T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

In Vitro KOŞULLARDA ASMADA UV-B STRESİNE KARŞI DIŞSAL MELATONİN UYGULAMASININ ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Sena YILDIZ
DANIŞMAN : Doç. Dr. Nurhan KESKİN

VAN-2022

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

In Vitro KOŞULLARDA ASMADA UV-B STRESİNE KARŞI DIŞSAL MELATONİN UYGULAMASININ ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Sena YILDIZ

Bu çalışma YYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından FYL-2021-9577 No'lu proje olarak desteklenmiştir.

VAN-2022

KABUL VE ONAY SAYFASI

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı'nda Doç. Dr. Nurhan KESKİN danışmanlığında, Sena YILDIZ tarafından sunulan "*In Vitro* Koşullarda Asmada UV-B Stresine Karşı Dışsal Melatonin Uygulamasının Etkisi" isimli bu çalışma Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili hükümleri gereğince 18/10/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Doç.Dr. Fethi Ahmet ÖZDEMİR İmza:

Üye: Doç. Dr. Nurhan KESKİN İmza:

Üye: Doç. Dr. Şeyda ÇAVUŞOĞLU İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ….. / ….. / 2022 tarih ve ..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

İmza

Prof. Dr. Harun AKKUŞ
Enstitü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Sena YILDIZ

ÖZET

In Vitro KOŞULLARDA ASMADA UV-B STRESİNE KARŞI MELATONİN UYGULAMASININ ETKİSİ

YILDIZ, Sena
Yüksek Lisans Tezi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Doç. Dr. Nurhan KESKİN
Kasım 2022, 51 sayfa

Bu çalışma, Melatonin (MEL; N-asetil-5-metoksitriptamin)'in Asma (*Vitis vinifera* L.)'da Ultraviyole B (UV-B) stresine karşı etkilerini belirlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Bitkisel materyali oluşturan Merlot ve Erciş üzüm çeşitlerine ait *in vitro* bitkiciklerin elde edilmesinde; 0, 100 ve 200 µmol l^{-1} MEL içeren MS (Murashige ve Skoog) yarı katı temel besin ortamı ve tek boğum kültürü kullanılmıştır. En az 6 tam yapraklı *in vitro* bitkiciklere kavanozların kapakları açılarak düşük (311 nm Philips TL 20W/01, 16 saat ≅ 8.25 µW cm^{-2}) ve yüksek (311 nm Philips TL 20W/01, 4 saat ≅ 33 µW cm^{-2}) UV-B ışını 40 cm yükseklikten steril bir kabin içerisinde uygulanmıştır. Çalışma sonucunda MEL uygulamalarının UV-B stresi altındaki asma *in vitro* bitkiciklerde toplam fenolik bileşik (TF), toplam antioksidan (TA), flavonol (Flv) ve içsel MEL içeriğini artırdığı, Malondialdehit (MDA) içeriğini azalttığı, antioksidan enzim aktivitelerini (katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) ve askorbat peroksidaz (APX) ise teşvik ettiği görülmüştür. Çeşide göre değişmekle birlikte, düşük UV-B stresine karşı 200 µmol l^{-1} MEL uygulamasının, kontrol ve 100 µmol l^{-1} MEL uygulamalarına göre daha iyi sonuç verdiği görülmüştür. Çeşide göre yapılan karşılaştırmalarda ise TF, TA, APX, ADİ, Ant ve Flv bakımından Erciş çeşidinin, SOD, CAT, MDA, Kl ve içsel MEL içeriği bakımından ise Merlot çeşidinin tatminkâr sonuçlar verdiği gözlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Abiyotik stres, Antioksidan enzimler, Doku kültürü, Oksidatif hasar, *Vitis vinifera* L.

ABSTRACT

EFFECT OF EXOGENOUS MELATONIN TREATMENT TO UV-B STRESS IN GRAPEVINE *In Vitro* CONDITIONS

YILDIZ, Sena
M.Sc. Thesis, Department of Horticulture
Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Nurhan KESKİN
November 2022, 51 pages

In this study was carried out to determine the effects of Melatonin (MEL; N-acetyl-5-methoxytryptamine) against Ultraviolet B (UV-B) stress in grapevine (*Vitis vinifera* L.). In the production of *in vitro* plantlets of 'Merlot' and 'Erciş' grape cultivars that constitute the plant material; MS (Murashige and Skoog) semi-solid basic nutrient medium containing 0, 100, and 200 µmol l^{-1} MEL and single node culture were used. To *in vitro* plantlets with at least 6 whole leaves was applied the UV-B ray (low; 311 nm Philips TL 20W/01, 16 h ≅ 8.25 µW cm^{-2} and high; 311 nm Philips TL 20W/01, 4 h ≅ 33 µW cm^{-2}) by opening the lids of jars from a height of 40 cm in a sterile cabinet. As a result of the study, it was observed that MEL applications enhanced the total phenolic compounds (TP), total antioxidants (TA), flavonol (Flv), and endogen MEL contents, reduced the Malondiadehit (MDA) content and induced the antioxidant activities (catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and ascorbate peroxidase (APX). Depending on the variety, it was observed that 200 µmol l^{-1} MEL application against low UV-B stress gave better results compared to the control and 100 µmol l^{-1} MEL. In comparisons made according to the variety, it was observed that the 'Erciş' cultivar gave satisfactory results in terms of TP, TA, APX, ADI, Ant and Flv, and Merlot cultivar terms of SOD, CAT, MDA, Kl, and endogen MEL content.

Keywords: Abiotic stress, Antioxidant enzymes, Oxidative damage, Tissue culture, *Vitis vinifera* L.

ÖN SÖZ

Lisans öğrenciliğim döneminden beri danışmanım olan, öğrencisi olmaktan gurur duyduğum, akademik yol göstericim ve kariyer hedefimin de ilham kaynağı olan kıymetli hocam Doç. Dr. Nurhan KESKİN' e müteşekkirim. Çalışmamın uygulama aşamasında bilgi birikimini esirgemeyen, cesaretlendiren ve tecrübeleriyle yol gösteren değerli arkadaşlarım Arş. Gör. Enes FİDAN' a, Arş. Gör. Onur TEKİN'e, Zir. Yük. Müh. Ahmet Çağlar KAYA' ya ve Zir. Yük. Müh. Sercan DÜZGÜN'e, meslek hayatıma başladığım ilk günden beri her konuda sabır gösteren, kariyerimin ve akademik hayatımın her adımını inşa eden ve aydın fikirleriyle bana kılavuz olan İpekyolu İlçe Tarım ve Orman Müdürü Ercan KARAHAN' a ve kurum personellerine, Van YYÜ Fen Bilimleri Enstitüsü çalışanları Yavuz İNCİ ve Gülçin TANRITANIR KÖSE'ye, tez çalışmamda kullandığım laboratuvar malzemesi ve analiz uygulamaları için gerekli bütçeyi sağlayan, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (FYL-2021-9577 No'lu proje)'ne teşekkür ederim.

Tüm eğitim ve öğretim hayatım boyunca her an yanımda olan, benim kadar uykusuz kalıp endişelenen, benim kadar mutlu olan çok kıymetli aileme ve özellikle benimle birlikte ders çalışan, yorulan, maddi ve manevi desteğini bir an olsun esirgemeyen ablama sonsuz teşekkür ve minnetlerimi sunarım.

2022

Sena YILDIZ

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET i
ABSTRACT iii
ÖN SÖZ v
İÇİNDEKİLER vii
ÇİZELGELER LİSTESİ ix
ŞEKİLLER LİSTESİ xi
SİMGELER VE KISALTMALAR xiii
1. GİRİŞ 1
2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ 3
2.1. UV-B Stresi 3
2.2. UV-B Stresi ile İlgili Asmada Yapılmış Çalışmalar 5
2.3. Bitkilerin Yaşam Döngüsünde Melatonin 6
2.3.1. Bitkilerde büyümeyi teşvik edici rolü 9
2.3.2. Ürün verimliliğini ve biyokütleyi artırmadaki rolü 10
2.3.3. Klorofilin korunmasındaki rolü 11
2.3.4. Fotosentetik aktivitedeki rolü 12
2.4. Bitkilerde UV-B Stresine Karşı MEL'in Etkisi 12
3. MATERYAL VE YÖNTEM 13
3.1. Materyal 13
3.2. Yöntem 14
3.2.1. Doku kültürü çalışmaları 14
3.2.2. UV-B ışın uygulama 17
3.2.3. Toplam fenolik (TF) bileşik içeriğinin belirlenmesi 18
3.2.4. Toplam antioksidan (TA) içeriğinin belirlenmesi 19
3.2.5. Antioksidatif enzimler 19
3.2.6. Lipit peroksidasyonu (MDA) 20
3.2.7. DUALEX 4 scientific aleti ile yapılan ölçümler 21
3.2.8. Melatonin (MEL)'in belirlenmesi 21
3.2.9. İstatistik analiz 22
4. BULGULAR VE TARTIŞMA 23

4.1. Asmada UV-B Stresine Karşı Dışsal MEL Uygulamasının TF Bileşik İçeriğine Etkisi 23
4.2. Asmada UV-B Stresine Karşı Dışsal MEL Uygulamasının TA İçeriğine Etkisi 25
4.3. Asmada UV-B Stresine Karşı Dışsal MEL Uygulamasının SOD, CAT ve APX Aktivitesine Etkisi 27
4.4. Asmada UV-B Stresine Karşı Dışsal MEL Uygulamasının MDA İçeriğine Etkisi 31
4.5. Asmada UV-B Stresine Karşı Dışsal MEL Uygulamasının ADİ, Kl, Ant ve Flv İçeriğine Etkisi 33
4.6. Asmada UV-B Stresine Karşı Dışsal MEL Uygulamasının İçsel MEL İçeriğine Etkisi 40
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 43
KAYNAKLAR 45
ÖZ GEÇMİŞ 52

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 2.1. UV-B stresi ile ilgili asmada yapılmış çalışmalar (Gökçen ve Keskin, 2020). 5

Çizelge 2.1. UV-B stresi ile ilgili asmada yapılmış çalışmalar (Gökçen ve Keskin, 2020) (devam) 6

Çizelge 4.1. TF bileşik içeriği (mg GAE 100 g^{-1}) bakımından Çeşit, UV-B dozu ile MEL uygulamalarına göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları 23

Çizelge 4.2. TA içeriği (µmol TE g^{-1}) bakımından Çeşit, UV-B dozu ile MEL uygulamalarına göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları 25

Çizelge 4.3. SOD aktivitesi (U g^{-1}) bakımından Çeşit, UV-B dozu ile MEL uygulamalarına göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları 27

Çizelge 4.4. CAT aktivitesi (µmol g^{-1} dk^{-1} TA) bakımından Çeşit, UV-B dozu ile MEL uygulamalarına göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları 28

Çizelge 4.5. APX aktivitesi (mmol g^{-1} dk^{-1} TA) bakımından Çeşit, UV-B dozu ile MEL uygulamalarına göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları 30

Çizelge 4.6. MDA içeriği (nmol g^{-1} TA) bakımından Çeşit, UV-B dozu ile MEL uygulamalarına göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları 31

Çizelge 4.7. ADİ (Dx indeksi) bakımından Çeşit, UV-B dozu ile MEL uygulamalarına göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları 33

Çizelge 4.8. Kl (µg cm^{-2}) bakımından Çeşit, UV-B dozu ile MEL uygulamalarına göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları 35

Çizelge 4.9. Ant (Dx indeksi) bakımından Çeşit, UV-B dozu ile MEL uygulamalarına göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları 36

Çizelge 4.10. Flv (Dx indeksi) bakımından Çeşit, UV-B dozu ile MEL uygulamalarına göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları 38

Çizelge 4.11. MEL içeriği (ng g^{-1}) bakımından Çeşit, UV-B dozu ile MEL uygulamalarına göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları 40

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil **Sayfa**

Şekil 2.1. Bitkide UV-B stresinin etkileri (Kataria ve ark., 2014). 4

Şekil 2.2. Bitkilerde MEL sentezi (Posmyk ve Janas, 2009). 7

Şekil 3.1. Sürdürmek üzere iklim odasına alınan çelikler. 13

Şekil 3.2. Eksplant kaynağı sürgünler. 14

Şekil 3.3. Mikro çelikler. 15

Şekil 3.4. Mikro çeliklerin sterilizasyon aşamasından bir görünüm. 15

Şekil 3.5. Mikro çeliklerin *in vitro* kültüre alınması. 16

Şekil 3.6. Kültürlerin iklim odasında geliştirilmesi. 16

Şekil 3.7. *In vitro* bitkicikler. 17

Şekil 3.8. Bitkiciklere düşük UV-B uygulaması. 17

Şekil 3.9. Bitkiciklere yüksek UV-B uygulaması. 18

Şekil 3.10. Antioksidatif enzimlerin belirlenmesi. 19

Şekil 3.11. DUALEX 4 Scientific aleti. 21

Şekil 4.1. Asmada UV-B stresine karşı dışsal MEL uygulamasının TF bileşik içeriğine (mg GAE 100 g^{-1}) etkisi. 24

Şekil 4.2. Asmada UV-B stresine karşı dışsal MEL uygulamasının TA içeriğine (µmol TE g-1) etkisi 26

Şekil 4.3. Asmada UV-B stresine karşı dışsal MEL uygulamasının SOD aktivitesine (U g^{-1}) etkisi. 27

Şekil 4.4. Asmada UV-B stresine karşı dışsal MEL uygulamasının CAT aktivitesine (mmol g^{-1} dk^{-1} TA) etkisi. 29

Şekil 4.5. Asmada UV-B stresine karşı dışsal MEL uygulamasının APX aktivitesine (mmol g^{-1} dk^{-1} TA) etkisi. 30

Şekil 4.6. Asmada UV-B stresine karşı dışsal MEL uygulamasının MDA içeriğine (nmol g^{-1} TA) etkisi. 32

Şekil **Sayfa**

Şekil 4.7. Asmada UV-B stresine karşı dışsal MEL uygulamasının ADİ (Dx indeksi) değerine etkisi. 34

Şekil 4.8. Asmada UV-B stresine karşı dışsal MEL uygulamasının Kl (µg cm^{-2}) değerine etkisi. 35

Şekil 4.9. Asmada UV-B stresine karşı dışsal MEL uygulamasının Ant (Dx indeksi) değerine etkisi. 37

Şekil 4.10**.** Asmada UV-B stresine karşı dışsal MEL uygulamasının Flv (Dx indeksi) değerine etkisi. 39

Şekil 4.11. Asmada UV-B stresine karşı dışsal MEL uygulamasının içsel MEL (ng g^{-1}) içeriğine etkisi. 41

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	**Açıklama**
%	Yüzde
˚C	Santigrat
l^{-1}	Litreye
mg	Miligram
ml	Mililitre
mM	Milimolar
µM	Mikromolar

Kısaltmalar	**Açıklama**
ADİ	Azot Denge İndeksi
Ant	Antosiyanin
APX	Askorbat peroksidaz
ATP	Adenozin Trifosfat
BTH	Bezotiadizol
CAT	Katalaz
CO_2	Karbondioksit
Flv	Flavonol
GAE	Gallik Asit Eşdeğeri
IAA	İndol-3 Asetik Asit
Kl	Klorofil
MDA	Malondialdehit
MEL	Melatonin
MS	Murashige ve Skoog

Kısaltmalar	Açıklama
MSH	Melanosit
ROS	Reactive Oxygen Species
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
SOD	Süperoksit Dismutaz
TA	Toplam Antioksidan
TF	Toplam Fenolik
Trp	Triptofan
UV	Ultraviyole

1. GİRİŞ

Yeşil bitkilerin fizyolojik açıdan birincil temel ihtiyacı olan ışık fiziksel ve kimyasal etkileri ile bitki büyüme ve gelişmesini farklı biçimlerde yönlendirebilmektedir. Bu nedenle tarımsal nitelikleri etkiyen diğer bir deyişle stres unsuru olan ışık kavramlarının fizyolojik etkileri detaylı bir çalışma alanıdır. Özellikle Ozon tabakasının, güneş ışığındaki Ultra viyole B (UV-B)'yi daha az absorbe ettiği bilgisinin kabul görmesine bağlı olarak; bitkilerin ciddi bir stres faktörü olarak UV-B ışınlarına daha fazla maruz kaldığı ifade edilmektedir (Caldwell ve ark., 1998).

UV-B ışınlarının çok yıllık bitkilerin hücresel ve moleküler mekanizmaları üzerindeki etkileri tek yıllık bitkilere göre daha az bilinmektedir. Dünyada ve Türkiye'de en fazla tüketilen meyve türleri içerisinde yer alan Asmalar (*Vitis vinifera* L.), diğer bitkiler gibi sessil (aktif olarak yer değiştirememe, hareketsiz) doğalarının gereği olarak bağ koşullarında birçok biyotik ve abiyotik stres koşulları ile başa çıkmak zorundadır. Hayatta kalma şansları ise genomik esneklik ile biyotik ve abiyotik streslere karşı kendi savunma cevaplarını geliştirme kabiliyetlerine bağlıdır. Asmaların, yaşamları boyunca doğada birçok stres faktörü ile karşı karşıya kaldığı düşünüldüğünde, stresle ilişkili mekanizmaların aydınlatılması ve bu faktörlere karşı bitkisel üretimi ve verimliliği arttıracak ya da mümkün kılacak ve stres etkilerini azaltacak yöntemlerin araştırılması gerekmektedir.

Daha önce sadece hayvansal bir hormon olarak bilinen melatonin (MEL; N-asetil-5-metoksitriptamin)'in, bitkilerde stres fizyolojisindeki rolü güncel araştırmalara konu olmaktadır (Arnao, 2014). MEL'in bitkilerdeki en belirgin rolü, sirkadiyen ritmi, büyüme ve gelişmeyi düzenlemesi ile çevresel stres faktörlerine karşı bitki toleransını artırması olarak öne çıkmaktadır (Kaur ve ark. 2015). Melatonin ayrıca, antioksidan aktivite faktörü olarak bilinen antioksidan enzimleri aktive etmekte (Li ve ark., 2012), mitokondriyal elektron taşıma zincirinin etkinliğini arttırmakta ve bitkileri oksidatif hasardan korumada önemli bir rol almaktadır (Martinez ve ark., 2018). Bununla birlikte genel olarak, bitkilerde MEL ile ilgili araştırmalar henüz sınırlıdır. Olumsuz çevre koşullarında yaşayan ve esas olarak toleranslı bitkilerde bulunması beklenen yüksek MEL içeriği, son yıllarda bu maddenin dışarıdan uygulanmasıyla bitkilerin stres

koşullarına karşı toleransının iyileştirilmesine yönelik araştırmaları da gündeme getirmiştir (Düver, 2019). Bu çalışmalar arazi koşullarında yapılabildiği gibi doku kültürü tekniklerinin sunmuş olduğu avantajlardan yararlanılarak da yapılabilmektedir.

