



**FASULYEDE (*Phaseolus vulgaris* L.)
MELATONİNİN TUZ STRESİNDEKİ
ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

İlyas ASAN

**Danışman: Doç. Dr. Murat AYDIN
Yüksek Lisans Tezi
Tarımsal Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı
2022
(Her hakkı saklıdır.)**

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANA BİLİM DALI

**FASULYEDE (*Phaseolus vulgaris* L.) MELATONİNİN TUZ STRESİNDEKİ
ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

(Determination of the Effect of Melatonin on Salt Stress in Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.))

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İlyas ASAN

Danışman: Doç. Dr. Murat AYDIN

Erzurum
Mart, 2022



FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Graduate School of Natural and
Applied Sciences

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü
TEZ KABUL VE ONAY TUTANAĞI

**FASULYEDE (*Phaseolus vulgaris* L.) MELATONİNİN TUZ STRESİNDEKİ
ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

Doç. Dr. Murat AYDIN danışmanlığında, İlyas ASAN tarafından hazırlanan bu çalışma, 11/03/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı Bitkisel Biyoteknoloji Bilim Dalı'nda yüksek lisans tezi olarak oybirliği (3/3) ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:	Prof. Dr. Mahmut Sinan TAŞPINAR <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır
Danışman:	Doç. Dr. Murat AYDIN <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır
Jüri Üyesi:	Doç. Dr. Emre İLHAN <i>Erzurum Teknik Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır

Bu tezin Atatürk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddelerinde belirtilen şartları yerine getirdiğini onaylarım.

Prof. Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN

Enstitü Müdürü

Aslı Islak İmzalıdır

Bu çalışma Bilimsel Araştırma Koordinasyon Birimi (BAP) projeleri kapsamında desteklenmiştir.

Proje No: FYL-2020-8517

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Yüksek Lisan Tezi olarak Doç. Dr. Murat AYDIN danışmanlığında sunulan “Fasulyede (*Phaseolus vulgaris* L.) Melatoninin Tuz Stresindeki Etkisinin Belirlenmesi” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	9	30
Kuramsal Temeller	8	30
Materyal ve Yöntem	23	35
Bulgular	4	20
Tartışma	5	20
Tezin Geneli	5	25

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
İlyas ASAN	Doç. Dr. Murat AYDIN
15.03.2022	15.03.2022
İmza: Aslı Islak İmzalıdır	İmza Aslı Islak İmzalıdır

* Tez ile ilgili YÖKTEZ'de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

☐ Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun .../.../... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

☐ Enstitü Yönetim Kurulunun .../.../... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

TEŞEKKÜR

Bu tez, Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAP) tarafından FYL-2020-8517 nolu proje olarak desteklenmiştir. Finansal desteklerinden dolayı BAP Koordinasyon Birimine teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışma Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Laboratuvarları Koordinatörlüğünde yapılmıştır. İlgili birime teşekkürlerimi sunarım.

Lisansüstü eğitimimin her aşamasında engin bilgi ve tecrübesiyle yardımlarını esirgemeyen ve akademik olarak gelişmemde katkıda bulunan Sayın Doç. Dr. Murat AYDIN'a teşekkür ederim.

Lisansüstü eğitimim boyunca özellikle tez aşamasında yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Güleray AĞAR'a, Sayın Prof. Dr. Mahmut Sinan TAŞPINAR'a ve Sayın Doç. Dr. Emre İLHAN'a ve Sayın Araş. Gör. Esmâ YİĞİDER'e teşekkür ederim.

Tez çalışmamın laboratuvar analizleri ve yazım aşamalarında yardımlarını ve bilgilerini esirgemeyen Doktora öğrencisi Sümeyra UÇAR ve Doktora öğrencisi Burcu SİĞMAZ'a teşekkürü borç bilirim.

Çalışmam boyunca benden desteğini esirgemeyen dostlarım Zir. Müh. Erdal ÖZDEMİR, Zir. Müh. Muhammed Enes Kındıgılı, Zir. Müh. Erkan TÜRKOĞLU, Zir. Müh. Burhan ÇAĞIRICI, Zir. Müh. Serpil TURHAN'a, Araş. Gör. Muhammed TATAR, İsmail AYDOĞAN ve Bekir YAZICI'ya çok teşekkür ederim.

Bana yaşamım boyunca güvenip desteklerini bir an bile esirgemeyen maddi manevi her zaman destekçim olan başta babam Recep ASAN'a, annem Emine ASAN'a ve ablam Meva ASAN'a kardeşlerim Erdem ASAN, Aleyna ASAN, Mustafa ASAN'a ve halam Emine İNAN'a ve onların nezdinde tüm ailemin üyelerine sonsuz teşekkürler.

İlyas ASAN

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FASULYEDE (*Phaseolus vulgaris* L.) MELATONİNİN TUZ STRESİNDEKİ ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

İlyas ASAN

Danışman: Doç. Dr. Murat AYDIN

Amaç: Tuz stresi, bitki verimini ve kalitesini etkileyen önemli bir abiyotik stres faktörüdür. Tuz stresi fasulye gibi tuzluluğa hassas olan bitkilerin tarımını önemli ölçüde etkilemektedir. NaCl stresi altındaki fasulyede melatonin uygulamasının bazı morfolojik ve fizyolojik parametreler ile tuz tolerans genlerinden biri olan *CCD1* geninin mRNA ifade seviyesine olan etkisinin incelendiği bu çalışmanın amacı, melatoninin tuz stresindeki rolünün aydınlatılması ve tuza toleranslı çeşitlerin ıslahında kullanılabilecek bilgilerin elde edilmesidir.

Yöntem: Serra ve Elkoca 05 çeşitlerine ait olgun embriyoların MS besi ortamında çimlendirilmesi ile elde edilen fasulye fideleri, Hogland çözeltisi içeren hidroponik ortamda 2. üç yapraklı döneme kadar büyütülmüş ve NaCl (0, 100 ve 200 mM) ve melatonin (0,100,150 ve 200 µM) farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılmıştır. Uygulamadan 7 gün sonra, kök ve sürgün uzunluğu (mm), kök/sürgün oranı, kök-sürgün yaş ve kuru ağırlığı (g), hücre membran hasarı (%), yaprak nispi su içeriği (%), klorofil içeriği (SPAD), mitotik indeks (%) ile kök ve yaprak dokularında *CCD1* geninin mRNA ifade seviyeleri tespit edilmiştir.

Bulgular: Her iki çeşitte de NaCl stresi altında tüm morfolojik parametrelerin (kök ve sürgün uzunluğu, kök ve sürgün yaş ve kuru ağırlıkları) azaldığı, ancak tuzluluk stresi ile uygulanan melatonin tek başına strese göre bu parametrelerde artışa neden olduğu belirlenmiştir. Yine, tuz stresi incelenen fizyolojik özellikleri olumsuz etkilemiş, klorofil içeriğinde, mitotik indekste ve bağıl su içeriğinde azalışa; hücre zarı hasarında ise artışa neden olmuştur. Tuz stresinin fizyolojik parametreler üzerindeki bu olumsuz etkisi, melatonin uygulamasıyla azalmıştır. Ayrıca, tuz stresi altında her iki çeşidin *CCD1* geninin mRNA ekspresyon düzeylerinin arttığı, melatonin uygulamasında ise azaldığı belirlendi.

Sonuç: Araştırmada elde edilen bulgulara göre melatonin uygulamasının fasulyede tuz stresinin neden olduğu zararlı etkilerine karşı iyileştirici etki gösterdiği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: NaCl, kök/sürgün oranı, SPAD, hücre membran hasarı, mitotik indeks, *CCD1* geni

Mart 2022, 92 sayfa

ABSTRACT

MASTER THESIS

DETERMINATION OF THE EFFECT OF MELATONIN ON SALT STRESS IN COMMON BEAN (*Phaseolus vulgaris* L.)

İlyas ASAN

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Murat AYDIN

Purpose: Salt stress is a major abiotic stress factor affecting crop yield and quality. Salt stress significantly affects the cultivation of crops that are sensitive to salinity, such as common beans. The goal of this study, in which the effect of melatonin application on some morphological and physiological parameters as well as the mRNA expression level of the *CCD1* gene, which is one of the salt tolerance genes in common bean subjected to NaCl stress, was to better realize the role of melatonin in salt stress and to gather the information that could be used in the breeding of salt-tolerant varieties.

Method: Bean seedlings obtained by germinating mature embryos of Serra and Elkoca 05 cultivars in MS medium were grown in hydroponic medium containing Hogland solution until the 2nd three-leaf stage and were subjected to different concentrations of NaCl (0, 100, and 200 mM) and melatonin (0,100,150, and 200 µM). 7 days after application, root and shoot length (mm), root/shoot ratio, root-shoot fresh and dry weight (g), cell membrane damage (%), leaf relative water content (%), chlorophyll content (SPAD), mitotic index (%) as well as mRNA expression levels of *CCD1* gene in root and leaf tissues were determined.

Findings: It was determined that all the morphological parameters (root and shoot length, root and shoot fresh and dry weights) decreased under NaCl stress in both cultivars, but melatonin applied with salinity stress caused an increase in these parameters compared to alone stress. Moreover, salt stress negatively affected the examined physiological characteristics. It led to a decrease in chlorophyll content, mitotic index, and relative water content whereas increased cell membrane damage. This adverse effect of salt stress on physiological parameters decreased with treatment melatonin. In addition, it was determined that the mRNA expression levels of the *CCD1* gene of both cultivars increased under salt stress, however, decreased in melatonin application.

Result: Findings obtained in the study indicated that melatonin application had a healing effect against the harmful effects of salt stress in beans.

Keywords: NaCl, root/shoot ratio, SPAD, cell membrane damage, mitotic index, *CCD1* gene

March 2022, 92 pages

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY TUTANAĞI.....	i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
KISALTMALAR ve SİMGELER DİZİNİ	x
GİRİŞ.....	1
KURAMSAL TEMELLER.....	12
MATERYAL ve YÖNTEM	20
Materyal	20
Kullanılan bitkisel materyal	20
Kullanılan alet ve cihazlar.....	20
Kullanılan kimyasallar ve çözeltiler.....	21
Yöntem.....	24
Sterilizasyon yöntemleri.....	24
Çalışma ortamı, alet ve ekipmanların sterilizasyonu	24
Besi ortamı ve diğer bileşenlerinin sterilizasyonu	24
Tohum sterilizasyonu	24
Bitki çimlendirme ortamlarının hazırlanması	24
Tohum çimlendirilmesi, bitkilerin yetiştirilmesi ve kimyasal ajanların uygulanması	26
Araştırmada incelenen konular	27
ARAŞTIRMA BULGULARI	33
Morfolojik Parametreler.....	33
Kök ve sürgün uzunluğu (mm)	33
Kök/sürgün oranı.....	36
Kök yaş ve kuru ağırlığı (g)	37
Sürgün yaş ve kuru ağırlığı (g).....	40
Fizyolojik Parametreler.....	41

Hücre membran hasarı (HMH)	41
Yaprak nispi su içeriği (YNSİ)	44
Klorofil İçeriği (SPAD).....	45
Mitotik indeks	46
mRNA ifade analiz sonuçları	49
TARTIŞMA ve SONUÇ	52
Sonuç ve Öneriler.....	60
KAYNAKLAR.....	61
ÖZGEÇMİŞ.....	79



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Araştırmada Kullanılan Alet ve Cihazlar	20
Tablo 2. MS Kültür Ortamının Kimyasal İçeriği ve Miktarları.....	21
Tablo 3. Hoagland Besin Çözeltisinin Kimyasal İçeriği ve Miktarları	22
Tablo 4. mRNA İfade Seviyelerinin Belirlenmesinde Kullanılan Kimyasallar ve Çözeltiler .	23
Tablo 5. Mitotik İndeksin Belirlenmesinde Kullanılan Kimyasallar.....	23
Tablo 6. Stok NaCl Çözeltisinden Alınan Miktarlar	25
Tablo 7. Stok Melatonin Çözeltisinden Alınan Miktarlar	25
Tablo 8. Araştırmada İncelenen Tuz (NaCl) ve Melatonin Konsantrasyonları ve Miktarları .	26
Tablo 9. cDNA Analizi İçin Kullanılan Malzemeler ve Miktarlar	30
Tablo 10. qPCR Analizinde Kullanılan Kimyasallar.....	31
Tablo 11. Kullanılan Primerlerin Baz Dizilimi ve Tm Sıcaklıkları.....	31
Tablo 12. Kök Uzunluğuna Ait Varyans Analiz Sonuçları	33
Tablo 13. Farklı NaCl ve Melatonin Konsantrasyonlarına Göre Çeşitlerin Kök ve Sürgün Uzunlukları ve Kök/Sürgün Oranları Değerleri.....	34
Tablo 14. Sürgün Uzunluğuna Ait Varyans Analiz Sonuçları.....	36
Tablo 15. Kök/Sürgün Oranına Ait Varyans Analiz Sonuçları	37
Tablo 16. Kök Yaş Ağırlığına Ait Varyans Analiz Sonuçları	38
Tablo 17. Kök Kuru Ağırlığına Ait Varyans Analiz Sonuçları	38
Tablo 18. Farklı NaCl ve Melatonin Konsantrasyonlarına Göre Çeşitlerin Kök ve Sürgün Yaş ve Kuru Ağırlıkları.....	39
Tablo 19. Sürgün Yaş Ağırlığına Ait Varyans Analiz Sonuçları	40
Tablo 20. Sürgün Kuru Ağırlığına Ait Varyans Analiz Sonuçları	41
Tablo 21. Hücre Membran Hasarına (%) Ait Varyans Analiz Sonuçları	42
Tablo 22. Farklı NaCl ve Melatonin Konsantrasyonlarına Göre Çeşitlerin Hücre Membran Hasarı (%), Nispi Su İçeriği (%) ve Klorofil İçerikleri (SPAD).....	43
Tablo 23. Yaprak Nispi Su İçeriğine (%) Ait Varyans Analiz Sonuçları.....	44
Tablo 24. Klorofil İçeriğine (SPAD) Ait Varyans Analiz Sonuçları.....	45
Tablo 25. Mitotik İndekse Ait Varyans Analiz Sonuçları	47
Tablo 26. Farklı NaCl Derecelerinde Çeşitli Konsantrasyonlarda Melatonin Uygulamasına Tabi Tutulan <i>Phaseolus vulgaris</i> L. Tohumlarında Gözlenen Mitotik İndeks Değerleri.....	48

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Kuru fasulye üretiminin kıtalara göre dağılımı.....	2
Şekil 2. Toprak tuzluluğunun nedenleri ve tipleri.....	4
Şekil 3. Melatoninin yapısı.....	9
Şekil 4. Melatonin biyosentezi	10
Şekil 5. 200 mM NaCl ve 0 µM melatonin uygulamasında elde edilen sitogenetik gözlemler a: İnterfaz, b: Profaz, c: Metafaz, d: Anafaz, e: Telofaz, f: Sitokinez, g: Mikronükleus	46
Şekil 6. 0 mM NaCl ve 0 µM melatonin uygulamasında elde edilen sitogenetik gözlemler ...	46
Şekil 7. Kök dokusunda NaCl ve melatonin uygulamalarına göre çeşitlerin <i>CCD1</i> mRNA ifade seviyeleri ($2^{-\Delta\Delta C_t}$).....	50
Şekil 8. Yaprak dokusunda NaCl ve melatonin uygulamalarına göre çeşitlerin <i>CCD1</i> mRNA ifade seviyeleri ($2^{-\Delta\Delta C_t}$)	51

KISALTMALAR ve SİMGELER DİZİNİ

%	Yüzde
°C	Santigrat derece
ABA	Absisik asit
APOD	Askorbat peroksidaz
APX	Askorbat peroksidaz
ASMT	Hidroksiindol- <i>O</i> -metiltransferaz
Ca	Kalsiyum
CAT	Katalaz
<i>CCD1</i>	Carotenoid cleavage dioxygenases 1
<i>CCDs</i>	Karotenoid Bölünme Dioksijenazlar
cm	Santimetre
CO ₂	Karbondioksit
COMT	Kafeik asit <i>O</i> -metiltransferaz
DHAR	Dehidroaskorbat redüktaz
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DREB	Kuraklık Stresi Transkripsiyon Faktörü
EDTA	Etilen diamin tetra asetik Asit
FAO	Food and Agriculture Organisation
g	Gram
GA	Giberallik asit
GGPP	Geranilgeranil pirofosfatlardan
GPOD	Guaiakol peroksidaz
GR	Glutasyon redüktaz
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
K	Potasyum
L	Litre
MDA	Malondialdehit
MDHAR	Monodehidroaskorbat redüktaz
mg	Miligram
Mg/lt	Miligram/Litre

ml	Mililitre
mM	Milimolar
MsSNAT	Serotonin N-asetiltransferaz
Na	Sodyum
NaCl	Sodyum Klorür
NO	Nitrik Oksit
O ₂ ⁻	Süperoksit anyonu
O ₂	Oksijen
OH ⁻	Hidroksil
PGRS	Bitki büyüme düzenleyicilerinin
POD	Peroksidaz
PSII	Fotosistem II
PSY	Fiton sentazı
qRT-PCR	Kantitatif RT-PCR
RNS	Reaktif azot türlerini
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
RT-PCR	Real Time PCR
SNAT	Serotonin-N-asetiltransferaz
SOD	Süperoksit Dismutaz
TE	Tris-EDTA Tamponu
w/v	Ağırlık/Hacim
µl	Mikrolitre
µM	Mikromolar

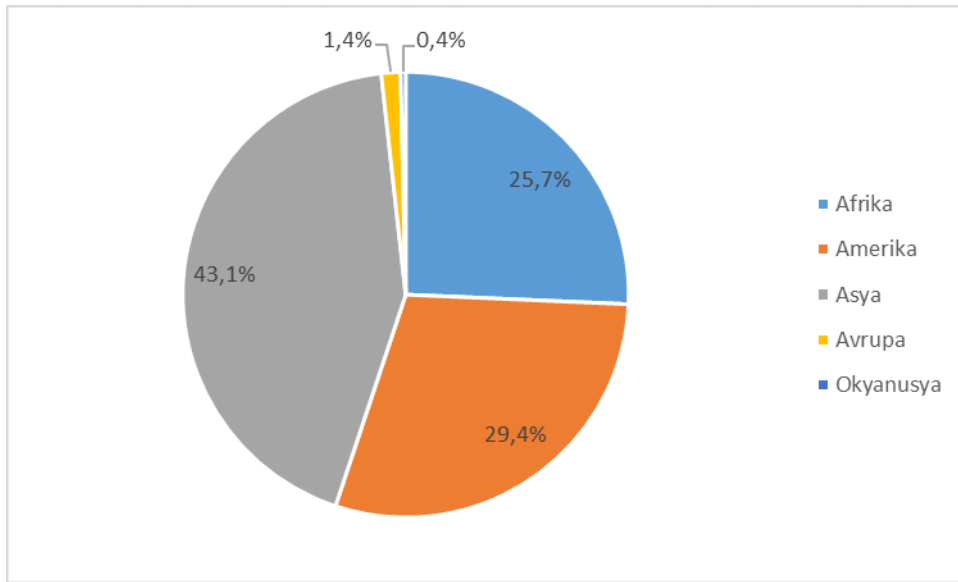
GİRİŞ

Fabaceae (730 cins ve 19400 tür) familyasına ait fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.), yemeklik tane baklagiller arasında tür çeşitliliği bakımından en zengin bitkisel üründür ve dünya nüfusunun beslenmesinde önemli bir besin kaynağıdır (Graham and Ranalli 1997). Şimdiye kadar bilinen elli *Phaseolus* türü olmasına rağmen bunlardan yalnızca beş tür (*Phaseolus vulgaris*, *Phaseolus lunatus*, *Phaseolus coccineus*, *Phaseolus acutifolius* ve *Phaseolus polyanthus*) temelde insan gıdası olarak kullanılmaktadır. Bu türler arasında en yaygın olarak kullanılanı ise *Phaseolus vulgaris* (2n=22 diploid)'dir (Broughton *et al.* 2003). Mezoamerika, en fazla *phaseolus* cinsinin coğrafi olarak bulunduğu ve 4 ila 6 milyon yıl önce bu bölgede ortaya çıktığı varsayılmaktadır (Delgado-Salinas *et al.* 2006).

Baklagiller, protein ve minerallerin ana kaynağı ve tarımsal üretim sistemlerinin önemli bir ayağı olup, gelişmekte olan ülkelerin insan beslenmesinde ve tarım sistemlerinde hayati bir rol oynamaktadır (Akibode *et al.* 2012; Yeken *et al.* 2018). Günlük beslenme diyetinde proteinlerin önemli bir kısmı hayvansal ürünlerden (yumurta, süt, et vs.) ve genellikle baklagillerden (fasulye ve bezelye ailesinin bitkileri) sağlanmaktadır (Şehirli 1988). Protein yetersizliği, dünyanın birçok bölgesinde önemli bir sorundur ve özellikle hayvansal ürünlerle beslenmenin az olduğu kırsal bölgelerde nüfusun protein gereksinimlerinin önemli bir bölümünü baklagiller karşılamaktadır (Granito *et al.* 2002). Fasulyenin yaygın olarak kullanılan türleri, önemli miktarda protein (ortalama %22), karbonhidrat (%55-65), lif, doymamış yağ asitleri, mineral (kalsiyum 3 g/kg; demir 40 mg/kg; çinko 35 mg/kg) ve vitamin (alfa tokoferol (E), askorbik asit (C), tiyamin (B1), riboflavin (B2), niyasin (B3), B6 ve folik asit) kaynağıdır (Chávez-Mendoza and Sánchez 2017; Farooq *et al.* 2017; Nawaz *et al.* 2020). Proteinlerin yapı taşı olan amino asitler, vücut için mutlak gereklidir, ancak vücutta sentezlenemez ve dışarıdan alınan gıdalardan karşılanmaktadır. Fasulye, özellikle insan beslenmesi için gerekli olan lisin, treonin, valin, lösin, izolösin ve fenilalanin gibi esansiyel amino asitleri içermektedir (Barampama and Simard 1993; Flores-Sosa *et al.* 2020). Ayrıca fasulye tohumları, antioksidan, antikanser, antimikrobiyal, antiobezite, kardiyoprotektif, hepatoprotektif ve antiproliferatif aktiviteleri nedeniyle tıbbi açıdan da oldukça önemlidir (Guevara-González and Torres-Pacheco 2006; Zhu *et al.* 2012; Guajardo-Flores *et al.* 2013; Ortega *et al.* 2013; Zou and Chang 2014).

Fasulye insan beslenmesinin yanında hayvan beslenmesi, boya yapımı ve kozmetik sanayi gibi alanlarda da sıkça kullanılmaktadır (Sing *et al.* 2007). Özellikle çapa bitkisi olması, münavebeye (ekim nöbeti), derin kök morfolojisi ile toprağın alt tabakalarındaki besin elementlerini yüzeye taşıması, toprağı gevşetmesi ve köklerinde yerleşen *Rhizobium* bakterisinin oluşturduğu nodüller yardımıyla toprağa azot bağlaması bakımından önemli bir baklagil bitkisidir (Ge *et al.* 2000; Wortman 2001; Zahran 2001).

Fasulye, ekim ve üretim alanları bakımından baklagiller arasında ilk sıralarda yer almaktadır (FAO 2021). FAO 2020 yılı verilerine göre, dünya kuru fasulye ekim alanı yaklaşık 34,5 milyon ha ve üretimi ise 27,5 milyon ton olarak gerçekleşmiştir (FAO 2021). Yine, 2020 yılı verilerine göre dünya toplam kuru fasulye üretiminin %43,1'ini Asya, %29,4'ünü Amerika, %25,7'sini Afrika, %1,4'ünü Avrupa ve %0,4'ünü Okyanusya oluşturmaktadır (Şekil 1.). Kuru fasulye üretiminde 5,5 milyon ton ile Hindistan ilk sırada yer almaktadır ve bunu sırasıyla Myanmar (3,1 milyon ton), Brezilya (3,0 milyon ton) ve Amerika Birleşik Devletleri (1,5 milyon ton) izlemektedir (FAO 2021). Ülkemiz henüz kuru fasulye üretimi yapılan ilk 10 ülke arasına girememektedir. Ülkemizde 2020 yılı Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) verilerine göre yaklaşık 1,03 milyon dekar ekim alanında 279,51 bin ton kuru fasulye üretimi yapılmış ve ortalama verim 271 kg/da olarak gerçekleşmiştir (TÜİK 2020).



Şekil 1. Kuru fasulye üretiminin kıtalara göre dağılımı (FAO 2021)

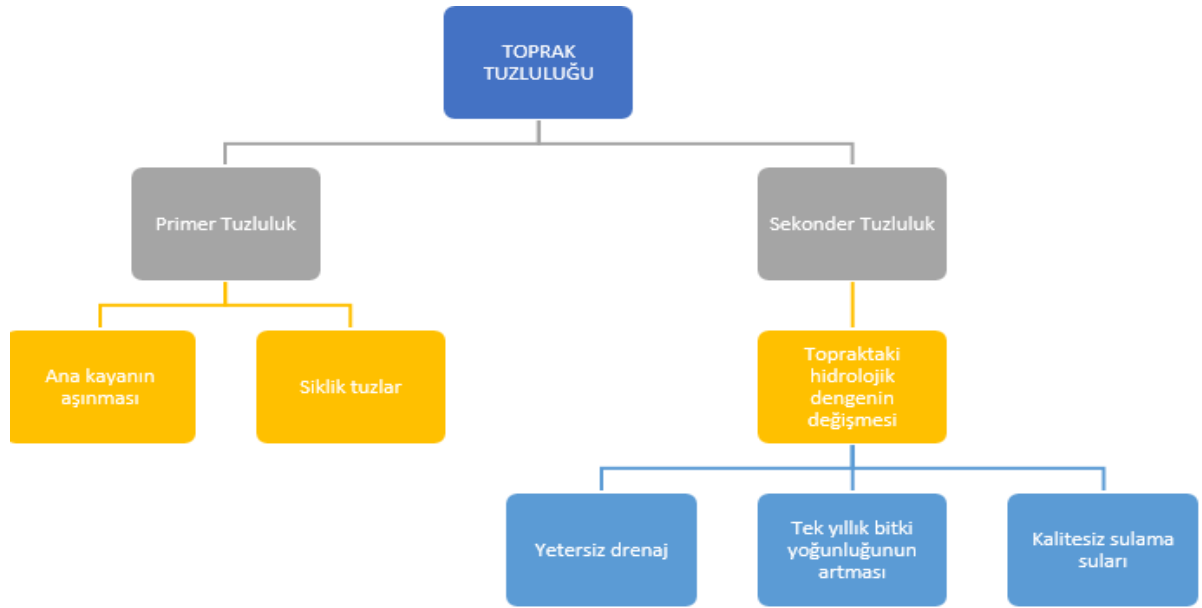
2018 yılının sonunda 7,6 milyar olan küresel nüfusun, 2050 yılında 9,7 milyara çıkacağı tahmin edilmektedir (Anonymous 2021). Dünya nüfusunun hızla artmasına paralel olarak artan nüfusun gıda talebini karşılamak için mevcut duruma göre %70 daha fazla gıdaya ihtiyaç duyulacağı ve bu talebin ağırlıklı olarak gelişmekte olan ülkelerde olacağı tahmin

edilmektedir (Alexandratos and Bruinsma 2012). Bu zorluğun üstesinden gelmek için, tüm bitkisel ürünlerin verimini artırmaya ihtiyaç vardır (Beebe *et al.* 2012).

Dünyada ve ülkemizde yetiştirme alanı ve miktarı açısından önemli bir yere sahip olan baklagiller diğer türlerle kıyaslandığında, tuzluluğa en hassas grup içerisinde yer almaktadır (Mass and Hoffman 1997). Toprak veya su tuzluluğu, dünya genelinde fasulye yetiştiriciliğinde verim azalmasına neden olan önemli abiyotik streslerden biridir (Munns and Tester 2008). Glikofit bitki olarak da bilinen fasulye yüksek tuz konsantrasyonlarına tolerans gösterememekte ve tuz stresine karşı oldukça hassastır.

Tuzluluk stresi, toprakta tuz içeriğinin doğal olarak yüksek olduğu kurak ve yarı kurak bölgelerde bitkilerin büyümesini, gelişmesini ve üretimini sınırlayarak önemli verim kayıplarına neden olan en yıkıcı abiyotik streslerden biridir (Hussain *et al.* 2019). Tuzluluk sulanan arazilerin %50'sini ciddi şekilde etkilemekte ve topraktaki yüksek tuzluluk seviyelerinin bir sonucu olarak her yıl 1,5 milyon ha alan kaybına neden olmaktadır (Yang and Guo 2018). Dahası tarım arazilerinin %17'si sulak alanlar olup bu alanların yaklaşık beşte biri tuzluluk sorunu ile karşı karşıyadır. Türkiye'de ise toplam tarımsal alanın %2'sini kurak alanlar oluşturmakta ve bu alanların da %74'ü tuzlu topraklardır. Tuzluluğun artışı ile tarım alanlarının ve buna bağlı olarak sürdürülebilir tarımın, önümüzdeki 25 yıllık süreç içerisinde yaklaşık olarak üçte birinin 21. yüzyılın sonlarına doğru ise yarısının zarar göreceği tahmin edilmektedir (Gültekin 2018).

Tuzluluk stresi oluşum şekillerine göre primer (doğal) ve sekonder olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (Şekil 2.). Primer tuzluluk, deniz ve okyanus suyunun yapısındaki tuz bileşiklerinin düşük yağış, rüzgâr ve yüksek evaporasyon gibi iklimik faktörler ile taşınarak toprağın yapısına katılması, ana kaya materyalinin aşınması sonucu minerallerin ve çözünür tuzların açığa çıkması ve kapillarite ile toprağa taşınması ile ortaya çıkmaktadır. Sekonder tuzluluk ise tuzlu sulama suyu kullanımı, yanlış yapılan sulama programı, bölgenin özel vejetasyonunun yok edilip tarım arazisi olarak kullanımı, tuzluluğa neden olan maddelerle toprağın kirletilmesi ve yoğun gübre kullanımı gibi insan aktiviteleri, yüzey altı sularının yükselmesi ve bitkilerin harcadığı su miktarı ile yağış miktarı arasındaki dengenin yani hidrolojik dengenin bozulması sonucu ortaya çıkmaktadır (Korkmaz ve Durmaz 2017; Gültekin 2018, Doğru ve Canavar 2020;).



Şekil 2. Toprak tuzluluğunun nedenleri ve tipleri (Doğru ve Canavar 2020)

Tuzluluk, toprakta ozmotik potansiyelin düşmesine neden olarak fizyolojik kuraklığa, mineral madde alımında dengenin bozulmasına ve tuz iyonlarının toksik etkileri nedeniyle bitkiler üzerinde yıkıcı etkilere yol açmaktadır (Marschner 1996). Tuzlu topraklar, Ca^{+2} (kalsiyum), K^{+} (potasyum), Mg^{+2} (magnezyum) ve Na^{+} (sodyum) gibi katyonlar ile Cl^{-} (klor), CO_3^{-2} (karbonat), HCO_3^{-} (bikarbonat), NO_3^{-} (nitrat) ve SO_4^{-2} (sülfat) gibi anyonları bulundurmaktadır (Tanji 2002). Topraklar tuzlu su ile sulandığında fizyolojik kuraklık ortaya çıkmakta ve kuraklık stresini indüklemektedir (Lee *et al.* 2004). Tuz stresini enzimlerin aktivitesini, fotosentez kapasitesini etkiler ve ozmotik stres ve iyon toksisitesini ise artırır (Wang *et al.* 2016; Yin *et al.* 2019). Bu olaylar bitki büyüme ve gelişmesi üzerinde biyokimyasal, fizyolojik ve moleküler seviyelerde çok yönlü negatif etkilere sebep olmaktadır.

Tuz stresini çimlenme, büyüme, fotosentetik pigmentler ve fotosentez, su ilişkisi, besin dengesizliği, oksidatif stres ve verim gibi tüm ana süreçleri etkilemektedir. Tohumun çimlenmesi, bir bitkinin büyüme döngüsündeki en temel ve hayati aşamalardan biridir. Çimlenme hızı doğrudan tuzluluk stresini ile ilişkilidir ve tuz stresinin tohum çimlenmesi ve canlılığı ile negatif korelasyona sahip olduğu bilinmektedir (Rehman *et al.* 2000). Tuzluluğun yüksek seviyeleri tohumların çimlenmesini engellerken, daha düşük tuzluluk düzeyi dormansiye neden olmaktadır (Khan and Weber 2008). Tuzluluk, çimlenme ortamının düşük ozmotik potansiyeli nedeniyle tohumların su emilimini ve protein metabolizmasını değiştirir ve nükleik asit metabolizması enzimlerinin aktivitelerini değiştiren toksisiteye neden olur, hormonal dengeyi bozar ve tohumların enerji rezervlerinin kullanımını azaltarak çimlenme

hızını düşürmektedir (Khan and Rizvi 1994; Othman *et al.* 2006; Dantas *et al.* 2007; Khan and Weber 2008; Gomes *et al.* 2008; Sobhanian *et al.* 2011).

