, 54, 19-22.

Kumar, K. B. ve Khan, P. A., 1982, Peroxidase and Polyphenol Oxidase in Excised Ragi (*Eleusine coracana* cv. PR 202) Leaves during Senescence, *Indian Journal of Experimental Botany*, 20, 412-416.

Lee, D. H. ve Lee, C. B., 2000, Chilling Stress Induced Changes of Antioxidant Enzymes in the Leaves of Cucumber: in Gel Enzyme Activity Assays. , *Plant Science*, 159, 75-85.

Lewis, G., Schrirer, B., Mackinder, B. ve Lock, M., 2005, Legumes of the World, *Kew, UK*, Royal Botanical Gardens, p.

Lichtenhaler, H. K., 1996, Vegetation Stress: An Introduction to the Stress Concept in Plants, *Journal of Plant Physiology*, 148, 4-14.

Mahajan, S. ve Tuteja, N., 2005, Cold, Salinity and Drought Stresses: An Overview, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 444, 139-158.

Møller, I. M., 2001, Plant Mitochondria and Oxidative Stress: Electron Transport, NADPH Turnover and Metabolism of Reactive Oxygen Species, *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 52, 561-591.

Mutlu, S., Atıcı, Ö. ve Nalbantoglu, B., 2009, Effects of Salicylic Acid and Salinity on Apoplastic Antioxidant Enzymes in two Wheat Cultivars Differing in Salt Tolerance, *Biologia Plantarum*, 53 (2), 334-338.

Nayyar, H., Bains, T. S. ve Kumar, S., 2005, Chilling Stressed Chickpea: Effect of Cold Acclimation, Calcium and Abscisic Acid on Cryoprotective Solutes and Oxidative Damage, *Journal Environmental and Experimental Botany*, 54, 275-285.

Nilsen, E. T. ve Orcutt, D. M., 1996, Physiology of Plants Under Stress, *New York, Toronto, USA*, John Wiley and Sons, Inc., p.

Öztürk, L. ve Demir, Y., 2002, In Vivo and in Vitro Protective Role of Proline, *Plant Growth Regulation*, 38, 259-264.

Pearce, R. S., 1999, Molecular Analysis of Acclimation to Cold, *Plant Growth Regulation*, 29, 47-76.

Posmyk, M. M., Bailly, C., Szafranska, K., Janas, K. M. ve Corbineau, F., 2005, Antioxidant Enzymes and Isoflavonoids in Chilled Soybean (Glycine max (L.) Merr.) Seedlings, *Journal of Plant Physiology*, 162, 403-412.

Sakai, A. ve Larcher, W., 1987, Frost Survivai in Plants: Responses and Adaptations to Freezing Stress, *New York, USA*, Springer-Verilag, p.

Saltweit, M. E., 2001, Chilling Injury is Reduced in Cucumber and Rice Seedlings and in Tomato Pericarp Discs by Heat-Shocks Applied after Chilling, *Postharvest Biology and Technology*, 21, 169-177.

Sarı, H. ve Gülümser, A., 2015, Yemeklik Tane Baklagiller Kalite Kriterleri, *11. Tarla Bitkileri Kongresi* Çanakkale, 340-343.

Scandalios, J. G., 1993, Oxygen Stress and Superoxide Dismutases, *Journal of Plant Physiology*, 101, 7-12.

Scebba, F., Sebastiani, L. ve Vitagliano, C., 1998, Changes in Activity of Antioxidative Enzymes in Wheat (*Triticum aestivum*) Seedlings under Cold Acclimation, *Phsiologia Plantarum*, 104, 747-752.

Scebba, F., Sebustiani, L. ve Vitagliano, C., 1999, Protective enzymes against activated oxygen species in wheat (Triticum aestivum L.) seedlings: Responses to cold acclimation. , *Journal of Plant Physiology*, 155, 762-768.

Seppänen, M. M. ve Fagerstedt, K., 2000, The Role of Superoxide Dismutase Activity in Response to Cold Acclimation in Potato, *Physiologia Plantarum*, 108, 279-285.

Smirnoff, N., 1998, Plant Resistance to Environmental Stress, *Current Opinion in Biotechnology*, 9, 214-219.

Sutka, J. ve Galiba, G., 2003, Abiotic Stresses: Cold Stress, *Encyclopedia of Applied Plant Sciences* (1-9).