Güncel literatür bitkilerde stres toleransını anlayabilmek için *in vitro* koşulların uygun maliyetli yöntemler olduğunu belirtmekte (Jan ve ark., 2018) ve *in vitro* kültürler birçok avantajlarından dolayı stres çalışmalarında model sistemler olarak tercih edilmektedir (Sakhanokho ve Kelley 2009; Erland ve Saxena 2018).

Bu çalışmada Asma bitkisinin önemli bir abiyotik stres faktörü olan UV-B stresine karşı toleransında farklı konsantrasyonlarda *in vitro* dışsal MEL uygulamalarının etkisi belirlenmiştir.

2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

2.1. UV-B Stresi

Güneş kaynaklı ışık spektrumunun 400-100 nm dalga boyu arasındaki alanı UV ışınları olarak tanımlanır. Bu alan dalga boylarına göre UV-A (315-400 nm), UV-B (280-315 nm) ve UV-C (100-280 nm) olmak üzere üç gruba ayrılmaktadır. UV-A ışınının çok az bir kısmı ozon tarafından tutulmakta ve dünya yüzeyine kolaylıkla iletilmektedir. UV-B ışınları yeryüzüne ulaşan en kısa dalga boylu güneş ışını spektrumu olup, dünyaya ulaşan UV-B miktarını atmosferdeki ozon miktarı belirlemektedir. En kısa dalga boyuna sahip UV-C ışınları ise atmosferdeki ozon ve oksijen tarafından absorbe edilmekte ve yeryüzüne ulaşamamaktadır (Madronich ve ark. 1998).

Antropojenik kirleticilerin (hidrokarbonlar, halojenler gibi Ozon azaltıcı kimyasallar) oluşturduğu ozon tabakasındaki incelme yeryüzüne ulaşan kısa dalga boylu ışınların (280-315 nm) miktarında bir artışa yol açmaktadır (Rai ve ark., 2011). Bu durumun gelecekte de devam etmesi tahmin edilmekte, önümüzdeki 50 yıl içinde her yıl yaklaşık %0.3-1 oranında artmaya devam edeceği ileri sürülmektedir (Chameides ve ark., 1994). Her geçen yıl yeryüzüne ulaşan kısa dalga boylu ışınların miktarının artacağı düşünüldüğünde ise, bitki büyüme ve gelişmesinde strese bağlı biyolojik hasarlar beklenmektedir.

Biyosferdeki bütün canlı organizmalar, solar açı ve strastosferik ozon tabakasının kalınlığıyla değişime uğrayan şiddetteki UV-B ışınına maruz kalırlar (Zlatev ve ark., 2012). UV-B'nin artış miktarı temelde enlem derecesine bağlıdır. En büyük artış kuzey ve güney kutuplarındadır. Kuzey kutbunda ozon tabakasının incelme dönemi kış ve ilkbahar mevsimi, güney kutbunda ise eylül ve ekim aylarıdır. UV-B toplam güneş ışınının sadece küçük bir bileşeni (%0.5) olmasına rağmen, sahip olduğu yüksek enerjisinden dolayı yalnızca miktarındaki büyük artışlar değil küçük artışlarda bile olağanüstü biyolojik hasar oluşturma potansiyelindedir (Frohnmeyer ve Staiger 2003; Zlatev ve ark., 2012; Nawkar ve ark., 2013).

UV-B ışınlara maruz kalmak, canlılar için farklı düzeylerde stres ve strese bağlı yaşamsal sorunlar oluşturmaktadır. Bitkilerde, DNA, RNA, protein, lipid ve bitki hormonları gibi UV-B'yi absorbe eden biyolojik moleküllerle etkileşimi nedeniyle bu ışınlar, önemli bir abiyotik stres faktörü olarak tanımlanmaktadır (Caldwell ve ark., 1998; Eichholz ve ark., 2012; Tsurunaga ve ark., 2013).

UV-B bitkilere doğrudan hasar verir ya da bitkilerdeki çeşitli düzenleyici basamakları bozarak fizyolojik süreçleri etkileyebilir (Potters ve ark., 2009; Yüzügüllü-Karakuş ve ark., 2018). UV-B ışınının bitkilere zararları; kalıtsal mutasyonlara sebep olabilen doğrudan DNA hasarı ve bitkinin fizyolojik fonksiyonlarındaki doğrudan veya dolaylı hasarlar olmak üzere iki kategoride toplanmaktadır. Tüm bu nedenler fotosentetik aktiviteyi olumsuz yönde etkilemektedir (Allen ve ark., 1998). Artan UV-B'nin fotosentez üzerine etkilerinin bir sonucu da kuru ağırlık, nişasta ve klorofil miktarını azaltmasıdır (Cechin ve ark., 2007; Surabhi ve ark., 2009). Ayrıca bitkilerin fotosentez hızını yavaşlatmasının yanında topraktaki mikroorganizmaları yok ederek toprağı verimsiz hale getirebilmektedir (Ekici ve Aksoy 2001).

UV-B'nin bitkiler üzerine etkileri Şekil 2.1'de toplu olarak sunulmuştur.



Şekil 2.1. Bitkide UV-B stresinin etkileri (Kataria ve ark., 2014).

2.2. UV-B Stresi ile İlgili Asmada Yapılmış Çalışmalar

UV-B stresi ile ilgili asmada yapılmış çalışmalar Çizelge 2.1'de sunulmuştur.

Çizelge 2.1. UV-B stresi ile ilgili asmada yapılmış çalışmalar (Gökçen ve Keskin, 2020).

Çeşit	**Organ**	**Alan**	**UV**	**Deneme Süresi (Gün)**	**Biyokimyasal Yanıt**
Riesling	Tane	Bağ	UV-B	60<	Karotenoid ↑
Bacchus	Tane	Sera	UVA ve B	60<	Flavonoid ↑
Cabernet sauvignon	Yaprak	Lab	UV-B	<15	CAT ↑
Tempranillo, Viura	Yaprak	Bağ	UV-B	15-60	Klorofil ↓. UV emici bileşikler ↓↑
Malbec	Tane	Bağ	UV-B	60<	Antosiyanin ↑, *trans*-resveratrol ↑
Malbec	Yaprak	Bağ	UV-B	<15	CAT ↑, APX ↑, MDA ↑
Malbec	Yaprak	Sera	UV-B	<15	Antioksidan ↑
Malbec	Tane	Bağ	UV-B	60<	Antosiyanin ↑
Sultani	Yaprak	Bağ	UV-B	15-60	APX ↑, SOD ↑, CAT ↑
Sauvignon blanc	Tane	Bağ	UV-B	60<	Fenolik bileşik ↑
Romeiko	Yaprak	Bağ	UV-B	<15	APX ↑, SOD ↑, CAT ↑
Malbec	Yaprak	Sera	UV-B	<15	Antioksidan ↑
Malbec	Yaprak	Bağ	UV-B	60<	Antioksidan ↑
Malbec	Tane	Lab., Bağ	UV-B	60<	Uçucu organik bileşik ↑
Pinot noir, Riesling	Yaprak	Sera	UV-B	60<	Klorofil ↓
Tempranillo	Yaprak	Sera	UV-B	60<	Antioksidan enzim ↑, Klorofil ↓
Tempranillo	Tane	Sera	UV-B	<15	UV emici bileşikler ↑, SOD ↑

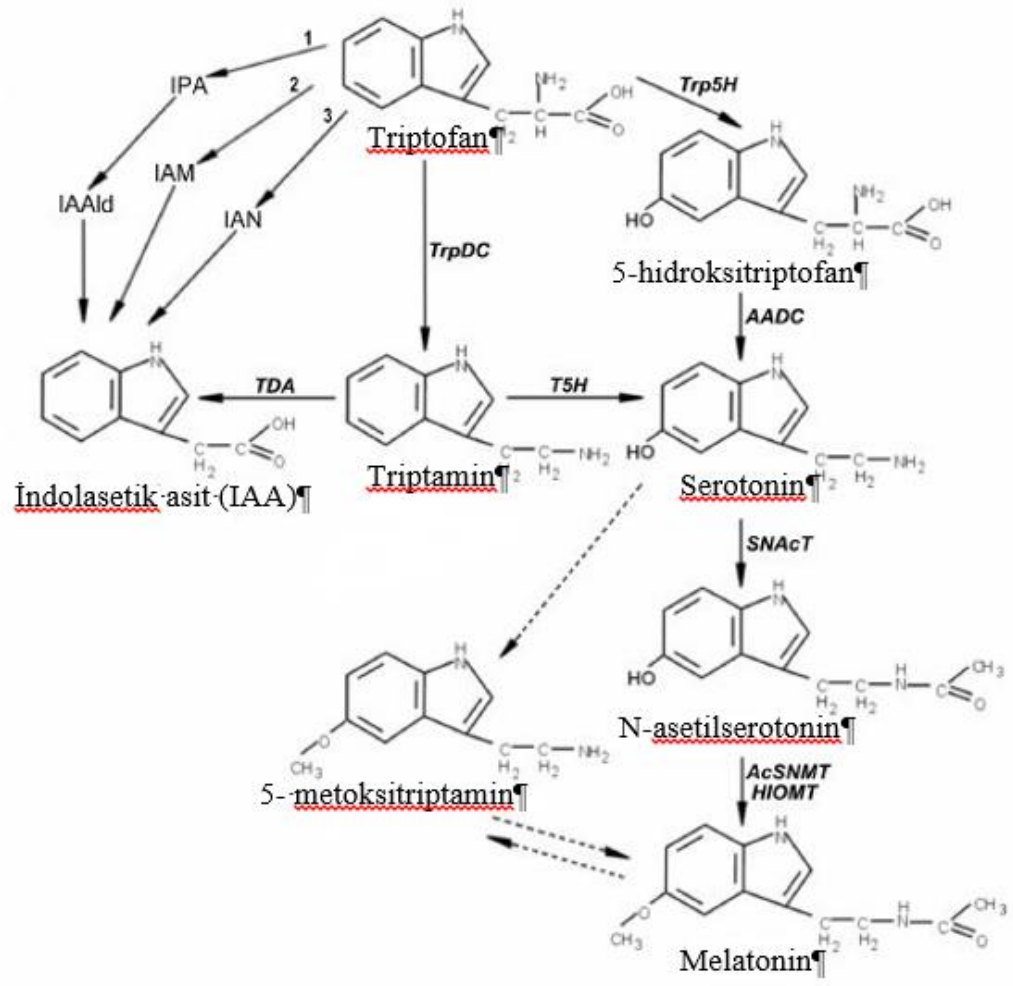
Çizelge 2.1. UV-B stresi ile ilgili asmada yapılmış çalışmalar (Gökçen ve Keskin, 2020) (devam)

Çeşit	Organ	Alan	UV	Deneme Süresi (Gün)	Biyokimyasal Yanıt
Tempranillo	Tane	Sera	UV-B	<15	UV emici bileşikler ↑, SOD ↑
Tempranillo	Tane	Sera	UV-B	<15	Antosiyanin ↑, Flavonoid ↑
Malbec	Çiçek	Bağ	UV-B	60<	Uçucu organik bileşik ↑
Merlot	Tane	Bağ	UV-B	60<	VvDRT100-L geninin karakterizasyonu ↑
Sauvignon blanc	Tane	Lab.	UV-B	60<	Flavonoid ↑
Tempranillo	Yaprak	Sera	UV-B	60<	UV emici bileşikler ↑, SOD ↑
Tempranillo	Yaprak	Sera	UV-B	60<	UV emici bileşikler ↑
Malbec	Yaprak	Bağ	UV-B	60<	UV emici bileşikler ↑
Sauvignon blanc	Tane	Bağ	UV-B	60<	Linalool ↑
Romeiko	Yaprak	Lab.	UV-B	<15	UV emici bileşikler ↑, Klorofil ↓
Tempranillo	Tane	Sera	UV-B	60<	Flavonoid ↑, Antosiyanin ↑
Çeşit belirtilmemiş	Yaprak	Lab.	UVA, UV-B	<15	Flavonoid ↑, Antosiyanin ↑
Sauvignon blanc	Tane	Lab., Bağ	UV-B	60<	Flavonoid ↑
Malbec	Tane	Bağ	UV-B	60<	Fenolik ↑, Gen karakterizasyonu ↑

2.3. Bitkilerin Yaşam Döngüsünde Melatonin

Bir indolamin olan Melatonin (MEL), ilk kez 1958 yılında sığırların epifiz bezinden izole edilmiş (Lerner ve ark., 1958) ve Melanosit uyarıcı hormonunun (MSH) karanlığın etkisini tersine çevirme rolünden dolayı böyle isimlendirilmiştir (Rodriguez ve ark., 2004). MEL sentezi, aromatik bir aminoasit olan triptofan (Trp)'dan başlamaktadır (Şekil 1). Trp aynı zamanda, bitkisel bir hormon olan indol-3-asetik asitin (IAA) de sentezini başlatmaktadır. MEL sentezi, hayvanlardakine benzer şekilde

bitkilerde de ardışık dört enzimatik basamak izleyerek triptofan / triptamin / serotonin/N-asetilserotonin / melatonin şeklinde gerçekleşir (Erland ve ark., 2015).



Şekil 2.2. Bitkilerde MEL sentezi (Posmyk ve Janas, 2009).

Bitkilerde MEL üretimi hayvanlardan farklı olup birçok faktör tarafından etkilenmektedir. En etkili faktölerden birisi ise ışıktır. Bitkilerde en yoğun MEL sentez yerleri mitokondri ve koloroplasttır.

MEL özellikle oksin taşıyıcı proteinleri ve oksin, sitokinin, absisisk asit, gibbrellin ile etilen gibi bitki hormonlarının genetik ifadesinin düzenlenmesinde önemli bir rol alır. Oksin gibi davranarak lateral ve adventif kök büyümesini teşvik eder, fotosentez sürecini korur ve senesensi erteler (Arnao ve Hernández-Ruiz, 2018).

Antioksidan molekül gibi muhteşem rollerine ek olarak MEL, serbest radikaller ile tehlikeli ve ölümcül nitrik oksit, hidrojen peroksit, singlet oksijen hipokloröz asit ve daha fazlası gibi ROS'ları süpürmede oldukça etkilidir. MEL'in dışsal uygulamalarının soğuk, sıcaklık, ağır metal, kimyasallar ve UV gibi çeşitli abiyotik streslere karşı savunma mekanizması ve koruma sağladığı gözlemlenmiştir (Arnao ve ark., 2015). MEL, daha yüksek azot ve klorofil içeriği, fotosentez kapasitesi, çözünebilir protein miktarı ve rubisco aktivitesini teşvik etme yeteneğine sahiptir. Yaprak senesensi sürecinde fotosentezden sorumlu proteinlerin arttılmasını da sağlar. Melatonin 3 kloroplast ATP sentez enzimlerinden de sorumludur. Ayrıca karanlık ve aydınlık periyotlarda bitkilerin fotosentetik yeteneklerinin arttırılmasında rol alır ve fotosistem 1 ve fotosistem 2'nin etkinliğini arttırır (Nawaz ve ark., 2021).

MEL'in antioksidan doğası oksidanlara karşı dayanımı arttırması, ROS süpürerek biyotik ve abiyotik streslere yanıt geliştirmesi ve bakteriyel patojenlere karşı koruma oluşturması onu tarımsal üretim sürecinde biyostimulatör olarak kullanışlı halde getirmiştir. Melatonin olumsuz koşullarda kök ve tohum çimlenmesini arttırarak hayatta kalma ihtimalinin artmasına yardımcı olur. Yüksek miktarda MEL içeriği bitkilerde kolorofil degredasyonunu engelleyerek yaprak senesensini geciktirir ve homeostaz seviyelerinin sürdürülmesiyle fotosentetik aktivitenin artmasına yardım eder.

Çok fazla sayıda literatürde hem *in vitro* hem de *in vivo* ortamlarda bir bitki büyüme düzenleyici olarak MEL'in etkisi gösterilmiştir. *In vitro*'daki etkiler bitkilere dışsal MEL uygulamalarının bitki büyümesindeki yanıtlarına değinirken *in vivo* çalışmalar bitkilerin büyüme ve gelişmelerinde içsel melatonin seviyelerinin yanıtlarına değinmektedir (Nawaz ve ark., 2021). Melatoninin tıbbi bitkiler, tahıllar, meyveler dâhil birçok türde varlığı kanıtlanmıştır ancak bitkide bulunma konsantrasyonu bitki türüne göre değişmektedir.

MEL'in antioksidan doğası oksidanlara karşı dayanımı arttırması, ROS süpürerek biyotik ve abiyotik streslere yanıt geliştirmesi ve bakteriyel patojenlere karşı koruma oluşturması onun tarımsal üretim sürecinde biyostimulatör olarak kullanımını yarayışlı halde getirmiştir (Huang ve ark., 2019). MEL'in bitki büyüme ve gelişmesindeki tüm bu fonksiyonları aşağıda detaylandırılmıştır.

2.3.1. Bitkilerde büyümeyi teşvik edici rolü

Bitkide büyüme ve gelişme dönemine çeşitli fitohormonlar özellikle de oksinin rölü büyüktür. Bir indolamin olarak Trp'den sentezlenen MEL, IAA ile aynı başlangıç içeriğini paylaşır. Böylece MEL bitkilerde büyüme ve gelişmeye olan etkisinde IAA'ya benzer roller oynayabilir (Fan ve ark., 2018).

MEL, hem *in vitro* hem de *in vivo* koşullarda çeşitli büyüme ve gelişme parametrelerini iyileştirmesi ve iyon homeostazını düzenleyip bitki verimliliğini arttırması sebebiyle büyümeyi teşvik edici molekül olarak değerlendirilir (Sadek ve ark., 2019). Melatonin hem kendi hem de oksin, absisik asit, gibberellin, sitokinin etilen, poliaminler, jasmonik asit ve salisilik asit gibi birçok farklı doğal ve sentetik bitki büyüme düzenleyicisinin sentezini düzenleyebilmesiyle bağımsız bir bitki büyüme düzenleyicisidir. Bitki büyüme düzenleyicileriyle ilişkili genlerin ifadesinin düzenlemesi ve aynı zamanda aktivitelerine aracılık etmesi önemlidir. Birçok çalışma MEL'in bitki büyüme düzenleme etkilerinin diğer bitki büyüme düzenleyicileriyle karşılaştırılabilir olduğunu ileri sürmüştür (Arnao ve Hernández-Ruiz, 2017; Arnao ve Hernández-Ruiz, 2018). Bitkilerde kök ve yaprak gelişimini arttırabilmesi nedeniyle MEL oksin benzeri davranış sergilemektedir. MEL aynı zamanda senesensi erteleyebilmesi ile fotosentetik sistemleri ve hücre altı yapı süreçlerini koruyarak sitokinin benzeri davranır. Benzer şekilde bazı çalışmalarda meyve olgunlaşmasında ve hasat sonrası süreçte etilen benzeri davranışlar da göstermiştir (Nawaz ve ark., 2021).