Tuz stresinin bir diğer etkisi ise büyüme hızını azaltmasıdır. Toprak suyunda bulunan fazla tuz iki yolla bitkiyi etkilemektedir. Birincisi (hızlı faz) bitkinin su alma kabiliyetini azaltır ve bu da yavaş büyümeye yol açar. Bu faz tuzluluğun su eksikliği veya ozmotik etkisidir. İkincisi (yavaş faz) ise bitkinin transpirasyona girmesi ve bunun sonucunda yapraklardaki hücrelerin zarar görerek büyümenin yavaşladığı fazdır (Munns 2005). Faz-1, bitkilerin kısa sürede tuzluluğa maruz kalmasıyla oluşur. Tuzluluğun bitki kökleri dışındaki ozmotik etkisinden kaynaklanmaktadır. Toprak çözeltisinde bulunan tuz, yaprak büyümesini ve daha az ölçüde kök büyümesini azaltır (Munns 1993). Faz-2 ise bitki içindeki tuzun toksik etkisinden kaynaklanmakta ve bitkinin tuzluluk stresine uzun süreli maruz kalmasından dolayı oluşmaktadır. Bitki tarafından alınan tuz yaşlı yapraklarda yoğunlaşmakta ve uzun süreli ve sürekli taşınma sonucunda yapraklarda çok yüksek konsantrasyonlarda Na^+ ve Cl^- birikimi gerçekleşmekte ve bunun sonucunda yapraklar ölmektedir (Munns and Tester 2008).

Tuzluluğun hem vejetatif hem de üreme gelişimini etkilediği bilinmektedir. Çimlenme ile karşılaştırıldığında bitkilerin fide ve erken vejetatif büyüme aşamasında tuzluluğa özellikle duyarlı olduğu bilinmektedir (Wilson *et al.* 2000; del Amor *et al.* 2001; Botia *et al.* 2005). Tuzluluk stresinin sürgün büyümesini, özellikle yaprak alanını kök büyümesinden daha fazla azalttığı iyi bilinmektedir. Tuzluluğa bağlı olarak sürgün büyümesindeki azalma, genellikle azalan yaprak alanı ve bodur sürgünler ile ifade edilir (Läuchli and Epstein 1990).

Hücre bölünmesi makromoleküler seviyede kompleks bir takım biyokimyasal olayları kapsayan ve birbirini takip eden farklı işlemler sonucu gerçekleşmektedir. Bitkilerin büyüme ve gelişmesi, kendini oluşturan hücrelerin düzenli olarak büyüme ve çoğalmasına bağlıdır (Kışlalıoğlu ve Berkes 1990). Mitotik indeks ise hücre bölünme sıklığını yansıtmakta ve kök büyüme oranını belirlemede önemli bir parametre olarak kabul edilir (Jiang and Liu 1999). Tuzluluk stresinin mitoz bölünmeyi engelleyerek bitki büyüme ve gelişmesine olumsuz yönde etkilediği bilinmektedir (Nieman 1965, Bozcuk 1978). Tuzun yüksek konsantrasyonda kök ucu meristem hücrelerinde mitotik bölünme aktivitesini tamamen baskıladığı ve kromozomal anormalliklere neden olduğu gözlemlenmiştir (Radić *et al.* 2005).

Toprakta aşırı çözünür tuzların varlığı, bitkiler için gerekli olan mineral besin maddelerinin alımı ve metabolizması ile rekabet eder. İyonların dengeli oranları, bir bitkinin büyümesi ve gelişmesiyle ilgili fizyolojik cevapların oluşmasında önemli bir unsurdur (Wang *et al.* 2003). Artan tuz alımı, K^+ , Ca^{+2} , fosfor (P) ve azot (N) gibi temel besinlerin alımını azaltan yüksek Na^+ , Cl^- veya sülfat (SO_4^{-2}) gibi spesifik iyon toksisitelerini indükler (Zhu

2001). Bitki hücrelerinde Na^+/K^+ dengesi birçok sitozolik enzimin aktivitesi için oldukça önemlidir. Tuzluluğun Na^+ içeriğini artırdığı dolaylı olarak da Na^+/K^+ oranını arttırdığı bilinmektedir. Bu da Na^+ ve K^+ arasında negatif bir ilişki olduğunu düşündürmektedir. Bunun nedeni ise hücre zarındaki Na^+ 'nın K^+ 'nın depolarizasyon ve repolarizasyon dönemlerinde bağlanacağı bölgeler için K^+ ile rekabete girmesidir. Makro besin elementlerinden biri olan K^+ , enzim aktivitesinin belirlenmesinde, fotosentezde, osmotik potansiyelin korunmasında, protein sentezinde ve stomaların açılıp kapanmasında rol oynamaktadır (Wu *et al.* 1996; Gadallah 1999). Ayrıca, Na^+ 'nın zararlı etkilerinin çoğunun, membranların yapısal ve fonksiyonel bütünlüğü ile ilgili olduğu bildirilmiştir (Kurth *et al.* 1986). Tuzlu topraklarda yetiştirilen bitkilerin apoplastlarında Na^+ birikmekte ve bu da hücre duvarı elamanı olan pektinlerin iyonik bağlantılarını bozarak ya da hücre içi enzimlerini etkileyerek hücre duvarının temel işlevlerinin yerine getirilmemesine neden olmaktadır (Rengel 1992). Tuzluluk stresi aynı zamanda bitkinin büyüme ve gelişmesi için temel elementlerden biri olan Ca^{+2} iyonunun alınımını da negatif yönde etkilemektedir. Yüksek tuzlulukta yetiştirilen bitkilerin sürgün ve yapraklarında Ca^{+2} içeriğinin azaldığı bununla birlikte, köklerde stabil olma ve özellikle yapraklarda artan tuzluluk seviyelerinden dolayı K^+ içeriğinin azaldığı görülmektedir (Çulha ve Çakırlar 2011). Tuzluluk stresinde yapraklarındaki Ca^{+2} ve Mg^{+2} içeriğindeki azalmanın, sırasıyla membran geçirgenliğini arttığını ve klorofil içeriğinin azaldığını göstermektedir (Parida *et al.* 2004).

Tuz stresine maruz kalan bitkilerde, azalan klorofil pigmenti içeriği ve stomaların kapanmasının sonucu olarak, karbondioksit (CO_2) basıncının düşmesi ve ribuloz bisfosfat karboksilaz/oksigenaz (Rubisco) aktivitesinin inhibisyonu nedeniyle etkilenen en fizyolojik süreçlerden biri fotosentezdir. Ayrıca, tuz stresi altındaki bitkilerde fotosentez oranlarındaki azalma, esas olarak su potansiyelindeki azalmadan kaynaklanmaktadır (Kahrizi *et al.* 2012). Tuz stresi altında klorofil içeriğindeki azalma yaygın olarak bildirilen bir olgudur ve çeşitli çalışmalarda klorofil konsantrasyonu hücrel metabolik durumun hassas bir göstergesi olarak kullanılmıştır (Chutipaijit *et al.* 2011). Tuzluluğun etkisi altında fotosistem II (PS-II), elektron taşıma sistemi (ETS) ve CO_2 'nin asimilasyon hızının verimliliğinde önemli bir düşüşe neden olmaktadır (Stepien and Klobus 2005). Tuz stresi altında fotosentez hızını azaltan başka faktörlerde bulunmaktadır. Bunlar, CO_2 geçirgenliğini azaltan hücre zarlarının dehidrasyonu, tuz toksisitesi, artan yaşlanma, sitoplazmik yapıdaki değişikliklerin neden olduğu enzim aktivitesindeki değişikliklerdir (Iyengar and Reddy 1996).

Su potansiyeli, bitkilerin su durumunu belirlemek için önemli bir fizyolojik parametredir. Tuzlu ortamlarda yetişen bitkilerin dokularındaki su miktarının fazla olması

tuzluluğa toleransın fazla olduğu anlamına gelmektedir. Yaprakların bünyesinde bulunan su miktarının, bitkilerin genel su durumunun belirlenmesinde güvenli bir indikatör olarak kullanıldığı bilinmektedir. Tuz konsantrasyonunun artmasıyla ozmotik potansiyelin ve su potansiyelinin düştüğü, turgor basıncının ise arttığı belirlenmiştir (Ribaut and Pilet 1994; Hernandez *et al.* 1999; Meloni *et al.* 2003). Bitki kök ortamındaki tuzluluğun artması, yaprak su potansiyelinde azalmaya yol açabilmekte ve büyüme ve gelişmeyle ilgili birçok süreci etkileyebilmektedir (Romero-Aranda *et al.* 2001). Tuzluluğun bitkiler üzerindeki ozmotik etkileri, kök bölgesindeki çözünen konsantrasyonunun artması nedeniyle toprak su potansiyelinin düşmesi sonucu oluşmaktadır. Çok düşük su potansiyellerinde, bitkinin topraktan su çekme ve turgoru koruma yeteneği etkilenmektedir. Su eksikliği, iyon sızıntılarını artırarak hücre zarlarının hasarına neden olmaktadır (Tabaei-Aghdaei *et al.* 2000). Tuz stresinden etkilenen birincil bölge plazma membranı olabilir ve tuzluluğun plazma membranı üzerindeki zararlı etkisinin temel olarak tuz iyonlarının etkisinden kaynaklandığı bilinmektedir. Ayrıca bu hasar farklı genotiplere ait hücrelerde değişiklik göstermektedir. Tuza duyarlı çeşitlerde hücre membran hasarının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Mansour and Salama 2004).

Tuzluluğun bitkiler üzerindeki doğrudan etkilerinin yanı sıra, tuzluluğun bir sonucuda, lipidlerin peroksidasyonu, proteinin oksidasyonu, enzimlerin inaktivasyonu, DNA hasarı ve/veya bitki hücrelerinin hayati bileşenleri ile etkileşime neden olabilen reaktif oksijen türlerinin (ROT) aşırı birikiminin indüklenmesidir (Hasanuzzaman *et al.* 2020). Bu tür değişiklikler bir dizi metabolik bozukluğa ve anormal hücresel fonksiyonlara yol açar ve bitkinin ölümü ile sonuçlanır (Alinia *et al.* 2021). Kloroplastın tuz stresinden en fazla etkilenen organellerden biri olduğu bilinmektedir (Koyro 2002). Normal bitkilerde ROT'lar, hormonal sinyal moleküllerinin sentezlenmesinde, bitkinin dış çevre ile uyumunun sağlanmasında, hücre duvarı yapısının değişiminde, fizyolojik ve metabolik düzenlemelerde ve gen ifadelerinde önemli fonksiyonlara sahip olması nedeniyle “oksidatif sinyal molekülü” olarak da görev almaktadırlar.

Tuzluluk stresi altında özellikle kloroplast ve mitokondrilerde süperoksit anyonu (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikalleri (OH^-) gibi aşırı ROT üretimi gerçekleşir (Mittler 2002; Neill 2002). Öte yandan tuz stresinin çeşitli metabolik aktiviteler üzerinde ozmotik etkilerinden dolayı su eksikliği oluşmakta ve böylelikle ROT üretimi indüklenmektedir (Halliwell and Gutteridge 1985; Elstner 1987). Bu nedenle farklı biyotik ve abiyotik stres faktörleri sebebiyle bitki dokularında biriken ROT'lar ürün kayıplarının sebebi olarak kabul edilmektedir (Khan and Sing 2008).

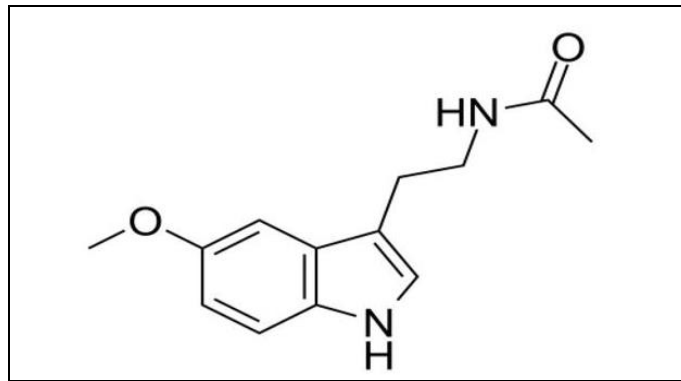
Bitkiler, tuzluluk stresinin zararlı etkilerine karşı nükleik asit, proteinler ve zar lipitlerini korumak için bazı çözünenlerin sentezi, seçici iyonların dışlanması ve antioksidan enzimlerin uyarılması dâhil olmak üzere birçok strateji geliştirmiştir (Munns and Tester 2008; Zhao *et al.* 2010). Bu stratejilerden biri ROT'u etkili bir şekilde temizleyen ve hücreler içinde uygun bir dengeyi koruyan enzimatik ve enzimatik olmayan bileşenlerden oluşan antioksidan savunma sistemidir. Askorbat peroksidaz (APOD), dehidroaskorbat redüktaz (DHAR), glutatyon redüktaz (GR), guaiakol peroksidaz (GPOD), katalaz (CAT), monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR), peroksidaz (POD) ve süperoksit dismutaz (SOD) gibi antioksidan enzimler, oksidatif hasarların etkilerini azaltarak tuz stresine karşı bitkinin direncini arttırmaktadır. Askorbik asit, glutatyon, flavonoidler, prolin, karotenoidler ve α -tokoferol gibi lipid çözücü bileşenler ise enzimatik olmayan antioksidant bileşiklere örnektir (Kav *et al.* 2004; Sugimoto and Chen *et al.* 2009; Takeda 2009; Chawla *et al.* 2013; Doğru ve Canavar 2020). Tuz stresine verilen moleküler cevaplar, öncelikle spesifik genlerin transkripsiyonel indüksiyonu ile ortaya çıkmaktadır.

Karotenoidler, fotosentezde önemli fonksiyonlara sahip olup ışıkların mavi-yeşil dalga boylarını emerek aşırı ışığın neden olduğu fotooksidatif stresten, yüksek sıcaklıktan, ultraviyole (UV), kuraklık ve tuzluluk gibi çevresel streslere karşı bitkilerin korunmasını sağlayan yapısal pigmentlerdir (Goodwin 1980; Cunningham *et al.* 1996; Davison *et al.* 2002; Götz *et al.* 2002; Ledford *et al.* 2004; Wu *et al.* 2015). Karotenoidler, izoprenoid yolunda ortaya çıkan geranilgeranil pirofosfatlardan (GGPP) fiton sentazı (PSY) ile sentezlenen fitabolitlerdir (Cunningham and Gantt 1998). Buna ek olarak, karotenoidler doğrudan biyolojik membranlarda reaktif oksijen türlerini temizlemektedirler (Strzałka *et al.* 2003). Karotenoid bölünme oksijenazları (CCO), çeşitli apokarotenoidler ve bunların türevlerini oluşturmak için karotenoid polien zincirinin konjuge çift bağını spesifik olarak parçalayabilir (Bouvier *et al.* 2005; Ohmiya 2009). Substratların epokside olup olmamasına bağlı olarak, bitki CCO'ları ayrıca karotenoid bölünme dioksijenaz (CCD) ve 9-cis-epoksikarotenoid (NCED) alt ailelerine ayrılmaktadır (Auldridge *et al.* 2006). Bu enzimler katalitik aktivitelerini etkinleştirmek için Fe^{+2} 'ye ihtiyaç duymaktadır. Ayrıca Fe^{+2} 'nin bağlanmasını koordine eden dört korunmuş histidin ve ayrıca karboksil ucunda korunmuş bir peptit sekansı içerirler (Kloer *et al.* 2005)

CCD'ler karotenoidlerin oksidatif bölünmesi yoluyla apokarotenoid üretmekte ve bunun yanı sıra oksidasyon, fotosentetik pigmentler, renklendiriciler, ABA ve strigolakton gibi çeşitli biyoaktif türevlerin oluşumuna da yol açmaktadırlar (Giuliano *et al.* 2003; Walter and Strack 2011; Alder *et al.* 2012). Apokarotenoidlerin, bitkilerde kök ve sürgün büyümesi,

dormansi, çevresel streslere tepki ve besin alımına yardımcı olan ve bitki büyümesini destekleyen yararlı mikorizal mantarları çeken sinyalleri üretmek de dâhil olmak üzere çok sayıda fizyolojik rolü bulunmaktadır (Vallabhaneni *et al.* 2010). Bir fitohormon olan ABA'nın tohum gelişimi ve dormansi de dâhil olmak üzere bitki yaşam döngüsünün birçok alanında ve ayrıca çeşitli çevresel streslere karşı bitki tepkilerinde önemli roller oynadığı bilinmektedir (Seo and Koshiba 2002). Ayrıca CCD'lerin oluşumunda görev alan strigolaktonlar köklenmede, ikincil büyüme ve bitki savunma tepkilerinde yer almaktadır (Van *et al.* 2014). Yapılan çalışmalarla CCD1 geninin stres tepkilerinde yaygın olarak yer aldığı bildirilmiştir. CCD1 geninin tuz stresi altında kök meristeminde ve uzama bölgesinde ifade edildiği belirtilmiştir (Dickinson 2019). Kuraklık stresi ve tuz stresi altında SsCCD1 mRNA seviyesinin hem kök hem de sürgün dokularında önemli ölçüde arttığı bilinmektedir (Cao *et al.* 2005).

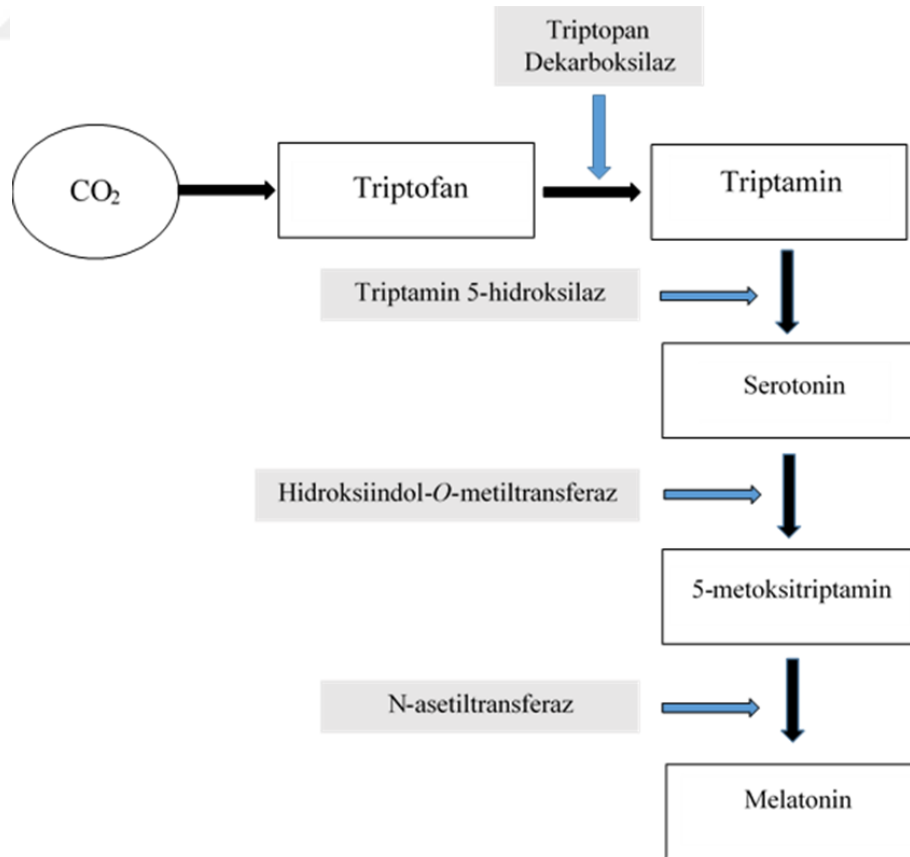
Bitkilerin doğal savunma mekanizmaları aşırı stres koşulları altında yeterli koruma sağlamamaktadır; bu nedenle eksojen olarak biyostimulanlar bitki stresi toleransını iyileştirmek için kullanılabilir (Khripach *et al.* 2000). Son zamanlarda yapılan çalışmalar bitki büyüme düzenleyicilerinin (BBD) stres mekanizmalarını yönettiğini belirtmiştir (Fahad *et al.* 2021; Asgher *et al.* 2017; Bashir and Bano 2020). Bu düzenleyiciler arasında melatonin (N-asetil-5-metoksitriptamin) (Şekil 3.), bitkiler arasında yaygın olarak kullanılan çeşitli fonksiyonel bir doğal antioksidandır (Arnao and Hernández-Ruiz 2018). Bitkilerde indoleamin hormonu olarak ilk kez 1995 yılında keşfedilmiştir (Dubbels *et al.* 1995; Hattori *et al.* 1995). Bitki büyüme ve gelişmesinde çok önemli bir biyomolekül olan melatonin kök ve hipokotil büyümesini teşvik eder ve oksine benzeyen fonksiyonlarıyla fide biyokütlesini artırır (Hernández-Ruiz *et al.* 2005; Byeon and Back 2014; Hardeland 2016). Dahası, melatoninin, ABA ve giberallik asit (GA) biyosentezi ile ilişkili genlerin ifadesini düzenleyerek GA ve ABA biyosentez yolunda önemli rol oynadığı bildirilmiştir (Zhang *et al.* 2014; Li *et al.* 2015).



Şekil 3. Melatoninin yapısı (Anonim 2021)

Melatonin, tuzluluk stresi de dâhil olmak üzere çeşitli abiyotik stresler altında bitki savunma mekanizmalarının modülasyonunda görev almaktadır (Imran *et al.* 2021; Li *et al.* 2021; Zhang *et al.* 2021). Transkriptom analiz sonuçları melatoninin öncelikle bitki hormonu sinyal transdüksiyonu ve ikincil metabolitlerin biyosentezinin yollarını etkilediğini göstermişlerdir. Şekil 4’de gösterildiği gibi bitkide melatoninin biyosentezi, serotonine dönüşen triptofan ile başlamakta ve triptofan ve melatonin arasında, hidroksiindol-O-metiltransferaz ve kafeik asit O-metiltransferaz (ASMT/COMT) enzimleri, 5-metoksitriptamin olarak adlandırılmış bir ara molekül üreten bir reaksiyonu katalize etmektedir (Axelrod *et al.* 1960; Byeon *et al.* 2014; Zhao *et al.* 2019).

Melatonin biyosentez yolunda yer alan ilgili enzimler, çeşitli bitki türlerinde strese yanıt mekanizmasında görevler almaktadır. Yapılan bir çalışmada (Zhao *et al.* 2019) klonlama, transgenez, genetik veya promotör analizi gibi metabolik mühendislik teknikleri yoluyla transgenik bir *Arabidopsis*’te COMT benzeri genin (*TaCOMT*) aşırı ifadesi, melatonin konsantrasyonunu artırarak kuraklık toleransı sağladığı bildirilmiştir. Melatonin biyosentezinde yer alan serotonin N-asetiltransferaz (*MsSNAT*) çeltikte (Byeon *et al.* 2014) ve *Arabidopsis*’te (Zhao *et al.* 2019) stres toleransı sağlamak ve melatoninin bitkideki rolünü netleştirmek için hedeflenmiştir.



Şekil 4. Melatonin biyosentezi (Malick *et al.* 2021)

Melatonin güçlü bir antioksidan olarak, ROT'ları, reaktif azot türlerini (RAT) ve çeşitli kimyasal kirleticileri detoksifiye etme kabiliyetine sahiptir. Melatonin, antioksidan enzimatik aktiviteyi indükleyerek domateste aşırı kadmiyumun neden olduğu oksidatif stresi temizlediği bildirilmiştir (Hasan *et al.* 2015). Başka bir çalışmada antioksidanların aktivitelerini artırıp, MDA'yı düşürerek ve çeşitli fizyolojik süreçleri düzenleyerek H₂O₂ üretimini baskıladığı bildirilmiştir. Ayrıca melatoninin eksojen uygulamasının, ROT üretimini azaltarak, çözünür protein içeriğini artırarak ve klorofil ayrışma hızını yavaşlatarak tuz stresi altındaki çeşitli bitki türlerinin klorofil içeriğini ve fotosentez kapasitesini iyileştirdiği bilinmektedir (Azizi and Amiri 2022).

Bitkilerde melatoninin işlevleri ile ilgili yapılan araştırmalarda, melatoninin abiyotik stres koşulları altında bitki büyümesinde ve gelişmesinde çok önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Melatoninin tuzluluk stresi altında daha yüksek bitki toleransını artırması, bitki iyonik homeostazını (özellikle tüm bitki Na⁺/K⁺ oranını) korumak için iyon kanalı genlerinin ifade edilmesi, fotosentez kapasitesini geliştirmesi, klorofilleri ve karotenoidleri koruması ve fotorespirasyonu azaltması özellikleri ile bağlantılı olduğu bilinmektedir (Li *et al.* 2019). Bu çalışmada melatoninin tuz stresi altında fasulyede oluşturması muhtemel morfolojik ve fizyolojik etkileri ile kök meristemlerinde hücre bölünmelerini sağlayan *CCD1* geninin ifade seviyesine etkileri belirlenerek fasulye ıslahına yön verici bilgiler sağlanması hedeflenmiştir.

KURAMSAL TEMELLER

Bitkiler, birçok olumsuz biyotik ve abiyotik strese maruz kalmaktadırlar. Tuz stresi, en önemli abiyotik streslerden biridir ve özellikle yıllık yağışın daha az olduğu ve toprakta yüksek konsantrasyonlarda tuz içeren bölgelerde mahsul verimliliğinin son derece etkilemektedir. Tuzun bitkiler üzerindeki zararlı etkileri, hem topraktaki nispeten yüksek çözünen madde konsantrasyonlarından kaynaklanan su eksikliğinin hem de Na^+ ve Cl^- 'ye özgü stresin bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır (Sairam *et al.* 2002; Negrão *et al.* 2017).

Tuzluluk, bitkilerdeki metabolik yollar ile etkileşime girerek tohum çimlenmesini ve bitki büyümesini doğrudan etkilemektedir (Rahimi *et al.* 2012). Yine, bitkilerdeki metabolik süreçlerin yanı sıra yaprak hücre membranı, nisbi su içeriği, klorofil miktarı, fotosentez, solunum, nükleik asit metabolizması ve protein sentezi gibi fizyolojik ve biyokimyasal prosesleride etkilemektedir (Sairam *et al.* 2002; Negrão *et al.* 2017). Sonuç olarak, tüm büyüme aşamaları üzerinde olumsuz etkiler oluşturarak verimde azalmalar meydana getirmektedir.

Tohum çimlenmesi, bir bitkinin yaşam döngüsündeki ilk gelişim aşamasıdır (Bewley *et al.* 2012). Tuzluluk ozmotik stres, iyona özgü etkiler ve oksidatif stres yoluyla tohum çimlenmesini engelleyerek bitki büyümesini ve gelişmesini sınırlayan ve tohum çimlenmesini geciktiren en önemli faktörlerden biridir (Daszkowska- Golec 2011; Munns 2002; Dash and Panda 2001). Ozmotik stres, hipertonic koşullar nedeniyle tuzluluğun (dakikalar içinde meydana gelir) ilk etkisidir (Munns 2002). Tuzluluk stresinin bitki büyüme ve gelişmesi üzerine olan etkileri bu strese maruz kalma sürelerine göre değişiklik göstermektedir. Munns (2002), tuzluluğa maruz kalan bitkilerde ilk birkaç saniye veya dakika içinde hücrelerin su kaybettiğini ve küçüldüğünü bildirmiştir. Ancak daha sonraki saatler içerisinde hücrelerin orijinal hacmini geri kazandığını, ancak uzama oranlarının azaldığını ve bunun sonucunda yaprak ve kök büyüme oranlarının düştüğünü açıklamıştır. Takip edilen günlerde hücre bölünme oranlarının da etkilendiğini ve daha düşük yaprak ve kök büyümesi oranlarına katkıda bulunduğu görülmüştür. Haftalar içinde ise vejetatif gelişimde ve aylar içinde üreme gelişiminde değişiklikler olduğu ortaya konulmuştur (Munns 2002).

Tuzluluğa tepki olarak bu zamansal farklılıkları açıklayan Munns (2005) “tuzluluğa iki aşamalı büyüme tepkisi” kavramını geliştirmiştir. İlk aşama tuzluluğa maruz kaldıktan sonra dakikalar içinde ortaya çıkan hızlı evredir. Bu evre kök dışındaki ozmotik

değişikliklerden dolayı hücre-su ilişkilerinde değişikliklere neden olur (ozmotik etki). Osmotik etki başlangıçta bitkinin suyu alma yeteneğini azaltır. Bu etki su stresine çok benzerdir. Günler, haftalar veya aylar süren ikinci daha yavaş evre, yapraklarda tuz birikmesinin bir sonucu olarak ortaya çıkar ve bitkide, özellikle yaşlı yapraklarda tuz toksisitesine (tuza spesifik stres) neden olur. Bu tuz toksisitesi sonucunda yaprak ölümleri gerçekleşmekte ve toplam fotosentetik yaprak alanı azalmaktadır (Munns 2002).

Yüksek NaCl seviyelerine uzun süreli maruziyetten kaynaklanmanın başka bir sonucu ise iyon toksisitesidir. İyon toksisitesi (birkaç saat ila günler ve haftalar boyunca oluşur) hücrelerde biriken toksik iyonların (Na^+ ve Cl^-) sonucudur ve erken yaşlanmaya neden olur. Bu nedenle, ROT oluşumuna ek olarak, bitki gelişimi, hücre bölünmesi, hücre uzaması, protein sentezi ve fotosentezde bozukluklar oluşturur (Munns 2002; El-Ramady *et al.* 2018). Na^+ ve Cl^- iyonlarının fazla miktarda bulunması bitki tarafından N, P, K^+ ve Mg^{+2} gibi bazı elementlerin erişilebilirliğinde ve alımında azalmaya yol açabilir (Heidari and Jamshid 2010).

Baklada aşırı tuz birikiminin mineral homeostaz dengesini bozduğunu ve dolayısıyla bitki gelişiminin durduğu bildirilmiştir. Tuz stresi, Na^+ 'nın sürgün ve diğer organlarda aşırı birikmesi nedeniyle tüm kısımlarda (kökteki K^+ içeriği hariç) K^+ , Ca^{+2} ve Mg^{+2} içeriğini azalttığı gösterilmiştir. Na^+ ve Cl^- iyonlarının absorpsiyon hızlarının artmasıyla birlikte, diğer iyonlarda (örneğin, K^+ , Ca^{+2} ve Mg^{+2}) önemli bir düşüş olduğu vurgulanmıştır (Abdel Latef *et al.* 2021).

Fasulye bitkisi üzerinde yapılan bir çalışmada (Prakash *et al.* 2021), artan konsantrasyonlarda tuzluluk stresinin (4, 8, 12 ve 16 ds m^{-1}) sırasıyla %70,66, %68,00, %64,00 ve %58,66 oranında tohum çimlenmesini azalttığı bildirilmiştir. Ayrıca artan tuz konsantrasyonunun kök uzunluğu, sürgün uzunluğu ve kuru madde içeriği üzerinde olumsuz etkilere neden olduğu gösterilmiştir. Atak *et al.* (2006) ve Neamatollahi *et al.* (2009), tuzluluğun artan osmotik basınç nedeniyle çimlenme yüzdesini azaltabileceğine dikkat çekmişlerdir. Cokkizgin (2012), fasulyede çimlenmenin osmotik potansiyelindeki değişime göre değiştiğini ve NaCl'nin fasulye çimlenmesi üzerinde doğrudan zararlı etkileri olduğunu göstermiştir. Bunun yanı sıra birçok çalışmada fasulyenin çimlenme aşamasında yüksek düzeyde tuz stresine duyarlı olduğu bildirilmiştir. Yadav *et al.* (2021), iki farklı fasulye çeşidini ($V_{(a)}$ ve $V_{(b)}$) farklı dozlarda EC3, EC6, EC9, EC12, EC15, EC18 ve EC25 (dS/m) tuzluluk stresine maruz bırakmışlardır. Araştırma sonucunda her iki çeşitte artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak tohum çimlenmesinde azalmalar ve gecikme meydana geldiği bildirilmiştir. Tuzluluk nedeniyle tohum çimlenmesinde ortalama yüzde azalma kontrole kıyasla iki farklı fasulye genotipinde $V_{(a)}$ ve $V_{(b)}$ sırasıyla %8,57 ve %11,43 olarak

bildirilmiştir. Artan tuzluluk seviyesiyle birlikte fide büyümesi ve biyokütle özelliklerinde de azalmalar meydana gelmiştir. Bu özellikler bakımından genotipler arasında farklılıklar belirlenmiştir. Bitkilerin taze ağırlığında kontrole kıyasla azalma artan tuzluluk konsantrasyonuna bağlı olarak $V_{(a)}$ genotipinde %3,28 ila 24,71 ve $V_{(b)}$ genotipinde ise %10,34 ila %58,90 olduğu bildirilmiştir. Bitkilerin kuru ağırlığındaki azalmalar ise düşük tuzluluktan yüksek tuzluluğa doğru kontrol bitkilerine kıyasla $V_{(a)}$ 'da %7.92'den %41.26'ya ve $V_{(b)}$ 'de %8.66'dan %50'ye yükseldiği görülmüştür. Gama *et al.* (2007), beş farklı fasulye çeşidinde farklı tuzluluk stresinin (0, 50 ve 100 mM NaCl) etkisini değerlendirmişlerdir. Tuzluluğun biyokütle verimi ve bağıl büyüme hızının yanı sıra, bitki boyu, yaprak sayısı, kök uzunluğu ve sürgün/kök ağırlık oranı gibi diğer morfolojik parametreler üzerinde de olumsuz etkileri olduğunu göstermişlerdir. Yine aynı çalışmada uygulama yapılan tüm fasulye çeşitlerinde tuzluluğun fotosentez, transpirasyon ve stoma iletkenliği üzerine negatif etkilerinin olduğu belirtilmiştir. Bir başka çalışmada Elkoca (1997), farklı fasulye genotiplerinde artan tuz konsantrasyonlarının çimlenme oranını önemli ölçüde azalttığını bildirmiştir. Artan tuzluluk seviyelerine bağlı olarak genotiplerin daha uzun sürede ve daha düşük oranda çıkış yaptığı belirtilmiştir. Yüksek tuzluluk seviyelerinin genotiplerde yaprak sayısı, kök ve sürgün uzunluğu, kök ve sürgün yaş ve kuru ağırlığını ve ayrıca kök/sürgün oranını azalttığını belirtmiştir.