Taşgın, E., Atıcı, Ö. ve Nalbantoğlu, B., 2003, Effects of Salicylic Acid and Cold on Freezing Tolerance in Winter Wheat Leaves, *Plant Growth Regulation*, 41, 231-236.

Turan, O. ve Ekmekci, Y., 2011, Activities of Photosystem II and Antioxidant Enzymes in Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Cultivars Exposed to Chilling Temperatures, *Acta Physiologiae Plantarum*, 33, 67-78.

Turan, Ö., 2007, Nohut (*Cicer arietinum* L.) Çeşit ve Hatlarının Soğuk Stresine Karşı Toleransının Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametreler İle Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Hacettepe Üniversitesi*, Ankara.

TÜİK, 2016, Tarımsal İstatistikler, http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001:

Üzal, Ö., 2009, Tuz stresi altında yetiştirilen bazı çilek çeşitlerinde jasmonik asitin bitki gelişimi ve antioksidant enzim aktiviteleri üzerine etkisi. , *Yüzüncü Yıl Üniversitesi*, Van.

Wang, C. Y., 1990, Chilling Injury of Horticultural Crops, *Boca Raton*, FL: CRC, p.

Yang, S. J., Hosokawa, M., Mizuta, Y., Yun, J. G., Mano, J. ve Yazawa, S., 2001, Antioxidant Capacity is Correlated with Susceptibility to Leaf Spot Caused by a Rapid Temperature Drop in Saintpaulia (African violet), *Scientia Horticulturae*, 88, 59-69.

EKLER

EK-1 Araştırmadan görüntüler



Şekil 1. Tam kontrollü bitki ıslahı serasında çıkış sağlayan genotiplerin görünüşü



Şekil 2. Tam kontrollü bitki ıslahı serasında çıkış sağlayan genotiplerin görünüşü



Şekil 3. Tam kontrollü büyütme kabininde -8 ^{o}C soğuk stresinde genotiplerin görünüşü



Şekil 4. Tam kontrollü büyütme kabininde -8 ^{o}C soğuk stresinde genotiplerin görünüşü



Şekil 5. Tam kontrollü büyütme kabininde -12 ^{o}C soğuk stresinde genotiplerin görünüşü



Şekil 6. Tam kontrollü büyütme kabininde -12 ^{o}C soğuk stresinde genotiplerin görünüşü



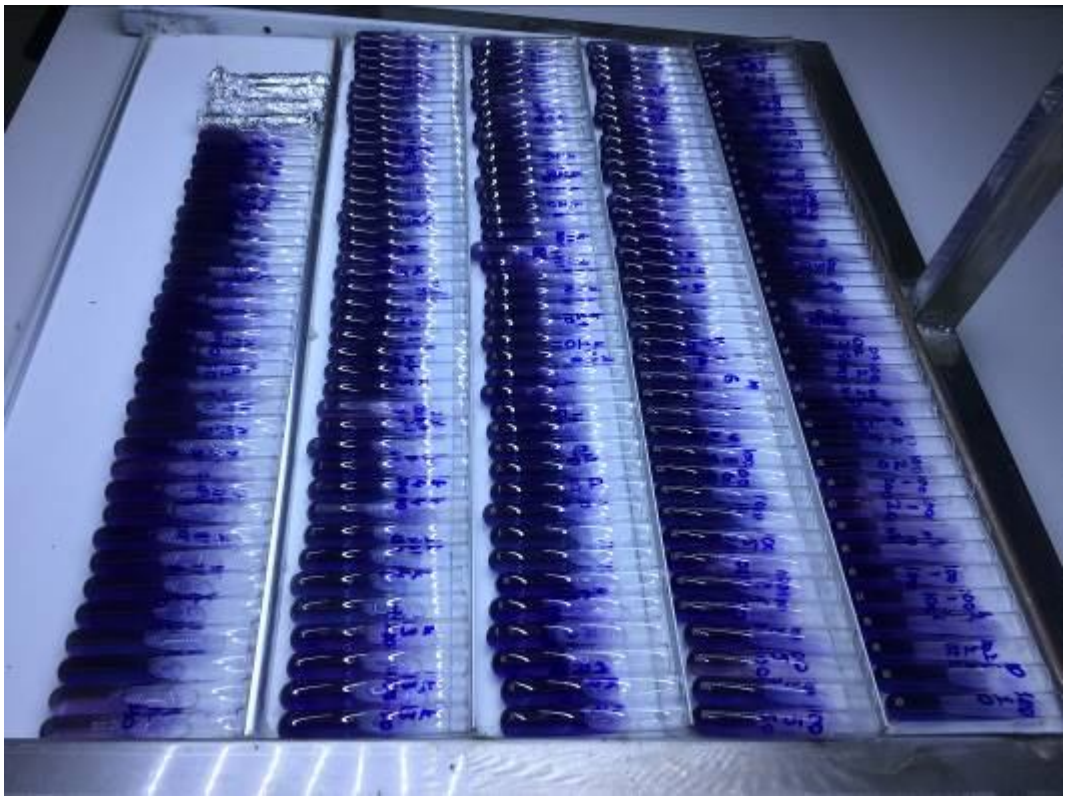
Şekil 7. Soğuk stresinde genotiplerden enzim analizi için örnek alımı için görünüşü