Melatoninin oksinlere özellikle IAA' e yapısal benzerliği bulunmaktadır ve sonuç olarak kök ve sürgünlerin düzenlenmesine dahil olur. Yani tıpkı oksin gibi farklı bitki çeşitlerinde vejetatif büyümeyi geliştmeyi teşvik edici rol oynar (Kolář ve Macháčková, 2005).

In vivo etkisinin dışında, *in vitro* ortamda da MEL bitki büyüme ve gelişmesine etki etmektedir. *In vitro* koşulda, dışsal uygulanan MEL bitkilerin hâlihazırda bünyelerinde bulunan IAA ve oksin gibi fitohormonların oynadığı rolle aynı rolü oynar. Melatonin ve indolaminle aynı başlangıç içeriğini paylaşır. Bu sebeple bitki büyüme ve gelişmesinde tıpkı oksin gibi davranır (Hernández-Ruiz ve ark., 2005; Fan ve ark., 2018). İndol temelli melatonin ve oksin aynı yapıdan türedikleri ve MEL hayvanlarda 5-

metoksindolasetik asite dönüşebildiğinden IAA olarak işlev görebilir veya IAA bitki dokularında aynı yönde davranış sergileyebilir (Katekar, 1979).

In vitro koşullarda MEL'in *in vitro* etkisini incelemek için *Glycyrrhiza uralensis* Fischer'de yapılan bir çalışmada dışsal MEL uygulaması vejetatif büyüme ve genişlemeyi teşvik etmiştir. Bu çalışmanın sonuçları altı aylık bitkideki içeriğin üç aylık bitkiden dört kat daha fazla olması, bitkilerin büyüdükçe MEL miktarında artış görüldüğünün kanıtı olmuştur. Aynı zamanda kırmızı ışık altında büyüyen bitkilerin daha fazla MEL içermesinin bitkide büyüme ve gelişmede indol konsantrasyonuyla sinyal ilişkisi olduğunu ortaya koymuştur (Afreen ve ark., 2006).

2.3.2. Ürün verimliliğini ve biyokütleyi artırmadaki rolü

Ürün verimliliğini arttırmada MEL çevre dostu, güvenilir ve ürünlerin verim artışında potansiyel bir biyostimülatör olarak kullanıldığından önemlidir. Biyo-çözünebilir ve güvenilir olması sebebiyle organik tarımda kullanılabilir. MEL'in bitkilerde yüksek miktarda alınması anitoksidan doğalarından dolayı bitkisel ürünlerin peroksidayonunu engelleyebilir. Böylece raf ömrünü uzatırken aynı zamanda ürün verimliliğini de arttırır (Hardeland, 2009; Asif ve ark., 2019). Bitkilerin temel içeriği klorofildir dolayısıyla ürün verimliliğinde fotosentetik stimülasyon ve ve korunması oldukça önemlidir. Bahçe bitkileri ürünleri yiyecek ve yemlerin ana kaynağıdır. MEL bahçe bitkilerinin stresten ari, yüksek kalitede verim vermesinde bir anti-stres mekanizma düzenleyicisidir (Tiwari ve ark., 2020).

MEL bazı meyve ve sebzelerde hasat sonrası korumayı arttırır (Cao ve ark., 2017). Dışsal MEL uygulaması köklerdeki H_2O_2 içeriğini önemli düzeyde düşürür ve hasat sırasında meydana gelen zararlardan kaynaklanan fizyolojik yıkım semptomlarının ertelenmesini sağlar. Uygulama sonuçları soğan, lahana, hıyar, karnabahar, bezelye, havuç ve biber gibi sebze ile elma, muz, zeytin, üzüm, kivi, ananas gibi meyvelerde muhafaza süresininin uzatılması ile sonuçlanmıştır (Xin ve ark., 2017). Gri küf olarak bilinen *Botritis cinerea* hasat sonrasında elmada hastalığa sebep olan ana faktördür ve raf ömrünü önemli düzeyde düşürür. Cao ve ark. (2017), 72 saat süre ile 200 mM dışsal MEL uygulamasının elmada gri küf enfeksiyonunu engelleyerek raf ömrünü uzattığını bildirmişlerdir. MEL ile muamele edilmiş muz ve diğer meyveler de aynı sonucu

göstermiştir. Bu bulgular, meyve ve sebzelerin raf ömrünü arttırmada gelecek çalışmalar için değerli bilimsel veriler sunmuştur (Nawaz ve ark., 2021).

Bitkide ürün verimliliğinde bir diğer önemli konu MEL'in bitkide biyokütleyi arttırıp arttıramayacağıdır. MEL bitkilerde büyüme etkinliğini artırarak, gelişim döneminde stres koşullarına karşı savunmayı sağlayarak ve tohumların çimlenme oranını yükselterek biyokütleyi arttırma kabiliyetine sahiptir (Nawaz ve ark., 2021). Kırmızılahana tohumlarında gerçekleştirilen bir çalışmada, tohumlara 1, 10 ve 100 Mm MEL uygulanmıştır. Hem kontrol hem de uygulama yapılan tohumlar 25 °C karanlık koşullarda 3 gün süre ile inkübasyona alınmıştır. Genç tohumlar gün ışığı koşullarında 5 gün daha büyütülmüştür. Hem kontrol hem de uygulama grubundaki tohumlar sulu $CuSO_4$ ile farklı konsantrasyonlarda test edilmiştir. Çalışma sonucunda MEL uygulanmış tohumlarda çimlenme oranı %73 iken uygulama yapılmamış tohumlarda %53.5 olarak gözlenlenmiştir. Çalışma sonucunda bitkilerde tohumlara MEL ön uygulaması çimlenmeyi artırmıştır (Posmyk ve ark., 2008).

Sonuç olarak MEL, yapraklarda klorofil koruması, kök gelişimi, kök üretimi, biyokütlede artış, ertelenen yaprak sensensi gibi tüm olumlu etkileri ile ürün verimliliğine katkıda bulunur. Dünyanın büyük bir kısmında besin eksikliği ve artan gıda talebi ve kıt kaynaklar söz konusu olduğunda MEL, ürün verimliliğinde sağlamış olduğu artışla önemli bir rol oynayacaktır. Benzotiyadiazol (BTH) ve kitosan gibi tarım kimyasalları da MEL üretimi artışına katkıda bulunulabilmektedir (Vitalini ve ark., 2011).

2.3.3. Klorofilin korunmasındaki rolü

MEL, bitkilerde antioksidan olarak görev yapar ve ROS/RNS'den dolayı meydana gelen degredasyona karşı klorofili korur. Yapılan bir çalışmada 1 mM MEL buğday yapraklarına uygulanmış ve 48 saat sonunda kontrol bitkilerine göre MEL uygulanan bitkilerde iki kat daha fazla klorofil gözlemlenmiştir (Arnao ve Hernández-Ruiz, 2009). Benzer şekilde, sıcaklık stresi altındaki hıyar bitkileri de MEL etkisiyle korunmuştur (Xu, 2010). İndolamin etkili MEL, radikal yakalama aktivitesi aracılığıyla bitkilerde klorofili korur (Tal ve ark., 2011). Melatonin indolamin etkisi stres

koşullarında yalnızca klorofili korumaz aynı zamanda fotosistem 2’ nin de etkinliğini arttırır ve askorbik asit seviyelerini yükseltir (Wang ve ark., 2012).

2.3.4. Fotosentetik aktivitedeki rolü

Bitkilerde MEL sadece klorofil korunmasına yardım etmez aynı zamanda redoks homeostazının sürdürülmesiyle klorolil ile fotosentetik aktivitenin artmasında da etkilidir (Sharif ve ark., 2018). Buğday, arpa, kiraz ve birçok bahçe bitkisi ürününde MEL seviyeleri artarak fotosentetik aparatların hasar görmesini engelleyerek korur (Sharma ve Zheng, 2019). Hıyar tohumlarına 25-100 mM aralığında farklı dozlarda uygulanan MEL hem sıcaklık stresinde hem de normal koşullardaki tohumların fotosentetik aktivitesini artmıştır (Xu, 2010).

2.4. Bitkilerde UV-B Stresine Karşı MEL’in Etkisi

Bitkilerde UV-B stresi anormal büyüme ve gelişme hatta ölüm ile sonuçlanabilmektedir. Bu nedenle bu olumsuz ve ölümcül etkilerle başa çıkabilmek için bitkinin korunma mekanizmasında MEL’in rolü önemlidir. MEL’in UV-B stresine koruyucu olduğu kanıtlanmıştır (Sharma ve Zheng, 2019).

Alp dağlarında ve Akdeniz’in yüksek rakımlarında yüksek UV-B stresine maruz kalan bitkilerin, daha düşük rakımlarda daha düşük UV stresine maruz kalan türlerine göre daha yüksek MEL içeriğine sahip oldukları bildirilmiştir (Tettamanti ve ark., 2000).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışma, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'nde 2021-2022 yılları arasında yürütülmüştür. Bitkisel materyali oluşturan çelikler Tekirdağ Bağcılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü ile Erciş İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü'nden sağlanmıştır.

3.1. Materyal

Tez çalışmasının ana materyalini oluşturan Merlot ve Erciş üzüm çeşitlerine ait çelikler kış dinlenme döneminde bağdaki olgun yaşta ve sürgünleri iyi odunlaşmış sağlıklı ve hastalık belirtileri göstermeyen omcalardan alınarak (Çelik, 2019) sürdürülmek üzere torf:perlit (1:1) karışımı bulunan kaplara dikilerek 8/16 saat fotoperiyot ve 24 ºC'lik iklim odasına sahip alınmıştır (Şekil 3.1). *In vitro* çalışmalar için gerekli eksplantlar, bu çeliklerin sürmesiyle elde edilen sürgünlerden hazırlanmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.1. Sürdürmek üzere iklim odasına alınan çelikler.



Şekil 3.2. Eksplant kaynağı sürgünler.

3.2. Yöntem

3.2.1. Doku kültürü çalışmaları

In vitro çalışmalarda kullanılan tüm cam, polipropilen ve metal malzemeler distile sudan geçirilerek 121 ºC'de 1.5 saat süre ile otoklavda steril edilmiştir. Başlangıç materyali olarak *in vivo* kaynaklı tek boğumlu mikro çelik eksplantları kullanılmıştır (Şekil 3.3). Yüzey sterilizasyonunda dezenfektan olarak 2-3 damla ticari deterjan (Tween 20) ilavesi yapılmış %15'lik sodyum hipoklorit (NaClO) çözeltisi kullanılmıştır. Tek boğumlu mikro çelik eksplantları, akan çeşme suyu altında bırakıldıktan sonra dezenfektan çözeltisi içerisinde 10 dk manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Dezenfektanın eksplant dokularından arınması için 3 × 5 dk distile sudan geçirilmesiyle hazırlık tamamlanmıştır (Şekil 3.4).



Şekil 3.3. Mikro çelikler.



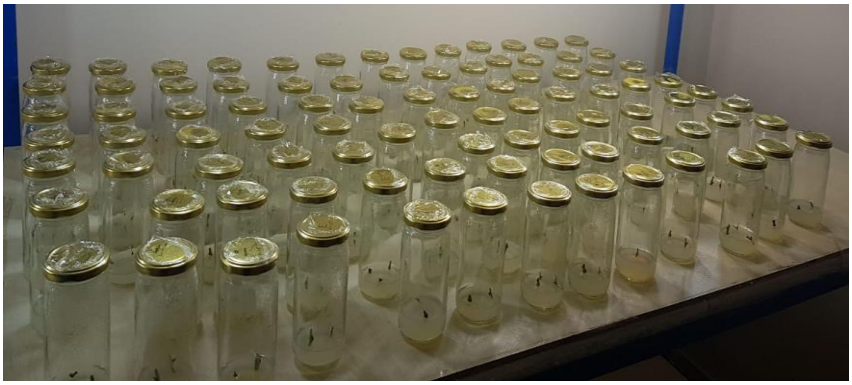
Şekil 3.4. Mikro çeliklerin sterilizasyon aşamasından bir görünüm.

Tez çalışmasının materyalini oluşturan Merlot ve Erciş üzüm çeşitlerine ait *in vitro* bitkiciklerin elde edilmesi için MS (Murashige ve Skoog 1962) yarı katı temel besin ortamı ve tek boğum kültürü kullanılmıştır (Şekil 3.5). MS yarı katı temel besin

ortamına 30 g l^{-1} sakkaroz, 8 g l^{-1} agar ve 0, 100, 200 µmol l^{-1} Melatonin eklenmiştir. Kültüre alınan tek boğum eksplantları 8/16 fotoperiyot ve 25 °C'de inkübe edilmiş (Şekil 3.6), çalışmada kullanılacak yeterli eksplant sayısına ulaşana kadar 30 gün ara ile alt kültüre alma işlemine devam edilerek *in vitro* bitkicikler elde edilmiştir (Şekil 3.7).



Şekil 3.5. Mikro çeliklerin *in vitro* kültüre alınması.



Şekil 3.6. Kültürlerin iklim odasında geliştirilmesi.



Şekil 3.7. *In vitro* bitkicikler.

3.2.2. UV-B ışın uygulama

Pontin ve ark. (2010)'na göre en az 6 tam yapraklı *in vitro* bitkiciklere kavanozların kapakları açılarak düşük (311 nm Philips TL 20W/01, 16 saat ≅ 8.25 µW cm^{-2}) ve yüksek (311 nm Philips TL 20W/01, 4 h ≅ 33 µW cm^{-2}) UV-B ışını 40 cm yükseklikten steril bir kabin içerisinde uygulanmıştır (Şekil 3.8 ve 3.9).



Şekil 3.8. Bitkiciklere düşük UV-B uygulaması.



Şekil 3.9. Bitkiciklere yüksek UV-B uygulaması.

Uygulama sonrası yaprak örnekleri ekstraksiyon yapılıncaya kadar -80°C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.3. Toplam fenolik (TF) bileşik içeriğinin belirlenmesi

Yaprak örneğinden 1 gram alınarak üzerine 25 ml metanol eklenip 2 dakika boyunca homojenizatör (IKA Ultra-Turrax T-25) ile orta hızda homojenize edilmiştir. Homojenize edilen örnekler 10 dakika +4°C'de bekletilmiştir. Sonrasında +4°C'de 7000 rpm'de 30 dakika boyunca santrifüj (Beckman Coulter, Allegra X-300R Brea, CA, USA) edilmiş ve santrifüj sonunda süpernatant kısımları alınıp ependorf tüplere konulup -20°C'de analizleri yapılıncaya kadar saklanmıştır.

Toplam fenolik (TF) madde içeriği Folin-Ciocaltaeu kalorimetrik yöntem ile spektrofotometrede belirlenmiştir (Swain ve Hillis, 1959). Çözeltilerin spektrofotometrede (Genesys 10S UVVIS, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) 725 nm dalga boyunda absorbansları okunmuş, toplam fenolik içeriği gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak ifade edilmiştir.

3.2.4. Toplam antioksidan (TA) içeriğinin belirlenmesi

Toplam antioksidan (TA) aktivitesinin belirlenmesinde, Demir (III) İndirgeme Antioksidan Gücü (FRAP) yöntemi kullanılmıştır (Benzie ve Strain, 1996). Hazırlanan çözeltilerin spektrofotometrede (Genesys 10S UVVIS, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) 593 nm dalga boyunda absorbansları okunmuş, toplam antioksidan içeriği trolox eşdeğeri (TE) olarak ifade edilmiştir.

3.2.5. Antioksidatif enzimler

Yaprak örneğinden 1 g alınarak 5 ml soğuk 0.1 mM Na-fosfat, 0.5 mM Na-EDTA ve 1 mM askorbik asit karışımı (pH=7.5) ile homojenize edilmiş sonrasında homojenat 4ºC'de 30 dakika 18000 rpm'de santrifüj (Beckman Coulter, Allegra X-300R Brea, CA, USA) edilmiştir. Bu şekilde hazırlanan homojenattan hemen askorbat peroksidaz (APX) aktivitesi belirlenmiştir (Şekil 3.10).



Şekil 3.10. Antioksidatif enzimlerin belirlenmesi.

Katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) aktivitelerinin belirlenmesi için, 1 g dondurulmuş yaprak örneği 5 ml soğuk 0.1 M Na-fosfat, 0.5 mM Na-EDTA karışımı (pH=7.5) ile homojenize edildikten sonra, homojenat 4ºC'de 30 dakika 18000 rpm'de

santrifüj (Beckman Coulter, Allegra X-300R Brea, CA, USA) edilmiştir. Homojenatın bir kısmından hemen katalaz (CAT) aktivitesi belirlenmiş ve süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin belirlemesi için ekstrakt -20°C'de bekletilmiştir (Jebara ve ark. 2005; Güneri Bağcı 2010).

Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi Nitroblue tetrazolium'un (NBT) 560 nm dalga boyunda inhibisyonu ile belirlenmiştir. Reaksiyon çözeltisi olarak 50 mM Na-fosfat tamponu (Na_2HPO_4 x H_2O_2), 0.1 mM Na-EDTA, 33 µM NBT, 5 µM riboflavin, 13 mM methionin karışımı kullanılmıştır (pH=7.0). 2.5 ml reaksiyon çözeltisi ile 0.2 ml yaprak ekstraktı karıştırılmıştır. Reaksiyon 25ºC'de 75 µmol m^{-2} s^{-1} (40 W) ışık altında 10 dakika bekletilerek sağlanmıştır. Kontrol çözeltisi ise enzimsiz olarak karanlıkta aynı süre bekletilmiştir. Kontrol ve reaksiyon çözeltisi 560 nm'de okunmuştur. SOD aktivitesi ünite olarak NBT'nin %50'sini indirgeyen aktivite olarak belirlenmiştir (Güneri Bağcı 2010).

CAT aktivitesi, 240 nm dalga boyunda H_2O_2'nin kaybolmasının izlenmesi ile belirlenmiştir. Reaksiyon çözeltisi olarak 0.05 M fosfat tamponu (KH_2PO_4), 1.5 mM H_2O_2 karışımı kullanılmıştır (pH=7.0). 2.5 ml reaksiyon çözeltisi ile 0.2 ml yaprak ekstraktı karıştırılmıştır. Spektrofotometrede 240 nm dalga boyunda 0. ve 60. saniye okumaları alınmıştır. Reaksiyon 0.1 ml enzim ekstraktının ilavesi ile başlatılmıştır. Değerlendirme 1 dakika içinde absorbansdaki değişim dikkate alınarak yapılmıştır (Güneri-Bağcı 2010).