İki farklı nohut çeşidi üzerinde yapılan bir çalışma (Mushtaq *et al.* 2022), artan tuz (0, 50, 100, 150 ve 200 mM) konsantrasyonlarının büyüme, kuru biyokütle, yaprak alanı, fotosentetik pigmentler, protein içeriği, stoma hareketi, hücre canlılığı, nitrat redüktaz aktivitesi ve karbonik anhidraz konsantrasyonunda önemli bir düşüşe yol açtığını ortaya koymuştur.

Toprak ve Tunçtürk (2018), beş farklı aspir genotipinde 150 mM tuz konsantrasyonunun fide gelişimine etkisini incelemek amacıyla yaptıkları çalışmada, tuz toleransının fidelerin bitki boyu, yaprak sayısı, kök uzunluğu, taze kök ve gövde ağırlığı, kuru kök ve gövde ağırlığı ile kök/gövde oranı parametreleri bakımından aspride genotipe bağlı olarak farklılık gösterdiğini ve uygulanan tuz stresinin bütün çeşitlerde fide gelişimini önemli oranda inhibe ettiğini bildirmişlerdir.

Kök ucu hücreleri genellikle toprakta ve sudaki makro and mikro elementlere ilk maruz kalan hücrelerdir. Bu nedenle kök ucunun incelenmesi çevresel kontrol için hızlı ve hassas bir yol oluşturmaktadır. Sitolojik çalışmalar, niteliksel ve niceliksel olarak stresler hakkında ayrıntılı bilgi sağlamaktadırlar. Hücre bölünmesinin stres kaynaklı inhibisyonu, daha az hücre bölünmesine yol açarak meristem boyutunun azalmasına neden olur

(Kielkowska 2017). Tuz stresi altında hücrelerin mitotik aktivitesi hızla azalmakta veya tamamen engellenerek hücre ölümü gerçekleşmektedir (Tabur ve Demir 2010).

Hücre membranı tuzun zarar verdiği ilk kısımdır. ROT'lar, membran lipidlerine ve proteinlerini etkileyerek lipid peroksidasyonuna ve proteinlerin oksidatif hasarına neden olmakta ve bunun sonucunda membran yapısını ve dolayısıyla geçirgenliğini bozmaktadır (Mansour 2013). Tuz stresi altında hücre membran hasarının tuza duyarlı genotiplerde daha fazla olduğu bildirilmiştir (Mansour and Salama 2004). Sairam *et al.* (2002), hücre membranı tuz toleransının anlaşılabilmesi için etkili bir seçim kriteri olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Elektriksel iletkenlik (EC) ölçümlerinin oranı membran stabilite indeksini veya bağıl membran geçirgenliğini temsil etmektedir (Tiwari *et al.* 2010). Tuzluluğun neden olduğu elektrolit sızıntısındaki artışın oranı, her zaman artan hücre membranı geçirgenliğini belirtmek için kullanılmaktadır.

Sitohy *et al.* (2020), fasulyeyi farklı tuz konsantrasyonlarına (1,3, 3,9 ve 7,8 dS m⁻¹) maruz bıraktıkları çalışmada NaCl'nin temel besin maddeleri ve fotosentetik pigment ve nispi su içeriği, membran stabilite indeksi ve yaprak su tutma kapasitesi üzerine olumsuz etkisinin olduğunu belirtmişlerdir.

Palma *et al.* (2009) *Phaseolus vulgaris* L.'de yapmış oldukları çalışmada NaCl'nin (100 ve 150 mM) olumsuz etkilerini azaltmak için salisilik asitin (SA) (0,1 ve 0,5 mM) bitkilerde abiyotik stres toleransını indüklemekten sorumlu endojen bir sinyal molekülü olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir. NaCl ve SA'nın beraber uygulandığı uygulamalarda, bitki kuru ağırlığının ve organik çözünenlerin içeriğinin arttığı ve hücre membran hasarının azaldığı tespit edilmiştir.

Hassanein *et al.* (2012), *Vicia faba* genotiplerinin tuz stresine (75 mM NaCl) tepkilerini belirlemek için yaptıkları çalışmada tuz stresinin bitki büyüme ve gelişimine, fotosentetik kapasiteye, hücre zarı bütünlüğüne ve enzim aktiviteleri üzerine etkilerini incelemişlerdir. Araştırma sonucunda, tuz stresinin büyümeyi baskıladığı yaprak alanı, klorofil ve çözünen protein içeriğini ve kuru madde miktarını azalttığı tespit edilmiştir. Yine aynı çalışmada, tuz stresinin fide büyümesini baskıladığı, yaprak alanını, klorofil ve çözünen protein içeriğini, kuru madde birikimini azalttığı; malondialdehit içeriği, antioksidan enzim aktivitesi ve hücre membran hasarının tuz uygulamasından sonra arttığı tespit edilmiştir.

Yaprak klorofil miktarı, bitkinin stresini gösteren biyokimyasal özelliklerin en önemli fizyolojik ölçümlerinden biridir (El-Lethy *et al.* 2013). Tuzluluk stresi koşullarında fotosentetik pigment içeriğinin azaldığı belirtilmektedir (Bargaz *et al.* 2016). Mohamed *et al.* (2021), fasulyenin metabolizmasını etkileyen tuzluluk stresinin bir sonucu olarak toplam

klorofil içeriğinin azaldığını bildirmişlerdir. Stres koşullarında yetişen bitkilerde klorofil içeriğindeki azalma, tilakoid membran düzensizliğine ve klorofilaz gibi proteolitik enzimlerin neden olduğu klorofil bozulması ile ilişkili olabildiği gösterilmiştir (Li *et al.* 2006). Fasulyede yapılan bir çalışmada (Kul *et al.* 2021), 100 mM NaCl stresi altında büyüme, yaprak su içeriği ve klorofil içeriğinde önemli bir azalma; MDA, H₂O₂, prolin ve sakkaroz içeriğinde ise artışın olduğu belirlenmiştir.

Üç farklı fıstık çeşidinde, NaCl'nin (0, 40, 80 ve 120 mM) yaprak nispi su içeriği, yaprak kuru ağırlığı (YKA), sürgün uzunluğu (SU), yaprak sayısı (YS), dal sayısı (DS) ve toplam yaprak alanı (TYA) gibi büyüme parametreleri ile stoma iletkenliği (Sİ), transpirasyon, fotosentetik verim (FV), PSII ve hücreler arası CO₂ konsantrasyonu gibi fizyolojik özellikleri üzerine olan etkisinin araştırıldığı bir çalışmada (Meguekam *et al.* 2021), NaCl uygulanmasının kontrol bitkilerine kıyasla YKA, SU, YS, DS, TYA, Sİ, FV ve CO₂ konsantrasyonlarında Vanda ve P244601 çeşidinde önemli bir azalmaya yol açtığı 120 mM NaCl'nin ise YKA, SI ve DS parametrelerinin P1184948 çeşidinde bitki büyümesini dikkate değer bir şekilde inhibe ettiği bildirilmiştir. Artan tuz konsantrasyonunun Vanda, P244601 ve kontrol bitkilerine kıyasla P1184948 çeşidinde PSII'de önemli bir artışa neden olduğu ortaya çıkarılmıştır.

Tuzluluk, bitkilerin su alma yeteneğini azaltmakta ve su stresinin etkilerine benzer bir dizi metabolik değişiklik boyunca büyüme hızında hızlı bir düşüşe neden olmaktadır (Munns2002). Talaat *et al.* (2014), fasulyede Nebraska genotipini kullanarak yapmış oldukları çalışmalarında bitkileri 2,5 and 5,0 dS m⁻¹ tuzluluk stresine maruz bırakmışlardır. Araştırma sonucunda tuz stresinin büyümeyi, üretkenliği, membran stabilite indeksini, bağıl su içeriğini, N, P, K, Fe, Zn ve Cu konsantrasyonlarını ve Na⁺/K⁺, Ca²⁺/Na⁺ ve Mg²⁺/Na⁺ oranlarını önemli ölçüde azalttığını bildirmişlerdir.

Lopez *et al.* (2002), fasulyeyi 3 farklı tuz konsantrasyonuna (30, 50, 100 mM) maruz bırakmışlardır. Bu araştırmanın sonucunda artan tuzluluk seviyesine göre stoma iletkenliği, fotosentez oranı ve yaprak nisbi su içeriğinde azalmaların olduğu bildirilmiştir. Asmare and Ambo (2013) tuzluluğun kuru fasulye çeşitlerinin (Lehade ve Chercher) fide stres toleransı, canlılık indeksleri, fitotoksisite ve nispi su içeriği üzerindeki etkisini değerlendirmek için bir çalışma gerçekleştirmiştir. Beş tuzluluk seviyesi (0, 2, 4, 8 ve 16 mM) ile gerçekleştirilen bu çalışmada tuz stresinin tüm çeşitlerde nisbi su içeriğinde azalışa neden olduğu ve bu azalışın çeşitlere göre farklılık gösterdiği bildirilmiştir.

Taffouo *et al.* (2017) üç farklı biber (Granada, Goliath ve Nobili) çeşidinde tuzluluğun (0, 50, 100 ve 200 mM NaCl) büyüme, mineral madde içeriği, klorofil, yaprak bağıl su

içeriği, ozmolit birikimi ve antioksidan bileşikleri üzerine olan etkilerini araştırmışlardır. Tüm çeşitlerde 200 mM NaCl uygulamasında yaprak nisbi su içeriğinde önemli bir düşüş bulunmuş ve özellikle Goliath çeşidinde düşük tuz uygulamalarında bile kök kuru ağırlığı, sürgün kuru ağırlığı, yaprak sayısı, sürgün uzunluğu, gövde çapı, toplam yaprak alanı, klorofil ve yaprak nisbi su içeriğinde azalmaların meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Mısır bitkisi üzerinde tuzluluğun toksik etkisinin incelendiği bir başka çalışmada (Tahjib-Ul-Arif *et al.* 2018) ise 75 mM NaCl konsantrasyonunun yaprak nisbi su içeriğini kontrol bitkilerine kıyasla %10,19 oranında azalttığı bildirilmiştir

Talaat (2015) tuzlu su (0,1 (kontrol), 2,5 and 5,0 dS m⁻¹) koşullarına maruz kalan fasulye bitkisi üzerine yürüttükleri bir çalışmada nitrat içeriği, nitrat redüktaz aktivitesi ve tohumların toplam protein içeriğinin önemli ölçüde azaldığını belirtmiştir.

Osmolit birikimleri, bitki büyüme hormonlarının üretimi, antioksidanların birikmesi ve bitkilerde redoks savunma sistemi gibi çeşitli savunma mekanizmalarının yanı sıra stres kaynaklı genlerin aktivasyonu ve transkripsiyon faktörleri de tuz stresine cevabın ortaya çıkmasında önemlidir. Rady *et al.* (2019), tuz stresi koşullarında (EC=7,43–7,51 ds m⁻¹) yetiştirilen fasulyelerde bitki büyümesi, azot fiksasyonu ve nodüllerde antioksidan savunma enzimlerinin aktivitelerinin etkilendiğini belirtmişlerdir.

Karotenoid Bölünme Oksijenazları (CCO) gen ailesi üyelerinin strese yanıtta yaygın olarak yer aldığı bilinmektedir. *Brassica oleracea*'da CCO gen aile üyelerinden olan CCD1 (Bol044673) ve CCD4 (Bol009345 ve Bol029878) genlerinin, kuraklık ve tuzluluk streslerine oldukça duyarlı olduğu bildirilmiştir (Kim *et al.* 2016). Yapılan bir çalışmada (Jing *et al.* 2016) çeltikte OsCCD1 transkript seviyelerinin, ozmotik stres, tuz stresi ve kalsiyum aracılı ABA sinyali tarafından geçici olarak indüklendiği bildirilmiştir. OsCCD1 geninin çeltik fidelerinde OsDREB2B, OsAPX1 ve OsP5CS genlerinin transkripsiyon seviyelerini artırması aracılığıyla ozmotik ve tuz stresine toleransı artırabildiği vurgulanmıştır. Ayrıca, OsCCD1 geninin, çeltikte ozmotik ve tuz toleransını pozitif olarak düzenlemek için muhtemelen DREB2B genini etkilediği belirtilmiştir.

Ha *et al.* (2014), CCD7 ve CCD8'in kuraklık ve tuzluluk streslerine karşı bitki tepkilerini olumlu şekilde düzenlediğini kanıtlamışlardır. Soya fasulyesi CCD1 (Gm12g36530 ve Gm13g27220), CCD4 (Gm01g35910), CCD7 (Gm11g16370) ve CCD8 (Gm04g08910 ve Gm06g09000) genlerinin bitkilerin abiyotik strese karşı fizyolojik tepkilerini etkilediği bildirilmiştir (Wang *et al.* 2013). Başka bir çalışmada (Matthews *et al.* 2019), sıcaklık stresi koşulları altında miR156OE genotiplerinde MYB53 ve CCD1 ifade seviyelerinin arttığı tespit edilmiştir. MYB53 ve CCD1'in uyarılmış ifadenin yanı sıra miR156OE genotiplerinde

sıcaklık stresi altında lateral organ boundaries (LOB)'nin azalan ifadesi bu genlerin yüksek sıcaklık stresine cevaba katkıda bulunabileceğini düşündürmüştür.

Son zamanlarda birçok çalışma abiyotik stresin yıkıcı etkilerinin hafifletilmesini sağlamak için çevre dostu biyolojik uyarıcıların entegrasyonuna odaklanmaktadır. Doğal bir biyo-uyarıcı madde olarak bilinen melatonin doğal antioksidan kapasitesi nedeniyle stres durumlarında bitki büyümesinin uyarılmasında fayda sağlamaktadır.

Wei *et al.* (2015) melatoninin fotosentezi, karbonhidratların metabolizmasını ve antioksidatif süreçleri, DNA replikasyonunu ve hücre bölünmesini aktive ederek hem normal hem de tuz stresi koşullarında büyüme ve tohum verimini iyileştirebileceğini bildirmişlerdir. Fıstık fidelerinde tuzluluk stresine karşı melatoninin etkisi incelenmiştir (ElSayed 2020). Bu çalışmada dört farklı tuzluluk stresi (25, 50, 100 ve 150 mM) ve altı farklı melatonin (0, 25, 50, 75, 100, 125 ve 150 $\mu\text{mol/L}$) konsantrasyonu uygulanmıştır. Tuzluluk stresine karşı en büyük koruyucu etki, 150 mM tuzluluk seviyelerinde 100 $\mu\text{mol/L}$ melatonin uygulanmasında gözlemlendiği belirtilmiştir. Melatonin uygulamasının, tuzluluğun kök ve sürgün gelişimi, klorofil seviyesi ve iyon sızıntısı üzerindeki engelleyici etkilerini belirgin bir şekilde hafiflettiğini belirtmişlerdir. Ayrıca enzimler, prolin içeriği, endojen poliamin ve melatonin aktivitelerinin arttığı gösterilmiştir. Eksojen melatonin ayrıca besin alımında önemli artışlarla ilişkilendirilmiştir. Araştırma sonucunda, eksojen olarak uygulanan melatoninin, antioksidasyon kabiliyetini, ozmotik aktiviteyi ayarlamayı, besin alımını ve poliamin biyosentezini artırarak tuzluluk hasarını azalttığını bildirmişlerdir.

Siddiqui *et al.* (2019) yaptıkları çalışmalarında melatoninin büyüme ve fizyokimyasal parametreler üzerine ve tuzluluk altında antioksidan savunma sistemindeki rolünün belirlemeyi amaçlamışlardır. Tuzlu olmayan koşullar altında 20 ve 50 μM melatonin uygulamasının, bitki büyümesini iyileştirdiğini yani sürgün uzunluğu, kök uzunluğu, sürgün ve kök taze ağırlığı, sürgün ve kök kuru ağırlığı ve yaprak alanı gibi büyüme parametrelerini ve klorofil a ve b, prolin ve toplam çözünür karbonhidratlar içeriği ve karbonik anhidraz ve Rubisco'nun aktivitesi gibi fizyo-biyokimyasal parametreleri artırdığı belirtilmiştir. Yine araştırmada tuz uygulamasıyla birlikte domates bitkilerinde klorofil bozulması, elektrolit sızıntısı, MDA ve ROT üretimi gerçekleşmiştir. Melatonin uygulamasının bitki büyümesini iyileştirdiği ve fotosentez (CA, Rubisco), ve antioksidan enzimlerinin (süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon redüktaz ve askorbat redüktaz) ve enzimatik olmayan antioksidanların (askorbat ve glutatyon döngüsünü etkileyerek) seviyelerinin düzenlenmesi yoluyla elektrolit sızıntısı, MDA ve ROT seviyelerini azalttığı bildirilmiştir.

Elsayed *et al.* (2021) yapmış oldukları çalışmada yeşil fasulyeyi 150 µM melatonin ile ön işleme tabi tutarak 200 mM NaCl'ye maruz bırakmışlardır. Tuz stresi klorofil miktarında ve PSII aktivitesinde azalmaya, ROT üretiminde ise artışa yol açtığı bildirilmiştir. Eksojen melatonin uygulanmasının, fotosentetik aktiviteyi iyileştirdiği ve antioksidan enzimlerin aktivitesini artırarak oksidatif hasarları hafiflettiği kaydedilmiştir. Ayrıca, CAT, GR, SOD, APX, peroxiredoxin Q (PrxQ) ve 2-sistein peroksiredoksin (2-Cys-Prx) kodlayan genlerin ekspresyonu kontrolle karşılaştırıldığında tuz stresi uygulamasıyla artmıştır. Fakat eksojen melatonin ve NaCl ile beraber uygulanan bitkilerde, tek başına NaCl stresine kıyasla sırasıyla %28,8, %21,1, %26,1, %20,0 %26,2 ve %22,4 daha yüksek CuZnSOD, CAT1, APX, GR, PrxQ ve 2-Cys-Prx transkript seviyelerine sahip olduğu bildirilmiştir.

Han *et al.* (2021) yapmış oldukları bir çalışmada hassas ve bir dayanıklı olmak üzere iki çeşit fasulyenin kullanıldığı bir çalışmada, karşılaştırmalı kök transkriptom analizleri sonucunda tuz stresi ve melatonin tarafından düzenlenen farklı şekilde ifade olmuş genlerin olduğunu tespit etmişlerdir. Tuz stresi altında artan melatonin indüklü genlerin esas olarak transkripsiyonun düzenlenmesinde, oksidasyon-redüksiyon prosesinde, transkripsiyon faktörü aktivitesinde ve oksidoredüktaz aktivitesinde yer aldığı açıklanmıştır. Ayrıca melatoninin tuza dayanıklı çeşitte transdüksiyon genleri, transkripsiyon faktörleri, ubikuitin protein ligazları, iyon homeostazı ve ozmotik ayarlama genlerini önemli ölçüde indüklediği vurgulanmıştır. Başka bir çalışmada (Aygören 2021), fasulyede in siliko olarak belirlenen *SABATH* genlerinin ifade seviyelerine iki farklı abiyotik stres (tuz ve kuraklık) ve bu streslere karşı uygulanan melatoninin etkisi incelenmiştir. Araştırma sonucunda melatonin uygulamasının bu genlerin ifadesini etkilediği tespit edilmiştir.

MATERYAL ve YÖNTEM

Materyal

Kullanılan bitkisel materyal

Araştırmada bitki materyali Elkoca 05 ve Serra çeşitleri kullanılmıştır. Çeşitlerin her ikisi de erkenci olup, Elkoca 05 çeşidi yarı sarılıcı büyüme formuna sahip ve tohum rengi beyazdır. Bodur büyüme formuna sahip olan Serra çeşidi ise barbunya gurubunda yer almaktadır (Aydoğan vd 2020; Kul 2019).

Kullanılan alet ve cihazlar

Araştırmada kullanılan alet ve cihazlar Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. Araştırmada Kullanılan Alet ve Cihazlar

Malzeme	Markası
Derin Dondurucu (-80 °C)	NUAIRE
Derin Dondurucu (-20 °C)	Uğur
Destile Su Cihazı	Milipore
Otoklav	WiseClave WAC-47
Elektroforez Tankı (Yatay)	Thermo
Elektroforez Akım Sağlayıcı	Thermo
Hassas Terazi	Electronic Balance BL-320 H
Kar Üretim Makinesi	Scotsman, AF-80
Steril Kabin	Hedlab X-Pro EN 14175
Jel Görüntüleme Sistemi	PopBio Vü-F Floresans
Mikrodalga Fırın	Arçelik, MD 891 I
Buzdolabı (2-8°C)	Arçelik 2395 CNMY
PCR	Thermo Scientific 5020
Realtime PCR	QIAGEN Rotor-Gene Q
Mikropipet Takımı	Eppendorf G15519D
Santrifüj	Beckman Coulter Allegra X-30R
pH Metre	Ohaus Starter 3000
Su Banyosu	Memmert WB-14
İklimlendirme Dolabı	Sanyo CFC Free Versatile
Isıtmalı Manyetik Karıştırıcı	Heidolph MR-Hei Standart
NanoDrop Spektrofotometre	Thermo Multiskan Go
Mini Santrifüj	Labnet C1301
Mikroskop	Leica Leica ICC50 W
Kuru Hava Sterilizatörü	Memmert UN55
Tezgâh Üstü Blok Isıtıcı	Thermo-Shaker TS-100C

Kullanılan kimyasallar ve çözeltiler

Araştırmada kullanılan çözelti ve solüsyonların kimyasal içerikleri aşağıda sırasıyla verilmiştir.

Sterilizasyonda kullanılan çözeltiler

- %10'luk Sodyum hipoklorit (NaOCl)
- %70'lik Etil alkol (EtOH)

Çimlendirmede kullanılan kimyasallar

Araştırmada çeşitlerin tohumlarının çimlendirilmesinde Murashige and Skoog (1962) temel besi ortamı kullanılmıştır. Bu ortamının kimyasal içeriği ve miktarları Tablo 2'de verilmiştir.

Tablo 2. MS Kültür Ortamının Kimyasal İçeriği ve Miktarları

Kimyasal Bileşimi	Miktarı (mg/l)
İnorganikler	
Makro elementler	
MgSO ₄	180,7
KH ₂ PO ₄	170
CaCl ₂	332,2
KNO ₃	1900
NH ₄ NO ₃	NH ₄ NO ₃
Mikro Elementler	
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025
H ₃ BO ₃	6,2
MnSO ₄ .H ₂ O	16,9
FeSO ₄ .7H ₂ O	27,8
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,6
KI	0,83
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,25
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,025
Na ₂ EDTA	37,26
Organikler	
Pridoksin-HCl	0,5
Glisin	2
Nikotonik asit	0,5
Myo-inositol	100
Tiamin-HCl	0,1

Bitki büyüme aşamasında kullanılan çözeltiler

Araştırmada, bitki büyüme ve stres sırasında Hoagland besin çözeltisi (Sigma H2395-1L) (Hoagland and Arnon 1938) kullanılmıştır. Çözeltide bulunan kimyasal ve miktarları Tablo 3'de verilmiştir.

Tablo 3. Hoagland Besin Çözeltisinin Kimyasal İçeriği ve Miktarları (Hoagland and Arnon 1938)

Kimyasal Bileşimi	Miktarı (mg/l)
İnorganikler	
NH ₄ H ₂ PO ₄	115,03
Ca(NO ₃) ₂	656,4
H ₃ BO ₃	2,86
MoO ₃	0,016
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,22
MgCl ₂ 4H ₂ O	1,81
MgSO ₄	240,76
CuSO ₄ •5H ₂ O	0,08
Fe ₂ (C ₄ H ₄ O ₆) ₃	5,32
KNO ₃	606,6

Stres ajanı ve iyileştirici olarak kullanılan kimyasallar

- 0, 100 ve 200 mM Sodyum klorür (NaCl) (Acros)
- 0, 100, 150 ve 200 µM melatonin (Acros)

mRNA ifade seviyelerinin belirlenmesinde kullanılan kimyasal ve çözeltiler

Bu aşamada kullanılan kimyasal ve çözeltiler Tablo 4’de gösterilmiştir.

Tablo 4. mRNA İfade Seviyelerinin Belirlenmesinde Kullanılan Kimyasallar ve Çözeltiler

RNA izolasyonunda kullanılan kimyasal ve çözeltiler
Trizol reagent (Ambion)
Diethyl pyrocarbonate (DEPC)
Isopropanol (Sigma)
Kloroform (Amresco)
RNase free water (Alfa Easar)
Etil alkol (Isolab)
Sodyum hipoklorit (ACE®)
cDNA sentezi için kullanılan kimyasal ve çözeltiler
DEPC (Sigma)
High-Capacity cDNA Reverse Transcription Sentez Kiti (Thermo)
Nuclease free water (Alfa Easar)
Sodyum hipoklorit (ACE®)
Etil alkol (Isolab)
RT-PCR için kullanılan kimyasal ve çözeltiler
CYBR Green master mix (Bio-Rad)
Etil alkol (Isolab)
DEPC (Sigma)
Nuclease free water (Alfa Easar)
Sodyum hipoklorit (ACE®)
İleri-geri primer (Oligomer)

Mitotik indekste kullanılan kimyasallar

Mitotik indeksin belirlenmesinde kullanılan kimyasallar Tablo 5’de gösterilmiştir.

Tablo 5. Mitotik İndeksin Belirlenmesinde Kullanılan Kimyasallar

Mitotik indekste kullanılan kimyasallar
1-Brom naftalin (Aldrich)
Glasiyel asetik asit (Isolab)
Etil alkol (Isolab)
Hidroklorik asit (Sigma)
Hematoksilen (Sigma)

Yöntem

Araştırmanın yürütülmesi sırasında aşağıdaki ayrıntıları verilen işlemler sırasıyla uygulanmıştır.

Sterilizasyon yöntemleri

Sterilizasyonda kullanılan çözeltilerin hazırlanışı

%1'lik Sodyum hipoklorit (NaOCl) : Ticari ACE® marka %5 NaOCl içeren çamaşır suyundan 20 ml alınarak son hacim saf su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır.

%70'lik Etil Alkol Hazırlanışı: %99,8'lik Etil alkol (EtOH)'den (Isolab 920.026.2500) 70 ml alınarak son hacim saf su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır.

Çalışma ortamı, alet ve ekipmanların sterilizasyonu

Çalışmada kullanılan yüzeyler (steril kabin içi) steril çalışma alanı oluşturmak için kullanımdan önce %70'lik etil alkolle silinmiştir. Alet ve ekipmanlar (pens, bistüri vb.) %70'lik etil alkolden geçirilerek kabin içerisine alınıp UV lambası çalıştırılarak sterilizasyon yapılmıştır.

Besi ortamı ve diğer bileşenlerinin sterilizasyonu

Çalışmada kullanılan ısıda bozulmayan kimyasallar 121°C'de 105 kPa basınçta 15 dakika otoklavlanarak sterilize edilmiş olup, yüksek ısıda bozulan kimyasallar (vitamin vb.) 0,22 µm poroziteli selüloz nitrat filtreler (milipor®) kullanılarak sterilize edildikten sonra besi ortamına eklenmiştir.

Tohum sterilizasyonu

Sağlam olarak seçilen tohumlar musluk suyu altında 5-10 dk süreyle yıkanmış ve %70'lik EtOH'da 2 dakika bekletildikten sonra steril kabin içerisinde 3 defa steril saf suyla yıkanarak 2-3 damla Tween 20 damlatılmış sodyum hipokloritte (%1) 15 dk tutulmuştur. Daha sonra tohumlar steril saf su ile 3 kez durulanmıştır.

Bitki çimlendirme ortamlarının hazırlanması

Tohum çimlendirilmesi için temel besin ortamı olarak Murashige and Skoog (1962) temel besi ortamı kullanılmıştır. 920 ml saf su içerisine 1,975 g MES hydrate (Sigma M2933), 20 g sakkaroz ve 4,3 g Murashige ve Skoog (1962) tuzları (Sigma M5524) eklenerek çözündürülüp, pH 5,8'e 1N NaOH ile ayarlanmış ve 2 g/l phytagel içeren erlenin içine dökülmüştür. Hazırlanan çözelti 121°C'de 105 kPa'da 15 dk otoklavlanarak steril edilmiştir.

Ardından, 20 ml saf su içerisine 1 ml MS vitamin (1000X) (Sigma M3900) konularak, 50°C'ye kadar soğutulan ortama filtre (0.2 µm) edilerek eklenmiştir. Hazırlanan besin ortamı her birinde 100 ml olacak şekilde magenta kaplarına dökülmüştür.

Bitki büyüme besin çözeltisinin hazırlanışı

Hazır olarak temin edilen Hoaglang çözeltisinden (Sigma H2395) 1,6 g tartılmış ve 1 L saf suda çözülürülerek elde edilmiştir.

Stres ajanı ve iyileştirici olarak kullanılan kimyasalların hazırlanışı

NaCl stok çözeltisinin hazırlanışı

Tuz stresi oluşturmak için 1 M NaCl (NaCl=58,44 g/mol) stok çözeltisi hazırlanmıştır. Araştırmada kullanılan NaCl konsantrasyonları için NaCl stok çözeltisinden alınan miktarlar Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 6. Stok NaCl Çözeltisinden Alınan Miktarlar

Konsantrasyon (mM)	1 M NaCl/ 1 L
0	0
100	100 ml
200	200 ml

Melatonin stok çözeltisinin hazırlanışı

Araştırmada kullanılan melatonin konsantrasyonları 1 mM melatonin (232.28 g/mol) çözeltisinden elde edilmiştir. 1mM melatonin çözeltisi hazırlamak için 23,228 mg melatonin 50 ml etanolde çözülürülmüş ve son hacim saf su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır. Araştırmada kullanılan melatonin konsantrasyonları için melatonin stok solüsyonundan alınan miktarlar Tablo 7'de verilmiştir.

Tablo 7. Stok Melatonin Çözeltisinden Alınan Miktarlar

Melatonin (µM)	1 mM Melatonin / 100 ml
0	-
100	10 ml
150	15 ml
200	20 ml

Tohum çimlendirilmesi, bitkilerin yetiştirilmesi ve kimyasal ajanların uygulanması

Yüzey sterilizasyonu yapılmış tohumların embriyosu çıkarılarak MS ortamı içeren magenta kaplarına steril şartlarda ekilmiştir. Fasulye tohumları iklimlendirme dolabında 25°C’de 16:8 saat ışık: karanlık fotoperiyotta fasulye tohumları 7-10 gün kotiledon yapraklar oluşuncaya kadar çimlendirilmeye bırakılmıştır. Işık kaynağı olarak floresan lambası kullanılmış ve ışık yoğunluğu 60 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ olarak ayarlanmıştır.

Kotiledon yaprakları yatay konuma gelen ve ilk gerçek yaprakları görülmeye başlayan fideler hidroponik sisteme aktarılmıştır ve Hoaglang besin çözeltisi (pH=5,5-5,7) uygulanmıştır (Kaya 2011). Bitkilerin, 2. üç yaprakları oluşuncaya kadar gelişmeleri sağlanmıştır. Fasulye fideleri tuz stresine alınmadan 24 saat önce köklerden homojen bir şekilde farklı melatonin konsantrasyonları (0, 100, 150 ve 200 μM) (Yu *et al.* 2018) uygulanmıştır. Daha sonra farklı konsantrasyonlarda NaCl (0, 100 ve 200 mM) (Tablo 8.) (Zapata *et al.* 2003) içeren Hoaglang çözeltisinde hidroponik sistemde aynı şartlarda 7 gün süreyle (Stoeva and Kaymakanova 2018) strese maruz bırakılmıştır. Çözeltiye oksijen sağlamak amacıyla hava pompa sistemi kullanılmış ve köklerin ışık almaması için kaplar alüminyum folyo ile kaplanmıştır. Araştırma tam şansa bağlı deneme planına göre 4 tekerrürlü ve her tekerrürde 15 bitki olacak şekilde kurulmuştur. Bu sürenin sonunda bu bitkilerde aşağıda ayrıntılı olarak verilen morfolojik, fizyolojik ve moleküler incelemeler yapılmıştır.

Tablo 8. Araştırmada İncelenen Tuz (NaCl) ve Melatonin Konsantrasyonları ve Miktarları

NaCl mM	Melatonin μM
0	0
	100
	150
	200
100	0
	100
	150
	200
200	0
	100
	150
	200

Araştırmada incelenen konular

Morfolojik parametreler

Araştırmada aşağıda ayrıntıları verilen morfolojik parametreler incelenmiştir.

Kök uzunluğu

Her tekerrürden şansa bağılı olarak seğıilen 5 bitkinin kök boğıazından kök ucuna kadar olan bölge milimetrik cetvel yardımıyla ölçölmüştür. Sonuqlar mm olarak kaydedilmiştir.

Sürgün uzunluğu (mm)

Her tekerrürden şansa bağılı olarak seğıilen 5 bitkinin kök boğıazından büyüme ucuna kadar olan kısımları milimetrik cetvel yardımıyla ölçölmüş ve sonuqlar mm olarak kaydedilmiştir.

Kök /Sürgün oranı

Kök uzunluğunun sürgün uzunluğuna bölünmesiyle elde edilmiştir.