Şekil 8. Soğuk stresinde genotiplerden enzim analizi için örnek alımı için görünüşü



Şekil 9. Enzim analizi için soğuk havanda örneklerin ezilmesinden görünüş



Şekil 10. Filtrasyon yapılmış ve santrifüje hazır örneklerden görünüş



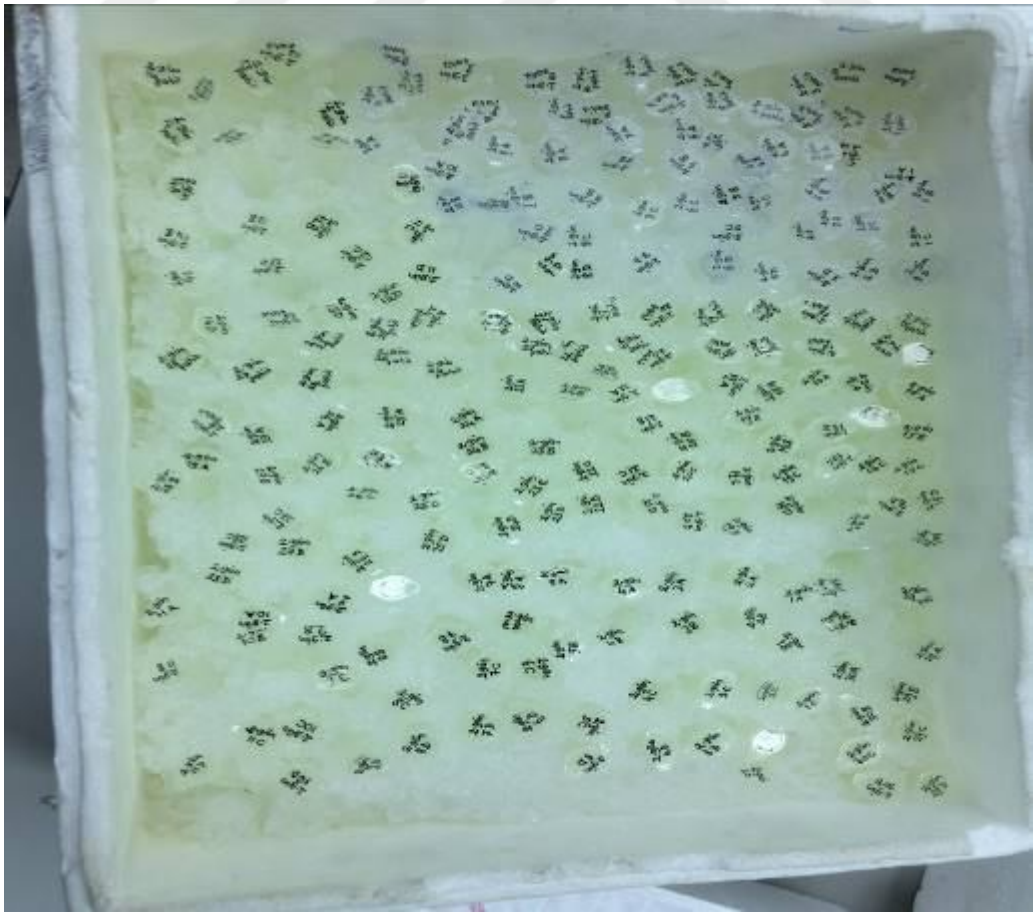
Şekil 11. Santrifüje hazır örneklerden görünüş