APX aktivitesi, 290 nm dalga boyunda askorbik aside bağlı H_2O_2'nin indirgenmesi ile ölçülmüştür. Reaksiyon çözeltisi olarak 50 mM fosfat tamponu (KH_2PO_4), 0.5 mM askorbik asit, 0.1 mM EDTA, 1.5 mM H_2O_2 karışımı kullanılmıştır (pH=7.0). 3 ml reaksiyon çözeltisi ile 0.1 ml yaprak ekstraktı karıştırılmıştır. Spektrofotometrede 290 nm dalga boyunda 0. ve 60. saniye okumaları alınmıştır. Reaksiyon 0.1 ml enzim ekstraktının ilavesi ile başlatılmıştır. Değerlendirme 1 dakika içinde absorbansdaki değişim dikkate alınarak yapılmıştır (Güneri-Bağcı 2010).

3.2.6. Lipit peroksidasyonu (MDA)

Bitkilerde lipit peroksidasyonu, Malondialdehit (MDA) içeriği olarak ifade edilmektedir. 0.5 g yaprak örneği 10 ml %0.1'lik trikloroasetik asit (TCA) ile

homojenize edildikten sonra homojenat 15000 rpm'de 5 dakika santrifüj (Beckman Coulter, Allegra X-300R Brea, CA, USA) edilmiştir. Süpernatant kısımdan 1 ml alınıp, üzerine 4 ml %20'lik TCA içerisinde çözülmüş %0.5'lik tiobarbiturik asit (TBA) konulmuştur. Karışım 95ºC'de 30 dakika bekletildikten sonra hızla buz banyosunda soğutulup 10000 rpm'de 10 dakika santrifüj (Beckman Coulter, Allegra X-300R Brea, CA, USA) yapıldıktan sonra süpernatantın 532 ve 600 nm dalga boyunda absorbansı belirlenmiş ve aşağıdaki eşitlik ile MDA (MDA) içeriği belirlenmiştir (Güneri Bağcı, 2010).

$$\text{MDA (nmol ml}^{-1}) = [(\text{A532} - \text{A600})/155000]10^{6} \quad (1)$$

3.2.7. DUALEX 4 scientific aleti ile yapılan ölçümler

DUALEX (Dx) 4 Scientific (FORCE-A, Orsay, Fransa) yaprak yüzeyinden bir dokunuşla aynı anda azot denge indeksi (ADİ), klorofil (Kl), antosiyanin (Ant) ve flavonol (Flv) ölçebilen taşınabilir bir yaprak klipsidir (Şekil 3.10).



Şekil 3.11. DUALEX 4 Scientific aleti.

3.2.8. Melatonin (MEL)'in belirlenmesi

Yaprak örneğinden 100 mg alınarak sıvı azot içerisinde ekstrakte edilmiş ardından 4°C'de karanlıkta 12 saat 1 ml ACN ile ekstraksiyona devam edilmiştir.

4°C'de 10 dakika 12.000 rpm'de santrifüj edildikten sonra süpernatanlar, hafif azot akışı altında buharlaştırılmıştır. Buharlaşma sonrası örnekler 100 µl 0.1 M HC1 içinde yeniden eritilmiş ve ardından eter (1 ml) ile ekstrakte edilmiştir. Eter fazı toplanmış, azot gazı altında kurutulmuş ve daha fazla analiz için 300 µl H2O/MeOH (80/20, h/h) içinde yeniden oluşturulmuştur. Ekstraksiyon dahil tüm işlemler MEL'in ışığa hassasiyeti nedeniyle karanlıkta yapılmıştır. MEL, Yüksek Basınçlı Sıvı Kramotografisi (HPLC) ile Hidalgo-Ruiz ve ark., (2016)'na göre belirlenmiştir.

3.2.9. İstatistik analiz

Üzerinde durulan özellikler bakımından tanımlayıcı istatistikler; ortalama ve standart hata olarak verilmiştir. Bu özellikler bakımından, Çeşit (Erciş ve Merlot), UV-B dozu (düşük ve yüksek) ve uygulamaya (Kontrol, 100 µmol l^{-1} MEL, 200 µmol l^{-1} MEL) göre farklılık olup olmadığını belirlemek amacıyla, 3 Faktörlü Faktöriyel Varyans analizi yapılmıştır. Varyans analizini takiben grupları belirlemede Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. Hesaplamalarda istatistik önemlilik düzeyi %5 olarak alınmış ve hesaplamalar için SPSS (ver: 21) istatistik paket programı kullanılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Özellikler bakımından ikinci derece (üçlü interaksiyon) interaksiyon veya birinci derece interaksiyonlardan (ikili interaksiyonlardan) ikisi önemli bulunduğundan, tüm özelliklerde karşılaştırmalar alt gruplar düzeyinde yapılmıştır.

Bulgularımız, MEL'in asmalarda UV-B stresine etkilerine ilişkin ilk bulgulardır. Bu nedenle farklı bitkilerde yapılmış çalışmalar üzerinden tartışma yapılabilmiştir.

4.1. Asmada UV-B Stresine Karşı Dışsal MEL Uygulamasının TF Bileşik İçeriğine Etkisi

TF bileşik içeriği bakımından Çeşit, UV-B dozu ile MEL uygulamalarına göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları Çizelge 4.1'de, Asmada UV-B stresine karşı dışsal melatonin uygulamasının TF bileşik içeriğine etkisi ise Şekil 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. TF bileşik içeriği (mg GAE 100 g^{-1}) bakımından Çeşit, UV-B dozu ile MEL uygulamalarına göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları

			Kontrol		**100 µmol l^{-1} MEL**		**200 µmol l^{-1} MEL**	
	Çeşit	**UV-B**	**Ort.**	**St. Hata**	**Ort.**	**St. Hata**	**Ort.**	**St. Hata**
TF	E	Düşük	1.630 c	0.030	7.430 b	0.020	8.230 a	0.020
		Yüksek	4.318 b	0.018	7.526 a	0.024	1.030 c #	0.070
	M	Düşük	3.060 b §	0.010	3.405 a §	0.005	2.706 c §	0.004
		Yüksek	4.560 b # §	0.010	3.618 c # §	0.018	5.993 a #	0.007

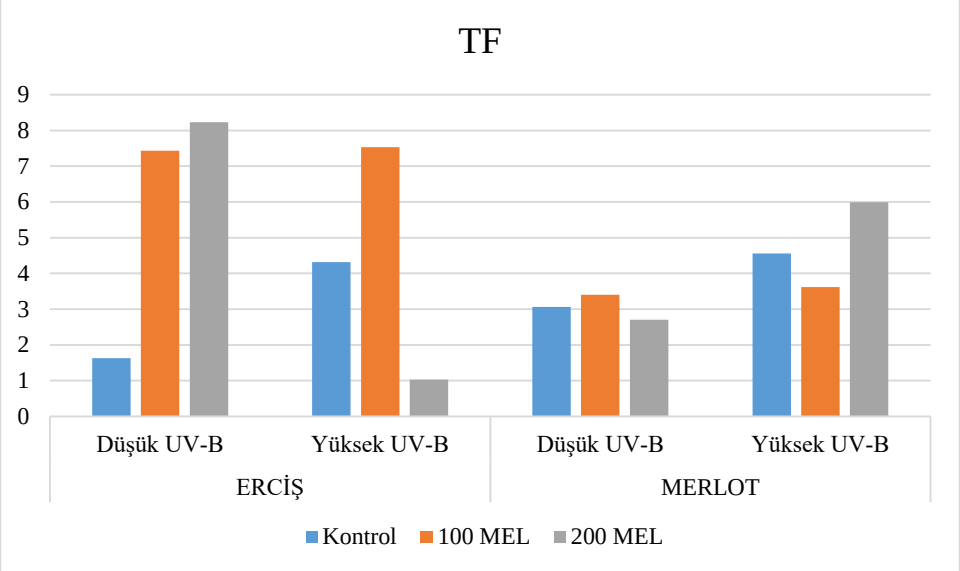
Ort: Ortalama, St. Hata: Standart Hata, E: Erciş, M: Merlot
a, b, c :→Aynı satırda farklı küçük harfi alan uygulamalar arası fark önemlidir ($p<0.05$).
#: Aynı çeşit ve uygulama içinde, düşük UV den olan farkı önemlidir ($p<0.05$).
§: Aynı UV ve uygulama içinde, Erciş çeşidinden olan farkı önemlidir ($p<0.05$).

Her iki çeşit ve her iki UV-B dozunda da MEL uygulamaları arası fark istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Düşük UV-B dozu uygulanmış Erciş bitkiciklerinde en yüksek TF bileşik içeriği 200 µmol l^{-1} MEL uygulamasında gözlenirken (8.230 mg GAE 100 g^{-1}), bunu 100 µmol l^{-1} MEL uygulaması (7.430 mg

GAE 100 g^{-1}) ve kontrol grubu (1.630 mg GAE 100 g^{-1}) izlemiştir. Yüksek UV-B dozu uygulanmış bitkiciklerde ise en yüksek ortalama, 100 µmol l^{-1} MEL uygulamasında gözlenirken (7.526 mg GAE 100 g^{-1}), bunu kontrol grubu (4.318 mg GAE 100 g^{-1}) ve 200 µmol l^{-1} MEL uygulaması (1.030 mg GAE 100 g^{-1}) izlemiştir.

Merlot çeşidinde yüksek UV-B dozu uygulanmış bitkiciklerde en yüksek TF bileşik içeriği 200 µmol l^{-1} MEL uygulamasında gözlenirken (5.993 mg GAE 100 g^{-1}), bunu kontrol grubu (4.560 mg GAE 100 g^{-1}) ve 100 µmol l^{-1} MEL (3.618 mg GAE 100 g^{-1}) uygulaması izlemiştir. Merlot çeşidinin düşük UV-B dozu uygulanmış bitkiciklerinde ise en yüksek ortalama, 100 µmol l^{-1} MEL uygulamasında (3.405 mg GAE 100 g^{-1}), en düşük ortalama ise kontrol grubunda (3.060 mg GAE 100 g^{-1}) gerçekleşmiştir. Düşük ve yüksek UV-B dozları arasındaki fark, kontrol, 100 µmol l^{-1} MEL ve 200 µmol l^{-1} MEL uygulamaları söz konusu olduğunda yalnızca Merlot çeşidinde istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$).

Çeşitler arası fark ise, kontrol grubunda ve 100 µmol l^{-1} MEL uygulamasında her iki UV-B dozunda da gözlenirken, 200 µmol l^{-1} MEL uygulamasında yalnızca düşük UV-B dozunda gözlenmiştir (Çizelge 4.1, Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Asmada UV-B stresine karşı dışsal MEL uygulamasının TF bileşik içeriğine (mg GAE 100 g^{-1}) etkisi.

Fenolik bileşikler sekonder metabolitler olarak üretilir ve bitkilerde doğal antioksidanlar olarak stres direncini artırabilir (Fini ve ark., 2012). Bu bileşikler UV-B

ışınına karşı koruyucu bir mekanizma olarak yaprak yüzeyinde birikmektedir (Kaur ve ark., 2015; Klein ve ark., 2018; Neugart ve Schreiner, 2018). Bununla birlikte, bitki yapraklarında fenolik bileşiklerin özellikle yüksek UV-B ışınına karşı antioksidan ve koruyucu bileşenler olarak işlev gördükleri (Wei ve ark., 2019) ve bu durum karşısında bitkilerde TF bileşik içeriğinin arttığı bildirilmiştir (Jansen ve ark., 2008). Asmalarda TF bileşiklerin UV-B maruziyetine yanıt olarak önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir (Gregan ve ark., 2012). UV-B stresine maruz bırakılan elma (*Malus hupehensis*) fidelerinde, dışsal melatonin uygulamaları TF bileşik içeriğini arttırmıştır (Wei ve ark., 2019).

4.2. Asmada UV-B Stresine Karşı Dışsal MEL Uygulamasının TA İçeriğine Etkisi

TA içeriği bakımından Çeşit, UV-B dozu ile MEL uygulamalarına göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları Çizelge 4.2'de, Asmada UV-B stresine karşı dışsal melatonin uygulamasının TA içeriğine etkisi ise Şekil 4.2'de sunulmuştur.

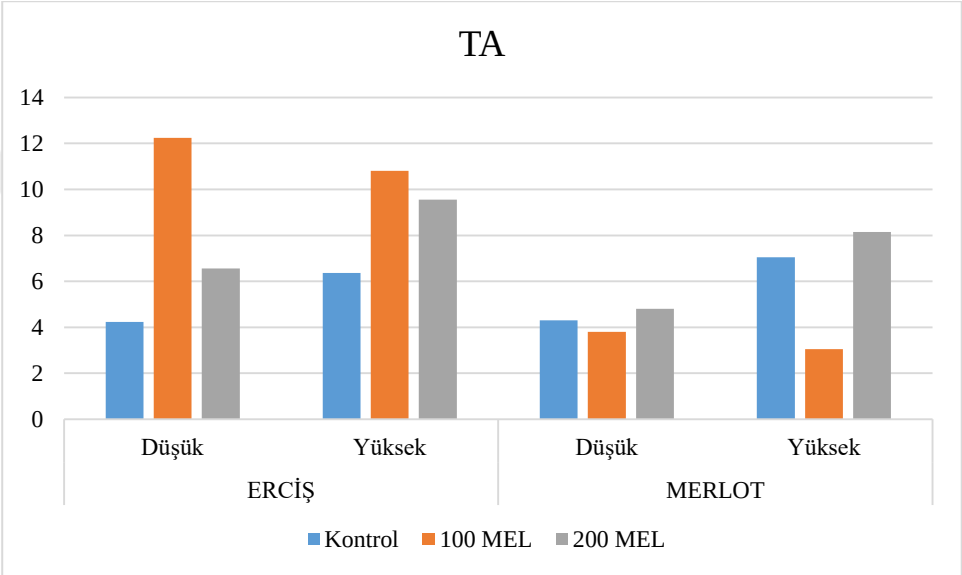
Çizelge 4.2. TA içeriği (µmol TE g^{-1}) bakımından Çeşit, UV-B dozu ile MEL uygulamalarına göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları

			Kontrol		**100 µmol l^{-1} MEL**		**200 µmol l^{-1} MEL**	
	Çeşit	**UV-B**	**Ort.**	**St. Hata**	**Ort.**	**St. Hata**	**Ort.**	**St. Hata**
TA	E	Düşük	4.238 c	0.013	12.238 a	0.013	6.554 b	0.004
		Yüksek	6.371 c #	0.021	10.804 a	0.004	9.554 b #	0.004
	M	Düşük	4.304 b §	0.004	3.804 c §	0.004	4.809 a §	0.001
		Yüksek	7.054 b §	0.004	3.054 c # §	0.004	8.146 a #	0.004

Ort: Ortalama, St. Hata: Standart Hata, E: Erciş, M: Merlot
a, b, c :→Aynı satırda farklı küçük harfi alan uygulamalar arası fark önemlidir ($p<0.05$).
#: Aynı çeşit ve uygulama içinde, düşük UV den olan farkı önemlidir ($p<0.05$).
§: Aynı UV ve uygulama içinde, Erciş çeşidinden olan farkı önemlidir ($p<0.05$).

Erciş çeşidinde her iki UV-B dozunda en yüksek TA ortalaması 100 µmol l^{-1} MEL uygulamasında gözlenirken (12.238 µmol TE g^{-1}), bunu sırasıyla 100 µmol l^{-1} MEL uygulaması (10.804 µmol TE g^{-1}) ve 200 µmol l^{-1} MEL (9.554 µmol TE g^{-1}) izlemiştir. Merlot çeşidinde ise düşük ve yüksek UV-B dozunda en yüksek TA

ortalaması 200 µmol l^{-1} MEL uygulamasında (sırasıyla 4.809 µmol TE g^{-1} ve 8.146 µmol TE g^{-1}) gözlemlenmiştir. Erciş çeşidinde kontrol ve 200 µmol l^{-1} MEL uygulamasında, Merlot çeşidinde ise 100 ve 200 µmol l^{-1} MEL uygulamalarında, UV-B dozları arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Çeşitler arasındaki fark ise 100 µmol l^{-1} MEL uygulamasında ve kontrol grubunda her iki UV-B dozuda, 200 µmol l^{-1} MEL uygulamasında ise sadece düşük UV-B dozunda gözlenmiştir (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Asmada UV-B stresine karşı dışsal MEL uygulamasının TA içeriğine (µmol TE g-1) etkisi.

Bitkiler UV-B'nin neden olduğu ROT'un etkilerini azaltmak amacıyla toplam antioksidan miktarlarını artırır (Van Breusegem ve ark., 2008). Bu durum, UV-B ışınının asmalarda toplam antioksidan miktarını artırdığı görüşüyle uyumludur (Berli ve ark., 2014; Alonso ve ark., 2015). Zhang ve ark. (2015), MEL'in, ROT'u doğrudan temizlemek ve bitki hücreleri içindeki içsel antioksidanları geliştirmek için güçlü bir antioksidan görevi görerek, yüksek tuzluluk, aşırı sıcaklık ve kuraklık gibi zorlu koşullarda bitkiyi dayanıklı hale getirebileceğini bildirmiştir. Maş fasülyesi (*Vigna radiata* L.) tohumlarında yapılan bir çalışmada dışsal MEL uygulaması PAL aktivitesini yukarı regüle ederek TF bileşiklerin birikimini arttırmış ve böylece antioksidan kapasitede artışa neden olmuştur (Szafrańska ve ark., 2014).

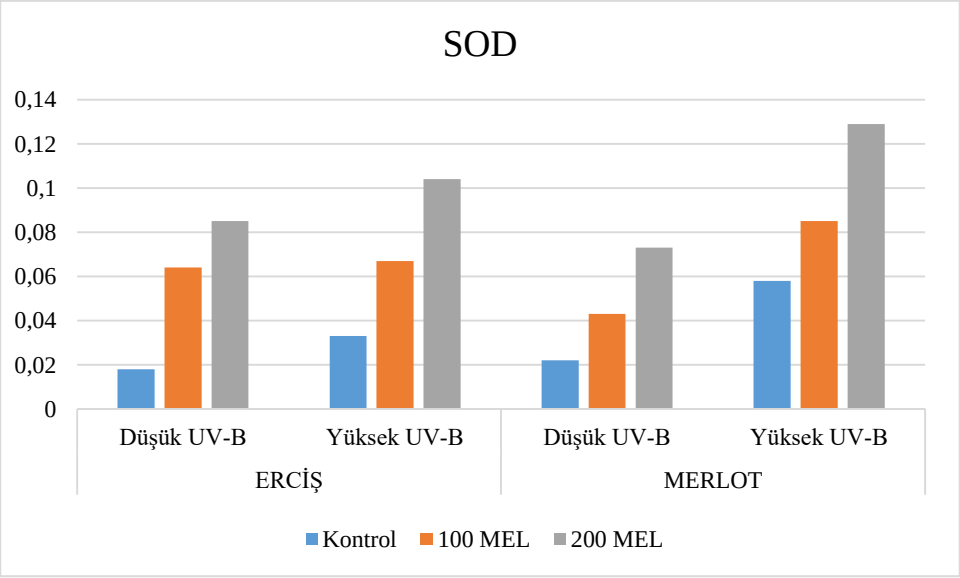
4.3. Asmada UV-B Stresine Karşı Dışsal MEL Uygulamasının SOD, CAT ve APX Aktivitesine Etkisi

SOD aktivitesi bakımından Çeşit, UV-B dozu ile MEL uygulamalarına göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları Çizelge 4.3'te, Asmada UV-B stresine karşı dışsal MEL uygulamasının SOD aktivitesine etkisi ise Şekil 4.3'te verilmiştir.