Kök yaş ve kuru ağırlığı (mg)

Her tekerrürden şansa bağılı olarak seğıilen 5 bitkinin kökleri çeşme suyu altında yıkanmış ve köklerin ağırlıkları hassas terazide (± 0.001 g) ölçölerek yaş ağırlıkları belirlenmiştir. Yaş ağırlığı ölçölen kökler 72°C’de 48 saat bekletilmiş ve nemsiz ortamda ağırlıkları ölçölerek mg olarak kuru ağırlıkları belirlenmiştir.

Sürgün yaş ve kuru ağırlığı (mg)

Her tekerrürden şansa bağılı olarak seğıilen 5 bitkinin sürgünleri köklerinden ayrılmış ve sürgünlerin yaş ağırlıkları hassas terazide (± 0.001 g) ölçölerek belirlenmiştir. Yaş ağırlığı ölçölen sürgünler 72°C’de 48 saat bekletilmiş ve nemsiz ortamda ağırlıkları ölçölerek g olarak kuru ağırlıkları belirlenmiştir.

Fizyolojik parametreler

Araştırmada aşağıda ayrıntıları verilen fizyolojik parametreler incelenmiştir.

Hücre membran hasarı (HMH) (%)

Yaprak disk örnekleri 1 cm kesilerek distile saf su ile yıkanmıştır. Daha sonra 15 ml saf su bulunan falkon tüplerine alınıp 25°C’de 24 saat bekletilmiştir. Bu süre sonunda EC1 değıeri EC metre (Mettler-Toledo, İsviçre) ile ölçölmüştür. Ardından örnekler 121°C’de 20 dk

otoklavlanmış ve 25°C'ye gelinceye kadar soğutulurak, EC₂ değeri yine EC metre ile ölçülmüştür (Lutts *et al.* 1996).

Elde edilen EC₁ ve EC₂ değerleri kullanılarak aşağıdaki formül ile hücre membran hasarı belirlenmiştir.

$$\text{Hücre Membran Hasarı (\%)} = (\text{EC}_1/\text{EC}_2) \times 100$$

Yaprak nispi su içeriği (YNSİ) (%)

Her tekerrür için 5 bitkiden yaprak örnekleri alınarak örneklerinin yaş ağırlıkları (YA) (g) belirlenmiştir. Ardından yaprakların turgorlu hale gelmeleri için içerisinde saf su bulunan kaplarda 4 saat süreyle oda sıcaklığında bekletilmiş ve turgor ağırlıkları (TA) (g) belirlenmiştir. Daha sonra TA'sı belirlenen örnekler 72°C'de etüvde 48 saat süreyle bekletilerek kuru ağırlıkları (KA) (g) kaydedilmiştir.

Yaprak nispi su içeriği elde edilen YA, TA, KA değerleri kullanılarak aşağıdaki formüle göre % olarak hesaplanmıştır (Barr and Weatherley 1962).

$$\text{YNSİ (\%)} = [(YA - KA) / (TA - KA)] \times 100$$

Klorofil İçeriği (Kİ) (SPAD)

Her uygulama için her tekerrürden şansa bağlı olarak seçilen 5 bitkinin üst yaprağının orta damarına gelmeyecek şekilde tam orta kısımları Soil Plant Analysis Development (SPAD) aleti ile (SPAD-502 Chlorophyll Meter; Konica Minolta, Tokyo, Japan) klorofil miktarı belirlenmiştir.

Mitotik indeks (Mİ)

Mitotik indeks testi için kök ucu örnekleri tuz stresi uygulamasının 7. günü sonunda, kök ucundan 1 cm yukarıdan kesilerek alınmıştır. Alınan kökler 1-Bromonaftalin içerisinde 4 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir. 4 saatin sonunda kökler 3 defa saf su ile yıkanmıştır. Yıkanan örnekler Farmer solüsyonunda (3 (%100'lük EtOH): 1 (glasiyal asetik asit)) 2-3 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda kökler 3 kez saf su ile yıkanıp taze hazırlanmış Farmer solüsyonunda +4°C'de çalışıncaya kadar saklanmıştır. Örnekler mitotik inceleme için 5 dk musluk suyu altında yıkanmış ve 1 N HCl ile 60°C'de 10 dakika hidroliz edilmiştir. Tekrar 15 dk boyunca örnekler musluk suyunda yıkanmış ve hematoksilen boya içerisinde 16-17 saat süreyle 17°C'de bekletilmiştir. Boyadan çıkarılan örnekler %45'lik glasiyal asetik asit kullanılarak ezme preparat hazırlanarak incelenmiştir (Elçi 1982). Mikroskopik gözlemlerde hücreler, ışık mikroskobu (Leica DM-500) ile 10, 40 ve 100x

büyütme yapılarak incelenmiştir. Mitotik indeks hesaplanırken her bir uygulamanın tekrerrüü için hazırlanan preparattan rastgele seçilen 4 preparatta toplam 2000-2500 arası hücre (her preparatta 500-650 hücre) sayılmıştır. Mitotik indeks % olarak aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$Mİ (\%) = (\text{Bölünen hücre sayısı (Profaz, Metafaz, Anafaz ve Telofaz)} \times 100) / \text{Toplam hücre sayısı}$

Morfolojik ve fizyolojik parametrelere ait verilerin analizi

Bu parametrelere ait veriler tam şansa bağlı deneme planına göre 2 (genotip) x 3 (NaCl dozu) x 4 (MEL dozu) faktöriyel düzende PROC GLM ile SAS 9.3 programı (SAS Institute 1999) kullanılarak varyans analizine tabi tutulmuş ve ortalamalar arasındaki farklılıklar %5 önem seviyesinde Fisher's LSD çoklu karşılaştırma testi ile yapılmıştır.

Gen ifade analizi

Araştırmada mRNA ifade seviyesinin analizi için Bulk RNA örnekleme stratejisi uygulanmıştır. Her uygulamanın her tekrerründe şansa bağlı olarak seçilen bitki örneklerinin kök ve yaprak kısımları ayrı ayrı izole edilmiş ve her iki dokuda da ilgili gen ifade analizi gerçekleştirilmiştir. Gen ifade analizi için aşağıda ayrıntılı olarak verilen basamaklar sırasıyla uygulanmıştır.

RNA İzolasyonu

Fasulyeden RNA izolasyonu Trizol® reagent (Invitrogene, USA) kullanılarak yapılmıştır. RNA izolasyon aşamaları:

- Çalışmaya başlamadan önce çalışılacak ortam ve kullanılacak alet ve ekipmanlar %70'lik EtOH ve DEPC ile steril edilmiştir.
- 100 mg bitki örnekleri tartılıp havanlar içerisinde sıvı azot kullanılarak öğütölüp toz haline getirilmiştir. Toz haline getirilen örnekler steril ependorf tüplere alınarak sıvı azot içerisine atılmıştır.
- Sıvı azottan alınan tüplerin kapakları atmayı önlenmesi amacı ile açılmıştır.
- Tüplerin üzerine 1 ml Trizol reaktifi eklenmiştir.
- Trizol reaktifi eklenen örnekler nükleoprotein komplekslerinin tamamen ayrışmasını sağlamak için 5 dk oda sıcaklığında bekletilerek sonrasında 30 saniye boyunca vortekslenmiştir.
- Her bir ependorf tüpüne 0,2 ml kloroform eklenmiştir.

- Ardından kapaklar sıkıca kapatılarak hızlı bir şekilde elle 15 saniye çalkalanmış ve oda sıcaklığında 5 dakika bekletilmiştir. Bu işlem sonrasında tüpler 4°C’de 10 dakika 15000 rpm’de santrifüj edilmiştir.
- Üstteki sıvı faz yeni bir steril ependorf tüpe alınmış ve tüp üzerine RNA’nın çökmesini sağlamak için 500 µl isopropanol eklenmiştir. Ardından örnekler oda sıcaklığında 10 dakika bekletilmiştir.
- 15000 rpm’de 4°C’de 10 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Üst faz atılmış ve altta kalan pelet kısım üzerine 1 ml %75’lik etil alkol eklenmiştir. Yıkama işlemi için örnekler vorteks ile karıştırılarak 1000 rpm’de 4°C’de 5 dakika santrifüj edilmiştir.
- Santrifüj işlemi bittikten sonra üst faz dökülüp etil alkolün uzaklaşması için örnekler oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır.
- Etil alkol iyice uzaklaştıktan sonra RNA örnekleri 30 µl RNase free water ile çözündürülmüştür. Çözdürülen RNA örnekleri kullanıma kadar -80°C de muhafaza edilmiştir.
- RNA’ların kantitatif tayini Nanodrop’ta (Qiagen) A_{260/280} absorpsiyon oranındaki ölçümler ile yapılarak belirlenmiştir. RNA miktarları belirlendikten sonra tüm örneklerin konsatrasyonları 0,5 µg olacak şekilde ayarlanmıştır.

cDNA analizi

cDNA sentezi için üretici firma High-Capacity cDNA Reverse Transcription cDNA Sentez Kiti (K1621, Thermo Scientific) protokolüne göre şu işlemler uygulanmıştır (Tablo 9.).

Tablo 9. cDNA Analizi İçin Kullanılan Malzemeler ve Miktarlar

Kullanılan Malzemeler	Miktarlar
10X RT Buffer	2.0 µL
MultiScribe™ Reverse Transcriptase	1.0 µL
25X dNTP Mix (100 mM)	0.8 µL
Nuclease-free H ₂ O	4.2 µL
10X RT Random Primers	2.0 µL
RNA miktarı	10 µL
Total	20 µL

Hazırlanan karışım çok kısa santrifüj edildikten sonra PCR cihazına yerleştirilmiştir. 25°C’de 10 dk, 37°C’de 120 dk ve 85°C’de 5 dk tutulmuştur. Elde edilen cDNA’lar qRT-PCR’da kullanılmak üzere -20°C’de saklanmıştır.

qRT-PCR analizi

qRT-PCR işlemini gerçekleştirmek için SYBR Green Master Mix (Bio-Rad) qPCR kiti kullanılmıştır. Protokol üretici firmanın talimatları esas alınarak uygulanmıştır. Mix karışımının içeriği Tablo 10’ da gösterilmiştir.

Tablo 10. qPCR Analizinde Kullanılan Kimyasallar

Kullanılan Malzemeler	Miktarlar
cDNA	4 µl
SYBR Green Master Mix	10 µl
İleri Primer (0,3 µM)	3 µl
Geri Primer (0,3 µM)	3 µl
Son Hacim	20 µl

Hazırlanan mix strip tüplerine eşit oranda dağıtılmıştır. Strip tüpleri Qiagen Rotor Gene cihazına yerleştirilmiştir. Döğü; 95°C’de 20 saniye, 40 döngü olacak şekilde 95°C’de 15 sn, 60°C 30 saniye, 72°C primerlerin bağlanma sıcaklıklarına göre 30 sn, 72°C’de 2 dk ayarlanarak qPCR çalıştırılmıştır.

Primerlerin hazırlanması

PvCCD1 geni ile referans gen olarak seçilen *Actin-11* genlerinin primer dizilimleri, yapılan literatür araştırmaları sonucunda belirlenmiştir. Hedef genler ile referans genlere ait ileri ve geri primer dizilimleri Tablo 11’de verilmiştir.

Tablo 11. Kullanılan Primerlerlerin Baz Dizilimi ve Tm Sıcaklıkları (Barraza *et al.* 2015; López 2019)

Primerler	İleri (5' →3')	Geri (5' →3')	Tm Sıcaklığı (°C)
<i>PvCCD1</i>	TGTTGCGGTTGTGGAATTGC	TGAGGCAGAACAACACAGTG	59
<i>Actin-11</i>	TGCATACGTTGGTGATGAGG	AGCCTTGGGGTTAAGAGGAG	58

Verilerin değerlendirilmesi ve analizi

Gen ifadesinin analizi sonucunda örneklerin eşik (threshold) değerleri elde edilmiştir. qRT-PCR analiz sonuçlarına göre örneklerin elde edilen Ct değerlerine ait standart sapmalar

Microsoft Excel programı ile hesaplanmıştır. Her bir uygulama 4 tekerrür üzerinden değerlendirilmiş ve her bir tekerrür iki teknik kopya halinde analiz edilmiştir. Genlerin ifade oranları Livak and Schmittgen (2001)'e göre $2^{-\Delta\Delta C_t}$ oransal hesaplama algoritması kullanılarak belirlenmiştir. qRT-PCR analizinde genlerin ifadesi referans gen ifadesine göre gerçekleştirilmiştir. NaCl ve melatonin uygulamalarının her bir kombinasyonu bir uygulama olarak değerlendirilmiş ve veriler tam şansa bağlı deneme planına göre 2 (genotip) x 12 (uygulama) faktöriyel düzeninde varyans analizine tabi tutulmuştur. Varyans analizi sonucunda genotip x uygulama interaksyonu önemli bulunmuş ve her bir çeşit için uygulamalar (basit ana etki) arasındaki farklar LSD çoklu karşılaştırma testiyle %5 önem seviyesinde karşılaştırılmıştır.



ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu araştırmada Serra ve Elkoca 05 fasulye çeşitlerinde NaCl ile oluşturulan farklı tuzluluk şiddetine (0, 100 ve 200 mM) karşı uygulanan melatoninin (0, 100 150 ve 200 µM) morfolojik ve fizyolojik parametreler ile *CCD1* geninin ifadesine olan etkileri incelenmiştir. Bu parametrelere ait bulgular aşağıda verilmiştir.

Morfolojik Parametreler

Kök ve sürgün uzunluğu (mm)

Tablo 12 incelendiğinde kök uzunluğu (mm) üzerine çeşidin, tuz stresinin ve melatonin uygulamasının ana etkilerinin önemli ($p<0,01$) olduğu tespit edilmiştir. Çeşidin ana etkisi değerlendirildiğinde Elkoca 05 çeşidinin kök uzunluğunun (146,6 mm) Serra (95,7 mm) çeşidine göre yüksek olduğu belirlenmiştir. Diğer taraftan tuzluluk stresinin ve melatonin uygulamalarının ana etkileri değerlendirildiğinde tuzluluk stresi şiddetindeki artışa paralel olarak kök uzunluğu azalırken, melatonin konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak kök uzunluğunda artış belirlenmiştir. Diğer faktörlerin ortalamasına göre, en düşük kök uzunluğu 200 mM NaCl'de (105,8 mm); melatonin uygulamasında ise en yüksek kök uzunluğu 200 µM'de (131,3 mm) belirlenmiştir (Tablo 13.).

Tablo 12. Kök Uzunluğuna Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	p
Çeşit (Ç)	1	62169,260	3726,274	0,000
NaCl konsantrasyonu (N)	2	10789,260	646,682	0,000
Melatonin konsantrasyonu (M)	3	5106,010	306,042	0,000
ÇxN	2	278,948	16,719	0,000
ÇxM	3	121,983	7,311	0,000
NxM	6	622,885	37,334	0,000
ÇxNxM	6	210,628	12,625	0,000
Hata	72	16,684		
Toplam	96			

Tablo 13. Farklı NaCl ve Melatonin Konsantrasyonlarına Göre Çeşitlerin Kök ve Sürgün Uzunlukları ve Kök/Sürgün Oranları Değerleri

VK	Genotip	NaCl (mM)	Melatonin(μM)	KU (mm)	SU (mm)	KU/SU
ÇxNxM	Serra	0	0	160,0	623,3	0,257
			100	163,0	662,0	0,246
			150	165,3	675,0	0,245
			200	170,0	687,5	0,247
		100	0	112,5	352,5	0,319
			100	152,5	527,5	0,289
			150	157,5	572,5	0,275
			200	157,5	512,5	0,307
		200	0	100,0	295,0	0,339
			100	130,0	470,0	0,277
			150	140,0	485,0	0,289
			200	151,3	462,3	0,327
	Elkoca 05	0	0	110,0	297,3	0,370
			100	115,0	322,3	0,357
			150	122,5	330,0	0,372
			200	126,3	342,3	0,369
		100	0	61,3	145,0	0,423
			100	93,8	272,5	0,344
			150	95,0	287,0	0,331
			200	100,0	247,3	0,404
		200	0	53,8	122,3	0,440
			100	98,8	186,3	0,530
			150	90,0	205,0	0,439
			200	82,5	172,3	0,479
			LSD _{0,05}	5,8	6,7	0,023
ÇxN	Serra	0	164,6	661,9	0,249	
		100	-	491,3	0,298	
		200	130,3	428,1	0,308	
	Elkoca 05	0	118,4	322,9	0,367	
		100	-	237,9	0,376	
		200	81,3	171,4	0,472	
		LSD _{0,05}	2,9	3,3	0,011	
ÇxM	Serra	-	0	124,2	423,6	0,305
			100	148,5	553,2	0,271
			150	154,3	577,5	0,270
			200	159,6	554,1	0,294
	Elkoca 05	-	0	75,0	188,2	0,411
			100	102,5	260,3	0,410
			150	102,5	274,0	0,381
			200	102,9	253,9	0,417
			LSD _{0,05}	3,3	3,8	0,013
NxM	-	0	0	135,0	460,3	0,313
			100	139,0	492,1	0,302
			150	143,9	502,5	0,308
			200	148,1	514,9	0,308
		100	0	86,9	248,8	0,371
			100	123,1	400,0	0,317
			150	126,3	429,8	0,303
			200	128,8	379,9	0,356
	-	200	0	76,9	208,6	0,389
			100	114,4	328,1	0,403
			150	115,0	345,0	0,364
			200	116,9	317,3	0,403
			LSD _{0,05}	4,1	4,7	0,016
N	-	0	141,5	492,4	0,313	
		100	-	364,6	0,371	
		200	105,8	299,8	0,389	
		LSD _{0,05}	2,0	2,4	0,008	
M	-	-	0	99,6	305,9	0,358
			100	125,5	406,8	0,341
			150	128,4	425,8	0,325
			200	131,3	404,0	0,356
			LSD _{0,05}	2,4	2,7	0,009
Ç	Serra	-	-	95,7	244,1	0,285
	Elkoca 05	-	-	146,6	527,1	0,405
	LSD _{0,05}	1,7	1,9	0,007		
GENEL ORTALAMA				121,2	385,6	0,345
Varyasyon Katsayısı (%)				3,4	1,2	4,7

Melatonin uygulamasının ortalamasına göre her iki çeşitte de tuz stresi şiddetindeki artışa bağlı olarak kök uzunluğunda önemli bir düşüş meydana gelmiş ve bu düşüşün Elkoca 05 çeşidinde daha yüksek olması ÇxN interaksiyonunun önemli ($p<0,01$) çıkmasına neden olmuştur (Tablo 12.). Diğer taraftan, tuzluluk stresinin ortalamasına göre her iki çeşitte de melatonin konsantrasyonuna bağlı olarak kök uzunluğunda artış belirlenmiştir. 0 μ M melatonin uygulamasına göre 200 μ M melatoninde en fazla artış Elkoca 05’de meydana gelmiş (Tablo 13.) ve kök uzunluğu bakımından melatonin uygulamasına tepkinin çeşitlere göre farklılık gösterdiği ÇxM interaksiyonunun önemli ($p<0,01$) çıkmasına neden olmuştur (Tablo 12.).

Stres şartlarındaki kök uzunluğunun, melatonin konsantrasyonuna bağlı olarak değişmesi NxM interaksiyonunun önemli ($p<0,01$) olmasına neden olmuştur (Tablo 12.). NaCl’nin tüm konsantrasyonlarında melatonin konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak kök uzunluğunda artış belirlenmiştir (Tablo 13.).

Çeşitlerin tuzluluk stresi ve melatonin konsantrasyonlarına göre kök uzunluğunun değişiklik göstermesi ÇxNxM interaksiyonunun önemli ($p<0,01$) çıkmasına neden olmuştur (Tablo 12.). Elkoca 05 ve Serra çeşitlerinde en düşük kök uzunluğu 200 mM NaCl ve 0 μ M melatonin uygulamasında sırasıyla 53,8 mm ve 100,0 mm olarak tespit edilmiştir. Öte yandan en yüksek kök uzunluğu Elkoca 05 çeşidinde (126,3 mm) 0 mM NaCl ve 200 μ M melatonin uygulamasında belirlenirken; Serra çeşidinde yine aynı uygulamada 170,0 mm olarak belirlenmiştir (Tablo 13.).

Sürgün uzunluğuna (mm) ait varyans analiz sonuçları Tablo 14’de verilmiştir. İlgili tablo incelendiğinde sürgün uzunluğu üzerine çeşidin, tuz stresinin ve melatonin konsantrasyonunun ana etkilerinin önemli ($p<0,01$) olduğu belirlenmiştir. Çeşitlerin ana etkisi değerlendirildiğinde sürgün uzunluğu Serra çeşidinde 244,1 mm, Elkoca 05 çeşidinde ise 527,1 mm olarak tespit edilmiştir. Melatonin uygulamasının ana etkisi incelendiğinde, melatonin konsantrasyonuna bağlı olarak sürgün uzunluğunda artma meydana gelmiş ve 150 μ M melatonin konsantrasyonunda bu artma daha fazla olmuştur. Diğer taraftan artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak sürgün uzunluğunun azalış gösterdiği tespit edilmiş ve en düşük sürgün uzunluğu 200 mM NaCl’de 299,8 mm olarak kaydedilmiştir (Tablo 13.).

Tablo 14. Sürgün Uzunluğuna Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	p
Çeşit (Ç)	1	1921853,010	85906,203	0,000
NaCl konsantrasyonu (N)	2	307611,781	13750,146	0,000
Melatonin konsantrasyonu (M)	3	70031,844	3130,401	0,000
ÇxN	2	18851,948	842,676	0,000
ÇxM	3	6151,622	274,975	0,000
NxM	6	7991,781	357,230	0,000
ÇxNxM	6	1242,809	55,553	0,000
Hata	72	22,372		
Toplam	96			

Melatonin uygulamasının ortalamasına göre stresteki artışa bağlı olarak iki çeşitte de sürgün uzunluğunda önemli bir azalış gözlenmiştir (Tablo 13.), çeşitlerin stres şiddetine göre sürgün uzunluklarının farklılık göstermesi ÇxN interaksiyonun önemli ($p<0,01$) çıkmasına neden olmuştur (Tablo 14.).

Tuz stresinin ortalamasına göre çeşitlerin sürgün uzunlukları artan melatonin konsantrasyonuna paralel olarak artmış (Tablo 13.) ve ÇxM interaksiyonu önemli ($p<0,01$) olmuştur (Tablo 14.). Yine araştırmada, NaCl uygulamalarında melatonin konsantrasyonuna bağlı olarak sürgün uzunluğunun farklılık göstermesi NxM interaksiyonun önemli ($p<0,01$) olmasına neden olmuştur (Tablo14.).

Her iki çeşitte de en yüksek sürgün uzunluğu 0 mM NaCl ve 200 μ M melatonin uygulamasında Serra için 687,5 mm, Elkoca 05 için 342,3 mm olarak tespit edilmiştir. En düşük sürgün uzunluğu ise iki çeşitte de 200 mM NaCl ve 0 μ M melatoninde Serra’da 295,0 mm Elkoca 05’de ise 122,3 mm olarak tespit edilmiştir (Tablo 13.). Çeşitlerin sürgün uzunluğunun tuz stresi ve melatonin konsantrasyonlarına göre değişim göstermesi ÇxNxM interaksiyonunun önemli ($p<0,01$) çıkmasına neden olmuştur (Tablo 14.).

Kök/sürgün oranı

Kök/sürgün oranına ait varyans analiz tablosu Tablo 15’de verilmiştir. İlgili tablo incelendiğinde kök/sürgün oranı üzerine çeşit, tuz stresi ve melatonin uygulamalarının ana etkilerinin önemli ($p<0,01$) olduğu belirlenmiştir. Çeşidin ana etkisi değerlendirildiğinde, Serra çeşidinde kök/sürgün oranı 0,285 olurken; Elkoca 05 çeşidinde ise bu oran 0,405 olarak tespit edilmiştir. Kök/sürgün oranının melatonin konsantrasyonuna bağlı olarak değiştiği ve

en düşük oran (0,325) 150 μ M melatonin konsantrasyonunda belirlenmiştir. Diğer taraftan, tuzluluk şiddeti ile birlikte kök/sürgün oranının arttığı tespit edilmiştir (Tablo 13.).

Araştırmada kök/sürgün oranı üzerine ÇxN, ÇxM, NxM ve ÇxNxM interaksiyonlarının etkisinin önemli ($p<0,01$) olduğu tespit edilmiştir (Tablo 15.). Melatonin konsantrasyonu ortalamasına göre her iki çeşitte de strese bağlı olarak kök/sürgün oranının arttığı tespit edilmiştir. Diğer taraftan tuzluluk stresi ortalamasına göre çeşitlerin kök/sürgün oranı Serra çeşidinde artan melatonin konsantrasyonuna bağlı olarak azalırken, Elkoca 05 çeşidinde melatonin konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak özellikle 100 ve 150 μ M melatonin uygulamalarında azalış göstermiş; ancak 200 μ M melatonin uygulamasında ise artış gösterdiği belirlenmiştir. Özellikle kök/sürgün oranındaki bu azalış her iki çeşitte de özellikle 150 μ M melatonin konsantrasyonunda gerçekleşmiştir (Tablo 13.). Ayrıca araştırmada, stres şartlarında kök/sürgün oranı melatonin konsantrasyonlarında farklılık göstermesi NxM interaksiyonunun önemli olmasına neden olmuştur (Tablo 15.). Çeşitlerin kök/sürgün oranının NaCl ve melatonin konsantrasyonlarına göre değerlendirildiğinde en yüksek kök/sürgün oranı Serra çeşidinde 200 mM NaCl ve 0 μ M melatonin uygulamasında 0,339 olarak; Elkoca 05 çeşidinde ise 200 mM NaCl ve 100 μ M melatonin uygulamasında 0,530 olarak belirlenmiştir (Tablo 13.). En düşük değer ise Serra çeşidinde (0,245) 0 mM NaCl ve 150 μ M melatonin uygulamasında, Elkoca 05 çeşidinde (0,357) ise 0 mM NaCl ve 100 μ M melatonin uygulamasında elde edilmiştir (Tablo 13.).

Tablo 15. Kök/Sürgün Oranına Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	p
Çeşit (Ç)	1	0,346	1300,053	0,000
NaCl konsantrasyonu (N)	2	0,056	209,058	0,000
Melatonin konsantrasyonu (M)	3	0,006	20,944	0,000
ÇxN	2	0,015	55,905	0,000
ÇxM	3	0,001	5,153	0,003
NxM	6	0,003	10,425	0,000
ÇxNxM	6	0,004	15,734	0,000
Hata	72	0,000		
Toplam	96			

Kök yaş ve kuru ağırlığı (g)

Kök yaş ve kuru ağırlığına ait varyans analizi tablosu sırasıyla Tablo 16 ve Tablo 17’de verilmiştir. İlgili tablolar incelendiğinde kök yaş ve kuru ağırlığına çeşidin, NaCl ve melatonin konsantrasyonlarının ana etkilerinin önemli ($p<0,01$) olduğu tespit edilmiştir. NaCl ve melatonin uygulamasının ortalamalarına göre Elkoca 05 çeşidinin kök yaş ve kuru ağırlığının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Kök yaş ve kuru ağırlığı Elkoca 05’de

sırasıyla 0,527 g ve 0,054 g iken; Serra çeşidinde 0,244 g ve 0,041 g olarak belirlenmiştir (Tablo 18.). Bu özellikler üzerine melatoninin ana etkisi değerlendirildiğinde ise en yüksek kök yaş ağırlığı 150 μ M melatonin konsantrasyonunda 0,426 g olarak belirlenirken, kök kuru ağırlığı 150 ve 200 μ M melatonin uygulamasında 0,053 g olarak kaydedilmiştir. En düşük kök yaş ağırlığı 200 mM NaCl'de 0,300 g olarak belirlenmiş yine en düşük kök kuru ağırlığı 200 mM NaCl'de 0,034 g olarak tespit edilmiştir (Tablo 18.). En düşük kök yaş ve kuru ağırlık 200 mM NaCl'de sırasıyla 0,300 ve 0,034 g olarak tespit edilmiştir.

Tablo 16. Kök Yaş Ağırlığına Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	p
Çeşit (Ç)	1	1,922	85906,203	0,000
NaCl konsantrasyonu (N)	2	0,308	13750,146	0,000
Melatonin konsantrasyonu (M)	3	0,070	3130,401	0,000
ÇxN	2	0,019	842,676	0,000
ÇxM	3	0,006	274,975	0,000
NxM	6	0,008	357,230	0,000
ÇxNxM	6	0,001	55,553	0,000
Hata	72	0,000		
Toplam	96			

Tablo 17. Kök Kuru Ağırlığına Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	p
Çeşit (Ç)	1	0,004	682,482	0,000
NaCl konsantrasyonu (N)	2	0,008	1170,526	0,000
Melatonin konsantrasyonu (M)	3	0,002	261,533	0,000
ÇxN	2	0,000	14,336	0,000
ÇxM	3	0,000	1,424	0,243
NxM	6	0,000	29,992	0,000
ÇxNxM	6	0,000	2,235	0,049
Hata	72	0,000		
Toplam	96			

Tablo 18. Farklı NaCl ve Melatonin Konsantrasyonlarına Göre Çeşitlerin Kök ve Sürgün Yaş ve Kuru Ağırlıkları

VK	Genotip	NaCl (mM)	Melatonin(μ M)	Kök		Sürgün		
				YA (g)	KA (g)	YA (g)	KA (g)	
ÇxNxM	Serra	0	0	0,623	0,064	2,170	0,175	
			100	0,662	0,070	2,462	0,188	
			150	0,675	0,076	2,834	0,210	
			200	0,688	0,082	2,844	0,216	
		100	0	0,353	0,033	1,305	0,128	
			100	0,528	0,050	2,315	0,153	
			150	0,573	0,055	2,415	0,158	
			200	0,513	0,060	2,753	0,160	
		200	0	0,295	0,027	0,933	0,116	
			100	0,470	0,045	1,798	0,147	
			150	0,485	0,048	1,945	0,147	
			200	0,462	0,040	1,613	0,146	
	Elkoca 05	0	0	0,297	0,050	1,635	0,121	
			100	0,322	0,054	1,803	0,129	
			150	0,330	0,057	2,105	0,136	
			200	0,342	0,060	2,495	0,166	
		100	0	0,145	0,020	0,784	0,060	
			100	0,273	0,040	1,255	0,101	
			150	0,287	0,045	1,356	0,106	
			200	0,247	0,048	1,445	0,111	
		200	0	0,122	0,017	0,714	0,055	
			100	0,186	0,030	0,998	0,088	
			150	0,205	0,037	0,585	0,091	
			200	0,172	0,027	1,887	0,078	
	LSD _{0,05}			0,057	0,030	0,191	0,013	
ÇxN	Serra	0	0,662	0,073	2,577	0,197		
		100	0,491	0,050	2,197	0,149		
		200	0,428	0,040	1,572	0,139		
	Elkoca 05	0	0,323	0,055	2,009	0,138		
		100	0,238	0,038	1,210	0,095		
		200	0,171	0,028	1,046	0,078		
	LSD _{0,05}			0,028	0,015	0,096	0,006	
	ÇxM	Serra	-	0	0,424	0,041	1,470	0,140
100				0,553	0,055	2,191	0,163	
150				0,578	0,060	2,398	0,172	
200				0,554	0,061	2,403	0,174	
Elkoca 05		-	0	0,188	0,029	1,044	0,079	
			100	0,260	0,042	1,352	0,106	
			150	0,274	0,046	1,349	0,111	
			200	0,254	0,045	1,942	0,118	
LSD _{0,05}			0,033	-	0,111	0,007		
NxM		-	0	0	0,460	0,057	1,902	0,148
				100	0,492	0,062	2,132	0,159
				150	0,503	0,067	2,470	0,173
	200			0,515	0,071	2,669	0,191	
	100		0	0,249	0,026	1,045	0,094	
			100	0,400	0,045	1,785	0,127	
			150	0,430	0,050	1,885	0,132	
			200	0,380	0,054	2,099	0,135	
	200	0	0,209	0,022	0,823	0,086		
		100	0,328	0,038	1,398	0,118		
		150	0,345	0,042	1,265	0,119		
		200	0,317	0,034	1,750	0,112		
	LSD _{0,05}			0,040	0,022	0,135	0,009	
	N	-	0	0,492	0,064	2,293	0,168	
			100	0,365	0,044	1,704	0,122	
			200	0,300	0,034	1,309	0,109	
LSD _{0,05}			0,020	0,011	0,068	0,005		
M	-	-	0	0,306	0,035	1,257	0,109	
			100	0,407	0,048	1,772	0,135	
			150	0,426	0,053	1,873	0,141	
			200	0,404	0,053	2,173	0,146	
			LSD _{0,05}			0,023	0,012	0,078
Ç	Serra	-	-	0,244	0,041	1,422	0,104	
	Elkoca 05	-	-	0,527	0,054	2,116	0,162	
	LSD _{0,05}			0,016	0,009	0,055	0,004	
GENEL ORTALAMA				0,386	0,047	1,769	0,133	
Varyasyon Katsayısı (%)				1,2	5,4	7,7	0,8	

Melatonin uygulamasının ortalamasına göre stresteki artışa bağlı olarak her iki çeşitte kök kuru ve yaş ağırlığında önemli bir azalış meydana gelmiş (Tablo 18.) ve her iki parametrede de ÇxN interaksyonu önemli ($p<0,01$) olmuştur (Tablo 16. ve 17.). Yine ÇxM interaksyonunun kök yaş ağırlığına etkisinin önemli ($p<0,01$) olduğu buna karşın (Tablo 16.), kök kuru ağırlığına etkisinin ise önemsiz ($p>0,05$) olduğu bulunmuştur (Tablo 16.). Stres şiddetlerinin tamamında melatonin konsantrasyonundaki artış kök yaş ve kuru ağırlığında da artışa neden olmuş ve de NxM interaksyonu önemli ($p<0,01$) olmuştur (Tablo 16. ve 17.).