Şekil 12. Santrifüjü yapılmış örneklerden görünüş



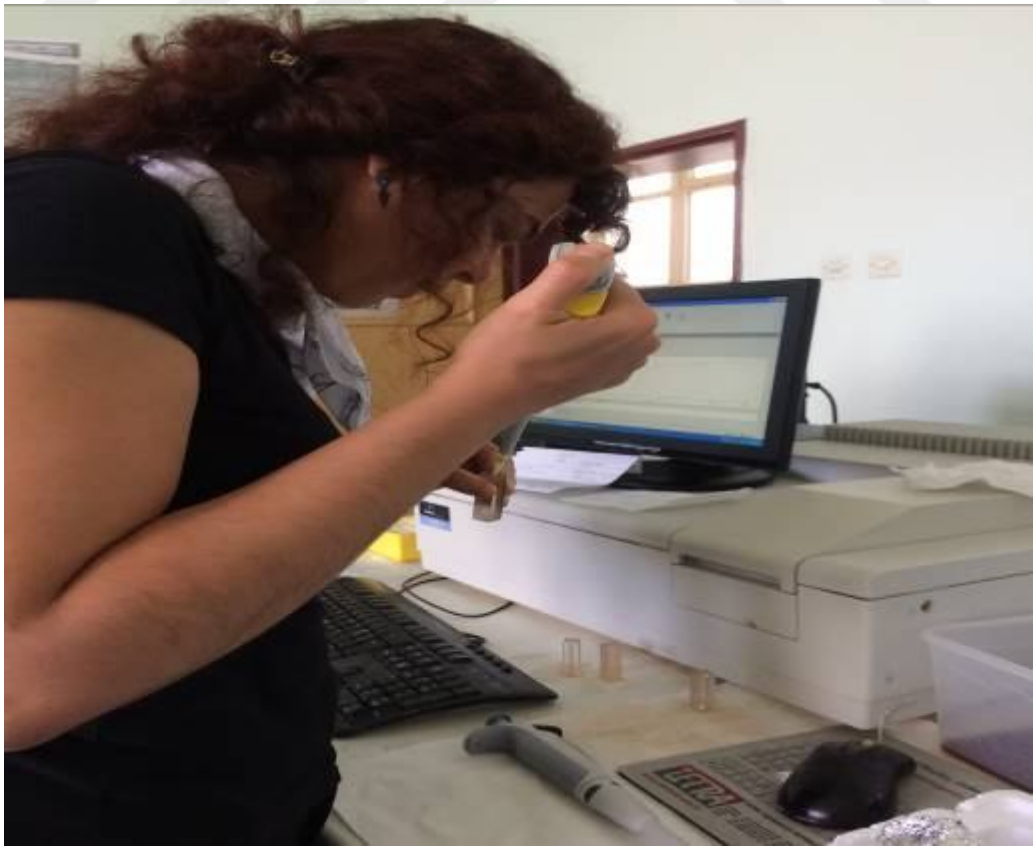
Şekil 13. Enzim analizine hazırlanmış örneklerden görünüş



Şekil 14. Enzim analizine hazırlanmış örneklerden görünüş



Şekil 15. Enzim analizlerinin okumasından görünüş



Şekil 16. Enzim analizlerinin okumasından görünüş

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı	**:**	Banu Nur TEKİN
Uyruğu	**:**	T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi	**:**	Meram ve 15/11/1988
Telefon	**:**	555 7605313
Faks	**:**	
e-mail	**:**	tekinnurbanu@gmail.com

EĞİTİM

Derece		**Adı, İlçe, İl**	**Bitirme Yılı**
Lise	:	Atatürk Kız Lisesi, Karatay, Konya	2006
Üniversite	:	Selçuk Üniversitesi, Selçuklu, Konya	2014
Yüksek Lisans	:	Selçuk Üniversitesi, Selçuklu, Konya	
Doktora	:		

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	**Kurum**	**Görevi**

UZMANLIK ALANI

Tarla Bitkileri

YABANCI DİLLER

İngilizce

BELİRTMEK İSTEĞİNİZ DİĞER ÖZELLİKLER

YAYINLAR

1. Tekin, B.N., E. Ceyhan, 2018. F_2 Populasyonundaki Bezelyenin Soğuğa Dayanıklılıklarının Belirlenmesi. (Baskıda)