Çizelge 4.3. SOD aktivitesi (U g^{-1}) bakımından Çeşit, UV-B dozu ile MEL uygulamalarına göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları

			Kontrol		100 µmol l^{-1} MEL		200 µmol l^{-1} MEL	
	Çeşit	UV-B	Ort.	St. Hata	Ort.	St. Hata	Ort.	St. Hata
SOD	E	Düşük	0.018 b	0.006	0.064 a	0.006	0.085 a	0.005
		Yüksek	0.033 c	0.004	0.067 b	0.004	0.104 a	0.003
	M	Düşük	0.022 c	0.007	0.043 b	0.002	0.073 a	0.001
		Yüksek	0.058 c #	0.006	0.085 b #	0.004	0.129 a #	0.006

Ort: Ortalama, St. Hata: Standart Hata, E: Erciş, M: Merlot
a, b, c :→Aynı satırda farklı küçük harfi alan uygulamalar arası fark önemlidir ($p<0.05$).
#: Aynı çeşit ve uygulama içinde, düşük UV den olan farkı önemlidir ($p<0.05$).
§: Aynı UV ve uygulama içinde, Erciş çeşidinden olan farkı önemlidir ($p<0.05$).



Şekil 4.3. Asmada UV-B stresine karşı dışsal MEL uygulamasının SOD aktivitesine (U g^{-1}) etkisi.

Erciş çeşidinde düşük doz UV-B uygulanmış bitkiciklerde 200 ve 100 µmol l^{-1} MEL uygulamaları arasındaki fark önemli bulunmazken, her iki uygulamanın da kontrol grubundan olan farkı istatistik olarak önemli bulunmuştur. Merlot çeşidinin düşük ve yüksek UV-B dozu ile Erciş çeşidinin yüksek UV-B dozunda, en yüksek SOD değeri ortalaması 200 µmol l^{-1} MEL uygulamasında gerçekleşirken (sırasıyla 0.073 U g^{-1} , 0.129 U g^{-1} ve 0.104 U g^{-1}), bunu sırasıyla 100 µmol l^{-1} uygulaması ve kontrol grubu izlemiştir. Her üç uygulamada da Merlot çeşidinin yüksek ve düşük UV-B dozları arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmuş olup, her 3 uygulamada da yüksek UV-B dozundaki SOD değeri daha yüksek bulunmuştur. Her iki UV-B dozunda ve 3 uygulamada da çeşitler arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmamıştır (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.3).

CAT aktivitesi bakımından Çeşit, UV-B dozu ile MEL uygulamalarına göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları Çizelge 4.4'te, Asmada UV-B stresine karşı dışsal MEL uygulamasının CAT aktivitesine etkisi ise Şekil 4.4'te sunulmuştur.

Çizelge 4.4. CAT aktivitesi (mmol g^{-1} dk^{-1} TA) bakımından Çeşit, UV-B dozu ile MEL uygulamalarına göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları

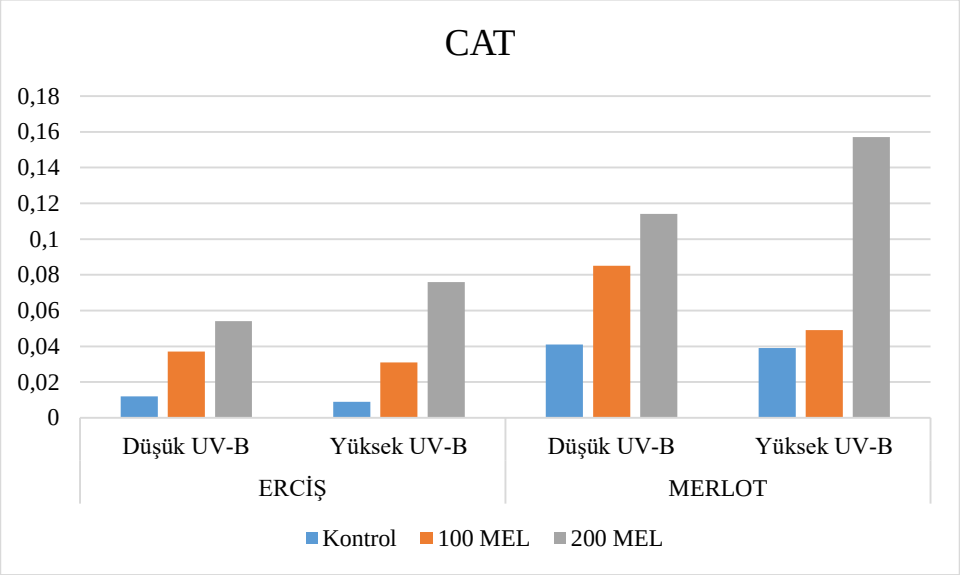
			Kontrol		**100 µmol l^{-1} MEL**		**200 µmol l^{-1} MEL**	
	Çeşit	**UV-B**	**Ort.**	**St. Hata**	**Ort.**	**St. Hata**	**Ort.**	**St. Hata**
CAT	E	Düşük	0.012 c	0.006	0.037 b	0.000	0.054 a	0.006
		Yüksek	0.009 c	0.004	0.031 b	0.003	0.076 a	0.005
	M	Düşük	0.041 b	0.001	0.085 a	0.016	0.114 a §	0.002
		Yüksek	0.039 c §	0.001	0.049 b	0.002	0.157 a # §	0.002

Ort: Ortalama, St. Hata: Standart Hata, E: Erciş, M: Merlot
a, b, c :→Aynı satırda farklı küçük harfi alan uygulamalar arası fark önemlidir ($p<0.05$).
#: Aynı çeşit ve uygulama içinde, düşük UV den olan farkı önemlidir ($p<0.05$).
§: Aynı UV ve uygulama içinde, Erciş çeşidinden olan farkı önemlidir ($p<0.05$).

Erciş çeşidinde, hem düşük hem de yüksek UV-B dozunda en yüksek CAT aktivitesi 200 µmol l^{-1} MEL uygulamasında gözlenirken (sırasıyla 0.076 mmol g^{-1} dk^{-1} TA ve 0.054 mmol g^{-1} dk^{-1} TA), bunu 100 µmol l^{-1} MEL uygulaması (sırasıyla 0.037 mmol g^{-1} dk^{-1} TA ve 0.031 mmol g^{-1} dk^{-1} TA) ve kontrol grubu (sırasıyla 0.012 mmol g^{-1} dk^{-1} TA ve 0.009 mmol g^{-1} dk^{-1} TA) izlemiştir. Merlot çeşidinde ise düşük UV-B

dozunda, 100 ve 200 µmol l^{-1} MEL uygulamaları arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmamıştır.

Her iki UV-B dozunda da 200 µmol l^{-1} MEL uygulamasında çeşitler arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmuş olup, CAT aktivitesinin Merlot çeşidinde daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Kontrol grubunda yalnızca yüksek UV-B dozunda çeşitler arası fark önemli bulunurken, 100 µmol l^{-1} MEL uygulamasında ise UV-B dozları ve çeşitler arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmamıştır (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Asmada UV-B stresine karşı dışsal MEL uygulamasının CAT aktivitesine (mmol g^{-1} dk^{-1} TA) etkisi.

APX aktivitesi bakımından Çeşit, UV-B dozu ile MEL uygulamalarına göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları Çizelge 4.5'te, Asmada UV-B stresine karşı dışsal MEL uygulamasının APX aktivitesine etkisi ise Şekil 4.5'te verilmiştir.

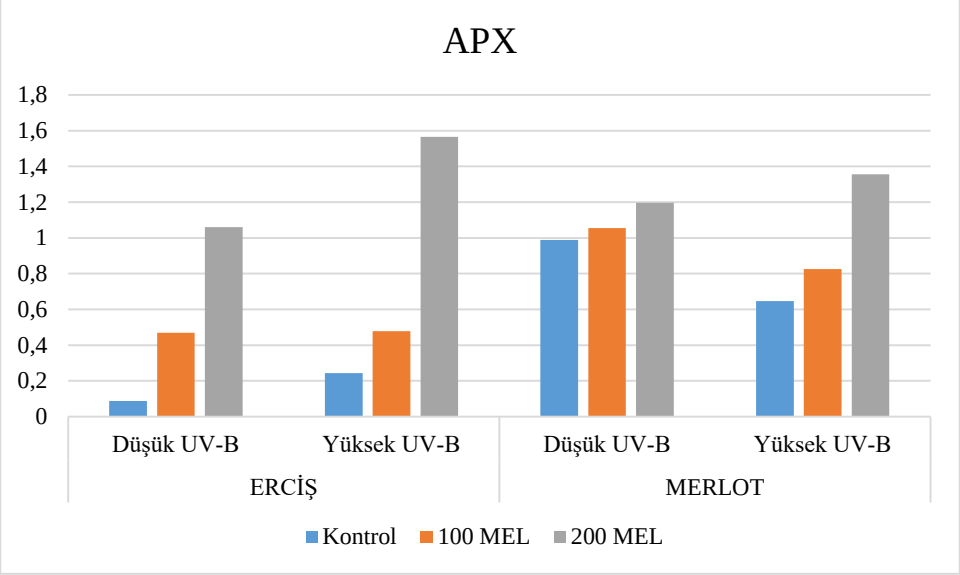
Erciş çeşidinde her iki UV-B dozunda da, en yüksek APX aktivitesi, 200 µmol l^{-1} MEL uygulamasında elde edilirken, bunu 100 µmol l^{-1} MEL uygulaması ve kontrol grubu (sırasıyla 1.060 mmol g^{-1} dk^{-1} TA ve 1.565 mmol g^{-1} dk^{-1} TA) izlemiştir. Merlot çeşidinde ise her iki UV-B dozunda da kontrol grubu ile 100 µmol l^{-1} MEL uygulaması arasındaki fark, istatistik olarak önemli bulunmazken, 200 µmol l^{-1} MEL uygulaması her iki gruptan da önemli derecede daha yüksek bulunmuştur (sırasıyla 1.196 ve 1.355 mmol g^{-1} dk^{-1} TA). Yalnıza Merlot çeşidinin kontrol grubunda, her iki UV-B dozu arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmuş olup, düşük dozda daha yüksek APX

aktivitesi gözlenmiştir. 200 µmol l^{-1} MEL uygulaması dışında, kontrol ve 100 µmol l^{-1} MEL uygulamalarının her iki UV-B dozunda da çeşitler arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmuş olup, APX değerinin Merlot çeşidinde daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.5).

Çizelge 4.5. APX aktivitesi (mmol g^{-1} dk^{-1} TA) bakımından Çeşit, UV-B dozu ile MEL uygulamalarına göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları

			Kontrol		**100 µmol l^{-1} MEL**		**200 µmol l^{-1} MEL**	
	Çeşit	**UV-B**	**Ort.**	**St. Hata**	**Ort.**	**St. Hata**	**Ort.**	**St. Hata**
APX	E	Düşük	0.087 c	0.007	0.469 b	0.018	1.060 a	0.025
		Yüksek	0.243 c	0.038	0.478 b	0.004	1.565 a #	0.029
	M	Düşük	0.989 b §	0.011	1.054 b §	0.036	1.196 a	0.027
		Yüksek	0.647 b # §	0.036	0.826 b §	0.045	1.355 a	0.083

Ort: Ortalama, St. Hata: Standart Hata, E: Erciş, M: Merlot
a, b, c :→Aynı satırda farklı küçük harfi alan uygulamalar arası fark önemlidir ($p<0.05$).
#: Aynı çeşit ve uygulama içinde, düşük UV den olan farkı önemlidir ($p<0.05$).
§: Aynı UV ve uygulama içinde, Erciş çeşidinden olan farkı önemlidir ($p<0.05$).



Şekil 4.5. Asmada UV-B stresine karşı dışsal MEL uygulamasının APX aktivitesine (mmol g^{-1} dk^{-1} TA) etkisi.

Bitkiler herhangi bir strese maruz kaldıklarında biyokimyasal tepki olarak antioksidan enzim seviyelerini artırmaktadır. Stres enzimi olarak bilinen bu enzimatik antioksidanlar, stres sırasında ve sonrasında dokularda oluşan ROT'un ortadan

kaldırılmasında görev alırlar ve aktivitelerinin yüksekliği ile bitkilerin strese karşı gösterdikleri tolerans arasında pozitif bir ilişki olduğu bilinmektedir. Bu enzimlerden SOD, CAT ve APX aktivitelerini ele aldığımızda bu çalışmada MEL uygulamalarının UV-B stresi altındaki Asma *in vitro* bitkiciklerinde aktivitelerinin teşvik edildiği görülmüştür. MEL bir hormon olmasının yanında ROT'u ortamdan uzaklaştırma özelliğine sahip olmasından dolayı geniş spektrumlu antioksidan olarak da bilinmektedir (Reiter ve ark., 2001; Tan ve ark., 2007).

4.4. Asmada UV-B Stresine Karşı Dışsal MEL Uygulamasının MDA İçeriğine Etkisi

MDA içeriği bakımından Çeşit, UV-B dozu ile MEL uygulamalarına göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları Çizelge 4.6'da, Asmada UV-B stresine karşı dışsal MEL uygulamasının MDA içeriğine etkisi ise Şekil 4.6'da sunulmuştur.

Çizelge 4.6. MDA içeriği (nmol g^{-1} TA) bakımından Çeşit, UV-B dozu ile MEL uygulamalarına göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları

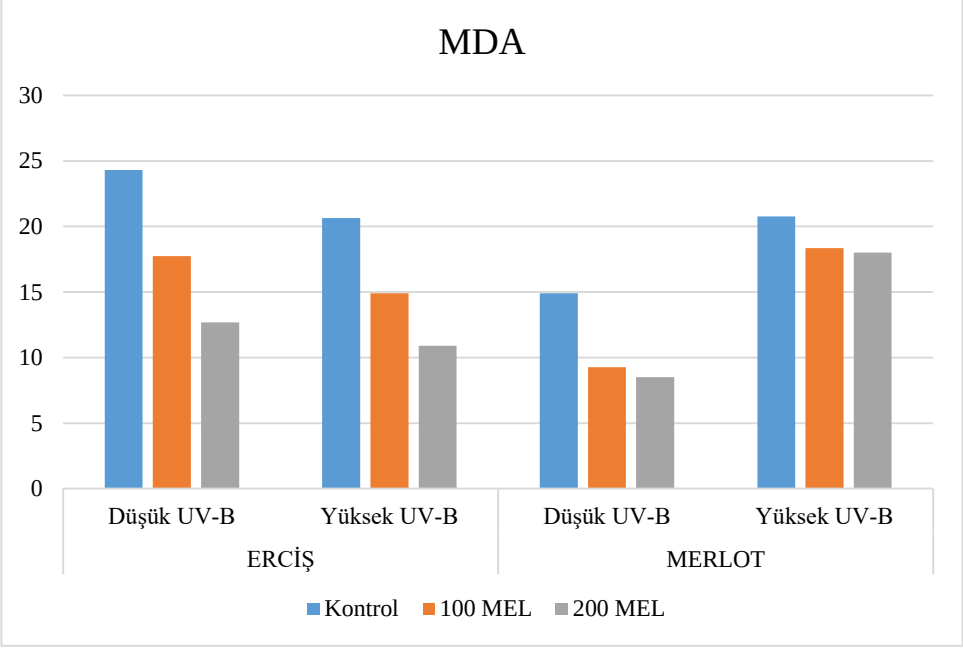
			Kontrol		**100 µmol l^{-1} MEL**		**200 µmol l^{-1} MEL**	
	Çeşit	**UV-B**	**Ort.**	**St. Hata**	**Ort.**	**St. Hata**	**Ort.**	**St. Hata**
MDA	E	Düşük	24.300 a	0.300	17.742 b	0.194	12.677 c	0.613
		Yüksek	20.645 a #	0.065	14.903 b #	0.065	10.903 c	0.065
	M	Düşük	14.910 a §	0.250	9.258 b §	0.097	8.516 b §	0.129
		Yüksek	20.774 a #§	0.129	18.336 b # §	0.116	18.011 b #§	0.021

Ort: Ortalama, St. Hata: Standart Hata, E: Erciş, M: Merlot
a, b, c :→Aynı satırda farklı küçük harfi alan uygulamalar arası fark önemlidir ($p<0.05$).
#: Aynı çeşit ve uygulama içinde, düşük UV den olan farkı önemlidir ($p<0.05$).
§: Aynı UV ve uygulama içinde, Erciş çeşidinden olan farkı önemlidir ($p<0.05$).

MDA içeriği bakımından her iki çeşitte ve her iki UV-B dozunda da uygulamalar arası fark istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Erciş çeşidinde, her iki UV-B dozunda, en yüksek ortalama kontrol grubunda gözlenirken (sırasıyla 24.300 nmol g^{-1} TA ve 20.645 nmol g^{-1} TA), bunu sırasıyla 100 µmol l^{-1} MEL (17.742

ve 14.903 nmol g^{-1} TA) ve 200 µmol l^{-1} MEL (12.677 ve 10.903 nmol g^{-1} TA) uygulamaları izlemiştir.

Merlot çeşidinde ise her iki UV-B dozunda da en yüksek ortalama kontrol grubunda gözlenirken (sırasıyla 14.910 ve 20.774 nmol g^{-1} TA), 100 µmol l^{-1} MEL ve 200 µmol l^{-1} MEL uygulamaları arasındaki fark önemli bulunmamıştır. Kontrol grubu ve 100 µmol l^{-1} MEL uygulamasında, her iki çeşitte de yüksek UV-B dozu ile düşük UV-B dozu arasındaki fark, istatistik olarak önemli bulunurken, 200 µmol l^{-1} MEL uygulamasında yalnızca Merlot çeşidinde yüksek UV-B dozu ile düşük UV-B dozu arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Diğer yandan, her iki UV-B dozunda her 3 uygulama grubunda da çeşitler arası fark istatistik olarak önemli bulunmuştur. Buna göre düşük UV-B dozunda, MDA içeriği her üç uygulama grubunda da Erciş çeşidinde daha yüksek olurken, yüksek UV-B dozunda, Merlot çeşidinde daha yüksek olmuştur (Çizelge 4.6 ve Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Asmada UV-B stresine karşı dışsal MEL uygulamasının MDA içeriğine (nmol g^{-1} TA) etkisi.