Araştırmada çeşitlerin kök yaş ve kuru ağırlığının tuzluluk şiddetine ve melatonin konsantrasyonuna göre değişmesi ÇxNxM interaksyonunun önemli çıkmasına neden olmuştur (Tablo 16. ve 17.). Her iki çeşitte de en yüksek kök yaş ve kuru ağırlık 0 mM NaCl ve 200 μ M melatonin uygulamasında elde edilirken, en düşük 200 mM NaCl ve 0 μ M melatonin uygulamasında elde edilmiştir.

Sürgün yaş ve kuru ağırlığı (g)

Sürgün yaş ve kuru ağırlığına ait varyans analiz tabloları Tablo 19 ve Tablo 20’de verilmiştir. İlgili tablolar incelendiğinde sürgün yaş ve kuru ağırlığı üzerine çeşit, tuzluluk stresi ve melatonin uygulamalarının ana etkilerinin her iki parametrede de önemli ($p<0,01$) olduğu belirlenmiştir. Çeşidin ana etkisi değerlendirildiğinde, Serra çeşidinde yaş ve kuru ağırlık sırasıyla 1,422 ve 0,104 g olurken; Elkoca 05 çeşidinde 2,116 g ve 0,162 g olarak tespit edilmiştir. Melatonin konsantrasyonundaki artışa paralel olarak her iki parametrede artış görülmüş ve 200 μ M melatonin konsantrasyonunda en yüksek sürgün yaş (2,173 g) ve kuru ağırlık (0,146 g) belirlenmiştir. Diğer taraftan, NaCl konsantrasyonundaki artışın sürgün yaş ve kuru ağırlığını azalttığı tespit edilmiştir (Tablo 18.).

Tablo 19. Sürgün Yaş Ağırlığına Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	p
Çeşit (Ç)	1	11,553	625,976	0,000
NaCl konsantrasyonu (N)	2	7,851	425,423	0,000
Melatonin konsantrasyonu (M)	3	3,492	189,183	0,000
ÇxN	2	0,519	28,131	0,000
ÇxM	3	0,548	29,675	0,000
NxM	6	0,150	8,137	0,000
ÇxNxM	6	0,366	19,820	0,000
Hata	72	0,018		
Toplam	96			

Tablo 20. Sürgün Kuru Ağırlığına Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	p
Çeşit (Ç)	1	0,081	70200,234	0,000
NaCl konsantrasyonu (N)	2	0,031	26598,293	0,000
Melatonin konsantrasyonu (M)	3	0,006	5518,254	0,000
ÇxN	2	0,000	64,055	0,000
ÇxM	3	0,000	42,775	0,000
NxM	6	0,001	492,245	0,000
ÇxNxM	6	0,000	146,966	0,000
Hata	72	0,000		
Toplam	96			

Araştırmada sürgün yaş ve kuru ağırlığı üzerine ÇxN, ÇxM, NxM ve ÇxNxM interaksiyonlarının etkisinin önemli ($p<0,01$) olduğu tespit edilmiştir (Tablo 19.). Melatonin uygulamasının ortalamasına göre her iki çeşitte de artan strese bağlı olarak sürgün yaş ve kuru ağırlığının azaldığı tespit edilmiştir. Diğer taraftan tuzluluk stresinin ortalamasına göre çeşitlerin sürgün yaş ve kuru ağırlıkları her iki çeşitte de melatonin konsantrasyonuna bağlı olarak artmıştır. Sürgün yaş ve kuru ağırlığındaki en yüksek değer her iki çeşitte de 200 μ M melatonin konsantrasyonunda belirlenmiştir (Tablo 18.). Stres şartlarındaki sürgün yaş ve kuru ağırlığının, melatonin konsantrasyonuna bağlı olarak değişmesi NxM interaksiyonunun önemli ($p<0,01$) olmasına neden olmuştur (Tablo 19. ve 20.). Stres uygulamalarının tamamında melatonin konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak sürgün yaş ve kuru ağırlığında artış belirlenmiştir (Tablo 13.). Ayrıca araştırmada, sürgün yaş ve kuru ağırlığında tüm stres şartlarında melatonin konsantrasyonundaki artışla birlikte arttığı tespit edilmiştir. Çeşitlerin tuzluluk şiddeti ve melatonin konsantrasyonlarına göre sürgün yaş ve kuru ağırlıkları değerlendirildiğinde en düşük değer iki çeşitte de 200 mM NaCl ve 0 μ M melatonin uygulamasından elde edilirken; en yüksek değer 0 mM NaCl ve 200 μ M melatonin uygulamasında elde edilmiştir (Tablo 18.).

Fizyolojik Parametreler

Hücre membran hasarı (HMH)

Hücre membran hasarı bakımından, çeşitlerin ana etkisi önemli bulunmuş (Tablo 21.) ve Elkoca 05 çeşidinin HMH'nın Serra çeşidine göre yüksek olduğu tespit edilmiştir (Tablo 22.). Diğer taraftan tuzluluk stresinin ve melatonin konsantrasyonlarının ana etkileri değerlendirildiğinde tuzluluk stresindeki artışa paralel olarak HMH artarken, melatonin

konsantrasyonundaki artışa paralel olarak HMH'nin azaldığı tespit edilmiştir. Uygulamaların ana etkilerine bakıldığında en yüksek HMH %54,3 ile 200 mM NaCl'de, en düşük ise %36,2 ile 200 µM melatonin uygulamalarında elde edilmiştir (Tablo 22.).

Tablo 21. Hücre Membran Hasarına (%) Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	p
Çeşit (Ç)	1	58,240	121,932	0,000
NaCl konsantrasyonu (N)	2	4526,798	9477,419	0,000
Melatonin konsantrasyonu (M)	3	1603,608	3357,355	0,000
ÇxN	2	8,107	16,972	0,000
ÇxM	3	1,722	3,605	0,017
NxM	6	200,636	420,056	0,000
ÇxNxM	6	17,233	36,079	0,000
Hata	72	0,478		
Toplam	96			

Melatonin uygulamasının ortalamasına göre her iki çeşitte de tuzluluk stresindeki artışa bağlı olarak HMH oranında artış meydana gelmiş ve bu artışın Serra çeşidinde daha yüksek olması ÇxN interaksiyonunun önemli ($p<0,01$) çıkmasına neden olmuştur (Tablo 21.). Diğer taraftan, tuzluluk stresinin ortalamasına göre her iki çeşitte de melatonin konsantrasyonuna bağlı olarak HMH'de azalma tespit edilmiş (Tablo 22.) ve HMH bakımından melatonin uygulamasına çeşitlerin tepkisinin farklı olması ÇxM interaksiyonunun önemli ($p<0,01$) çıkmasına neden olmuştur (Tablo 21.). Yine tuzluluk stresi şartlarındaki HMH'nin, melatonin konsantrasyonuna bağlı olarak değişmesi NxM interaksiyonunun önemli ($p<0,01$) olmasına neden olmuştur (Tablo 21.). Stres şiddetlerinin tamamında melatonin konsantrasyonundaki artışın HMH'de azalmalara neden olduğu belirlenmiştir (Tablo 22.).

Elkoca 05 ve Serra çeşitlerinde en yüksek HMH, 200 mM NaCl ve 0 µM melatonin uygulamasında sırasıyla %68,6 ve %70,6 olarak tespit edilmiştir. En düşük ise Elkoca 05 çeşidinde (%26,7) 0 mM NaCl ve 200 µM melatonin uygulamasında belirlenirken; Serra çeşidinde ise %28,5 olarak yine aynı uygulamada belirlenmiştir (Tablo 22). Çeşitlerin HMH'si tuzluluk ve melatonin konsantrasyonlarına göre farklılık göstermesi ÇxNxM interaksiyonunun önemli ($p<0,01$) çıkmasına neden olmuştur (Tablo 21.).

Tablo 22. Farklı NaCl ve Melatonin Konsantrasyonlarına Göre Çeşitlerin Hücre Membran Hasarı (%), Nispi Su İçeriği (%) ve Klorofil İçerikleri (SPAD)

VK	Genotip	NaCl (mM)	Melatonin(µM)	HMH (%)	YNSİ (%)	Kİ (SPAD)
ÇxNxM	Serra	0	0	34,6	68,9	34,4
			100	33,6	74,1	47,2
			150	30,6	72,7	48,1
			200	28,5	71,1	50,4
		100	0	61,0	55,1	28,0
			100	44,5	68,6	40,4
			150	39,2	66,0	43,6
			200	35,7	65,6	45,3
		200	0	70,6	52,0	26,6
			100	51,2	63,7	36,6
			150	49,9	61,1	37,8
			200	46,4	59,2	39,3
	Elkoca 05	0	0	32,8	73,7	35,5
			100	30,2	78,7	50,6
			150	27,6	75,7	51,3
			200	26,7	74,1	53,4
		100	0	60,5	58,3	29,0
			100	39,7	72,5	45,6
			150	38,2	70,6	47,3
			200	35,5	69,1	49,6
		200	0	68,6	56,9	26,6
			100	55,9	67,3	37,5
			150	46,8	66,4	39,3
			200	44,6	64,6	41,7
				LSD _{0,05}	1,0	-
ÇxN	Serra	0	-	31,8	71,7	45,0
		100	-	45,1	63,8	39,3
		200	-	54,5	59,0	35,0
	Elkoca 05	0	-	29,3	75,6	47,7
		100	-	43,5	67,6	42,8
		200	-	54,0	63,8	36,3
		LSD _{0,05}	0,5	-	0,4	
ÇxM	Serra	-	0	55,4	58,7	29,7
			100	43,1	68,8	41,4
			150	39,9	66,6	43,2
			200	36,9	65,3	45,0
	Elkoca 05	-	0	53,9	63,0	30,4
			100	41,9	72,8	44,5
			150	37,6	70,9	45,9
			200	35,6	69,3	48,2
				LSD _{0,05}	0,6	-
	NxM	-	0	0	33,7	71,3
100				31,9	76,4	48,9
150				29,1	74,2	49,7
200				27,6	72,6	51,9
100			0	60,8	56,7	28,5
			100	42,1	70,5	43,0
			150	38,7	68,3	45,4
			200	35,6	67,3	47,4
200		0	69,6	54,5	26,6	
		100	53,6	65,5	37,0	
		150	48,4	63,7	38,6	
		200	45,5	61,9	40,5	
		LSD _{0,05}	0,7	2,9	0,6	
N	-	0	-	30,6	73,6	46,3
		100	-	44,3	65,7	41,1
		200	-	54,3	61,4	35,6
		LSD _{0,05}	0,3	1,5	0,3	
M	-	-	0	54,7	60,8	30,0
			100	42,5	70,8	43,0
			150	38,7	68,7	44,6
			200	36,2	67,3	46,6
			LSD _{0,05}	0,4	1,7	0,3
Ç	Serra	-	-	42,3	69,0	42,3
	Elkoca 05	-	-	43,8	64,8	39,8
			LSD _{0,05}	0,3	1,2	0,2
GENEL ORTALAMA				43,0	66,9	41,0
Varyasyon Katsayısı (%)				1,6	4,4	1,4

Yaprak nispi su içeriği (YNSİ)

HMH’de olduğu gibi araştırmada yaprak nispi su içeriğine (YNSİ) çeşidin, NaCl ve melatonin konsantrasyonunun ana etkilerinin önemli ($p<0,01$) olduğu tespit edilmiştir (Tablo 23.). Çeşidin ana etkisi değerlendirildiğinde Serra çeşidinin YNSİ’si %69,0 olarak; Elkoca 05’in ise %64,8 olarak belirlenmiştir. Çeşit ve tuzluluk stres faktörlerinin ortalamasına göre melatonin konsantrasyonundaki artış YNSİ’nin de artışına neden olmuştur. 0 μM melatoninde %60,8 olan YNSİ, 200 μM ’da %67,39 olarak kaydedilmiştir. Diğer iki faktörün ortalaması dikkate alındığında tuzluluk stresindeki YNSİ’yi azaltmış, 0 mM NaCl’de %73,6 olan YNSİ, 200 mM NaCl’de %61,4 olarak belirlenmiştir (Tablo 22.).

Tablo 23. Yaprak Nisbi Su İçeriğine (%) Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	p
Çeşit (Ç)	1	414,483	48,315	0,000
NaCl konsantrasyonu (N)	2	1227,450	143,079	0,000
Melatonin konsantrasyonu (M)	3	445,629	51,945	0,000
ÇxN	2	2,667	0,311	0,734
ÇxM	3	0,176	0,021	0,996
NxM	6	41,703	4,861	0,000
ÇxNxM	6	1,847	0,215	0,971
Hata	72	8,579		
Toplam	96			

Melatonin uygulamasının ortalamasına göre, NaCl uygulamasında çeşitlerin YNSİ’si ele alındığında NaCl konsantrasyonundaki artış her iki çeşitte de önemli bir azalışa neden olmuş (Tablo 22.) ve ÇxN interaksyonu önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur (Tablo 23.). Diğer taraftan, NaCl uygulamasının ortalamasına göre çeşitlerin YNSİ’nin, her iki çeşitte de melatonin konsantrasyonuna bağlı olarak artmış (Tablo 22.) ve ÇxM interaksyonunun önemsiz ($p>0,05$) olduğu tespit edilmiştir (Tablo 23.). YNSİ üzerine, NxM interaksyonunun etkisi önemli ($p<0,01$) olmuş (Tablo 23.), stresin YNSİ üzerine olan olumsuz etkisi melatonin konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak azalmıştır (Tablo 22.). YNSİ bakımından çeşitlerin, tuzluluk stresi ve melatonin konsantrasyonlarına göre tepkilerinin paralellik göstermesi, ÇxNxM interaksyonunun önemsiz ($p>0,05$) olmasına neden olmuştur (Tablo 23.). Her iki çeşitte de en düşük YNSİ, 200 mM NaCl ve 0 μM melatonin uygulamasında, Elkoca 05 ve Serra çeşitleri için sırayla %56,9 ve %52,0 olarak tespit edilmiştir. En yüksek YNSİ ise her iki çeşitte de 0 mM NaCl ve 100 μM melatoninde tespit edilmiştir (Tablo 22.).

Klorofil İçeriği (SPAD)

Klorofil içeriğine ait (SPAD) varyans analiz tablosu, Tablo 24’de verilmiştir. İlgili tablo incelendiğinde Kİ zerine çeşidin, NaCl ve melatonin konsantrasyonlarının ana etkilerinin önemli ($p<0,01$) olduğu belirlenmiştir. Çeşidin ana etkisi değerlendirildiğinde Serra’da %42,3 olarak belirlenen SPAD değeri, Elkoca 05’de %39,8 olarak belirlenmiştir. Diğer taraftan, melatonin ve tuzluluk stresinin ana etkileri değerlendirildiğinde, melatonin konsantrasyonundaki artış Kİ’de artışa; tuz stresi şiddetindeki artış ise Kİ’de azalışa neden olmuştur (Tablo 22.).

Tablo 24. Klorofil İçeriğine (SPAD) Ait Varyans Analiz Sonuçları

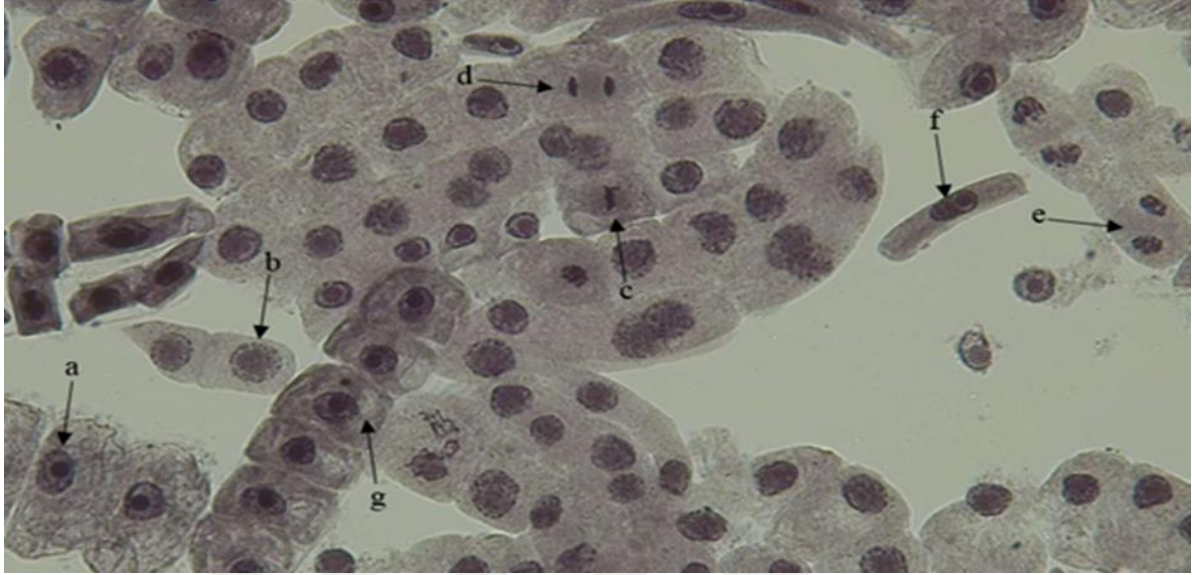
Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	p
eşit ()	1	146,273	426,255	0,000
NaCl konsantrasyonu (N)	2	914,938	2666,216	0,000
Melatonin konsantrasyonu (M)	3	1347,033	3925,382	0,000
xN	2	10,966	31,957	0,000
xM	3	8,603	25,071	0,000
NxM	6	12,517	36,477	0,000
xNxM	6	1,072	3,124	0,009
Hata	72	0,343		
Toplam	96			

Araştırmada Kİ zerine xN interaksiyonunun etkisinin önemli ($p<0,01$) olduğu belirlenmiştir (Tablo 24). Melatonin uygulamasının ortalamasına göre her iki çeşitte de stres artışı Kİ’de önemli bir azalışa neden olmuştur (Tablo 22.). Diğer taraftan, tuzluluk stresinin ortalamasına göre çeşitlerin SPAD değerinin her iki çeşitte de melatonin konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak artığı gözlenmiştir (Tablo 22.). Melatonin uygulamasına Elkoca 05’in tepkisinin diğer çeşide göre daha fazla olması xM interaksiyonun önemli ($p<0,01$) olmasına neden olmuştur (Tablo 24.).

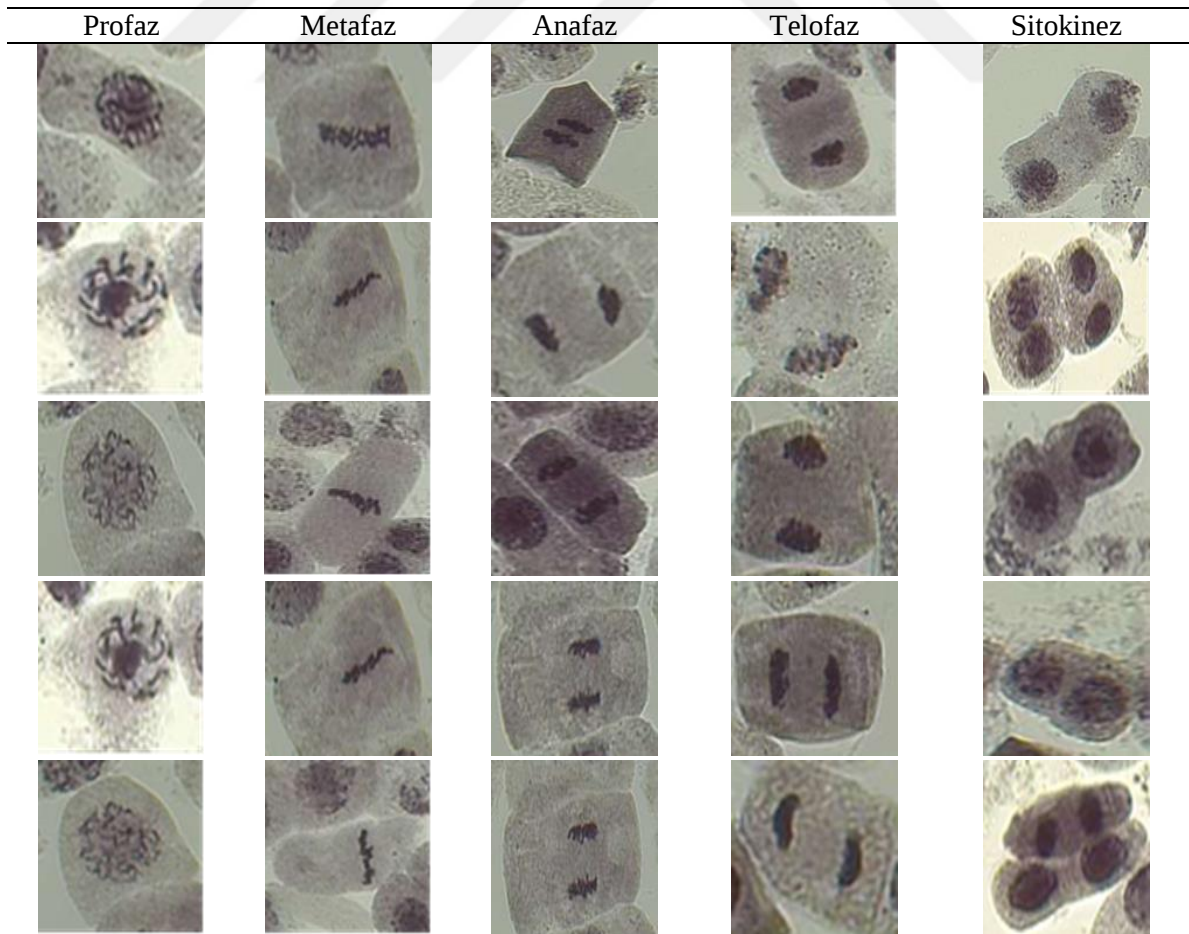
Araştırmada, Kİ zerine NxM ve xNxM interaksiyonlarının Kİ’ye etkilerinin önemli olduğu ($p<0,01$) bulunmuştur (Tablo 24.). Melatonin konsantrasyonundaki artışın stresin KM zerine olan olumsuz etkisini azalttığı tespit edilmiştir (Tablo 22.). Çeşitlerin stres ve melatonin uygulamalarına göre tepkileri değerlendirildiğinde Elkoca 05 ve Serra eşitlerinde en düşük SPAD değeri, 200 mM NaCl ve 0 μ M uygulamasında iki çeşitte de 26,6 olarak tespit edilmiştir. En yüksek SPAD değeri ise her iki çeşitte stressiz şartlarda 0 mM NaCl şartlarında uygulanan 200 μ M melatonin uygulamasında belirlenmiştir. Bu uygulamada SPAD değerleri Elkoca 05 için 53,4, Serra için ise 50,4 olarak belirlenmiştir (Tablo 22.).

Mitotik indeks

Araştırmada farklı NaCl ve melatonin uygulamalarından elde edilen kök uçlarından ezme preparatlar hazırlanmıştır. Araştırmada toplam 52.395 adet hücre sayılmış ve bu hücrelerin 5.045'inin bölündüğü (Şekil 5 ve 6) tespit edilmiştir.



Şekil 5. 200 mM NaCl ve 0 μ M melatonin uygulamasında elde edilen sitogenetik gözlemler a: İnterfaz, b: Profaz, c: Metafaz, d: Anafaz, e: Telofaz, f: Sitokinez, g: Mikronükleus



Şekil 6. 0 mM NaCl ve 0 μ M melatonin uygulamasında elde edilen sitogenetik gözlemler

Tablo 25 incelendiğinde hücre bölünmesi üzerine çeşidin, tuz stresinin ve melatonin uygulamasının ana etkilerinin önemli ($p<0,01$) olduğu tespit edilmiştir (Tablo 25.). Tuz stresi altında büyüyen bitkilerin mitotik indeks oranları artan tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak değişiklik göstermiştir. Çeşidin ana etkisi değerlendirildiğinde Serra çeşidinin mitotik indeks oranının (%9,79) Elkoca 05 (%9,46) çeşidine göre yüksek olduğu belirlenmiştir. Diğer taraftan uygulamaların ana etkileri değerlendirildiğinde tuzluluk stresi şiddetindeki artışa paralel olarak Mİ oranı azalırken, melatonin konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak bu oran artış göstermiştir (Tablo 26.).

Melatonin uygulamasının ortalamasına göre her iki çeşitte de tuzluluk stresi şiddetindeki artışa bağlı olarak Mİ oranında önemli bir azalış meydana gelmiş ve bu azalışın Serra çeşidinde daha yüksek olması ÇxN interaksiyonunun önemli ($p<0,01$) çıkmasına neden olmuştur (Tablo 25.). Çeşitlerin Mİ'sinin melatonin uygulamasına farklılık göstermesi ÇxM interaksiyonu önemli ($p<0,01$) çıkmasına neden olmuştur (Tablo 25.). Tuzluluk stresinin ortalamasına göre her iki çeşitte de melatonin konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak Mİ'de artış belirlenmiş ve 0 μ M melatonine göre 200 μ M melatoninde en fazla artış Serra çeşidinde meydana gelmiştir (Tablo 26.). Tuzluluk uygulamalarının tamamında melatonin konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak Mİ'de artış belirlenmiş (Tablo 26.) ve NxM interaksiyonu önemli ($p<0,01$) olmuştur (Tablo 25.).

Tablo 25. Mitotik İndekse Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	p
Çeşit (Ç)	1	2,576	9,857	0,002
NaCl konsantrasyonu (N)	2	176,071	673,687	0,000
Melatonin konsantrasyonu (M)	3	37,526	143,584	0,000
ÇxN	2	21,815	83,467	0,000
ÇxM	3	2,849	10,901	0,000
NxM	6	4,404	16,851	0,000
ÇxNxM	6	1,900	7,268	0,000
Hata	72	0,261		
Toplam	96			

Çeşitlerin Mİ'sinin NaCl ve melatonin konsantrasyonlarına göre farklılık göstermesi ÇxNxM interaksiyonunun önemli ($p<0,01$) olmasına neden olmuştur (Tablo 25). Serra ve Elkoca 05 çeşitlerin de en düşük Mİ oranı 200 mM NaCl ve 0 μ M melatonin uygulamasında sırasıyla %4,48 ve %10,01 olarak tespit edilmiştir. Diğer taraftan, en yüksek Mİ oranı Serra

çeşidinde %13,92 olarak 0 mM NaCl ve 200 µM melatonin uygulamasında belirlenirken; Elkoca 05 çeşidinde yine aynı uygulamada %12,04 olarak belirlenmiştir (Tablo 26.).

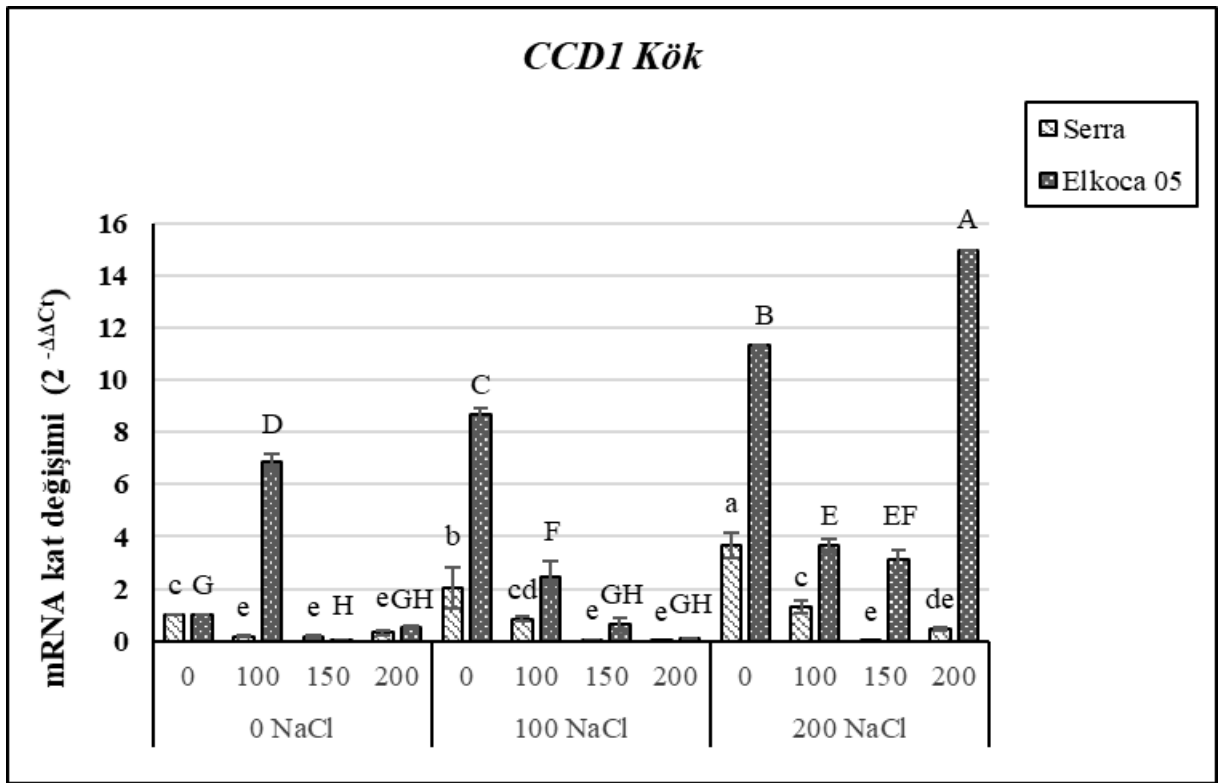
Tablo 26. Farklı NaCl Derecelerinde Çeşitli Konsantrasyonlarda Melatonin Uygulamasına Tabi Tutulan *Phaseolus vulgaris* L. Tohumlarında Gözlenen Mitotik İndeks Değerleri

VK	Genotip	NaCl (mM)	Melatonin (µM)	Toplam Hücre (adet)	Bölünen Hücre (adet)	Mİ %
ÇxNxM	Serra	0	0	2097	263	12,54
			100	2214	295	13,33
			150	2227	298	13,38
			200	2243	312	13,92
		100	0	2195	115	5,26
			100	2096	200	9,54
			150	2255	225	10,02
			200	2122	234	11,03
		200	0	2126	95	4,48
			100	2210	174	7,89
			150	2254	203	9,01
			200	2119	150	7,09
	Elkoca 05	0	0	2151	215	10,01
			100	2199	243	11,07
			150	2200	252	11,46
			200	2204	265	12,04
		100	0	2232	168	7,53
			100	2186	202	9,28
			150	2130	203	9,54
			200	2206	218	9,89
		200	0	2082	142	6,82
			100	2170	188	8,70
			150	2258	202	8,95
			200	2219	183	8,26
LSD _{0,05}					0,72	
ÇxN	Serra	0		8781	1168	13,29
		100	-	8668	774	8,96
		200		8709	622	7,12
	Elkoca 05	0		8754	975	11,14
		100	-	8754	791	9,06
		200		8729	715	8,19
LSD _{0,05}					0,36	
ÇxM	Serra	-	0	6418	473	7,43
			100	6520	669	10,25
			150	6736	726	10,81
			200	6484	696	10,68
	Elkoca 05	-	0	6465	525	8,12
			100	6555	633	9,68
			150	6588	657	9,98
			200	6629	666	10,06
LSD _{0,05}					0,42	
NxM	-	0	0	4248	478	11,28
			100	4413	538	12,20
			150	4427	550	12,42
			200	4447	577	12,98
		100	0	4427	283	6,40
			100	4282	402	9,41
			150	4385	428	9,78
			200	4328	452	10,46
	200	0	4208	237	5,65	
		100	4380	362	8,30	
		150	4512	405	8,98	
		200	4338	333	7,68	
LSD _{0,05}					0,51	
N	-	0		17535	2143	12,22
		100	-	17422	1565	9,01
		200		17438	1337	7,65
LSD _{0,05}					0,26	
M	-	-	0	12883	998	7,77
			100	13075	1302	9,97
			150	13324	1383	10,40
			200	13113	1362	10,37
LSD _{0,05}					0,29	
Ç	Serra	-	-	26158	2564	9,79
	Elkoca 05	-	-	26237	2481	9,46
LSD _{0,05}					0,21	
GENEL ORTALAMA				52395	5045	9,63
Varyasyon Katsayısı (%)						5,31

mRNA ifade analiz sonuçları

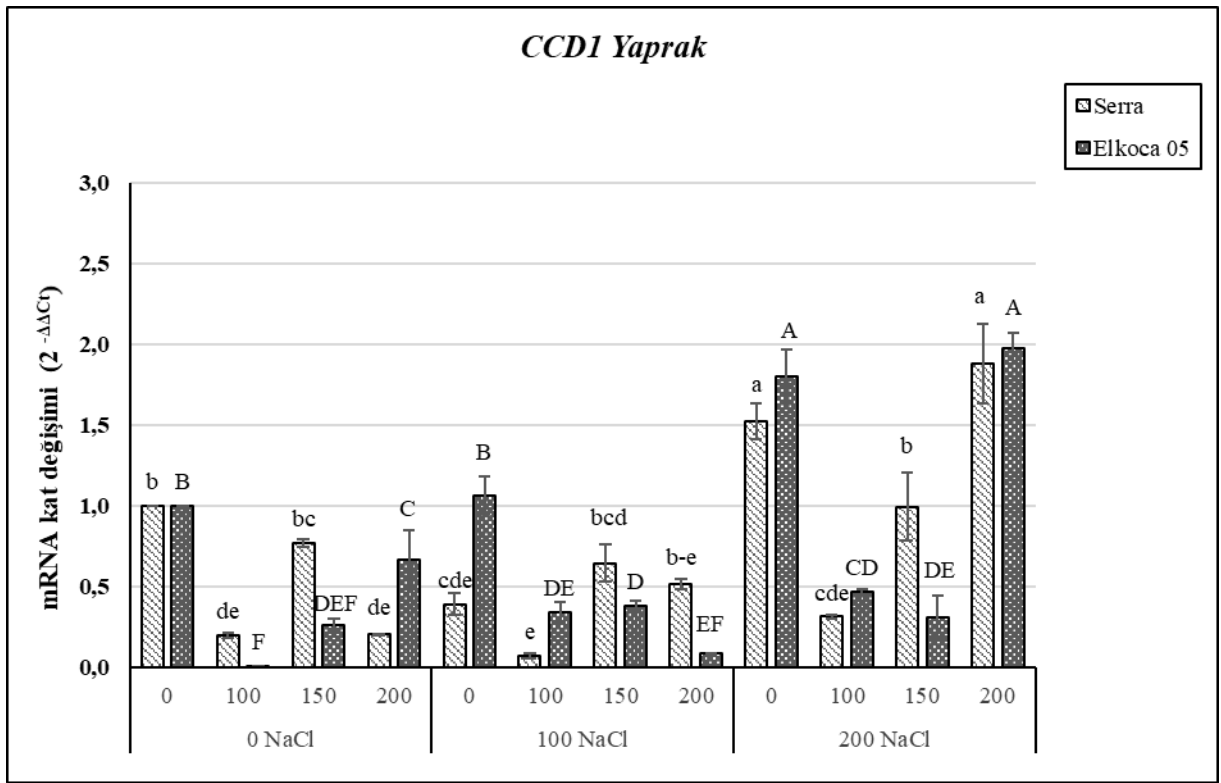
Araştırmamızda yapılan *CCD1* geninin ifade analizinde, NaCl ve melatonin konsantrasyonlarının her bir kombinasyonu bir uygulama olarak değerlendirilmiş ve çeşitlerin bu uygulamalara ait *CCD1* ifade seviyeleri aşağıda açıklanmıştır.