MDA, oksidatif stres faktörlerinin yarattığı olumsuz etkilerin ürettiği H_2O_2 ve süper oksit gibi serbest radikallerin hücre zarındaki çoklu doymamış yağ asitlerini ve fosfolipitleri oksidasyona uğratması sonucu ortaya çıkan zararlı bir maddedir. Bu çalışmada yapılan MEL uygulamaları sonucu dokulardaki MDA içeriğinde azalma

gözlemlenmiş ve bu azalışlar kontrol uygulamalarına kıyasla genelde istatistik açıdan önemli bulunmuştur. Bu durum stresin olumsuz etkilerini ortadan kaldırmada MEL uygulamalarının ne kadar etkili olduğunu ortaya koymaktadır. UV-B stresine maruz bırakılan Maş fasulyesi (*Vigna radiata*) yapraklarında MEL, ROT'un neden olduğu MDA seviyesini azaltmıştır (Wang ve ark., 2017).

4.5. Asmada UV-B Stresine Karşı Dışsal MEL Uygulamasının ADİ, Kl, Ant ve Flv İçeriğine Etkisi

ADİ bakımından Çeşit, UV-B dozu ile MEL uygulamalarına göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları Çizelge 4.7'de, Asmada UV-B stresine karşı dışsal MEL uygulamasının ADİ'ye etkisi ise Şekil 4.7'de verilmiştir.

Çizelge 4.7. ADİ (Dx indeksi) bakımından Çeşit, UV-B dozu ile MEL uygulamalarına göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları

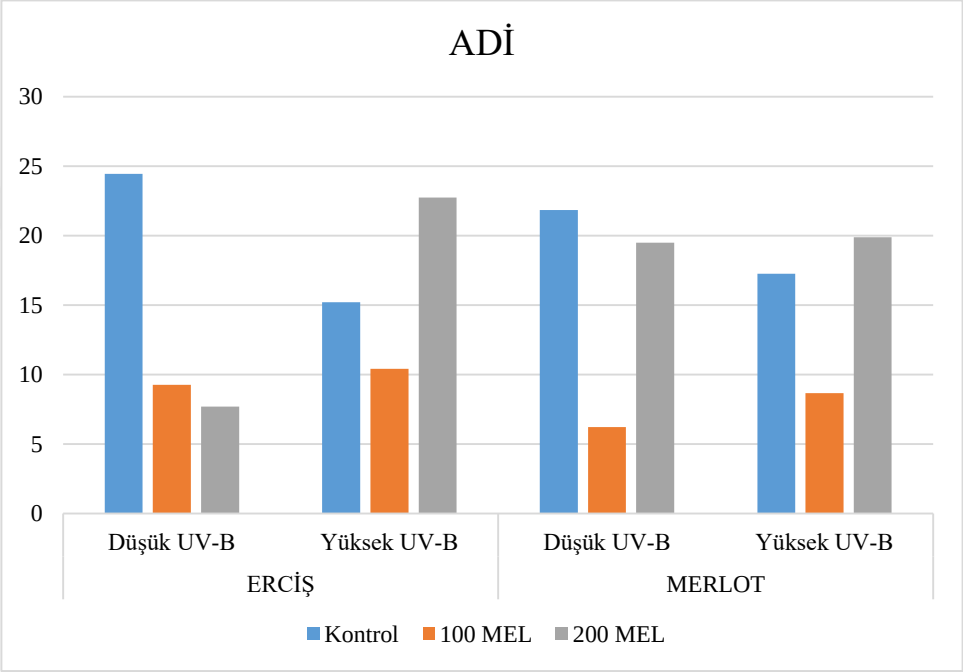
			Kontrol		**100 µmol l^{-1} MEL**		**200 µmol l^{-1} MEL**	
	Çeşit	**UV-B**	**Ort.**	**St. Hata**	**Ort.**	**St. Hata**	**Ort.**	**St. Hata**
ADİ	E	Düşük	24.450 a	5.250	9.264 ab	3.064	7.707 b	1.621
		Yüksek	15.200 b	2.400	10.430 b	0.700	22.733 a #	0.842
	M	Düşük	21.850 a	0.750	6.233 b	0.317	19.483 a §	1.483
		Yüksek	17.250 a	0.850	8.671 b	2.086	19.883 a §	0.917

Ort: Ortalama, St. Hata: Standart Hata, E: Erciş, M: Merlot
a, b, c :→Aynı satırda farklı küçük harfi alan uygulamalar arası fark önemlidir ($p<0.05$).
#: Aynı çeşit ve uygulama içinde, düşük UV den olan farkı önemlidir ($p<0.05$).
§: Aynı UV ve uygulama içinde, Erciş çeşidinden olan farkı önemlidir ($p<0.05$).

ADİ bakımından Erciş çeşidinin düşük UV-B dozunda kontrol ve 200 µmol l^{-1} MEL uygulaması arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunurken, 100 µmol l^{-1} MEL uygulamasının, bu iki gruptan farkı önemli bulunmamıştır. Yüksek doz UV-B uygulamasında ise en yüksek ADİ ortalaması 200 µmol l^{-1} MEL uygulamasında gözlenirken (22.733 Dx indeksi), kontrol grubu ile 100 µmol l^{-1} MEL uygulaması arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmamıştır.

Merlot çeşidinde kontrol grubu ile 200 µmol l^{-1} MEL uygulaması arasındaki fark, her iki UV-B dozunda da istatistik olarak önemli bulunmamış iken, 100 µmol l^{-1}

MEL uygulamasının diğer iki gruptan farkı önemli bulunmuştur. Düşük ve yüksek UV-B dozları arasındaki fark, yalnızca Erciş çeşidinde 200 µmol l^{-1} MEL uygulamasında gözlenmiştir. Çeşitler arası fark ise her iki UV dozunda da yine yalnızca 200 µmol l^{-1} MEL uygulamasında gözlenmiş olup, düşük UV-B dozunda ADİ değeri Merlot çeşidinde daha yüksek olurken (21.850 Dx indeksi) , yüksek UV-B dozunda Erciş çeşidinde (22.733 Dx indeksi) daha yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.7, Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Asmada UV-B stresine karşı dışsal MEL uygulamasının ADİ (Dx indeksi) değerine etkisi.

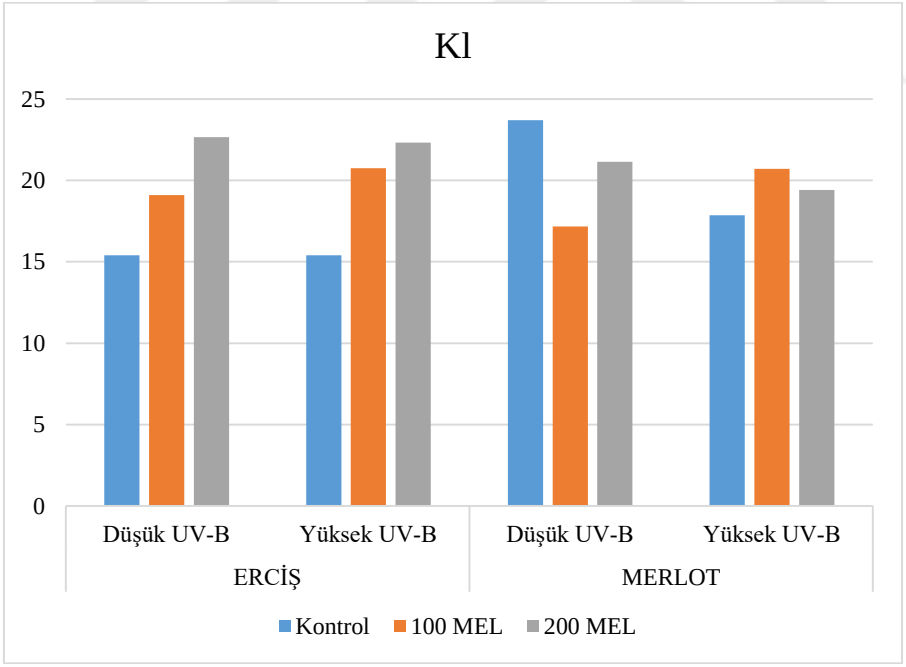
Bitki büyümesi için önemli göstergelerden biri olan ADİ (yani, Kl/Flv oranı), bitkinin azot (N) durumu hakkında doğrudan bilgi sağlayabilir ve kendi başına bir yaprak klorofil içeriği ölçümünden ziyade, N eksikliğinden kaynaklanan C/N değişikliklerinin iyi bir göstergesi olarak kabul edilir (Cartelat ve ark., 2005). Dolayısıyla N fazlalığı ya da yetersizliği, bitkisel üretim ve yönetim hakkında doğru bilgi sağlayabilen ADİ ölçümleriyle hızlı bir şekilde izlenebilmektedir (Li ve ark., 2018). Çalışmada özellikle 200 µmol l^{-1} MEL uygulamasında daha yüksek ADİ değerleri kaydetmiştir (Çizelge 4.7 ve Şekil 4.7), bu durum primer metabolizma ve protein sentezi lehine bitkide azot özümleme kapasitesi ve daha yüksek bir alım sağladığını düşündürmektedir.

Kl bakımından Çeşit, UV-B dozu ile MEL uygulamalarına göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları Çizelge 4.8'de, Asmada UV-B stresine karşı dışsal MEL uygulamasının klorofil içeriğine etkisi ise Şekil 4.8'de verilmiştir.

Çizelge 4.8. Kl (µg cm^{-2}) bakımından Çeşit, UV-B dozu ile MEL uygulamalarına göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları

			Kontrol		**100 µmol l^{-1} MEL**		**200 µmol l^{-1} MEL**	
	Çeşit	**UV-B**	**Ort.**	**St. Hata**	**Ort.**	**St. Hata**	**Ort.**	**St. Hata**
Kl	E	Düşük	15.400 a	1.800	19.100 a	1.600	22.664 a	3.921
		Yüksek	15.400 b	2.200	20.740 ab	0.560	22.323 a	0.746
	M	Düşük	23.700 a	1.300	17.175 b	0.592	21.133 ab	1.933
		Yüksek	17.850 a	2.950	20.714 a	3.057	19.417 a	0.517

Ort: Ortalama, St. Hata: Standart Hata, E: Erciş, M: Merlot
a, b, c :→Aynı satırda farklı küçük harfi alan uygulamalar arası fark önemlidir ($p<0.05$).
#: Aynı çeşit ve uygulama içinde, düşük UV den olan farkı önemlidir ($p<0.05$).
§: Aynı UV ve uygulama içinde, Erciş çeşidinden olan farkı önemlidir ($p<0.05$).



Şekil 4.8. Asmada UV-B stresine karşı dışsal MEL uygulamasının Kl (µg cm^{-2}) değerine etkisi.

Kl değeri bakımından, Erciş çeşidinin düşük, Merlot çeşidinin ise yüksek UV-B dozunda uygulamalar arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmamıştır. Erciş çeşidinin yüksek UV-B dozunda kontrol grubu (15.400 µg cm^{-2}) ile 200 µmol l^{-1}

uygulaması (22.323 µg cm^{-2}) arasındaki fark önemli bulunurken, 100 µmol l^{-1} uygulamasının (20.740 µg cm^{-2}) diğer iki gruptan olan farkı önemli bulunmamıştır. Benzer şekilde Merlot çeşidinin düşük UV-B dozunda da 200 µmol l^{-1} uygulamasının (21.133 µg cm^{-2}) diğer iki gruptan olan farkı istatistik olarak önemli bulunmamış ancak, kontrol grubu (23.700 µg cm^{-2}) ile 100 µmol l^{-1} uygulaması (17.175 µg cm^{-2}) arasındaki fark önemli bulunmuştur. Kl değeri değeri bakımından UV-B dozları ve çeşitler arasındaki farklılıklar ise istatistik olarak önemli bulunmamıştır.

Tempranillo çeşidinde, UV-B stresi Kl miktarını azaltırken, Viura üzüm çeşidinde azaltmamıştır. Araştırıcılar bunun nedenini UV emici bileşiklerin Viura üzüm çeşidinde, Tempranillo üzüm çeşidine göre daha fazla bulunmasına ve bundan dolayı klorofile ulaşan UV-B miktarının azalmasına bağlamışlardır (Núñez-Olivera ve ark. 2006).

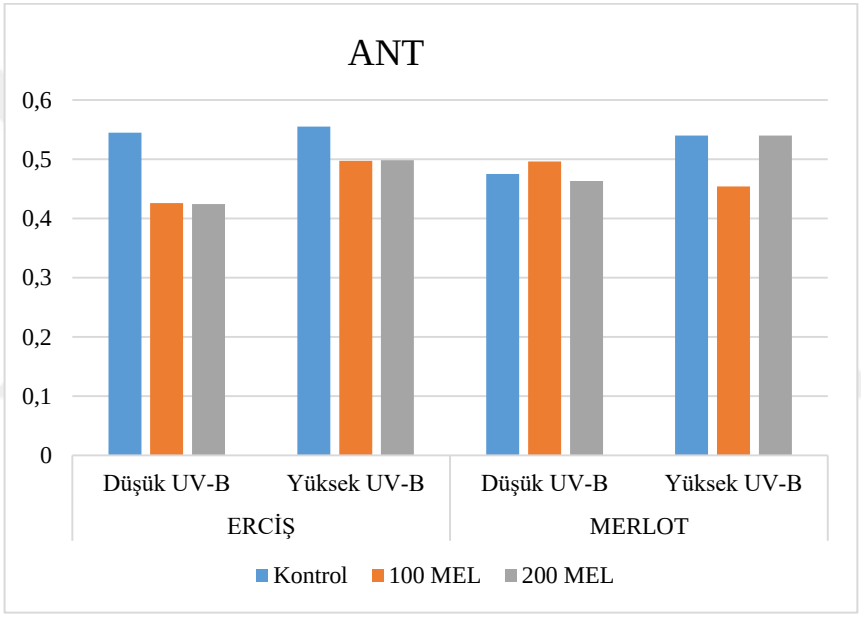
MEL'in farklı stres koşulları altında farklı bitkilerde klorofil koruyucu etkisi bildirilmiştir (Hardeland ve ark., 2012; Liang ve ark., 2015; Azizi ve Amiri 2022). MEL içeriği yüksek transgenik çeltik hatlarının -12 ºC'de 8 gün süren üşüme stresi sonrasında kontrol bitkilerine oranla yaklaşık 2.5 kat daha fazla klorofil içerdiği ve bu durumun üşüme stresine karşı toleransı arttırdığı ifade edilmiştir (Kang ve ark., 2010). MEL içeriği yüksek transgenik çeltik bitkilerinin herbisit uygulanarak strese maruz bırakıldığı bir araştırmada, içsel MEL miktarının artması ile birlikte Kl içeriğinin de arttığı bildirilmiştir (Park ve Back, 2012). Kuraklık stresine karşı bir yaşlı elma fidanlarına dışsal MEL uygulamaları (100 µM) sonucunda elma fidanlarının yapraklarında oluşan klorofil parçalanmasını önemli derecede azalttığı tespit edilmiştir (Wang ve ark., 2013). Domateste HsfA1a geninin etkisiyle artan içsel MEL'in kadmiyum stresine karşı toleransı büyük ölçüde arttırdığı ve klorofil konsantrasyonunda önemli artışlara neden olduğu saptanmıştır (Cai ve ark., 2017). Sonuçlarımız MEL ile ilgili yapılmış çalışmaları destekler nitelikte olup, MEL'in stres altındaki bitkilerde klorofil miktarını arttırdığı ve stres etkisini hafiflettiği görüşüyle uyumludur.

Ant bakımından Çeşit, UV-B dozu ile MEL uygulamalarına göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları Çizelge 4.9'da, Asmada UV-B stresine karşı dışsal MEL uygulamasının Ant içeriğine etkisi ise Şekil 4.9'da sunulmuştur.

Çizelge 4.9. Ant (Dx indeksi) bakımından Çeşit, UV-B dozu ile MEL uygulamalarına göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları

			Kontrol		100 µmol l^{-1} MEL		200 µmol l^{-1} MEL	
	Çeşit	UV-B	Ort.	St. Hata	Ort.	St. Hata	Ort.	St. Hata
ANT	E	Düşük	0.545 a	0.005	0.426 b	0.005	0.424 b	0.021
		Yüksek	0.555 a	0.025	0.497 a #	0.003	0.498 a	0.006
	M	Düşük	0.475 a §	0.005	0.496 a	0.021	0.463 a	0.010
		Yüksek	0.540 a §	0.020	0.454 b	0.004	0.540 a	0.020

Ort: Ortalama, St. Hata: Standart Hata, E: Erciş, M: Merlot
a, b, c :→Aynı satırda farklı küçük harfi alan uygulamalar arası fark önemlidir ($p<0.05$).
#: Aynı çeşit ve uygulama içinde, düşük UV den olan farkı önemlidir ($p<0.05$).
§: Aynı UV ve uygulama içinde, Erciş çeşidinden olan farkı önemlidir ($p<0.05$).



Şekil 4.9. Asmada UV-B stresine karşı dışsal MEL uygulamasının Ant (Dx indeksi) değerine etkisi.

Ant değeri bakımından Erciş çeşidinin yüksek, Merlot çeşidinin ise düşük UV-B dozunda uygulamalar arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmazken, Erciş çeşidinde düşük UV-B dozunda kontrol grubu (0.545 Dx indeksi) diğer iki gruptan (sırasıyla 0.426 ve 0.424 Dx indeksi) daha yüksek bulunmuştur.

Merlot çeşidinin yüksek UV-B dozunda ise kontrol grubu (0.540 Dx indeksi) ile 200 µmol l^{-1} uygulaması (0.540 Dx indeksi) arasındaki fark önemli bulunmazken, 100 µmol l^{-1} uygulaması (0. 454 Dx indeksi) bu 2 gruptan daha düşük bulunmuştur. Yalnızca Erciş çeşidinde, 100 µmol l^{-1} uygulamasında düşük ve yüksek UV-B dozları

arasındaki fark önemli bulunurken, yalnızca kontrol grubunda, her iki UV-B dozunda çeşitler arası fark önemli bulunmuştur (Çizelge 4.9 ve Şekil 4.9).

Antosiyaninler genellikle düşük sıcaklıklarla birlikte yüksek fotosentetik ışın seviyeleri altında artar, ancak UV-B'nin spesifik etkisi oldukça değişkendir, zira bunlar artabilir, azalabilir veya değişmeden kalabilir (Mori ve ark., 2007; Carbonell-Bejerano ve ark., 2014). Domateste nikel stresine karşı MEL uygulaması bitki bünyesinde antosiyanin içeriğini artırmıştır (Jahan ve ark., 2020).

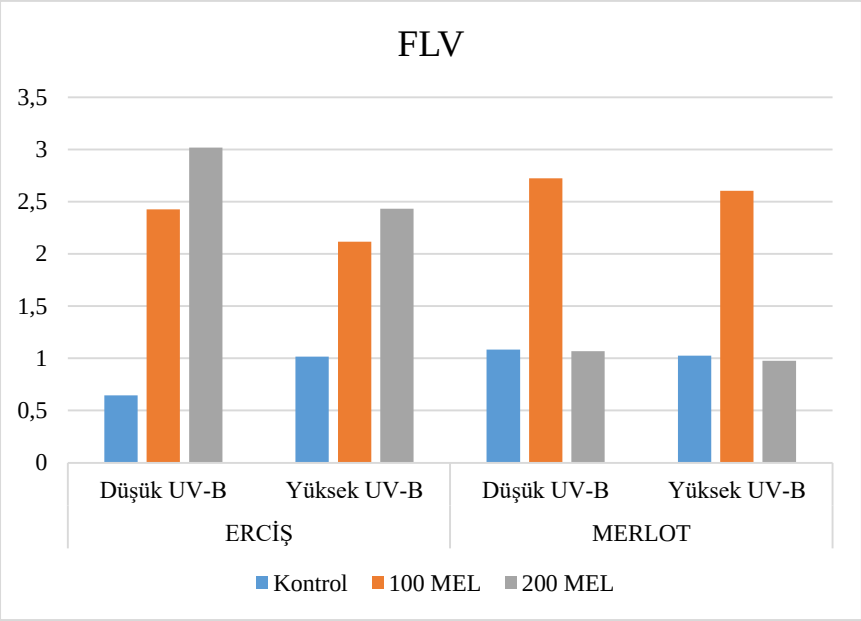
Flv bakımından Çeşit, UV-B dozu ile MEL uygulamalarına göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları Çizelge 4.10'da, Asmada UV-B stresine karşı dışsal MEL uygulamasının Flv içeriğine etkisi ise Şekil 4.10'da sunulmuştur.

Çizelge 4.10. Flv (Dx indeksi) bakımından Çeşit, UV-B dozu ile MEL uygulamalarına göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları

			Kontrol		**100 µmol l^{-1} MEL**		**200 µmol l^{-1} MEL**	
	Çeşit	**UV-B**	**Ort.**	**St. Hata**	**Ort.**	**St. Hata**	**Ort.**	**St. Hata**
FLV	E	Düşük	0.645 b	0.065	2.426 a	0.384	3.017 a	0.067
		Yüksek	1.015 b #	0.015	2.116 a	0.194	2.434 a #	0.009
	M	Düşük	1.085 b §	0.025	2.724 a	0.279	1.070 b §	0.033
		Yüksek	1.025 b §	0.125	2.604 a	0.096	0.978 b	0.072

Ort: Ortalama, St. Hata: Standart Hata, E: Erciş, M: Merlot
a, b, c :→Aynı satırda farklı küçük harfi alan uygulamalar arası fark önemlidir ($p<0.05$).
#: Aynı çeşit ve uygulama içinde, düşük UV den olan farkı önemlidir ($p<0.05$).
§: Aynı UV ve uygulama içinde, Erciş çeşidinden olan farkı önemlidir ($p<0.05$).

Flv değeri bakımından Erciş çeşidinin her iki UV-B dozunda da kontrol grubu ile 100 ve 200 melatonin uygulamaları arasındaki fark önemli bulunurken, 100 µmol l^{-1} ve 200 µmol l^{-1} uygulamaları arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmamıştır. 100 µmol l^{-1} ve 200 µmol l^{-1} uygulamalarında (sırasıyla 2.426 ve 3.017 Dx indeksi) , kontrol grubuna (0.645 Dx indeksi) göre daha yüksek flavonol değeri elde edilmiştir.



Şekil 4.10. Asmada UV-B stresine karşı dışsal MEL uygulamasının Flv (Dx indeksi) değerine etkisi.

Merlot çeşidinde ise her iki UV-B dozunda da en yüksek Flv değeri, 100 µmol l^{-1} uygulamasında (sırasıyla 2.724 ve 2.604 Dx indeksi) elde edilirken kontrol (sırasıyla 2.724 ve 2.604 Dx indeksi) grubu ile 200 µmol l^{-1} uygulaması (sırasıyla 1.070 ve 0.978 Dx indeksi) arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunmamıştır. Erciş çeşidinde, 100 µmol l^{-1} uygulaması dışında, diğer iki uygulamada da düşük ve yüksek UV-B dozları arasındaki fark istatistik olarak önemli bulunurken, kontrol grubunda yüksek UV-B dozunda, 200 µmol l^{-1} uygulamasında ise düşük UV-B dozunda daha yüksek Flv değeri elde edilmiştir. Kontrol grubunda her iki UV-B dozunda da Merlot çeşidinin Flv değerleri, Erciş çeşidinden daha yüksek bulunmuştur. 200 µmol l^{-1} uygulamasında ise yalnızca düşük UV-B dozunda, Erciş çeşidinin Flv değeri Merlot çeşidinden yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.10, Şekil 4.10).

Bitkiler stres faktörlerine flavonolleri sentezleyerek tepki verirler (Brunetti ve ark., 2013). Bağ koşulları ve kontrollü koşulların karşılaştırıldığı çalışmalarda asmanın UV-B stresine yanıt olarak Flv içeriğini artırdığı bildirilmiştir (Liu ve ark., 2018). MEL, çeşitli abiyotik streslere verilen yanıtlarda sadece hayati bir koruyucu olarak rol oynamakla kalmaz, aynı zamanda bitkide sekonder metabolitlerin birikimini de düzenlemektedir. Soya fasülyesine dışsal MEL uygulamaları, kritik izoflavon biyosentezi ile ilgili enzimlerin aktivitesini ve nispi gen ekspresyon seviyesini

yükseklterek UV-B stresi altında toplam flavonoidlerin içeriğini artırmıştır (Yin ve ark., 2022).

4.6. Asmada UV-B Stresine Karşı Dışsal MEL Uygulamasının İçsel MEL İçeriğine Etkisi

MEL içeriği bakımından Çeşit, UV-B dozu ile MEL uygulamalarına göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları Çizelge 4.11'de, Asmada UV-B stresine karşı dışsal MEL uygulamasının içsel MEL içeriğine etkisi ise Şekil 4.11'de sunulmuştur.

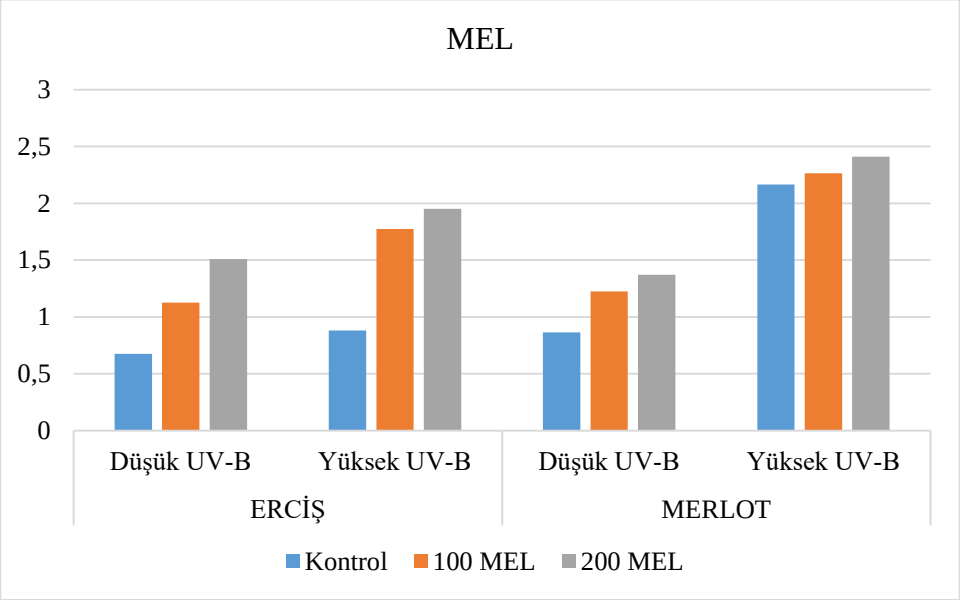
Çizelge 4.11. MEL içeriği (ng g^{-1}) bakımından Çeşit, UV-B dozu ile MEL uygulamalarına göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları

			Kontrol		**100 µmol l^{-1} MEL**		**200 µmol l^{-1} MEL**	
	Çeşit	**UV-B**	**Ort.**	**St. Hata**	**Ort.**	**St. Hata**	**Ort.**	**St. Hata**
MEL	E	Düşük	0.675 c	0.025	1.125 b	0.025	1.510 a	0.010
		Yüksek	0.880 b	0.060	1.775 a #	0.025	1.950 a #	0.030
	M	Düşük	0.865 c	0.045	1.225 b	0.015	1.370 a	0.010
		Yüksek	2.165 c #	0.015	2.265 b #	0.015	2.410 a # §	0.030

Ort: Ortalama, St. Hata: Standart Hata, E: Erciş, M: Merlot
a, b, c :→Aynı satırda farklı küçük harfi alan uygulamalar arası fark önemlidir ($p<0.05$).
#: Aynı çeşit ve uygulama içinde, düşük UV den olan farkı önemlidir ($p<0.05$).
§: Aynı UV ve uygulama içinde, Erciş çeşidinden olan farkı önemlidir ($p<0.05$).

MEL içeriği bakımından Erciş çeşidinin yüksek UV-B dozunda; 100 ve 200 µmol l^{-1} uygulamaları (sırasıyla 1.775 ve 1.950 ng g^{-1}) arasındaki fark önemli bulunmazken, bu iki grubun kontrol grubundan (0.880 ng g^{-1}) olan farkı önemli bulunmuştur. Merlot çeşidinde de en yüksek MEL içeriği, yüksek UV-B dozunda 200 µmol l^{-1} uygulamasında gerçekleşirken (2.410 ng g^{-1}), bunu sırasıyla 100 µmol l^{-1} uygulaması (2.265 ng g^{-1}) ve kontrol grubu (2.165 ng g^{-1}) izlemiştir. Merlot çeşidinin her üç uygulamasında, Erciş çeşidinin ise kontrol dışındaki diğer uygulamalarında, düşük ve yüksek UV-B dozları arasındaki fark, istatistik olarak önemli bulunmuş olup hepsinde yüksek UV-Bdozunda daha yüksek MEL değeri elde edilmiştir. Çeşitler

arasındaki fark ise yalnızca yüksek UV-B dozunda 200 µmol l^{-1} uygulamasında ortaya çıkmıştır.



Şekil 4.11. Asmada UV-B stresine karşı dışsal MEL uygulamasının içsel MEL (ng g^{-1}) içeriğine etkisi.

MEL'in, bir veya daha fazla bitki türünde UV-B stresine karşı potansiyel bir yanıt olduğu tanımlanmıştır (Kaur ve ark., 2015; Klein ve ark., 2018). Önceki çalışmalar, yüksek yoğunlukta UV-B ışınlarına maruz kalan doğal ortamlardaki bitkilerde içsel MEL seviyelerinin yükseldiğini göstermiştir (Hardeland ve Pandi-Perumal, 2005). Meyan kökü bitkilerinin kök aksamına yüksek UV-B ışını uygulandığında içsel MEL içeriğinin arttığı gözlenmiştir (Afreen ve ark., 2006).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bitkilerde farklı streslere tolerans sağlamada MEL'in bir antioksidan olarak dışarıdan uygulanması son yıllarda popüler bir araştırma alanı oluşturmuştur. Yapılan yoğun literatür taraması sonucunda MEL'in Asmada *in vitro* koşullarda UV-B stresine karşı dışarıdan uygulamasının etkileri üzerine herhangi bir bilimsel veriye rastlanmamıştır. Çalışma sonucunda ulaşılan bilgiler Asmada UV-B stresine karşı MEL'in etkilerini ortaya koyması bakımından bir ilk olma özelliğindedir.

Çalışmada sonuçları aşağıda kısaca maddeler halinde sunulmuştur:

1. Düşük ve yüksek UV-B ışınına maruz bırakılan Asma *in vitro* bitkiciklere dışsal 100 ve 200 µmol l^{-1} MEL uygulamalarının toplam fenolik bileşik (TF), toplam antioksidan (TA), flavonol (Flv) ve içsel MEL içeriğini artırdığı, Malondialdehit (MDA) içeriğini azalttığı, antioksidan enzim aktivitelerini (katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) ve askorbat peroksidaz (APX)) ise teşvik ettiği tespit edilmiştir.

2. Çeşide göre değişmekle birlikte, düşük UV-B stresine karşı 200 µmol l^{-1} MEL uygulamasının, kontrol ve 100 µmol l^{-1} MEL uygulamalarına göre daha iyi sonuç verdiği saptanmıştır.

3. Çeşide göre yapılan karşılaştırmalarda TF, TA, APX, ADİ, Ant ve Flv bakımından Erciş çeşidinin, SOD, CAT, MDA, Kl ve içsel MEL içeriği bakımından ise Merlot çeşidinin tatminkar sonuçlar verdiği gözlenmiştir.

Sonuç olarak; sürdürülebilir tarım açısından önemli bir bileşik olan MEL'in Asmada UV-B stresine karşı toleransı arttırmada etkili bir araç olarak kullanılabileceği söylenebilir. Çalışma *in vitro* koşullarda gerçekleştirildiği için bağ koşullarında yinelenmesi elde edilecek sonuçların güvenilirliği ve kullanılabilirliği açısından önemlidir.

KAYNAKLAR

Afreen, F., Zobayed, S.M., Kozai, T. 2006. Melatonin in Glycyrrhiza uralensis: response of plant roots to spectral quality of light and UV-B radiation. ***Journal of Pineal Research,*** **41**: 108-115.

Allen, D.J., Nogues, S., Baker, N.R., 1998. Ozone depletion and increased UV-B radiation: is there a real threat to photosynthesis. ***Journal of Experimental Botany,*** **49**: 1775-1788.

Alonso, R., Berli, F. J., Bottini, R., Piccoli, P., 2015. Acclimation mechanisms elicited by sprayed abscisic acid, solar UV-B and water deficit in leaf tissues of field-grown grapevines. ***Plant Physiology and Biochemistry,*** **91**: 56-60.

Arnao, M.B., 2014. Phytomelatonin: Discovery, Content, and Role in Plants. ***Advances in Botany,*** e815769.

Arnao, M.B., Hernández-Ruiz, J., 2009. Chemical stress by different agents affects the melatonin content of barley roots. ***Journal of Pineal Research,*** **46**: 295-299.

Arnao, M. B., Hernández-Ruiz, J., 2015. Functions of melatonin in plants: a review. ***Journal of Pineal Research,*** **59:** 133-150.

Arnao, M.; Hernández-Ruiz, J., 2017. Growth activity, rooting capacity, and tropism: Three auxinic precepts fulfilled by melatonin. ***Acta Physiologiae Plantarum,*** **39**: 127.

Arnao, M.B.; Hernández-Ruiz, J., 2018. Melatonin and its relationship to plant hormones. ***Ann. Bot.,*** **121**: 195-207.

Asif, M., Pervez, A., Ahmad, R. 2019. Role of Melatonin and Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria in the Growth and Development of Plants. ***Clean Soil Air Water,*** **47**: 1800459.

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.

Benzie, I. E. F., Strain, J. J., 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of Antioxidant Power: The FRAP Assay. ***Analytical Biochemistry***, **239**: 70-76.

Berli, F. J., Alonso, R., Beltrano, J., Bottini, R. 2014. High-altitude solar UV-B and abscisic acid sprays increase grape berry antioxidant capacity. ***American Journal of Enology and Viticulture,*** **66** (1): 65-72.

Brunetti, C., Di Ferdinando, M., Fini, A., Pollastri, S., Tattini, M. 2013. Flavonoids as antioxidants and developmental regulators: relative significance in plants and humans. ***International Journal of Molecular Sciences,*** **14** (2): 3540-3555.

Cai, S.Y., Zhang, Y., Xu, Y.P., Qi, Z.Y., Li, M.Q., Ahammed, G.J., Xia, X.J., Shi, K., Zhou, Y.H., Reiter, R.J., 2017. HsfA1a upregulates melatonin biosynthesis to confer cadmium tolerance in tomato plants. ***Journal of Pineal Research,*** **62**: e12387.

Caldwell, M. M., Björn, L.O., Bornman, J. F., Flint, S. D., Kulandaivelu G., Teramura A. H., Tevini, M., 1998. Effects of increased solar ultraviolet radiation on terrestrial ecosystems. ***Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology,*** **46**: 40-52.

Cao, J., Yu, Z., Zhang, Y., Li, B., Liang, W., Wang, C., 2017. Control efficiency of exogenous melatonin against post-harvest apple grey mold and its influence on the activity of defensive enzymes. ***Plant Physiology Journal,*** **53**: 1753-1760.

Carbonell-Bejerano, P., Diago, M. P., Martínez-Abaigar, J., Martínez-Zapater, J. M., Tardáguila, J., Núñez-Olivera, E., 2014. Solar ultraviolet radiation is necessary to enhance grapevine fruit ripening transcriptional and phenolic responses. ***BMC Plant Biology,*** **14** (1): 1-16.

Cartelat, A., Cerovic, Z. G., Goulas, Y., Meyer, S., Lelarge, C., Prioul, J. L., ..., Moya, I. 2005. Optically assessed contents of leaf polyphenolics and chlorophyll as indicators of nitrogen deficiency in wheat (Triticum aestivum L.). ***Field Crops Research,*** **91** (1): 35-49.

Cechin, I., Fumis, T. D. F., Dokkedal, A. L. 2007. Growth and physiological responses of sunflower plants exposed to ultravioletB radiation. ***Ciência Rural,*** **37** (1): 85-90.

Çelik, H., 2019. Asma Çeliklerinin ve Fidanlarının Muhafazası. ***TÜRKTOB Dergisi***, **28:** 4-9.

Chameides, W. L., Kasibhatla, P. S., Yienger, J., Levy, H. 1994. Growth of continental-scale metro-agro-plexes, regional ozone pollution, and world food production. ***Science,*** **264** (5155): 74-77.

Düver, 2019. ***Biberde Tohum Melatonin İçeriği İle Üşüme Stresi Koşulları Altında Çimlenme Ve Çıkış Performansı Arasında İlişkinin Araştırılması*** (yüksek lisans tezi, basılmamış). KSİÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kahramanmaraş.

Eichholz, I., Rohn, S., Gamm, A., Beesk, N., Herppich, W. B., Kroh, L. W., Ulrichs C., Huyskens-Keil, S., 2012. UV-B-mediated flavonoid synthesis in white asparagus (Asparagus officinalis L.). ***Food research international,*** **48** (1): 196-201.