CCD1 geninin Serra ve Elkoca 05 çeşitlerinde, kök dokusundaki ifade analiz sonucuna göre, NaCl ve melatonin uygulamalarının tek başına etkisi değerlendirildiğinde, her iki çeşitte de NaCl uygulamalarında konsantrasyon artışına bağlı olarak *CCD1* geninin ifade seviyesinin arttığı, bu artışın Elkoca 05 çeşidinde daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Diğer taraftan tek başına melatonin uygulamalarında (0 NaCl) çeşitlerin *CCD1* gen ifade seviyelerinin uygulanan melatonin konsantrasyonuna göre değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir. Yine melatonin uygulamalarında, *CCD1* geninin ifadesinin Elkoca 05 çeşidinde sadece 100 µM melatonin (6,89) uygulamasında arttığı, Serra çeşidinde ise melatonin uygulamalarının tümünde azaldığı gözlenmiştir. Serra ve Elkoca 05 çeşitlerinde *CCD1* geninin ifade seviyesine NaCl ve melatonin konsantrasyonlarının kombinasyonlarından oluşan uygulamalarının etkisi değerlendirildiğinde, Elkoca 05 çeşidinde *CCD1* geninin en yüksek ifade seviyesi 200 mM NaCl ve 200 µM melatonin uygulamasında (14,93), en düşük ise 0 mM NaCl ve 150 µM melatonin (0,02) uygulamasında belirlenmiştir. Serra çeşidinde ise en yüksek ifade seviyesi 200 mM NaCl ve 0 µM melatonin (3,66) uygulamasında, en düşük ise 200 mM NaCl ve 150 µM melatonin (0,01) uygulamasında kaydedilmiştir (Şekil 7).



Şekil 7. Kök dokusunda NaCl ve melatonin uygulamalarına göre çeşitlerin *CCD1* mRNA ifade seviyeleri (2^{-ΔΔCt})

CCD1 geninin Serra ve Elkoca 05 çeşitlerinde, yaprak dokusundaki ifade analiz sonucuna göre, NaCl ve melatonin uygulamalarının tek başına etkisi değerlendirildiğinde, NaCl uygulamasında, Elkoca 05 çeşidinin *CCD1* gen ifade seviyesinin NaCl konsantrasyonu artışına bağlı olarak arttığı, Serra çeşidinde ise bu artışın sadece 200 mM NaCl uygulamasında olduğu belirlenmiştir. Melatonin uygulamasında ise her iki çeşitte de (0 mM NaCl) *CCD1* geninin ifade seviyesinin azaldığı belirlenmiştir. Diğer taraftan, Serra ve Elkoca 05 çeşitlerinde *CCD1* geninin ifade seviyesi tüm uygulamalara göre ele alındığında, Elkoca 05 çeşidinde *CCD1* geninin en yüksek ifade seviyesi 200 mM NaCl ve 200 μM melatonin (1,97) uygulamasında, en düşük ise 0 mM NaCl ve 100 μM melatonin (0,01) uygulamasında belirlenmiştir. Serra çeşidinde ise en yüksek ifade seviyesi 200 mM NaCl ve 200 μM melatonin (1,88) uygulamasında, en düşük ise 100 mM NaCl ve 100 μM melatonin (0,07) uygulamasında tespit edilmiştir (Şekil 8).



Şekil 8. Yaprak dokusunda NaCl ve melatonin uygulamalarına göre çeşitlerin *CCD1* mRNA ifade seviyeleri ($2^{-\Delta\Delta C_t}$)

TARTIŞMA ve SONUÇ

Küresel iklim değışikliğı, dünyanın birçok yerinde uzun süreli ve şiddetli kuraklıklara yol açarak, yetiştiricileri düşük kaliteli su kaynaklarını ve toprak tuzluluğunu artıran sürdürülemez sulama ve gübreleme uygulamalarını kullanmaya zorlamıştır (Zhu 2001). Abiyotik stresler arasında toprak tuzluluğı, miktar ve kalite açısından bitkisel üretimi tehdit eden sınırlamalardan biridir. Özellikle kurak ve yarı kurak alanların tuzluluktan en çok etkilenen alanlar olduğu bilinmektedir. Tuzlu topraklar, bitki homeostazını birçok yönden bozmaktadırlar. Tuz stresi ozmotik stres ve iyonik strese neden olmaktadır. Toprak tuzluluğundaki artışlar, bitkilerde ozmotik stresle sonuçlanan su potansiyelinde değışikliklere neden olabilmektedir (Zhu 2001; Welle and Mauter 2017). Aşırı toprak tuzluluğunun uzun süre devam etmesi yüksek seviyelerde Na^+ ve Cl^- iyonlarının birikmesine ve buna bağılı olarak iyonik strese, makro ve mikro besin dengesizliğine, fotosentezin baskılanmasına, hücre zarı düzensizliğine, metabolik süreçlerin bozulmasına ve toksik reaktif oksijen türlerin (ROT) üretimine neden olmaktadır (Isayenkov and Maathuis 2019; El-Mahdy *et al.* 2022). Bu ve diğier tuzluluk etkileri bitkilerde üretkenliğin azalmasına neden olmaktadır (Zörb *et al.* 2019).

Tuzlanmanın 2050 yılına kadar ekilebilir arazilerin %50'sini etkileyebileceğı ve tuzluluk stresinden kaynaklanan dünya çapındaki ekonomik kayıpların yılda on milyar ABD dolarının üzerinde olacağı tahmin edilmektedir (Butcher *et al.* 2016). Ayrıca, insan nüfusundaki sürekli artışa bağılı olarak, dünyanın gıda arzının 2050 yılına kadar %70 daha artacağı tahmin edilmekte ve bu durum küresel gıda güvenliği üzerinde baskı oluşturmaktadır. Bu nedenle hem ekonomik büyümeyi hem de gıda arzını destekleyecek bitkisel üretimi sürdürmek için tuzluluğa toleranslı çeşit geliştirmek ve bunun için de tolerans mekanizmaları hakkında kapsamlı bilgiye ihtiyaç duyulmaktadır.

Bitkilerde tuz stresinin ilk etkilerinden biri bitki büyümesine olan olumsuz etkisidir. Araştırmamızda NaCl seviyesindeki artışa bağılı olarak bitki büyüme parametrelerinde (kök ve sürgün uzunluğu ile yaş ve kuru ağırlığı) önemli bir azalış, buna karşın kök/sürgün oranında artış meydana geldiğı tespit edilmiştir. Araştırmamızdaki bulgulara paralel olarak fasulyede yapılan birçok çalışmada tuz stresi altında kök ve sürgün uzunluğu ile yaş ve kuru ağırlığının önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir (Alinia *et al.* 2021; Zheng *et al.* 2021; Osman vd 2021). El-Flaah *et al.* (2021) tuz stresi uygulanan bakla bitkilerinde kök ve sürgün uzunluğu ile yaş ağırlığının önemli ölçüde azaldığını bildirmişlerdir. Kök/gövde oranının tuzluluktan olumsuz etkilediğı, toprak üstü aksamın büyümesinin kök büyümesine göre tuzluluğa daha hassas

olduğu ve bu nedenle tuzluluk şiddetinin artmasına paralel olarak genelde kök/sürgün oranının arttığı bilinmektedir (Khan *et al.* 1995; Kantar ve Elkoca 2013). Bu artışın mekanizması henüz açıklanamamış olmasına rağmen, tuzluluk artışında kök ile yaprağın hücre duvarlarında farklı değişimlerin meydana gelmesi buna neden olarak gösterilmektedir (Munns *et al.* 2008). Ancak, düşük düzeydeki tuz konsantrasyonun, toprak üstü aksam büyümesinde artışa neden olduğu ve bunun nedeni olarak, bitki besin maddelerinin koruyucu etkisine veya tuzlu büyüme ortamında heterojen şekilde bulunan mikro elementlerin varlığına bağlanmıştır (Khan *et al.* 1998). Yine araştırmamızda Elkoca 05 çeşidinin sürgün uzunluğunun Serra çeşidine göre daha fazla olduğu belirlenmiş, bunun da sebebinin Elkoca 05 çeşidinin yarı sarılcı büyüme formuna sahip olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Aydoğan vd 2020). Tuzlu koşullarda, su potansiyelinin ve iyon dengesinin sağlanması ve korunması bitki büyümesi ve gelişmesi için oldukça önemlidir. Fasulye, ozmotik stres nedeniyle bitki köklerinin su alımındaki ciddi azalma sonucunda, büyüme ve gelişimi büyük ölçüde sınırlandığı için tuz stresine duyarlı bitkiler arasındadır (Neila *et al.* 2012). Ozmotik stres, bitki tarafından hem su hem de besin alımını kısıtlayarak hücre genişlemesi ve bölünmesi ile stoma kapanmasında inhibisyona neden olan tuz stresinin ilk ve anlık sonucudur (Hasanuzzaman *et al.* 2014; El-Ramady *et al.* 2018). Diğer taraftan, Glimn-Lacy and Kaufman (1984) ozmatik stres altında meydana gelen büyümedeki azalmanın nedenini, sitoplazma hacmi ve hücre turgorundaki azalmaya bağlamışlardır. Rains *et al.* (1980) ise tuzluluk stresi altında bitki hücrelerinin su ve iyon alımı için daha fazla enerji harcadığını ve buna bağlı olarak hücre bölünmesindeki azalmanın büyüme azalttığını bildirmişlerdir.

Tuzluluk stresinin bir diğer etkisi ise hücre zarı üzerinedir. Araştırmamızda, Serra ve Elkoca 05 çeşitlerinde tuz stresine bağlı olarak hücre membran hasarının ortaya çıktığı ve kontrol bitkilerine kıyasla özellikle 200 mM NaCl uygulamasında oldukça yüksek değerlere ulaştığı gözlemlenmiştir. Hücre membranlarında oluşan bu hasarın nedeni apoplastta biriken yüksek konsantrasyondaki Na⁺ iyonlarının hücre membranının yapısında bulunan pektin gibi yapısal elementlerin iyonik bağlarını bozarak veya apoplastik enzimleri olumsuz yönde etkileyerek hücre membranının temel fonksiyonlarını bozması ile ilgili olduğu düşünülmektedir (Çulha ve Çakırlar 2011). Bulgularımıza benzer olarak, Muhammed *et al.* (2022), artan tuzluluk stresine (50, 100, 150 ve 200 mM) bağlı olarak hücre membran hasarında önemli bir artışın olduğunu belirtmişlerdir. Tuzluluk hücre zarının yapısındaki lipid kompozisyonunda değişimleri tetikleyerek zar hasarının ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bu değişimler, lipidlerin sentezlenmesinde rolü olan bazı enzimlerin aktivitesindeki değişimler, parçalanma, yıkılma veya çeşitli fosfolipidlerin hidrolizi sonucu meydana gelmekte ve bunun sonucunda, zar akışkanlığı, geçirgenliği ve zar proteinlerinin aktivitesi etkilenmektedir (Huang 2006; Wu

et al. 1998). Ayrıca serbest radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonu da, hücre membranının bozulmasında önemlidir. Membran lipidlerinin peroksidasyonu, tuz stresi koşulları altında membran hasarının ve sızıntısının bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Kaymakanova *et al.* 2008). Dokulardaki oksidatif hasar, membran hasarı ve elektrolit sızıntısı ile birlikte klorofil bozulmasına yol açmaktadır (Singh *et al.* 2020). Karabay *et al.* (2021) oksidatif stresin neden olduğu membran bütünlüğündeki hasarın, her iki tuzluluk grubunda da (25 ve 50 mM NaCl) arttığını belirtmişlerdir. Diğer taraftan, tuz stresi altında meydana gelen hücre membran hasarının sebebinin iyonik stres etkisinden olduğu düşünülmektedir. Tuz stresi hücre zarının yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünün korunmasında, hücre duvarının stabilitesinde önemli bir role sahip olan Ca^{+2} iyonlarının miktarını azaltmaktadır (Tuna vd 2007).

Tuzluluğun bitkiler üzerindeki ozmotik etkisi bitkinin kök bölgesinde çözünmüş tuz konsantrasyon artışı yoluyla topraktan alınan su miktarının azalmasına sebep olur. Aynı zamanda, köklerdeki tuz oranındaki artış yapraklardaki su potansiyelinin düşmesine bu da nispi su içeriğinin ve hücre genişlemesinin azalmasına, sürgün gelişiminin yavaşlamasına ve stomaların kapanmasına neden olarak bitki büyümesini olumsuz yönde etkilemektedir (Romero-Aranda *et al.* 2001; Hu and Schmidhalter 2005). Araştırmamızda, YNSİ'nin artan tuz stresi ile her iki çeşitte de önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir. YNSİ'deki azalma, tuzluluk stresinin doğrudan göstergesi olarak kabul edilir. Nispi su içeriği, su alımı ve su kullanım etkinliği tuz stresi altında azalmaktadır. Bu azalmanın muhtemel nedeninin tuz stresinin neden olduğu ozmotik stresin etkisiyle kullanılabilir su miktarının azalması ve hücre membranında meydana gelen hasardan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Sofy *et al.* (2020) fasulyede yapmış oldukları çalışmada, 50 ve 100 mM NaCl'nin YNSİ'de önemli düşüşe neden olduğunu belirtmişlerdir. Yine başka bir çalışmada, maş fasulyesinde tuz stresinin (50 ve 100 mM NaCl) YNSİ'de önemli azalmaya neden olduğu ortaya çıkarılmıştır (Ahmad *et al.* 2019). Membran hasarının yüksek olduğu gentiplerde yaprak su potansiyelinde azalmanın yüksek olduğu bildirilmiştir (Singh *et al.* 1992). Tuzluluğa ve kuraklığa dayanıklı *Phaseolus acutifolius* A. Gray ve hassas *Phaseolus vulgaris* L. fasulye türlerinde NaCl stresinin (50, 100 ve 150 mM) hassas türün protein ve nispi su içeriğini artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak azalttığı belirlenmiştir (Yurekli vd 2004). Ghoulan *et al.* (2002) tuz stresine bağlı olarak hücredeki Na^{+} ve Cl^{-} iyonlarının artışının su miktarını azalttığını bildirmişlerdir.

Tuzluluk stresi, mevcut bulgularımızda da gösterildiği gibi, bitki su ilişkilerini bozarak bitki hücre fizyolojisini, membran stabilitesini ve klorofil içeriğini olumsuz etkilemektedir.

Tuz stresi altındaki bitkilerde toplam klorofil içeriğinde azalma çeşitli bitkilerde gözlenen yaygın bir olaydır. Klorofil, ışığın ve fotosentezin emilmesi ve iletilmesinde rol oynayan çok önemli bir pigmenttir (Kume *et al.* 2018). Fotosentetik kapasite, nispi klorofil içeriği miktarına bağlıdır (Meher *et al.* 2018). Araştırmamızda, tuzluluk konsantrasyonlarının artmasına paralel olarak iki çeşitte de klorofil içeriğinde azalmalar (Serra çeşidinde %34,4'den %26,6'ya kadar ve Elkoca 05 çeşidinde %35,5'den %26,6'ya kadar) meydana geldiği belirlenmiştir. Tuzluluk stresi, bozulmuş klorofil biyosentezinden kaynaklanan daha düşük miktarlarda fotosentetik pigmentlere neden olmaktadır (Santos 2004). El Nahhas *et al.* (2021), fasulyede NaCl (1500 ve 3000 ppm) uygulamasının klorofil içeriğinde azalma meydana getirdiğini belirtmişlerdir. Yine başka bir çalışmada çeşitlere göre NaCl stresinin klorofil içeriğini kademeli olarak azalttığı ve bu azalışın nedeni olarak klorofilaz enzimlerinin aktivasyonu yoluyla klorofil üretiminin inhibisyonu ve membran bozulmasının olabileceği bildirilmiştir (Parida and Das 2005). Diğer taraftan, klorofil pigmentindeki değişikliklerin nedenleri oksidatif strese, Rubisco enziminin inaktivasyonuna ve klorofil alt yapısındaki değişikliklere bağlanmıştır (Soussi *et al.* 1998; Rady 2011).

Tuzluluk stresinin bitki büyümesi ve gelişimini, tohum çimlenmesini, fide büyümesini ve enzim aktivitesini etkilemesinin yanı sıra hücre bölünmesini de etkilediği bilinmektedir (Bozcuk 1978). Hücre bölünmesinin tuz kaynaklı inhibisyonu, DNA, RNA ve protein sentezi mekanizmalarının bozulması ve osmotik etkilerden dolayı oluşmaktadır (Anuradha and Rao 2001). Mitotik indeks değerinin kontrol varyantına göre %50'nin altına düşmesi subletal etkiye yol açarken, %22'nin altına düşmesi ise öldürücü etkilere neden olabilmektedir (Singh and Singh 2000; Çavuşoğlu *et al.* 2012; Mesi *et al.* 2013). Araştırmamızda, NaCl konsantrasyonunun artmasıyla mitotik indeksin önemli ölçüde azaldığı (Serra çeşidinde %12,54'den %4,48'ye kadar ve Elkoca 05 çeşidinde %10,01'den %6,82'ye kadar) tespit edilmiş ve fasulyede tuzun mitoz üzerine olan olumsuz etkileri de doğrulanmıştır. Burssens *et al.* (2000), tuzluluğun hücre bölünmesini ve uzamasını etkileyerek, bitkilerde hücre bölünme oranının, kök ve gövdede hücre sayısının ve mitotik aktivitenin azalmasına neden olduğunu bildirmişlerdir. Yüksek tuz konsantrasyonları mitoz bölünmeyi geciktirmekte ve anormal anafaza neden olmaktadır (Tajbakhsh *et al.* 2006). Tabur *et al.* (2021) farklı NaCl konsantrasyonlarında yetiştirilen arpada mitotik indekste dikkate değer bir düşüş ve daha yüksek sayıda kromozomal anormallik tespit etmişlerdir. Helmey (2021) şeker kamışında, NaCl'nin (100, 200 ve 300 mM) hücre bölünmesinde oldukça önemli bir inhibisyona ve mitotik indekste azalmaya neden olduğunu bildirmiştir.

Tuz toleransı, genetik faktörler tarafından yönetilen karmaşık bir özellik olup, farklı genetik yaklaşımlar ve gen regülasyonu, çeşitli abiyotik stres toleransı ve adaptasyonlarında rol oynamaktadır. Ayrıca iyon birikimi ve dengesinin düzenlenmesinde, stres sinyal iletiminde, transkripsiyon düzenlenmesinde, redoks reaksiyonlarında ve spesifik ozmoregülasyon maddelerinin birikiminde yer alan tuza duyarlı birçok genin, birçok bitki türünde tuz toleransında önemli roller oynadığı tespit edilmiştir (Wang *et al.* 2016). Apokarotenoidler, bitkilerde hayati fizyolojik ve gelişimsel süreçleri modüle etmektedirler. Bu moleküller, karotenoid bölünme dioksijenazları (*CCD*'ler) adı verilen bir enzim ailesi tarafından katalize edilen bir reaksiyon olan karotenoidlerin spesifik çift bağlarda enzimatik bölünmesinin sonucu oluşmaktadır (Auldrige *et al.* 2006; Ohmiya *et al.* 2006). Bu apokarotenoidler, stres sinyalleri olarak hareket ederek, sonuçta bitki savunmasına yol açan strese duyarlı genlerin yeniden programlanmasına aracılık edebilirler. Ayrıca, karotenoid oksijenaz yollarında yer alan her bir biyosentetik fitohormon enzimi, abiyotik stres koşulları altında etkileşimleri nedeniyle çeşitli transkripsiyonel yanıtlarla çok işlevli bir stres sinyal faktörü olarak aktive edilebilirler (Walter and Strack 2011; Czarnecki *et al.* 2013). Araştırmamızda, NaCl stresi altında her iki çeşitte de *CCD1* geninin gerek kök ve gerekse yaprak dokularında ifadesinde artış olduğu belirlenmiştir. *CCD1* geninin soya fasulyesinde farklı abiyotik stresler (NaCl, PEG, yüksek ve düşük sıcaklık) altında yüksek oranda arttığı bilinmektedir (Wang *et al.* 2013). *Brassica rapa* ve *Brassica oleracea*'da tuzluluk, kuraklık ve soğuk gibi farklı abiyotik streslerde *CCD1* ve *CCD4* geninin benzer transkripsiyon eğilimleri gösterdiği açıklanmıştır (Kim *et al.* 2016). Safranda yapılan bir çalışmada (Rubio-Moraga *et al.* 2014) *CsCCD4c* geninin yaralanma, ısı ve ozmotik stresle arttığı, bununda apokarotenoid ürünlerinin safranın çevresel streslere adaptasyonunda yer aldığının göstergesi olduğu bildirilmiştir. Yine *Arabidopsis*'te *CsCCD4a* geninin tuz ve dehidrasyon stresine yanıt olarak indüklendiği ve *CsCCD4b* geninin ifadesinde ise tuz ve kuraklık stresine yanıt olarak yüksek oranda artış gösterdiği tespit edilmiştir (Baba *et al.* 2015). Amoah *et al.* (2021), *rbcl* ve *CCD1* gen ifade seviyelerinin kuraklık stresine bağlı olarak arttığı, ancak bunun fotosentetik pigmentlerin içeriği ile negatif korelasyon gösterdiğini bildirmişlerdir. Nitekim araştırmamızda klorofil içeriği ile hem kök ($r=-0,375$; $p>0,05$) hem de yapraktaki ($r=-0,532$; $p<0,01$) *CCD1* ifade seviyesi arasında ilişki negatif olmuştur. Başka bir çalışmada ise kahve ve çilekte kuraklık stresinde *CCD1* geninin ifadesinin arttığı bildirilmiştir (Simkin *et al.* 2008). Gerek araştırmada elde edilen sonuçlar ve gerekse önceki çalışmalar, *CCD1* geninin toleransı artırma ve olumsuz ortamlara adaptasyonu sağlama amacıyla abiyotik stresler tarafından düzenlenebildiğini göstermektedir.

Bitkiler, iyonların seçici absorpsiyonu ve dışlanması, iyonların merkezi vakuolde bölümlere ayrılması, sitoplazmada organik çözünenlerin sentezi ve birikmesi, membran bileşimindeki değişiklikler, bitki hormon seviyelerinin değişmeside dahil olmak üzere çeşitli biyokimyasal ve moleküler mekanizmalar yoluyla çevresel streslere yanıt vermektedirler (Miller *et al.* 2009; Suzuki *et al.* 2013; Zandalinas *et al.* 2019; Bailey-Serres *et al.* 2019). Bitkilerde abiyotik stresin, olumsuz etkilerinin hafifletilmesine yardımcı olabilecek spesifik bileşiklerle bitki tedavileri üzerine yapılan çalışmalar son yıllarda artmıştır. Son zamanlarda, çok sayıda çalışma, yeni ve yakın tarihli bir bitki molekülü olan melatoninin de bitkilerin çevresel strese tepkisinde önemli bir rol oynadığını da göstermiştir. Melatoninin eksojen uygulamasının, bitkilerde stresin olumsuz etkisini azaltılması olumlu bir etkiye sahip olduğu bilinmektedir (Kul *et al.* 2019; Martínez *et al.* 2018).

Bir triptofan türevi olan melatonin, bir indol halka yapısına ve düşük bir moleküler ağırlığa sahip olup, canlı organizmalarda her yerde bulunan evrimsel olarak korunmuş bir pleiotropik moleküldür. Melatonin, bitkilerin büyümesi, gelişmesi ve üremesinde ve farklı stres faktörlerinin indüklenmesinde rol oynayan ve önemli işlevlere sahip bir yanıt molekülüdür (Pardo-Hernández *et al.* 2020). Bitkilerde belirli fizyolojik süreçlerde rol oynadığı için bir büyüme düzenleyicisi olarak da kabul edilmektedir (Ahmad *et al.* 2022; Singh *et al.* 2022). Melatoninin bitkilerde, köklenme, fotosentetik verim ve biyokütle verimi gibi vejetatif büyüme süreçlerini düzenleyebildiği ve çiçeklenme süreçlerini düzenleyebildiği, meyve ve tohumların oluşumu ve olgunlaşmasında potansiyel düzenleyici olarak rol oynadığı bilinmektedir (Arnao and Hernández-Ruiz 2014; Nawaz *et al.* 2016; Kul *et al.* 2019).

Araştırmamızda, her iki çeşitte de stres şartlarında melatonin uygulamasının morfolojik parametrelerde (kök ve sürgün uzunluğu ile kuru ve yaş ağırlığı) önemli artışa neden olduğu ve melatoninin NaCl'nin neden olduğu negatif etkileri azalttığı belirlenmiştir. Stresiz şartlarda, melatonin uygulamasının konsantrasyon artışına bağlı olarak kök/sürgün oranında bir azalmaya neden olduğu gözlemlenmiştir. Bahcesular *et al.* (2020) fesleğende 1 µM melatonin uygulamasının tuzluluk stresi altında sürgün ve kök uzunluğunu artırdığı; 10 µM melatoninin ise sürgün ve kök uzunluğunu, kök ağırlığını ve yaprak nisbi su içeriğini artırdığını bildirmişlerdir. Yulafta, melatoninin tuz stresi altındaki bitkilerde daha fazla kök ve sürgün uzunluğuna ve de taze ağırlığa neden olduğu belirlenmiştir (Varghese *et al.* 2019). Buna karşın, yüksek melatonin konsantrasyonlarının bitki gelişimi üzerindeki olumlu etkilerini azaltabileceği ve hatta önleyebileceği ileri sürülmüştür (Jiang *et al.* 2016; Liu *et al.* 2018). Nitekim araştırmamızda da bazı parametrelerde (sürgün ve kök uzunluğu, kök/sürgün

oranı, kök-sürgün kuru ve yaş ağırlığı ile mitotik indeks) 200 mM NaCl’de uygulanan 150 µM melatoninin 200 µM’a göre etkisinin daha iyi olduğu tespit edilmiştir.

Araştırmamızda, NaCl stresinde melatoninin hücre membran hasarını azalttığı ortaya çıkarılmıştır. Tuz stresi altında melatoninin hücre membran hasarı, yaprak nisbi su içeriği ve klorofil miktarı üzerine pozitif etkilerinin olduğu bilinmektedir (Zhang *et al.* 2014; Liang *et al.* 2019; Sezer *et al.* 2021). Araştırmamızda her iki çeşitte stres şartlarında uygulanan melatoninin tek başına stres uygulamasına göre nisbi su içeriğinde ve klorofil içeriğinde artışa neden olduğu belirlenmiştir. Mısırdaki NaCl (150 mM) stresine karşı melatonin (0.8 mM) uygulamasının çimlenme gücünü, çimlenme yüzdesini, fide canlılık indeksini, sürgün ve kök uzunluklarını, fide yaş ve kuru ağırlıklarını, K⁺ içeriğini, nisbi su içeriğini, prolin ve toplam fenolik içeriğini önemli ölçüde iyileştirdiği bildirilmiştir (Jiang *et al.* 2016). Kaya *et al.* (2020) melatoninin, demir eksikliği ve tuz stresine maruz kalan biber bitkilerinin yapraklarında klorofil a ve b’nin yanı sıra F_v/F_m içeriğini artırarak fotosentezi iyileştirdiğini göstermişlerdir. Yine domateste tuz stresinde uygulanan melatoninin yaprak nisbi su içeriği, membran stabilitesi ve süperoksit aktivitesinde artışa neden olduğu bildirilmiştir (Ali *et al.* 2021). Yaprak nisbi su içeriğindeki artışın nedeni melatoninin Na⁺ ve Cl⁻ gibi toksik iyonların birikmesini engellemesi, yaprak genişlemesini ve stoma açıklığını arttırmasına ve hücre içi CO₂ kısmi basıncında bir artmaya yol açmasına bağlanabilir (Hasegawa *et al.* 2000). Eksojen olarak uygulanan melatonin, dokularda düşük K⁺ ve sürgünde düşük Na⁺ içeriği birikimi sağlayarak, patateste NaCl’ye karşı direnci arttırmış ve Na⁺/K⁺ homeostazını iyileştirmiştir. Yine köklerde ve mezofil dokularında NaCl kaynaklı K⁺ akışını baskıladığı ve kök ve yapraklarda plazma zarı H⁺-ATPase aktivitesini ve hücre içi adenosin trifosfat (ATP) seviyesini arttırdığı gözlemlenmiştir. Ayrıca yapraklarda tuz kaynaklı triaçilgliserol (TAG) birikimini tamamen önlediği bildirilmiştir (Yu *et al.* 2018).

Araştırmamızda, gerek stressiz şartlarda melatonin uygulamalarında ve gerekse tek başına stres uygulamalarına göre stres şartlarında uygulanan melatoninin mitotik indeksi artırdığı tespit edilmiştir. Yapılan literatür araştırmalarında, fasulyede NaCl stresinde melatonin uygulamasının ve mitotik indeks üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Melatoninin mitotik indeks üzerine olan bu iyileştirici etkisi, stres şartlarında oluşan ROT’ların miktarını azaltmasıyla açıklanabilir. ROT’lar, mitokondri ve kloroplastta bol miktarda üretilmekte ve melatonin bu organellerde serbest radikallere karşı hem enzimatik hem de enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemlerini düzenleyerek tuzluluk, yüksek/düşük sıcaklık, yüksek ışık, fazla su, besin eksikliği ve stres kombinasyonu gibi farklı abiyotik streslerin neden olduğu oksidatif strese karşı koruyucu rol oynamaktadır

(Back *et al.* 2016; Wang *et al.* 2017). Melatoninin ROT seviyelerini kontrol ettiği ve tuzluluk stresinin neden olduğu yüksek hücreSEL ROT konsantrasyonunun neden olduğu hasarı önlediği böylece fotosentetik elektron taşıma zincirinin (PET) ve D1 protein sentezinin geri kazanılmasını desteklediği bilinmektedir (Zhou *et al.* 2016; Li *et al.* 2017). Zahedi *et al.* (2020) tuz stresinde melatoninin etkilerinin yaprak antioksidan enzimlerinde ve absisik asitte (ABA) bir artış ile ilişkili olduğunu bildirmiştir. *Limonium bicolor*'da tuz stresinde (300 mM) melatonin uygulanmasında (5 µM) SOD, POD, CAT ve APX gibi antioksidanların aktivitelerini artırırken, H₂O₂, süperoksit anyonu (O₂⁻) ve MDA içeriğini önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (Li *et al.* 2022).

Araştırmamızda NaCl konsantrasyonlarında (0, 100, 200 mM) uygulanan melatonin genel olarak tek başına tuz stresi uygulamalarına göre *CCD1* geninin ifadesinde azalışa neden olduğu belirlenmiştir. Bu durum melatoninin birincil işlevinin bir antioksidan olarak görev alması (Chen *et al.* 2020) ve streste diğer tolerans mekanizmalarında görev alan veya aktif hale gelen genlerin ifade seviyelerini artırmasıyla açıklanabilir. NaCl stresi altında uygulanan melatoninin ROT temizlenmesi işleminde yer alan genlerin ifadesi üzerindeki etkileri araştırılmış ve 1 mM melatonin uygulamasının, tuz stresi altında salatalıkta *CsCu/ZnSOD*, *CsFe/ZnSOD*, *CsPOD* ve *CsCAT* ifadelerini indüklediği belirtilmiştir (Zhang *et al.* 2014). Yine, Zhao *et al.* (2018) kolzada *APX*, *Cu/ZnSOD* ve *MnSOD* gibi antioksidan savunma ile ilgili genlerin melatonin kaynaklı tuz stresi toleransında rol oynadığını göstererek yine benzer sonuçlar ortaya koymuşlardır.