Ekici M., Aksoy B. (2001). ***Ultraviole radyasyon teknik rapor.*** DMİ Genel Müdürlüğü, Ankara.

Erland, L. A., Murch, S. J., Reiter, R. J., and Saxena, P. K. 2015.A new balancing act: the many roles of melatonin and serotonin inplant growth and development. ***Plant Signaling Behavior,*** 10: e1096469.

Erland, L. A. E., Saxena, P. K., 2018. Melatonin in plant morphogenesis. ***In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant,*** **54**: 3-24.

Fan, J.; Xie, Y.; Zhang, Z.; Chen, L., 2018. Melatonin: A multifunctional factor in plants. ***International Journal of Molecular Sciences,*** **19**: 1528.

Fini, A., Guidi, L., Ferrini, F., Brunetti, C., Di Ferdinando, M., Biricolti, S., ... Tattini, M., 2012. Drought stress has contrasting effects on antioxidant enzymes activity and phenylpropanoid biosynthesis in Fraxinus ornus leaves: an excess light stress affair?. ***Journal of Plant Physiology,*** **169** (10): 929-939.

Frohnmeyer, H., Staiger, D., 2003. Ultraviolet-B radiation-mediated responses in plants. Balancing damage and protection. ***Plant Physiology,*** **133** (4): 1420-1428.

Gökçen İ.S., Keskin N., 2020. Asmanın UV (Ultraviyole) Stresine Yanıtları. ***Ziraat ve Doğa Bilimlerinde Teori, Güncel Araştırmalar ve Yeni Eğilimeler,*** Türkoğlu, N. ve Cantürk, S., Eds., STAMPARIJA IVPE, Cetinje, pp.1-18.

Gregan, S. M., Wargent, J. J., Liu, L., Shinkle, J., Hofmann, R., Winefield, C., Trought M., Jordan, B., 2012. Effects of solar ultraviolet radiation and canopy manipulation on the biochemical composition of Sauvignon Blanc grapes. ***Australian Journal of Grape and Wine Research,*** **18** (2): 227-238.

Güneri Bağcı, E., 2010. ***Nohut Çesitlerinde Kuraklığa Bağlı Oksidatif Stresin Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametrelerle Belirlenmesi*** (doktora tezi, basılmamış). AÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Hardeland, R., 2009. Melatonin: Signaling mechanisms of a pleiotropic agent. ***Biofactors,*** **35**: 183-192.

Hardeland, R., Madrid, J. A., Tan, D. X., Reiter, R. J., 2012. Melatonin, the circadian multioscillator system and health: the need for detailed analyses of peripheral melatonin signaling. ***Journal of Pineal Research,*** **52** (2): 139-166.

Hardeland, R., Pandi-Perumal, S. R., 2005. Melatonin, a potent agent in antioxidative defense: actions as a natural food constituent, gastrointestinal factor, drug and prodrug. ***Nutrition & Metabolism,*** **2** (1): 1-15.

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.

Hidalgo-Ruiz, J. L., Romero-González, R., Vidal, J. L. M., Frenich, A. G., 2019. A rapid method for the determination of mycotoxins in edible vegetable oils by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. ***Food Chemistry,*** **288**: 22-28.

Huang, B., Chen, Y.E., Zhao, Y.Q., Ding, C.B., Liao, J.Q. Hu, C., Zhou, L.J. Zhang, Z.W., Yuan, S., Yuan, M., 2019. Exogenous melatonin alleviates oxidative damages and protects photosystem II in maize seedlings under drought stress. ***Frontiers in Plant Science,*** **10:** 677.

Jahan, M.S., Shu, S., Wang, Y., Chen, Z., He, M., Tao, M., Sun, J., Guo, S., 2019. Melatonin alleviates heat-induced damage of tomato seedlings by balancing redox homeostasis and modulating polyamine and nitric oxide biosynthesis. ***BMC Plant Biology,*** **19**: 1-16.

Jan., Nelofer., Qazi, H.A., Ramzan, S., John, R., 2018. Developing Stress-Tolerant Plants Through In Vitro Tissue Culture: Family Brassicaceae. ***Biotechnologies of Crop Improvement,*** **1**: 327-372.

Jansen, M. A., Hectors, K., O'Brien, N. M., Guisez, Y., Potters, G. 2008. Plant stress and human health: Do human consumers benefit from UV-B acclimated crops? ***Plant Science,*** **175** (4): 449- 458.

Jebara, S., Jebara, M., Limam, F., Aouani, M. E., 2005. Changes in ascorbate peroxidase, catalase, guaiacol peroxidase and superoxide dismutase activities in common bean (*Phaseolus vulgaris*) nodules under salt stress. ***Journal of Plant Physiology***, **162** (8): 929-936.

Kang, K., Lee, K., Park, S., Kim, Y.S., Back, K., 2010. Enhanced production of melatonin by ectopic overexpression of human serotonin N-acetyltransferase plays a role in cold resistance in transgenic rice seedlings. ***Journal of Pineal Research,*** **49**: 176-182.

Kataria, S., Jajoo, A., Guruprasad, K. N., 2014. Impact of increasing Ultraviolet-B (UV-B) radiation on photosynthetic processes. ***Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology,*** **137**: 55-66.

Katekar, G.F. Auxins: On the nature of the receptor site and molecular requirements for auxin activity. 1979. ***Phytochemistry,*** **18**: 223-233.

Kaur., H., Mukherjee, S., Baluska, F., Bhatla, S.C., 2015. Regulatory roles of serotonin and melatonin in abiotic stress tolerance in plants. ***Plant Signaling Behavior,*** **10**: e1049788.

Klein, F.R.S., Reis, A., Kleinowski, A.M., Telles, R.T., Amarante, L.D., Peters, J.A., Braga, E.J.B., 2018. UV-B radiation as an elicitor of secondary metabolite

production in plants of the genus Alternanthera. ***Acta Botanica Brasilica,*** **32**: 615-623.

Kolář, J.; Macháčková, I., 2005. Melatonin in higher plants: Occurrence and possible functions. ***Journal of Pineal Research,*** **39:** 333-341.

Lerner, A.B., Case, J.D., Takahashi, Y., Lee, T.H., Mori, W., 1958. Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocyteS1. ***Journal of the American Chemical Society,*** **80:** 2587-2587.

Li, C. C., Chen, P., Lu, G. Z., Ma, C. Y., Ma, X. X., Wang, S. T., 2018. The inversion of nitrogen balance index in typical growth period of soybean based on high definition digital image and hyperspectral data on unmanned aerial vehicles. ***The Journal of Applied Ecology,*** **29** (4):1225-1232.

Li, C., Wang, P., Wei, Z., Liang, D., Liu, C., Yin, L., Jia, D., Fu, M., Ma, F., 2012. The mitigation effects of exogenous melatonin on salinity-induced stress in Malus hupehensis. ***Journal of Pineal Research,*** **53**: 298-306.

Liang, C., Zheng, G., Li, W., Wang, Y., Hu, B., Wang, H., Chen, S. Y., 2015. Melatonin delays leaf senescence and enhances salt stress tolerance in rice. ***Journal of Pineal Research,*** **59** (1): 91-101.

Liu, L., Gregan, S. M., Winefield, C., Jordan, B., 2018. Comparisons of controlled environment and vineyard experiments in sauvignon blanc grapes reveal similar UV-B signal transduction pathways for flavonol biosynthesis. ***Plant Science,*** **276:** 44-53.

Madronich, S., Mckenzie, R. L., Bjorn, L. O. Caldwell, M. M., 1998. Changes in biologically active ultraviolet radiation reaching the Earth's surface. ***Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology,*** **46** (1): 5-19.

Martinez, V., Nieves-Cordones, M., Lopez-Delacalle, M., Rodenas, R., Mestre, T.C., Garcia-Sanchez, F., Rubio, F., Nortes, P.A., Mittler, R., Rivero, R.M., 2018. Tolerance to stress combination in tomato plants: New insights in the protective role of melatonin. ***Molecules,*** **23:** 535.

Mori, K., Goto-Yamamoto, N., Kitayama, M., Hashizume, K., 2007. Loss of anthocyanins in red-wine grape under high temperature. ***Journal of Experimental Botany,*** **58** (8): 1935-1945.

Murashige, T., Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. ***Physiologia Plantarum,*** **15** (3): 473-497.

Nawaz K., Chaudhary R., Sarwar A., Ahmad B., Gul A., Hano C., Abbasi B.H., Anjum S., 2021. Melatonin as master regulator in plant growth, development and stress alleviator for sustainable agricultural production: Current status and future perspectives. ***Sustainability,*** **2021** (13): 294.

Nawkar, G.M., Maibam, P., Park, J.H., Sahi, V.P., Lee, S.Y., Kang, C.H., 2013. UV-Induced cell death in plants. ***Int J Mol Sci.,*** **14:** 1608-1628.

Neugart, S., Schreiner, M., 2018. UVB and UVA as eustressors in horticultural and agricultural crops. ***Scientia Horticulturae,*** **234:** 370-381.

Núñez-Olivera, E., Martínez-Abaigar, J., Tomás, R., Otero, S., Arróniz- Crespo, M., 2006. Physiological effects of solar ultraviolet-B exclusion on two cultivars of *Vitis vinifera* L. from La Rioja, Spain. ***American Journal of Enology and Viticulture,*** **57** (4): 441-448.

Park, S., Back, K., 2012. Melatonin promotes seminal root elongation and root growth in transgenic rice after germination. ***Journal of Pineal Research,*** **53:** 385-389.

Pontin, M. A., Piccoli, P. N., Francisco, R., Bottini, R., Martinez-Zapater, J. M., Lijavetzky, D., 2010. Transcriptome changes in grapevine (*Vitis vinifera* L.) cv. Malbec leaves induced by ultraviolet-B radiation. ***BMC Plant Biology,* 10:** 224.

Posmyk, M.M., Janas, K.M., 2009. Melatonin in plants. ***Acta Physiologiae Plantarum,* 31:** 1.

Posmyk, M.M., Kuran, H., Marciniak, K., Janas, K.M., 2008. Presowing seed treatment with melatonin protects red cabbage seedlings against toxic copper ion concentrations. ***Journal of Pineal Research,* 45:** 24-31.

Potters, G., Pasternak, T. P., Guisez, Y., Jansen, M. A. K., 2009. Different stress,similer morphogenic responses: intergrating a plethora of pathways. ***Plant, Cell and Environment,* 32**: 158-169.

Rai, R., Meena, R. P., Smita, S. S., Shukla, A., Rai, S. K., Pandey-Rai, S., 2011. UV-B and UV-C pre-treatments induce physiological changes and artemisinin biosynthesis in Artemisia annua L. An antimalarial plant. ***Journal of Photochemistry and Photobiology Biology,* 105**: 216-225.

Reiter, R. J., Tan, D. X., Manchester, L. C., Qi, W., 2001. Biochemical reactivity of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species. ***Cell Biochemistry and Biophysics,* 34** (2): 237-256.

Rodriguez, C., Mayo, J.C., Sainz, R.M., Antolín, I., Herrera, F., Martín, V., Reiter, R.J., 2004. Regulation of antioxidant enzymes: A significant role for melatonin. ***Journal of Pineal Research,* 36**: 1-9.

Sadek, K. M., Lebda, M. A., Abouzed, T. K., 2019. The possible neuroprotective effects of melatonin in aluminum chloride-induced neurotoxicity via antioxidant pathway and Nrf2 signaling apart from metal chelation. ***Environmental Science and Pollution Research,* 26** (9): 9174-9183.

Sakhanokho, H. F., Kelley, R. Y., 2009. Influence of salicylic acid on in vitro propagation and salt tolerance in Hibiscus acetosella and Hibiscus moscheutos (cv 'Luna Red'). ***African Journal of Biotechnology,* 8** (8).

Sharif, R., Xie, C.; Zhang, H., Arnao, M.B., Ali, M., Ali, Q., Muhammad, I., Shalmani, A., Nawaz, M.A., Chen, P., 2018. Melatonin and its effects on plant systems. ***Molecules,* 23**: 2352.

Sharma, A., Zheng, B. 2019. Melatonin mediated regulation of drought stress: Physiological and molecular aspects. ***Plants,* 8**: 90.

Surabhi, G. K., Reddy, K.R. and Sıngh, S. K. 2009. Photosynthesis, fluorescence, shoot biomass and seed weight responses of three cowpea (Vigna unguiculata L. (Walp.)) cultivars with contrasting sensitivity to UV-B radiation. ***Environmental and Experimental Botany,* 66** (2): 160-171.

Swain, T., Hillis, W. E., 1959. The phenolic constituents of prunus domestica. The quantitative analysis of phenolic constituents. ***Journal of the Science of Food and Agriculture***, **10**: 63-68.

Szafrańska, K., Szewczyk, R., Janas, K. M., 2014. Involvement of melatonin applied to Vigna radiate L. seeds in plant response to chilling stress. ***Central European Journal of Biology,* 9** (11): 1117-1126.

Tal, O., Haim, A., Harel, O., Gerchman, Y. 2011. Melatonin as an antioxidant and its semi-lunar rhythm in green macroalga Ulva sp. ***Journal of Experimental Botany,* 62**: 1903-1910.

Tan, D.X., Manchester, L.C., Helton, P., Reiter, R.J., 2007. Phytoremediative capacity of plants enriched with melatonin. ***Plant Signaling Behavior,* 2**: 514-516.

Tettamanti, C., Cerabolini, B., Gerola, P., Conti, A., 2000. Melatonin Identification in Medicinal Plants. ***Acta Phytotherapeutica,* 3**: 137-144.

Tiwari, R.K., Lal, M.K., Naga, K.C., Kumar, R., Chourasia, K.N., Subhash, S., Kumar, D., Sharma, S., 2020. Emerging roles of melatonin in mitigating abiotic and biotic stresses of horticultural crops. ***Scientia Horticulture,* 272**: 109592.

Tsurunaga Y., Takahashi T., Katsube T., Kudo A., Kuramitsu O., Ishiwata M., Matsumoto S., 2013. Effects of UV-B irradiation on the levels of anthocyanin, rutin and radical scavenging activity of buckwheat sprouts. ***Food Chemistry,* 141**: 552-556.

Van Breusegem, F., Bailey-Serres, J., Mittler, R., 2008. Unraveling the tapestry of networks involving reactive oxygen species in plants. ***Plant Physiology,* 147** (3): 978-984.

Vitalini, S., Gardana, C., Zanzotto, A., Simonetti, P., Faoro, F., Fico, G., Iriti, M., 2011. The presence of melatonin in grapevine (*Vitis vinifera* L.) berry tissues. ***Journal of Pineal Research,* 51** (3): 331-337.

Wang, H., Gui, M., Tian, X., Xin, X., Wang, T., li, J., 2017. Effects of UV-B on vitamin C, phenolics, flavonoids and their related enzyme activities in mung bean sprouts (Vigna radiata). ***International Journal of Food Science & Technology,* 52** (3): 827-833.

Wang, P., Sun, X., Li, C., Wei, Z. W., Liang, D., Ma, F. W., 2013. Long-term exogenous application of melatonin delays drought-induced leaf senescence in apple. ***Journal of Pineal Research,* 54** (3): 292-302.

Wang, P., Yin, L., Liang, D., Li, C., Ma, F., Yue, Z., 2012. Delayed senescence of apple leaves by exogenous melatonin treatment:Toward regulating the ascorbate–glutathione cycle. ***Journal of Pineal Research,* 53**: 11-20.

Wei, Z., Li, C., Gao, T., Zhang, Z., Liang, B., Lv, Z., ... Ma, F., 2019. Melatonin increases the performance of Malus hupehensis after UV-B exposure. ***Plant Physiology and Biochemistry,* 139**: 630-641.

Xin, D., Si, J., Kou, L., 2017. Postharvest exogenous melatonin enhances quality and delays the senescence of cucumber. ***Acta Hortic. Sin.,* 44**: 891-901.

Xu, X., 2010. ***Effects of Exogenous Melatonin on Physiological Response of Cucumber Seedlings under High Temperature Stress.*** Master's Thesis, Northwest A and F University, Xianyang, China.

Yin, Y., Tian, X., Yang, J., Yang, Z., Tao, J., Fang, W., 2022. Melatonin mediates isoflavone accumulation in germinated soybeans (Glycine max L.) under ultraviolet-B stress. ***Plant Physiology and Biochemistry,* 175**: 23-32.

Yüzügüllü-Karakuş, Y., Toygar H. İ., Acemi A., Avcı-Duman, Y., Özen, F., 2018. UV-C Stresinin 6-Benzilaminopürin Varlığında Çoğaltılmış Amsonia orientalis'in In vitro Sürgün Gelişimi ve Antioksidan Enzimleri Üzerine Etkileri. ***Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi,* 18**: 44-52.

Zhang, N., Sun, Q., Zhang, H., Cao, Y., Weeda, S., Ren, S., Guo, Y.D., 2015. Roles of melatonin in abiotic stress resistance in plants. ***Journal of Experimental Botany,* 66**: 647-656.

Zlatev, Z. S., Lidon, F. J. C., Kaimakanova, M., 2012. Plant physiological responses to UV-B radiation. ***Emirates Journal of Food and Agriculture,* 6**: 481-501.

ÖZ GEÇMİŞ

İlk ve Orta öğrenimini İzmir'de tamamladıktan sonra, 2014 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümünde lisans eğitimine başladı. 2019 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümünü bitirdi. 2019 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı Bağ Yetiştirme ve Islahı Bilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı. Halen Tarım ve Orman Bakanlığında Ziraat Mühendisi olarak görev yapmaktadır.

VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
LİSANSÜSTÜ TEZ ORİJİNALLİK RAPORU

Tarih: 14/11/2022

Tez Başlığı / Konusu: in vitro Koşullarda Asmada UV-B Stresine Karşı Dışsal Melatonin Uygulamasının Etkisi
Yukarıda başlığı/konusu belirlenen tez çalışmamın Kapak sayfası, Giriş, Ana bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam 35 sayfalık kısmına ilişkin, 14/11/2022 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitin intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 19 (yüzde 19) dur.

Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:
- Materyal ve yöntem hariç,
- Kaynaklar hariç,
- Tezden çıkan yayınlar hariç,
- 7 kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Eşleme boyutunu 7 kelimeyle sınırlayın)

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

Sena YILDIZ
14/11/2022

Adı Soyadı: Sena YILDIZ
Öğrenci No: 19910001088
Anabilim Dalı: Bahçe Bitkileri
Programı: Bahçe Bitkileri
Statüsü: ■ Yüksek Lisans □ Doktora

DANIŞMAN ONAYI
UYGUNDUR

Doç.Dr. Nurhan KESKİN

ENSTİTÜ ONAY
UYGUNDUR