Çeşitli çalışmalar melatoninin hormon biyosentezini ve metabolizma gen ifadesini düzenleyerek tuzluluk stresini azalttığını göstermiştir. Melatonin, indol-3-asetik asit (IAA), absisik asit (ABA), giberellik asitler (GA), sitokininler (CK) ve etilen gibi çoğu bitki hormonunun metabolizmasına geniş ölçüde katılmaktadır (Arnao and Hernández-Ruiz 2018). Melatonin, *ZEP* ve *NCED1* gibi ABA biyosentezi ile ilgili genlerin, abiyotik stresler sırasında ifadesini düzenleyerek endojen ABA düzeylerinin artmasına neden olmuştur (Zhang *et al.* 2017). Yine başka bir çalışmada tuz stresi altında *Elymus nutans*'ta melatonin uygulamasının endojen ABA içeriğini arttırdığı belirlenmiştir (Fu *et al.* 2017).

Tuz stresi altında salatalık köklerine melatonin uygulamasında *WRKY*, *MYB*, *NAC* ve etilene duyarlı transkripsiyon faktörü dâhil olmak üzere birçok transkripsiyon faktörünün, NaCl ile indüklenen stres altındaki kontrol bitkilerine kıyasla melatonin ile muamele edilmiş bitkilerde farklı şekilde ifade edildiğini gösterilmiştir (Zhang *et al.* 2014). Tuz, kuraklık ve soğuk gibi abiyotik stresler altında, eksojen melatonin uygulamasının, endojen melatonin seviyesini önemli ölçüde iyileştirdiği ve C-tekrar bağlama faktörlerinin (*CBF*'ler)/Kuraklık

yanıt elemanı Bağlanma 1 faktörlerinin (*DREB1*'ler) ifadesini yükselttiği ve böylece *COR15A*, *RD22* ve *KIN1* dâhil olmak üzere çoklu strese duyarlı genlerin transkriptinde bir artışa yol açtığını belirtmişlerdir (Shi *et al.* 2015). Yine, tuz stresindeki melatonin uygulamasının, birçok fizyolojik sürecin redoks düzenlemesine katılan *TRXf* gen ifadesini önemli ölçüde iyileştirdiği bildirilmiştir (Zhou *et al.* 2016). Wei *et al.* (2015) transkriptom analizleri, tuz ve kuraklık stresi altında soya fasulyesi üzerine eksojen olarak uygulanan melatonin fotosentez, karbonhidrat/yağ asidi metabolizması ve askorbat biyosentezi ile ilgili genlerin (*PetF* ve *VTC4*) ifadesini artırdığını ortaya koymuştur. Diğer taraftan *Malus hupehensis*'de tuzluluk altında eksojen olarak uygulanan melatonin iyon homeostazını sürdürmekten sorumlu olan iki iyon kanalı geninin (*MdNHX1* ve *MdAKT1*) ifadesinin arttığı bildirilmiştir (Li *et al.* 2012).

Sonuç ve Öneriler

Bu çalışmada elde edilen veriler ve daha sonra yapılacak araştırmalara yönelik öneriler aşağıda sıralanmıştır.

1. Tuz stresinin, morfolojik ve fizyolojik parametreleri olumsuz etkilediği bu etkinin yüksek tuz konsantrasyonlarında daha fazla olduğu ve bu etkinin genotiplere göre farklılık gösterdiği tespit edilmiştir.
2. Melatonin uygulamasının tuz stresinin neden olduğu olumsuz etkileri azalttığı özellikle en yüksek tuz konsantrasyonunda (200 mM NaCl) 150 µM melatonin en iyi konsantrasyon olduğu belirlenmiştir.
3. Araştırmada, tuz stresi altında *CCD1* geninin ifade seviyesinin arttığı ve bu genin NaCl stresine toleransta görev aldığı söylenebilir.
4. Gerek tuz stresinde gerekse stressiz şartlarda melatonin uygulamasında *CCD1* gen ifadesinin azaldığı belirlenmiştir. Bu sonucun nedeni olarak melatonin diğer tolerans mekanizması genlerini etkilemesi ve bu nedenle *CCD1* geninin ifadesinin azaldığı düşünülmektedir. Ancak, bu durumun ayrıntılı olarak incelenmesi gerekmektedir.
5. Kurak ve yarı kurak alanlardaki tuz stresinin bitkiler üzerindeki olumsuz etkilerini azaltmak amacıyla melatonin eksojen olarak kullanılabileceği ya da içsel melatonin konsantrasyonunu artırıcı biyoteknolojik yöntemlere bitki ıslahında yer verilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Abdel Latef, A. A. H., Tahjib-Ul-Arif, M., & Rhaman, M. S. (2021). Exogenous Auxin-Mediated Salt Stress Alleviation in Faba Bean (*Vicia faba* L.). *Agronomy* 2021, 11, 547.
- Ahmad, P., Ahanger, M. A., Alam, P., Alyemeni, M. N., Wijaya, L., Ali, S., & Ashraf, M. (2019). Silicon (Si) supplementation alleviates NaCl toxicity in mung bean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] through the modifications of physio-biochemical attributes and key antioxidant enzymes. *Journal of Plant Growth Regulation*, 38(1), 70-82.
- Ahmad, S., Wang, G. Y., Muhammad, I., Chi, Y. X., Zeeshan, M., Nasar, J., & Zhou, X. B. (2022). Interactive Effects of Melatonin and Nitrogen Improve Drought Tolerance of Maize Seedlings by Regulating Growth and Physiochemical Attributes. *Antioxidants*, 11(2), 359.
- Akibode, C. S., & Maredia, M. K. (2012). Global and regional trends in production, trade and consumption of food legume crops (No. 1099-2016-89132).
- Alder, A., Jamil, M., Marzorati, M., Bruno, M., Vermathen, M., Bigler, P., ... & Al-Babili, S. (2012). The path from β -carotene to carlactone, a strigolactone-like plant hormone. *Science*, 335(6074), 1348-1351.
- Alexandratos, N., & Bruinsma, J. (2012). World agriculture towards 2030/2050: the 2012 revision.
- Alinia, M., Kazemeini, S. A., Sepehri, M., & Dadkhodaie, A. (2021). Simultaneous Application of Rhizobium Strain and Melatonin Improves the Photosynthetic Capacity and Induces Antioxidant Defense System in Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Under Salinity Stress. *Journal of Plant Growth Regulation*, 1-15.
- Amoah, J. N., & Seo, Y. W. (2021). Effect of progressive drought stress on physio-biochemical responses and gene expression patterns in wheat. *3 Biotech*, 11(10), 1-18.
- Anonim, 2021. [https:// noroblog.net](https://noroblog.net). Erişim tarihi: 15.11.2021
- Anonymous, 2021. [https:// www.dw.com.tr](https://www.dw.com.tr). Erişim tarihi: 14.11.2021
- Anuradha, S., & Seeta Ram Rao, S. (2001). Effect of brassinosteroids on salinity stress induced inhibition of seed germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Growth Regulation*, 33(2), 151-153.
- Arnao, M. B., & Hernández-Ruiz, J. (2014). Melatonin: plant growth regulator and/or biostimulator during stress?. *Trends in plant science*, 19(12), 789-797.
- Arnao, M. B., & Hernández-Ruiz, J. (2018). Melatonin and its relationship to plant hormones. *Annals of Botany*, 121(2), 195-207.
- Asgher, M., Per, T. S., Masood, A., Fatma, M., Freschi, L., Corpas, F. J., & Khan, N. A. (2017). Nitric oxide signaling and its crosstalk with other plant growth regulators in plant responses to abiotic stress. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(3), 2273-2285.
- Asmare, H. A., & Ambo, E. (2013). Impact of salinity on tolerance, vigor, and seedling relative water content of haricot bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars. *Journal of Plant Sciences*, 1(3), 22-27.

- Atak, M., Kaya, M. D., Kaya, G., Çikili, Y., & Çiftçi, C. Y. (2006). Effects of NaCl on the germination, seedling growth and water uptake of triticale. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 30(1), 39-47.
- Auldridge, M. E., McCarty, D. R., & Klee, H. J. (2006). Plant carotenoid cleavage oxygenases and their apocarotenoid products. *Current opinion in plant biology*, 9(3), 315-321.
- Axelrod, J., & Weissbach, H. (1960). Enzymatic O-methylation of N-acetylserotonin to melatonin. *Science*, 131(3409), 1312-1312.
- Aydoğan, C., Elkoca, E., Haliloğlu, K., & Aydın, M. (2020). Bazı İspir kuru fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) hatlarının seleksiyonu üzerine bir ön çalışma. *ANADOLU Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 30(2), 251-265.
- Aygören, A.S., 2021. Melatonin Uygulanan Fasulye Genotiplerinde Kuraklık ve Tuz Stresleri Altında SABATH Gen Ailesinin Karakterizasyonu ve Genom Çaplı Analizi. Yüksek lisans, Fen bilimleri enstitüsü, Erzurum Teknik Üniversitesi, Fen bilimleri fakültesi., Erzurum.
- Azizi, F., Amiri, H., & Ismaili, A. (2022). Melatonin improves salinity stress tolerance of *Phaseolus vulgaris* L. cv. Pak by changing antioxidant enzymes and photosynthetic parameters. *Acta Physiologiae Plantarum*, 44(4), 1-12.
- Baba, S. A., Jain, D., Abbas, N., & Ashraf, N. (2015). Overexpression of Crocus carotenoid cleavage dioxygenase, *CsCCD4b*, in *Arabidopsis* imparts tolerance to dehydration, salt and oxidative stresses by modulating ROS machinery. *Journal of plant physiology*, 189, 114-125.
- Back, K., Tan, D. X., & Reiter, R. J. (2016). Melatonin biosynthesis in plants: multiple pathways catalyze tryptophan to melatonin in the cytoplasm or chloroplasts. *Journal of Pineal Research*, 61(4), 426-437.
- Bahcesular, B., Yildirim, E. D., Karaçocuk, M., Kulak, M., & Karaman, S. (2020). Seed priming with melatonin effects on growth, essential oil compounds and antioxidant activity of basil (*Ocimum basilicum* L.) under salinity stress. *Industrial Crops and Products*, 146, 112165.
- Bailey-Serres, J., Parker, J. E., Ainsworth, E. A., Oldroyd, G. E., & Schroeder, J. I. (2019). Genetic strategies for improving crop yields. *Nature*, 575(7781), 109-118.
- Barampama, Z., & Simard, R. E. (1993). Nutrient composition, protein quality and antinutritional factors of some varieties of dry beans (*Phaseolus vulgaris*) grown in Burundi. *Food Chemistry*, 47(2), 159-167.
- Bargaz, A., Nassar, R. M. A., Rady, M. M., Gaballah, M. S., Thompson, S. M., Brestic, M., ... & Abdelhamid, M. T. (2016). Improved salinity tolerance by phosphorus fertilizer in two *Phaseolus vulgaris* recombinant inbred lines contrasting in their P-efficiency. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 202(6), 497-507.
- Barr, H. D., & Weatherley, P. E. (1962). A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficit in leaves. *Aust J Biol Sci*, 15(3), 413-428.
- Barraza, A., Cabrera-Ponce, J. L., Gamboa-Becerra, R., Luna-Martínez, F., Winkler, R., & Álvarez-Venegas, R. (2015). The *Phaseolus vulgaris* *PvTRX1h* gene regulates plant hormone biosynthesis in embryogenic callus from common bean. *Frontiers in Plant Science*, 6, 577.

- Bashir, T., Naz, S., & Bano, A. (2020). Plant growth promoting rhizobacteria in combination with plant growth regulators attenuate the effect of drought stress. *Pak. J. Bot*, 52(3), 783-792.
- Beebe, S. E., Rao, I. M., Mukankusi, C. M., & Buruchara, R. A. (2012). Improving resource use efficiency and reducing risk of common bean production in Africa, Latin America, and the Caribbean. International Center for Tropical Agriculture.
- Bewley, J. D., Bradford, K., & Hilhorst, H. (2012). Seeds: physiology of development, germination and dormancy. Springer Science & Business Media.
- Botía, P., Navarro, J. M., Cerdá, A., & Martínez, V. (2005). Yield and fruit quality of two melon cultivars irrigated with saline water at different stages of development. *European Journal of Agronomy*, 23(3), 243-253.
- Bouvier, F., Isner, J. C., Dogbo, O., & Camara, B. (2005). Oxidative tailoring of carotenoids: a prospect towards novel functions in plants. *Trends in plant science*, 10(4), 187-194.
- Bozcuk, S. (1978). Domates (*Lycopersicum esculentum* Mill.), arpa (*Hordeum vulgare* L.) ve pamuk (*Gossypium hirsutum* L.) bitkilerinin büyüme ve gelişmesinde tuz-kinetin etkileşimi üzerinde araştırmalar. Doçentlik tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi.
- Broughton, W. J., Hernandez, G., Blair, M., Beebe, S., Gepts, P., & Vanderleyden, J. (2003). Beans (*Phaseolus spp.*)—model food legumes. *Plant and soil*, 252(1), 55-128.
- Burssens, S., Himanen, K., Van de Cotte, B., Beeckman, T., Van Montagu, M., Inzé, D., & Verbruggen, N. (2000). Expression of cell cycle regulatory genes and morphological alterations in response to salt stress in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, 211(5), 632-640.
- Butcher, K., Wick, A. F., DeSutter, T., Chatterjee, A., & Harmon, J. (2016). Soil salinity: A threat to global food security. *Agronomy Journal*, 108(6), 2189-2200.
- Byeon, Y., & Back, K. (2014). Melatonin synthesis in rice seedlings in vivo is enhanced at high temperatures and under dark conditions due to increased serotonin N-acetyltransferase and N-acetylserotonin methyltransferase activities. *Journal of Pineal Research*, 56(2), 189-195.
- Cao, Y., Guo, X. L., Zhang, Q., Cao, Z. Y., Zhao, Y. X., & Zhang, H. (2005). Isolation and characterization of carotenoid cleavage dioxygenase gene in halophyte *Suaeda salsa*. *Plant growth regulation*, 46(1), 61-67.
- Chávez-Mendoza, C., & Sánchez, E. (2017). Bioactive compounds from Mexican varieties of the common bean (*Phaseolus vulgaris*): Implications for health. *Molecules*, 22(8), 1360.
- Chawla, S., Jain, S., & Jain, V. (2013). Salinity induced oxidative stress and antioxidant system in salt-tolerant and salt-sensitive cultivars of rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of plant biochemistry and biotechnology*, 22(1), 27-34.
- Chen, S., Gollop, N., & Heuer, B. (2009). Proteomic analysis of salt-stressed tomato (*Solanum lycopersicum*) seedlings: effect of genotype and exogenous application of glycinebetaine. *Journal of Experimental Botany*, 60(7), 2005-2019.
- Chen, Y., Zhang, Y., Nawaz, G., Zhao, C., Li, Y., Dong, T., ... & Xu, T. (2020). Exogenous melatonin attenuates post-harvest decay by increasing antioxidant activity in wax apple (*Syzygium samarangense*). *Frontiers in plant science*, 1411.
- Chutipajit, S., Cha-um, S., & Sompornpailin, K. (2011). High contents of proline and anthocyanin increase protective response to salinity in '*Oryza sativa*' L. spp. '*indica*'. *Australian Journal of Crop Science*, 5(10), 1191-1198.

- Cokkizgin, A. (2012). Salinity stress in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seed germination. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 40(1), 177-182.
- Cunningham Jr, F. X., & Gantt, E. (1998). Genes and enzymes of carotenoid biosynthesis in plants. *Annual review of plant biology*, 49(1), 557-583.
- Cunningham Jr, F. X., Pogson, B., Sun, Z., McDonald, K. A., DellaPenna, D., & Gantt, E. (1996). Functional analysis of the beta and epsilon lycopene cyclase enzymes of *Arabidopsis* reveals a mechanism for control of cyclic carotenoid formation. *The Plant Cell*, 8(9), 1613-1626.
- Czarnecki, O., Yang, J., Weston, D. J., Tuskan, G. A., & Chen, J. G. (2013). A dual role of strigolactones in phosphate acquisition and utilization in plants. *International journal of molecular sciences*, 14(4), 7681-7701.
- Çavuşoğlu, K., Kaya, A., Yilmaz, F., & Yalçın, E. (2012). Effects of cypermethrin on *Allium cepa*. *Environmental toxicology*, 27(10), 583-589.
- Çulha, Ş., & ÇAKIRLAR, H. (2011). Tuzluluğun bitkiler üzerine etkileri ve tuz tolerans mekanizmaları. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 11(2), 11-34.
- Dantas, B. F., Ribeiro, L. D. S., & Aragão, C. A. (2007). Germination, initial growth and cotyledon protein content of bean cultivars under salinity stress. *Revista Brasileira de Sementes*, 29(2), 106-110.
- Dash, M., & Panda, S. K. (2001). Salt stress induced changes in growth and enzyme activities in germinating *Phaseolus mungo* seeds. *Biologia plantarum*, 44(4), 587-589.
- Daszkowska-Golec, A. (2011). *Arabidopsis* seed germination under abiotic stress as a concert of action of phytohormones. *OMICS: a journal of integrative biology*, 15(11), 763-774.
- Davison, P. A., Hunter, C. N., & Horton, P. (2002). Overexpression of β -carotene hydroxylase enhances stress tolerance in *Arabidopsis*. *Nature*, 418(6894), 203-206.
- Del Amor, F. M., Martinez, V., & Cerda, A. (2001). Salt tolerance of tomato plants as affected by stage of plant development. *HortScience*, 36(7), 1260-1263.
- Delgado-Salinas, A., Bibler, R., & Lavin, M. (2006). Phylogeny of the genus *Phaseolus* (*Leguminosae*): a recent diversification in an ancient landscape. *Systematic Botany*, 31(4), 779-791.
- Dickinson, A. J., Lehner, K., Mi, J., Jia, K. P., Mijar, M., Dinneny, J., ... & Benfey, P. N. (2019). β -Cyclocitral is a conserved root growth regulator. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(21), 10563-10567.
- Doğru, A., & Canavar, S. (2020). Bitkilerde tuz toleransının fizyolojik ve biyokimyasal bileşenleri. *Academic Platform Journal of Engineering and Science*, 8(1), 155-174.
- Dubbels, R., Reiter, R. J., Klenke, E., Goebel, A., Schnakenberg, E., Ehlers, C., ... & Schloot, W. (1995). Melatonin in edible plants identified by radioimmunoassay and by high performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of pineal research*, 18(1), 28-31.
- El Nahhas, N., AlKahtani, M. D., Abdelaal, K. A., Al Husnain, L., AlGwaiz, H. I., Hafez, Y. M., ... & Elkelish, A. (2021). Biochar and jasmonic acid application attenuates antioxidative systems and improves growth, physiology, nutrient uptake and productivity of faba bean (*Vicia faba* L.) irrigated with saline water. *Plant Physiology and Biochemistry*, 166, 807-817.

- Elçi Ş, 1982. Sitogenetikte Gözlemler ve Araştırma Yöntemleri. Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Yayınları, 3, 37-85. Elazığ.
- El-Flaah, R. F., El-Said, R. A., Nassar, M. A., Hassan, M., & Abdelaal, K. A. A. (2021). Effect of rhizobium, nano silica and ascorbic acid on morpho-physiological characters and gene expression of *POX* and *PPO* in faba bean (*Vicia faba* L.) under salinity stress conditions. *Fresenius Environ. Bull*, 30, 5751-5764.
- Elkoca, E. (1997). Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.)’de Tuza Dayanıklılık Üzerine Bir Araştırma. Atatürk Üniv. Fen Bil. Enst (Doctoral dissertation, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum).
- El-Lethy, S. R., Abdelhamid, M. T., & Reda, F. (2013). Effect of potassium application on wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars grown under salinity stress. *World Appl Sci J*, 26(7), 840-850.
- El-Mahdy, M. T., Youssef, M., & Elazab, D. S. (2022). In vitro screening for salinity tolerance in pomegranate (*Punica granatum* L.) by morphological and molecular characterization. *Acta Physiologiae Plantarum*, 44(2), 1-11.
- El-Ramady, H., Alshaal, T., Elhawat, N., Ghazi, A., Elsakhawy, T., Omara, A. E. D., ... & Schnug, E. (2018). Plant nutrients and their roles under saline soil conditions. In *Plant nutrients and abiotic stress tolerance* (pp. 297-324). Springer, Singapore.
- ElSayed, A. I., Boulila, M., Rafudeen, M. S., Mohamed, A. H., Sengupta, S., Rady, M., & Omar, A. A. (2020). Melatonin regulatory mechanisms and phylogenetic analyses of melatonin biosynthesis related genes extracted from peanut under salinity stress. *Plants*, 9(7), 854.
- ElSayed, A. I., Rafudeen, M. S., Gomaa, A. M., & Hasanuzzaman, M. (2021). Exogenous melatonin enhances the reactive oxygen species metabolism, antioxidant defense-related gene expression, and photosynthetic capacity of *Phaseolus vulgaris* L. to confer salt stress tolerance. *Physiologia Plantarum*, 173(4), 1369-1381.
- Elstner, E. F. (1987). Metabolism of activated oxygen species. In *Biochemistry of metabolism* (pp. 253-315). Academic Press.
- Fahad, S., Sonmez, O., Saud, S., Wang, D., Wu, C., Adnan, M., & Turan, V. (Eds.). (2021). *Plant growth regulators for climate-smart agriculture*. CRC Press.
- FAO, 2022. <http://www.fao.org/> (23.02.2022).
- Farooq, M., Gogoi, N., Barthakur, S., Baroowa, B., Bharadwaj, N., Alghamdi, S. S., & Siddique, K. H. (2017). Drought stress in grain legumes during reproduction and grain filling. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 203(2), 81-102.
- Flores-Sosa, Á. R., Aquino-Bolaños, E. N., Cardador-Martínez, A., Chávez-Servia, J. L., Vera-Guzmán, A. M., Carrillo-Rodríguez, J. C., & Jiménez, J. E. A. (2020). Variation in protein and amino acids content among landraces of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 750-760.
- Fu, J., Wu, Y., Miao, Y., Xu, Y., Zhao, E., Wang, J., ... & Hu, T. (2017). Improved cold tolerance in *Elymus nutans* by exogenous application of melatonin may involve ABA-dependent and ABA-independent pathways. *Scientific reports*, 7(1), 1-11.
- Gadallah, M. A. A. (1999). Effects of proline and glycinebetaine on *Vicia faba* responses to salt stress. *Biologia plantarum*, 42(2), 249-257.
- Gama, P. B. S., Inanaga, S., Tanaka, K., & Nakazawa, R. (2007). Physiological response of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings to salinity stress. *African Journal of biotechnology*, 6(2).

- Ge, Z., Rubio, G., & Lynch, J. P. (2000). The importance of root gravitropism for inter-root competition and phosphorus acquisition efficiency: results from a geometric simulation model. *Plant and soil*, 218(1), 159-171.
- Ghoulam, C., Foursy, A., & Fares, K. (2002). Effects of salt stress on growth, inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in five sugar beet cultivars. *Environmental and experimental Botany*, 47(1), 39-50.
- Giuliano, G., Al-Babili, S., & Von Lintig, J. (2003). Carotenoid oxygenases: cleave it or leave it. *Trends in plant science*, 8(4), 145-149.
- Glimn-Lacy, J., & Kaufman, P. B. (1984). Names and Terms. In *Botany Illustrated* (pp. 1-40). Springer, Dordrecht.
- Gomes-Filho, E., Lima, C. R. F. M., Costa, J. H., da Silva, A. C. M., da Guia Silva Lima, M., de Lacerda, C. F., & Prisco, J. T. (2008). Cowpea ribonuclease: properties and effect of NaCl-salinity on its activation during seed germination and seedling establishment. *Plant Cell Reports*, 27(1), 147-157.
- Goodwin, T. W. (1980). Carotenoids in higher plants. In *The biochemistry of the carotenoids* (pp. 143-203). Springer, Dordrecht.
- Götz, T., Sandmann, G., & Römer, S. (2002). Expression of a bacterial carotene hydroxylase gene (*crtZ*) enhances UV tolerance in tobacco. *Plant molecular biology*, 50(1), 127-140.
- Graham, P. H., & Ranalli, P. (1997). Common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Field Crops Research*, 53(1-3), 131-146.
- Granito, M., Frias, J., Doblado, R., Guerra, M., Champ, M., & Vidal-Valverde, C. (2002). Nutritional improvement of beans (*Phaseolus vulgaris*) by natural fermentation. *European Food Research and Technology*, 214(3), 226-231.
- Guajardo-Flores D, Serna-Saldívar SO, Gutiérrez-Uribe JA. Evaluation of the antioxidant and antiproliferative activities of extracted saponins and flavonols from germinated black beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chem.* 2013;141(2):1497-503.
- Guevara-González, R. G., & Torres-Pacheco, I. (2006). *Advances in agricultural and food biotechnology*, 2006.
- Gültekin, M. (2018). Potasyum nitratın tuz stresinde yetiştirilen domates bitkisinin fizyolojik gelişimine ve verime etkisi/The effects of potassium nitrate on the physiological development and yield of tomato plants grow under salinity stress (Doctoral dissertation).
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (1985). *Free radicals in biology and medicine*.
- Han, Y., Gao, Y., Li, M., Du, Y., Zhang, Y., Zhang, W., ... & Wu, H. (2021). The molecular events underpinning cultivar differences in melatonin counteracting salt damage in *Phaseolus vulgaris*. *Functional Plant Biology*.
- Hardeland, R. (2016). Melatonin in plants—diversity of levels and multiplicity of functions. *Frontiers in Plant Science*, 7, 198.
- Hasan, M., Ahammed, G. J., Yin, L., Shi, K., Xia, X., Zhou, Y., ... & Zhou, J. (2015). Melatonin mitigates cadmium phytotoxicity through modulation of phytochelatin biosynthesis, vacuolar sequestration, and antioxidant potential in *Solanum lycopersicum* L. *Frontiers in Plant Science*, 6, 601.
- Hasanuzzaman, M., Alam, M., Rahman, A., Hasanuzzaman, M., Nahar, K., & Fujita, M. (2014). Exogenous proline and glycine betaine mediated upregulation of antioxidant

defense and glyoxalase systems provides better protection against salt-induced oxidative stress in two rice (*Oryza sativa* L.) varieties. *BioMed Research International*, 2014.

- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. H. M., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S. M., Mahmud, J. A., ... & Fotopoulos, V. (2020). Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. *Antioxidants*, 9(8), 681.
- Hasegawa, P. M., Bressan, R. A., Zhu, J. K., & Bohnert, H. J. (2000). Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual review of plant biology*, 51(1), 463-499.
- Hassanein, R. A., Hashem, H. A., & Khalil, R. R. (2012). Stigmasterol treatment increases salt stress tolerance of faba bean plants by enhancing antioxidant systems. *Plant Omics*, 5(5), 476-485.
- Hattori, A., Migitaka, H., Iigo, M., Itoh, M., Yamamoto, K., Ohtani-Kaneko, R., ... & Reiter, R. J. (1995). Identification of melatonin in plants and its effects on plasma melatonin levels and binding to melatonin receptors in vertebrates. *Biochemistry and molecular biology international*, 35(3), 627-634.
- Heidari, M., & Jamshid, P. (2010). Interaction between salinity and potassium on grain yield, carbohydrate content and nutrient uptake in pearl millet. *ARP Journal of Agricultural and Biological Science*, 5(6), 39-46.
- Helmey, R. (2021). Using Sugarcane Waste to Reduce Cytogenetic Impairment in *Vicia faba* Exposed to Saltiness Stress. *Egyptian Journal of Botany*, 61(1), 41-51.
- Hernandez, J. A., Campillo, A., Jimenez, A., Alarcon, J. J., & Sevilla, F. (1999). Response of antioxidant systems and leaf water relations to NaCl stress in pea plants. *The New Phytologist*, 141(2), 241-251.
- Hernández-Ruiz, J., Cano, A., & Arnao, M. B. (2005). Melatonin acts as a growth-stimulating compound in some monocot species. *Journal of pineal research*, 39(2), 137-142.
- Hoagland, D. R., & Arnon, D. I. (1938). Growing plants without soil by the water-culture method. *Growing plants without soil by the water-culture method*.
- Hu, Y., & Schmidhalter, U. (2005). Drought and salinity: a comparison of their effects on mineral nutrition of plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 168(4), 541-549.
- Huang, R., Sukprakarn, S., Phavaphutanon, L., Juntakool, S., & Chaikul, C. (2006). A comparison of electric field treatments to hydropriming on cucumber seed germination enhancement. *Agriculture and Natural Resources*, 40(3), 559-565.
- Hussain, S., Zhu, C., Bai, Z., Huang, J., Zhu, L., Cao, X., ... & Zhang, J. (2019). iTRAQ-based protein profiling and biochemical analysis of two contrasting rice genotypes revealed their differential responses to salt stress. *International journal of molecular sciences*, 20(3), 547.
- I Ahmed, H. M., & M El Sayed, S. S. (2021). Alleviation of Natural Salinity Stress on Seedlings and Growth of Cowpea Plants Using Some Different Protective Treatments. *المختلطة المعالجات بعض باستخدام اللوبيا نباتات ونمو إنبات علي الطبيعي الملحي الإجهاد تأثير تقادي*. *Journal of Plant Production*, 12(7), 701-710.
- Imran, M., Latif Khan, A., Shahzad, R., Aaqil Khan, M., Bilal, S., Khan, A., ... & Lee, I. J. (2021). Exogenous melatonin induces drought stress tolerance by promoting plant growth and antioxidant defence system of soybean plants. *AoB Plants*, 13(4), plab026.

- Isayenkov, S. V., & Maathuis, F. J. (2019). Plant salinity stress: many unanswered questions remain. *Frontiers in plant science*, 10, 80.
- Iyengar, E. R. R., & Reddy, M. P. (1996). Photosynthesis in highly salt tolerant plants. *Handbook of photosynthesis*. Marshal Dekar, Baten Rose, USA, 909.
- Jiang, C., Cui, Q., Feng, K., Xu, D., Li, C., & Zheng, Q. (2016). Melatonin improves antioxidant capacity and ion homeostasis and enhances salt tolerance in maize seedlings. *Acta physiologiae plantarum*, 38(4), 1-9.
- Jiang, W., & Liu, D. (1999). Effects of Pb^{+2} on root growth, cell division, and nucleolus of *Brassica juncea* L. *Israel journal of plant sciences*, 47(3), 153-156.
- Jing, P., Zou, J., Kong, L., Hu, S., Wang, B., Yang, J., & Xie, G. (2016). *OsCCD1*, a novel small calcium-binding protein with one EF-hand motif, positively regulates osmotic and salt tolerance in rice. *Plant Science*, 247, 104-114.
- Kahrizi, S., Sedighi, M., & Sofalian, O. (2012). Effect of salt stress on proline and activity of antioxidant enzymes in ten durum wheat cultivars. *Annals of Biological Research*, 3(8), 3870-3874.
- Kantar, F., & Elkoca, E. (2013). Kültür Bitkilerinde Tuza Dayanıklılık. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 29(1).
- Karabay, U., Toptas, A., Yanik, J., & Aktas, L. (2021). Does Biochar Alleviate Salt Stress Impact on Growth of Salt-Sensitive Crop Common Bean. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 52(5), 456-469.
- Kav, N. N., Srivastava, S., Goonewardene, L., & Blade, S. F. (2004). Proteome-level changes in the roots of *Pisum sativum* in response to salinity. *Annals of Applied Biology*, 145(2), 217-230.
- Kaya, C., Higgs, D., Ashraf, M., Alyemeni, M. N., & Ahmad, P. (2020). Integrative roles of nitric oxide and hydrogen sulfide in melatonin-induced tolerance of pepper (*Capsicum annuum* L.) plants to iron deficiency and salt stress alone or in combination. *Physiologia plantarum*, 168(2), 256-277.
- Kaya, E. (2011). Erken bitki gelişme aşamasında kuraklık ve tuzluluk streslerine tolerans bakımından fasulye genotipinin taranması. *Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, 212.
- Kaymakanova, M., Stoeva, N., & Mincheva, T. (2008). Salinity and its effects on the physiological response of bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Central European Agriculture*, 9(4), 749-755.
- Khan, A. N., Qureshi, R. H., & Ahmad, N. (1995). Performance of cotton cultivars in saline growth media at germination stage. *Sarhad Journal of Agriculture (Pakistan)*.
- Khan, M. A., & Rizvi, Y. (1994). Effect of salinity, temperature, and growth regulators on the germination and early seedling growth of *Atriplex griffithii* var. *stocksii*. *Canadian Journal of Botany*, 72(4), 475-479.
- Khan, M. A., Khan, M. A., & Weber, D. J. (Eds.). (2006). *Ecophysiology of high salinity tolerant plants* (Vol. 40). Springer Science & Business Media.
- Khan, N. A., & Singh, S. (2008). *Plant Responses to Abiotic Stresses*. IK International, New Delhi.
- Khripach, V., Zhabinskii, V., & de Groot, A. (2000). Twenty years of brassinosteroids: steroidal plant hormones warrant better crops for the XXI century. *Annals of botany*, 86(3), 441-447.

- Kışlalıoğlu, M., & Berkes, F. (1990). Çevre ve Ekoloji. İstanbul: Remzi Kitabevi, Ankara Caddesi, 93.
- Kielkowska, A. (2017). Cytogenetic effect of prolonged in vitro exposure of *Allium cepa* L. root meristem cells to salt stress. *Cytology and Genetics*, 51(6), 478-484.
- Kim, Y., Hwang, I., Jung, H. J., Park, J. I., Kang, J. G., & Nou, I. S. (2016). Genome-wide classification and abiotic stress-responsive expression profiling of carotenoid oxygenase genes in *Brassica rapa* and *Brassica oleracea*. *Journal of plant growth regulation*, 35(1), 202-214.
- Kloer, D. P., Ruch, S., Al-Babili, S., Beyer, P., & Schulz, G. E. (2005). The structure of a retinal-forming carotenoid oxygenase. *Science*, 308(5719), 267-269.
- Korkmaz, H., & Durmaz, A. (2017). Bitkilerin Abiyotik Stres Faktörlerine Karşı Geliştirilen Cevaplar. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 7(2), 192-207.
- Koyro, H. W. (2002). Ultrastructural effects of salinity in higher plants. In *Salinity: Environment-Plants-Molecules* (pp. 139-157). Springer, Dordrecht.
- Kul, R., 2019. Erzurum Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) Popülasyonunun Morfolojik, Moleküler Karakterizasyonu ve Seleksiyonu. Doktora tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, Türkiye.
- Kul, R., Ekinci, M., Turan, M., & Yildirim, E. (2021). Impact of Biochar on Growth, Physiology and Antioxidant Activity of Common Bean Subjected to Salinity Stress. *Global Journal of Botanical Science*, 9, 8-13.
- Kul, R., Esringü, A., Dadasoglu, E., Sahin, Ü., Turan, M., Örs, S., ... & Yildirim, E. (2019). Melatonin: Role in increasing plant tolerance in abiotic stress conditions. *Abiotic and Biotic Stress in Plants*, 1, 19.
- Kul, R., Esringü, A., Dadasoglu, E., Sahin, Ü., Turan, M., Örs, S., ... & Yildirim, E. (2019). Melatonin: Role in increasing plant tolerance in abiotic stress conditions. *Abiotic and Biotic Stress in Plants*, 1, 19.
- Kume, A., Akitsu, T., & Nasahara, K. N. (2018). Why is chlorophyll b only used in light-harvesting systems?. *Journal of Plant research*, 131(6), 961-972.
- Kurth, E., Cramer, G. R., Läuchli, A., & Epstein, E. (1986). Effects of NaCl and CaCl₂ on cell enlargement and cell production in cotton roots. *Plant Physiology*, 82(4), 1102-1106.
- Läuchli, A., & Epstein, E. (1990). Plant responses to saline and sodic conditions. *Agricultural salinity assessment and management*, 71, 113-137.
- Ledford, H. K., Baroli, I., Shin, J. W., Fischer, B. B., Eggen, R. I. L., & Niyogi, K. K. (2004). Comparative profiling of lipid-soluble antioxidants and transcripts reveals two phases of photo-oxidative stress in a xanthophyll-deficient mutant of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Molecular Genetics and Genomics*, 272(4), 470-479.
- Lee, S., Cho, J., & Elimelech, M. (2004). Influence of colloidal fouling and feed water recovery on salt rejection of RO and NF membranes. *Desalination*, 160(1), 1-12.
- Li, C., Wang, P., Wei, Z., Liang, D., Liu, C., Yin, L., ... & Ma, F. (2012). The mitigation effects of exogenous melatonin on salinity-induced stress in *Malus hupehensis*. *Journal of pineal research*, 53(3), 298-306.
- Li, H., Chang, J., Chen, H., Wang, Z., Gu, X., Wei, C., ... & Zhang, X. (2017). Exogenous melatonin confers salt stress tolerance to watermelon by improving photosynthesis and redox homeostasis. *Frontiers in plant science*, 8, 295.

- Li, J., Liu, J., Zhu, T., Zhao, C., Li, L., & Chen, M. (2019). The role of melatonin in salt stress responses. *International journal of molecular sciences*, 20(7), 1735.
- Li, J., Liu, Y., Zhang, M., Xu, H., Ning, K., Wang, B., & Chen, M. (2022). Melatonin increases growth and salt tolerance of *Limonium bicolor* by improving photosynthetic and antioxidant capacity. *BMC plant biology*, 22(1), 1-14.
- Li, R. H., Guo, P. G., Michael, B., Stefania, G., & Salvatore, C. (2006). Evaluation of chlorophyll content and fluorescence parameters as indicators of drought tolerance in barley. *Agricultural Sciences in China*, 5(10), 751-757.
- Li, X., Ahammed, G. J., Zhang, X. N., Zhang, L., Yan, P., Zhang, L. P., ... & Han, W. Y. (2021). Melatonin-mediated regulation of anthocyanin biosynthesis and antioxidant defense confer tolerance to arsenic stress in *Camellia sinensis* L. *Journal of Hazardous Materials*, 403, 123922.
- Li, X., Ahammed, G. J., Zhang, Y. Q., Zhang, G. Q., Sun, Z. H., Zhou, J., ... & Shi, K. (2015). Carbon dioxide enrichment alleviates heat stress by improving cellular redox homeostasis through an ABA-independent process in tomato plants. *Plant Biology*, 17(1), 81-89.
- Liang, D., Ni, Z., Xia, H., Xie, Y., Lv, X., Wang, J., ... & Luo, X. (2019). Exogenous melatonin promotes biomass accumulation and photosynthesis of kiwifruit seedlings under drought stress. *Scientia Horticulturae*, 246, 34-43.
- Liu, Z., CAI, J. S., LI, J. J., LU, G. Y., LI, C. S., FU, G. P., ... & Cheng, Y. (2018). Exogenous application of a low concentration of melatonin enhances salt tolerance in rapeseed (*Brassica napus* L.) seedlings. *Journal of Integrative Agriculture*, 17(2), 328-335.
- Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻ΔΔCT method. *methods*, 25(4), 402-408.
- López Vázquez, C. M. (2019). Efectos de los ureidos y de la fijación simbiótica de nitrógeno en la tolerancia a la sequía en plantas de judía.
- Lopez, C. M. L., Takahashi, H., & Yamazaki, S. (2002). Plant–water relations of kidney bean plants treated with NaCl and foliarly applied glycinebetaine. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 188(2), 73-80.
- Lutts, S., Kinet, J. M., & Bouharmont, J. (1996). NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Annals of botany*, 78(3), 389-398.
- Maas, E. V., & Hoffman, G. J. (1977). Crop salt tolerance current assessment. *Journal of the irrigation and drainage division*, 103(2), 115-134.
- Malick, C. E. H., Ling-Feng, M., Da-Dong, L., & Fan, Y. (2021). Insights into Metabolic Engineering of the Biosynthesis of Glycine Betaine and Melatonin to Improve Plant Abiotic Stress Tolerance. In *Botany-Recent Advances and Applications*. IntechOpen.
- Mansour, M. M. F. (2013). Plasma membrane permeability as an indicator of salt tolerance in plants. *Biologia Plantarum*, 57(1), 1-10.
- Mansour, M. M. F., & Salama, K. H. (2004). Cellular basis of salinity tolerance in plants. *Environmental and Experimental Botany*, 52(2), 113-122.
- Mansour, M. M. F., & Salama, K. H. A. (2020). Proline and abiotic stresses: Responses and adaptation. In *Plant ecophysiology and adaptation under climate change: Mechanisms and perspectives II* (pp. 357-397). Springer, Singapore.

- Marschner, C. (1996). H. Marschner, Mineral Nutrition of Higher Plants, Academic Press, London (1995), p. 889, (ISBN 0-12-473543-6). Price: 29.95 Pound Sterling.
- Martinez, V., Nieves-Cordones, M., Lopez-Delacalle, M., Rodenas, R., Mestre, T. C., Garcia-Sanchez, F., ... & Rivero, R. M. (2018). Tolerance to stress combination in tomato plants: new insights in the protective role of melatonin. *Molecules*, 23(3), 535.
- Matthews, C., Arshad, M., & Hannoufa, A. (2019). Alfalfa response to heat stress is modulated by microRNA156. *Physiologia plantarum*, 165(4), 830-842.
- Meguekam, T. L., Moualeu, D. P., Taffouo, V. D., & Stützel, H. (2021). Changes in plant growth, leaf relative water content and physiological traits in response to salt stress in peanut (*Arachis hypogaea* L.) varieties. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 49(1), 12049-12049.
- Meher, P. S., Reddy, K. A., & Rao, D. M. (2018). Effect of PEG-6000 imposed drought stress on RNA content, relative water content (RWC), and chlorophyll content in peanut leaves and roots. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(2), 285.
- Meloni, D. A., Oliva, M. A., Martinez, C. A., & Cambraia, J. (2003). Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. *Environmental and experimental botany*, 49(1), 69-76.
- Mesi, A., & Kopliku, D. (2013). Cytotoxic and genotoxic potency screening of two pesticides on *Allium cepa* L. *Procedia Technology*, 8, 19-26.
- Miller, G., Schlauch, K., Tam, R., Cortes, D., Torres, M. A., Shulaev, V., ... & Mittler, R. (2009). The plant NADPH oxidase RBOHD mediates rapid systemic signaling in response to diverse stimuli. *Science signaling*, 2(84), ra45-ra45.
- Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in plant science*, 7(9), 405-410.
- Mohamed, H. I., El-Sayed, A. A., Rady, M. M., Caruso, G., Sekara, A., & Abdelhamid, M. T. (2021). Coupling effects of phosphorus fertilization source and rate on growth and ion accumulation of common bean under salinity stress. *PeerJ*, 9, e11463.
- Muhammed, M. A., Mohamed, A. K. S., Qayyum, M. F., Haider, G., & Ali, H. A. (2022). Physiological response of mango transplants to phytohormones under salinity stress. *Scientia Horticulturae*, 296, 110918.
- Munns, R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, cell & environment*, 25(2), 239-250.
- Munns, R. (2005). Genes and salt tolerance: bringing them together. *New phytologist*, 167(3), 645-663.
- Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59, 651-681.
- Munns, R., Husain, S., Rivelli, A. R., James, R. A., Condon, A. G., Lindsay, M. P., ... & Hare, R. A. (2002). Avenues for increasing salt tolerance of crops, and the role of physiologically based selection traits. In *Progress in plant nutrition: plenary lectures of the XIV international plant nutrition colloquium* (pp. 93-105). Springer, Dordrecht.
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15(3), 473-497.
- Mushtaq, Z., Faizan, S., Gulzar, B., Mushtaq, H., Bushra, S., Hussain, A., & Hakeem, K. R. (2022). Changes in Growth, Photosynthetic Pigments, Cell Viability, Lipid

- Peroxidation and Antioxidant Defense System in Two Varieties of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Subjected to Salinity Stress. *Phyton*, 91(1), 149.
- Nawaz, H., Shad, M. A., Rehman, N., Andaleeb, H., & Ullah, N. (2020). Effect of solvent polarity on extraction yield and antioxidant properties of phytochemicals from bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 56.
- Nawaz, M. A., Huang, Y., Bie, Z., Ahmed, W., Reiter, R. J., Niu, M., & Hameed, S. (2016). Melatonin: current status and future perspectives in plant science. *Frontiers in plant science*, 6, 1230.
- Neamatollahi, E., Bannayan, M., Darban, A. S., & Ghanbari, A. (2009). Hydropriming and osmopriming effects on cumin (*Cuminum Cyminum* L.) seeds germination. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 57, 526-529.
- Negrão, S., Schmöckel, S. M., & Tester, M. (2017). Evaluating physiological responses of plants to salinity stress. *Annals of botany*, 119(1), 1-11.
- Neila, A., Adnane, B., Manel, B., Boulbaba, L., Cherki, G., & Bouaziz, S. (2012). Symbiotic responses to insoluble phosphorus supply in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.): Rhizobia symbiosis. *African Journal of Biotechnology*, 11(19), 4360-4367.
- Neill, S. J. (2002). Hydrogen peroxide and nitric oxide as signaling molecules in plants. *J. exp. Bot.*, 53, 388-395.
- Nieman, R. H. (1965). Expansion of bean leaves and its suppression by salinity. *Plant Physiology*, 40(1), 156.
- Ohmiya, A. (2009). Carotenoid cleavage dioxygenases and their apocarotenoid products in plants. *Plant Biotechnology*, 26(4), 351-358.
- Ohmiya, A., Kishimoto, S., Aida, R., Yoshioka, S., & Sumitomo, K. (2006). Carotenoid cleavage dioxygenase (*CmCCD4a*) contributes to white color formation in chrysanthemum petals. *Plant physiology*, 142(3), 1193-1201.
- Ortega, T. D. J., Aceves, G. E. B., Sotelo, M. R., & Fernández, J. Y. (2013). Methanolic extracts antioxidant and antimicrobial activities from five varieties of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *International Journal of Engineering Research and Technology* [Internet]. ESRSA Publications.
- Osman, M. S., Badawy, A. A., Osman, A. I., & Abdel Latef, A. A. H. (2021). Ameliorative impact of an extract of the halophyte *Arthrocnemum macrostachyum* on growth and biochemical parameters of soybean under salinity stress. *Journal of Plant Growth Regulation*, 40(3), 1245-1256.
- Othman, Y., Al-Karaki, G., Al-Tawaha, A. R., & Al-Horani, A. (2006). Variation in germination and ion uptake in barley genotypes under salinity conditions. *World Journal of Agricultural Sciences*, 2(1), 11-15.
- Palma, F., Lluch, C., Iribarne, C., García-Garrido, J. M., & Tejera García, N. A. (2009). Combined effect of salicylic acid and salinity on some antioxidant activities, oxidative stress and metabolite accumulation in *Phaseolus vulgaris*. *Plant Growth Regulation*, 58(3), 307-316.
- Pardo-Hernández, M., López-Delacalle, M., & Rivero, R. M. (2020). ROS and NO regulation by melatonin under abiotic stress in plants. *Antioxidants*, 9(11), 1078.
- Parida, A. K., & Das, A. B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and environmental safety*, 60(3), 324-349.

- Parida, A. K., Das, A. B., & Mittra, B. (2004). Effects of salt on growth, ion accumulation, photosynthesis and leaf anatomy of the mangrove, *Bruguiera parviflora*. *Trees*, 18(2), 167-174.
- Prakash, M., Pallavamallan, S., Sathiyarayanan, G., & Rameshkumar, S. (2021). Effect of seed pelleting with botanicals on germination and seedling growth of clusterbean under induced saline condition. *Legume Research*, 44(1), 88-93.
- Radić, S., Prolić, M., Pavlica, M., & Pevalek-Kozlina, B. (2005). Cytogenetic effects of osmotic stress on the root meristem cells of *Centaurea ragusina* L. *Environmental and experimental botany*, 54(3), 213-218.
- Rady, M. M. (2011). Effect of 24-epibrassinolide on growth, yield, antioxidant system and cadmium content of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants under salinity and cadmium stress. *Scientia Horticulturae*, 129(2), 232-237.
- Rady, M. M., Talaat, N. B., Abdelhamid, M. T., Shawky, B. T., & Desoky, E. S. M. (2019). Maize (*Zea mays* L.) grains extract mitigates the deleterious effects of salt stress on common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) growth and physiology. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 94(6), 777-789.
- Rahimi, R., Mohammakhani, A., Roohi, V., & Armand, N. (2012). Effects of salt stress and silicon nutrition on chlorophyll content, yield and yield components in fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 4(21), 1591-1595.
- Rains, D. W., Croughan, T. P., & Stavarek, S. J. (1980). Selection of salt-tolerant plants using tissue culture. In *Genetic engineering of osmoregulation* (pp. 279-292). Springer, Boston, MA.
- Rehman, S., Harris, P. J., Bourne, W. F., & Wilkin, J. (2000). The relationship between ions, vigour and salinity tolerance of *Acacia* seeds. *Plant and Soil*, 220(1), 229-233.
- Rengel, Z. (1992). The role of calcium in salt toxicity. *Plant, Cell & Environment*, 15(6), 625-632.
- Ribaut, J. M., & Pilet, P. E. (1994). Water stress and indol-3yl-acetic acid content of maize roots. *Planta*, 193(4), 502-507.
- Romero-Aranda, R., Soria, T., & Cuartero, J. (2001). Tomato plant-water uptake and plant-water relationships under saline growth conditions. *Plant science*, 160(2), 265-272.
- Rubio-Moraga, A., Rambla, J. L., Fernández-de-Carmen, A., Trapero-Mozos, A., Ahrazem, O., Orzáez, D., ... & Gómez-Gómez, L. (2014). New target carotenoids for CCD4 enzymes are revealed with the characterization of a novel stress-induced carotenoid cleavage dioxygenase gene from *Crocus sativus*. *Plant molecular biology*, 86(4), 555-569.
- Safi-naz, S., & Rady, M. M. (2015). Moringa oleifera leaf extract improves growth, physiochemical attributes, antioxidant defence system and yields of salt-stressed *Phaseolus vulgaris* L. plants. *Int J ChemTech Res*, 8(11), 120-134.
- Sairam, R. K., Rao, K. V., & Srivastava, G. C. (2002). Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant science*, 163(5), 1037-1046.
- Santos CV (2004) Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stress in sunflower leaves. *Sci Hortic* 103:93–99
- Seo, M., & Koshiba, T. (2002). Complex regulation of ABA biosynthesis in plants. *Trends in plant science*, 7(1), 41-48.

- Sezer, I., Kiremit, M. S., Öztürk, E., Subrata, B. A. G., Osman, H. M., Akay, H., & Arslan, H. (2021). Role of melatonin in improving leaf mineral content and growth of sweet corn seedlings under different soil salinity levels. *Scientia Horticulturae*, 288, 110376.
- Shi, H., Qian, Y., Tan, D. X., Reiter, R. J., & He, C. (2015). Melatonin induces the transcripts of *CBF/DREB1s* and their involvement in both abiotic and biotic stresses in *Arabidopsis*. *Journal of Pineal Research*, 59(3), 334-342.
- Siddiqui, M. H., Alamri, S., Al-Khaishany, M. Y., Khan, M. N., Al-Amri, A., Ali, H. M., ... & Alsahli, A. A. (2019). Exogenous melatonin counteracts NaCl-induced damage by regulating the antioxidant system, proline and carbohydrates metabolism in tomato seedlings. *International journal of molecular sciences*, 20(2), 353.
- Simkin, A. J., Moreau, H., Kuntz, M., Pagny, G., Lin, C., Tanksley, S., & McCarthy, J. (2008). An investigation of carotenoid biosynthesis in *Coffea canephora* and *Coffea arabica*. *Journal of plant physiology*, 165(10), 1087-1106.
- Singh, M., Srivastava, J. P., & Kumar, A. (1992). Cell membrane stability in relation to drought tolerance in wheat genotypes. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 168(3), 186-190.
- Singh, R. J., Chung, G. H., & Nelson, R. L. (2007). Landmark research in legumes. *Genome*, 50(6), 525-537.
- Singh, R. K., Deshmukh, R., Muthamilarasan, M., Rani, R., & Prasad, M. (2020). Versatile roles of aquaporin in physiological processes and stress tolerance in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 149, 178-189.
- Singh, S., & Singh, M. (2000). Genotypic basis of response to salinity stress in some crosses of spring wheat *Triticum aestivum* L. *Euphytica*, 115(3), 209-214.
- Sitohy, M. Z., Desoky, E. S. M., Osman, A., & Rady, M. M. (2020). Pumpkin seed protein hydrolysate treatment alleviates salt stress effects on *Phaseolus vulgaris* by elevating antioxidant capacity and recovering ion homeostasis. *Scientia Horticulturae*, 271, 109495.
- Sobhanian, H., Aghaei, K., & Komatsu, S. (2011). Changes in the plant proteome resulting from salt stress: toward the creation of salt-tolerant crops?. *Journal of proteomics*, 74(8), 1323-1337.
- Sofy, M. R., Elhawat, N., & Alshaal, T. (2020). Glycine betaine counters salinity stress by maintaining high K^+/Na^+ ratio and antioxidant defense via limiting Na^+ uptake in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 200, 110732.
- Soussi, M., Ocana, A., & Lluch, C. (1998). Effects of salt stress on growth, photosynthesis and nitrogen fixation in chick-pea (*Cicer arietinum* L.). *Journal of Experimental Botany*, 49(325), 1329-1337.
- Strzałka, K., Kostecka-Gugała, A., & Latowski, D. (2003). Carotenoids and environmental stress in plants: significance of carotenoid-mediated modulation of membrane physical properties. *Russian Journal of Plant Physiology*, 50(2), 168-173.
- Sugimoto, M., & Takeda, K. (2009). Proteomic analysis of specific proteins in the root of salt-tolerant barley. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 73(12), 2762-2765.
- Suzuki, N., Miller, G., Salazar, C., Mondal, H. A., Shulaev, E., Cortes, D. F., ... & Mittler, R. (2013). Temporal-spatial interaction between reactive oxygen species and abscisic acid regulates rapid systemic acclimation in plants. *The Plant Cell*, 25(9), 3553-3569.
- Şehirali, S. (1988). Yemeklik dane baklagiller. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi.

- Tabaei-Aghdaei, S. R., Harrison, P., & Pearce, R. S. (2000). Expression of dehydration-stress-related genes in the crowns of wheatgrass species [*Lophopyrum elongatum* (host) A. love and *Agropyron desertorum* (fisch. ex link.) schult.] having contrasting acclimation to salt, cold and drought. *Plant, Cell & Environment*, 23(6), 561-571.
- Tabur, S., & Demir, K. (2010). Role of some growth regulators on cytogenetic activity of barley under salt stress. *Plant growth regulation*, 60(2), 99-104.
- Tabur, S., Avci, Z. D., & Özmen, S. (2021). Exogenous salicylic acid application against mitodepressive and clastogenic effects induced by salt stress in barley apical meristems. *Biologia*, 76(1), 341-350.
- Taffouo, V. D., Nouck, A. E., Nyemene, K. P., Tonfack, B., Meguekam, T. L., & Youmbi, E. (2017). Effects of salt stress on plant growth, nutrient partitioning, chlorophyll content, leaf relative water content, accumulation of osmolytes and antioxidant compounds in pepper (*Capsicum annuum* L.) cultivars. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 45(2), 481-490.
- Tahjib-Ul-Arif, M., Siddiqui, M., Sohag, A. A. M., Sakil, M., Rahman, M., Polash, M. A. S., ... & Tran, L. S. P. (2018). Salicylic acid-mediated enhancement of photosynthesis attributes and antioxidant capacity contributes to yield improvement of maize plants under salt stress. *Journal of plant growth regulation*, 37(4), 1318-1330.
- Tajbakhsh, M., Zhou, M. X., Chen, Z. H., & Mendham, N. J. (2006). Physiological and cytological response of salt-tolerant and non-tolerant barley to salinity during germination and early growth. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 46(4), 555-562.
- Talaat, N. B. (2014). Effective microorganisms enhance the scavenging capacity of the ascorbate–glutathione cycle in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants grown in salty soils. *Plant Physiology and Biochemistry*, 80, 136-143.
- Tanji, K. K. (2002). Salinity in the soil environment. *Salinity: Environment–plants–molecules*.
- Tiwari, M., Dwivedi, U. N., & Kakkar, P. (2010). Suppression of oxidative stress and pro-inflammatory mediators by *Cymbopogon citratus* D. Stapf extract in lipopolysaccharide stimulated murine alveolar macrophages. *Food and Chemical Toxicology*, 48(10), 2913-2919.
- Toprak, T., & Tunçtürk, R. (2018). Farklı aspir (*Carthamus tinctorius* L.) çeşitlerinin gelişim performansları üzerine tuz stresinin etkisi. *Doğu Fen Bilimleri Dergisi*, 1(1), 44-50.
- Tuna, A. L., Kaya, C., Ashraf, M., Altunlu, H., Yokas, I., & Yagmur, B. (2007). The effects of calcium sulphate on growth, membrane stability and nutrient uptake of tomato plants grown under salt stress. *Environmental and Experimental Botany*, 59(2), 173-178.
- TÜİK, 2022. <http://www.tuik.gov.tr> (15.12.2020).
- Vallabhaneni, R., Bradbury, L. M., & Wurtzel, E. T. (2010). The carotenoid dioxygenase gene family in maize, sorghum, and rice. *Archives of biochemistry and biophysics*, 504(1), 104-111.
- Van Ha, C., Leyva-González, M. A., Osakabe, Y., Tran, U. T., Nishiyama, R., Watanabe, Y., ... & Tran, L. S. P. (2014). Positive regulatory role of strigolactone in plant responses to drought and salt stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(2), 851-856.

- Varghese, N., Alyammahi, O., Nasreddine, S., Alhassani, A., & Gururani, M. A. (2019). Melatonin positively influences the photosynthetic machinery and antioxidant system of *Avena sativa* during salinity stress. *Plants*, 8(12), 610.
- Walter, M. H., & Strack, D. (2011). Carotenoids and their cleavage products: biosynthesis and functions. *Natural product reports*, 28(4), 663-692.
- Wang, L. Y., Liu, J. L., Wang, W. X., & Sun, Y. (2016). Exogenous melatonin improves growth and photosynthetic capacity of cucumber under salinity-induced stress. *Photosynthetica*, 54(1), 19-27.
- Wang, L., Feng, C., Zheng, X., Guo, Y., Zhou, F., Shan, D., ... & Kong, J. (2017). Plant mitochondria synthesize melatonin and enhance the tolerance of plants to drought stress. *Journal of pineal research*, 63(3), e12429.
- Wang, R. K., Wang, C. E., Fei, Y. Y., Gai, J. Y., & Zhao, T. J. (2013). Genome-wide identification and transcription analysis of soybean carotenoid oxygenase genes during abiotic stress treatments. *Molecular biology reports*, 40(8), 4737-4745.
- Wang, W., Vinocur, B., & Altman, A. (2003). Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta*, 218(1), 1-14.
- Wei, W., Li, Q. T., Chu, Y. N., Reiter, R. J., Yu, X. M., Zhu, D. H., ... & Chen, S. Y. (2015). Melatonin enhances plant growth and abiotic stress tolerance in soybean plants. *Journal of Experimental Botany*, 66(3), 695-707.
- Welle, P. D., & Mauter, M. S. (2017). High-resolution model for estimating the economic and policy implications of agricultural soil salinization in California. *Environmental Research Letters*, 12(9), 094010.
- Wilson, C., Lesch, S. M., & Grieve, C. M. (2000). Growth stage modulates salinity tolerance of New Zealand spinach (*Tetragonia tetragonioides*, Pall.) and red orach (*Atriplex hortensis* L.). *Annals of Botany*, 85(4), 501-509.
- Wortmann, C. S. (2001). Nutrient dynamics in a climbing bean and sorghum crop rotation in the Central Africa Highlands. *Nutrient cycling in Agroecosystems*, 61(3), 267-272.
- Wu, J., Ji, J., Wang, G., Wu, G., Diao, J., Li, Z., ... & Luo, L. (2015). Ectopic expression of the *Lycium barbarum* β -carotene hydroxylase gene (*chyb*) enhances drought and salt stress resistance by increasing xanthophyll cycle pool in tobacco. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 121(3), 559-569.
- Wu, J., Seliskar, D. M., & Gallagher, J. L. (1998). Stress tolerance in the marsh plant *Spartina patens*: Impact of NaCl on growth and root plasma membrane lipid composition. *Physiologia Plantarum*, 102(2), 307-317.
- Wu, S. J., Ding, L., & Zhu, J. K. (1996). *SOS1*, a genetic locus essential for salt tolerance and potassium acquisition. *The Plant Cell*, 8(4), 617-627.
- Yang, Y., & Guo, Y. (2018). Unraveling salt stress signaling in plants. *Journal of Integrative Plant Biology*, 60(9), 796-804.
- Yeken, M. Z., Kantar, F., Çancı, H., Özer, G., & Çiftçi, V. (2018). Breeding of dry bean cultivars using *Phaseolus vulgaris* landraces in Turkey. *International Journal of Agricultural and Wildlife Sciences*, 4(1), 45-54.
- Yin, H., Qi, Z., Li, M., Ahammed, G. J., Chu, X., & Zhou, J. (2019). Selenium forms and methods of application differentially modulate plant growth, photosynthesis, stress tolerance, selenium content and speciation in *Oryza sativa* L. *Ecotoxicology and environmental safety*, 169, 911-917.

- Yu, Y., Wang, A., Li, X., Kou, M., Wang, W., Chen, X., ... & Sun, J. (2018). Melatonin-stimulated triacylglycerol breakdown and energy turnover under salinity stress contributes to the maintenance of plasma membrane H^+ -ATPase activity and K^+/Na^+ homeostasis in sweet potato. *Frontiers in plant science*, 9, 256.
- Yurekli, F., Porgali, Z. B., & Turkan, I. S. M. A. I. L. (2004). Variations in abscisic acid, indole-3-acetic acid, gibberellic acid and zeatin concentrations in two bean species subjected to salt stress. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 46, 201-212.
- Zahedi, S. M., Hosseini, M. S., Abadía, J., & Marjani, M. (2020). Melatonin foliar sprays elicit salinity stress tolerance and enhance fruit yield and quality in strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duch.). *Plant Physiology and Biochemistry*, 149, 313-323.
- Zahran, H. H. (2001). Rhizobia from wild legumes: diversity, taxonomy, ecology, nitrogen fixation and biotechnology. *Journal of biotechnology*, 91(2-3), 143-153.
- Zandalinas, S. I., Sengupta, S., Burks, D., Azad, R. K., & Mittler, R. (2019). Identification and characterization of a core set of ROS wave-associated transcripts involved in the systemic acquired acclimation response of *Arabidopsis* to excess light. *The Plant Journal*, 98(1), 126-141.
- Zapata, P. J., Serrano, M., Pretel, M. T., Amorós, A., & Botella, M. Á. (2003). Changes in ethylene evolution and polyamine profiles of seedlings of nine cultivars of *Lactuca sativa* L. in response to salt stress during germination. *Plant Science*, 164(4), 557-563.
- Zhang, J., Shi, Y., Zhang, X., Du, H., Xu, B., & Huang, B. (2017). Melatonin suppression of heat-induced leaf senescence involves changes in abscisic acid and cytokinin biosynthesis and signaling pathways in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Environmental and Experimental Botany*, 138, 36-45.
- Zhang, N., Zhang, H. J., Zhao, B., Sun, Q. Q., Cao, Y. Y., Li, R., ... & Guo, Y. D. (2014). The RNA-seq approach to discriminate gene expression profiles in response to melatonin on cucumber lateral root formation. *Journal of pineal research*, 56(1), 39-50.
- Zhang, Y., Fan, Y., Rui, C., Zhang, H., Xu, N., Dai, M., ... & Ye, W. (2021). Melatonin improves cotton salt tolerance by regulating ROS scavenging system and Ca^{+2} signal transduction. *Frontiers in plant science*, 12, 1239.
- Zhao, D., Yu, Y., Shen, Y., Liu, Q., Zhao, Z., Sharma, R., & Reiter, R. J. (2019). Melatonin synthesis and function: evolutionary history in animals and plants. *Front Endocrinol* 10: 249.
- Zhao, G., Zhao, Y., Yu, X., Kiprotich, F., Han, H., Guan, R., ... & Shen, W. (2018). Nitric oxide is required for melatonin-enhanced tolerance against salinity stress in rapeseed (*Brassica napus* L.) seedlings. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(7), 1912.
- Zhao, Y. L., Yu, S. X., Ye, W. W., Wang, H. M., Wang, J. J., & Fang, B. X. (2010). Study on DNA cytosine methylation of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) genome and its implication for salt tolerance. *Agricultural Sciences in China*, 9(6), 783-791.
- Zheng, X., Li, Y., Xi, X., Ma, C., Sun, Z., Yang, X., ... & Wang, C. (2021). Exogenous Strigolactones alleviate KCl stress by regulating photosynthesis, ROS migration and ion transport in *Malus hupehensis* Rehd. *Plant Physiology and Biochemistry*, 159, 113-122.
- Zhou, X., Zhao, H., Cao, K., Hu, L., Du, T., Baluška, F., & Zou, Z. (2016). Beneficial roles of melatonin on redox regulation of photosynthetic electron transport and synthesis of D1 protein in tomato seedlings under salt stress. *Frontiers in plant science*, 7, 1823.

- Zhu, J. K. (2001). Plant salt tolerance. Trends in plant science, 6(2), 66-71.
- Zhu, Z., Jiang, W., & Thompson, H. J. (2012). Edible dry bean consumption (*Phaseolus vulgaris* L.) modulates cardiovascular risk factors and diet-induced obesity in rats and mice. British Journal of Nutrition, 108(S1), S66-S73.
- Zou, Y. P., & Chang, S. K. C. (2014). Antioxidant and antiproliferative properties of extract and fractions from small red bean (*Phaseolus vulgaris* L.). J Food Nutr, 1(105), 1-11.
- Zörb, C., Geilfus, C. M., & Dietz, K. J. (2019). Salinity and crop yield. Plant biology, 21, 31-38.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler			
Adı Soyadı:	İlyas ASAN		
Doğum Tarihi			
Doğum Yeri:			
Uyruğu			
Adres:			
Tel:			
E-mail:			
Eğitim			
Lise:	Cumhuriyet Anadolu Lisesi		
Lisans	Atatürk Üniversitesi/Ziraat	Fakültesi/Tarımsal	
	Biyoteknoloji		
Yüksek Lisans:	Bitkisel Biyoteknoloji		
Doktora:			
Yabancı Dil Bilgisi			
İngilizce:	İyi		
Almanca:	-		
Rusça:	-		
Diğer:	-		
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar			
-			
Tezden Üretilmiş Yayınlar			
-			