SOYA (*Glycine max* L.) GENOTİPLERİNDE SU TAŞKINININ İNDÜKLEDİĞİ MORFOLOJİK, FİZYOLOJİK VE BİYOKİMYASAL DEĞİŞİMLER

FLOODING-INDUCED MORPHOLOGICAL, PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL CHANGES IN SOYBEAN (*Glycine max* L.) GENOTYPES

OMAR KHALİD NASHAT

PROF. DR. NURAN ÇİÇEK Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin Biyoloji Anabilim Dalı için Öngördüğü YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır

ÖZET

SOYA (*Glycine max* L.) GENOTIPLERINDE SU TAŞKINININ İNDÜKLEDIĞI MORFOLOJIK, FIZYOLOJIK VE BIYOKIMYASAL DEĞIŞIMLER

Omar Khalid NASHAT Yüksek Lisans, Biyoloji Bölümü Tez Danışmanı: Prof. Dr. Nuran ÇİÇEK Ağustos 2022, 58 sayfa

Küresel ısınma ile meydana gelen yağış rejimindeki değişimler ve ekstremlerin (kuraklık ve su taşkını) sıklığındaki artış bitki büyüme ve gelişimini olumsuz yönde etkilemektedir. Bu tez kapsamında, su taşkınlarının iki farklı tipi olan yarı batık ve tam batık taşkınının teşvik ettiği dayanımları farklı iki soya (*Glycine max* (L.) Merr.) genotipindeki morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal değişimlerin araştırılması amaçlanmıştır.

Soya genotiplerine ait tohumlar, 7 gün boyunca 25±1°C sıcaklık, 16 saat aydınlık/8 saat karanlık fotoperiyot, 200 µmol m⁻²s⁻¹ ışık şiddeti ve %45-55 nem koşullarındaki kontrollü iklim dolabında çimlenmeye bırakılmıştır. Yedi günün sonunda fideler, 150 g silis kumu (akvaryum kumu) içeren saksılara (her saksıda 2'şer birey) aktarılmış, ½ seyreltilmiş Hoagland besin çözeltisi ile sulanmış ve kontrollü iklim dolabında 3 gün büyütülmüştür. Daha sonra 10 günlük fideler 4 gün boyunca yarı ve tam batık su taşkınına maruz bırakılmıştır. On dört günün sonunda fideler çeşitli morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal analizler yapılmak üzere hasat edilmiştir.

Su taşkınının oluşturduğu hipoksi (oksijen eksikliği) koşulları soya genotiplerinin (Cinsoy ve Traksoy) sürgün ve kök uzunluklarında, biyokütle, oransal su içeriğinde ve yaprak alanında anlamlı bir azalmaya yol açmıştır. Tam batık su taşkını her iki genotipin de fotosentetik aktivitesini yarı batık su taşkınına göre daha olumsuz etkilemiştir. Su taşkını koşulları, genotiplerin tilakoid membranlarındaki fluoresans geçişlerinde (Kaustky eğrisi) değişimlere, spesifik (ABS/RC, TR₀/RC, ET₀/RC, DI₀/RC, RE/RC) ve fenomenolojik (ABS/CS, TR₀/CS₀, ET₀/CS₀, DI₀/CS₀) enerji akışlarında azalmalara yol açmıştır. JIP-test parametrelerindeki bu değişimler genotiplerin performans indekslerinde (PI_{ABS} / PI_{TOP}) düşüşe sebep olmuştur. Su taşkınının yol açtığı fotosentetik etkinlikteki azalma, muhtemelen membran yapısının bozulması, inaktif reaksiyon merkezlerinin artması ve dolayısı ile uyarılma enerjisinin fotokimyaya yönlendirilememesi nedeniyledir.

Su taşkını stresi, soya genotiplerinin hücrelerinde membran hasarlarına ve reaktif oksijen türlerinin üretiminde artışa neden olmuştur. Genotiplerin MDA ve H₂O₂ içeriklerindeki artış bu hipotezi desteklemektedir. Reaktif oksijen türleri, soya genotiplerinin enzimatik (SOD, GR, APX ve POD) ve enzimatik olmayan antioksidanlar (antosiyanin ve flavonoid) ile detoksifiye edilmeye çalışılmıştır. Bu bağlamda, dayanıklı Cinsoy genotipi Traksoy genotipine göre daha etkin ve başarılı performans sergilemiştir.

Bu tez kapsamında elde edilen çıktılar doğrultusunda; Cinsoy genotipi hem yarı, hem de tam batık su taşkını tehdidi altındaki tarım arazilerinde ekimi tavsiye edilir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan savunma sistemi, Fotosentetik etkinlik, Soya, Su baskını, Tolerans, Yarı ve tam batık su taşkını

ABSTRACT

FLOODING-INDUCED CHANGES OF MORPHOLOGICAL, PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL IN SOYBEAN (*Glycine max* L.) GENOTYPES

Omar Khalid NASHAT Master of Science, Department of Biology Supervisor: Prof.Dr. Nuran ÇİÇEK August 2022, 58 pages

Changes in the precipitation regime and the increase in the frequency of extremes (drought and flooding) due to global warming negatively affect plant growth and development. Within the scope of this thesis, it was aimed to investigate the morphological, physiological and biochemical changes in two soybean (*Glycine max* (L.)Merr.) genotypes with different tolerance degree induced by two different types of flooding, partial submergence and complete submergence.

The seeds of soybean genotypes were germinated in a controlled growth cabinet at $25\pm1^{\circ}$ C temperature, 16 hours light/8 hours dark photoperiod, 200 µmol m⁻²s⁻¹ light intensity and 45-55% humidity conditions for 7 days. At the end of seven days, the seedlings were transferred to pots (2 individuals in each pot) containing 150 g of silica sand (aquarium sand), watered with $\frac{1}{2}$ diluted Hoagland nutrient solution and grown for 3 days in a controlled growth cabinet. Afterwards, the 10-day-old seedlings were exposed to partial submerge and complete submerged for 4 days. At the end of fourteen days, the seedlings were harvested for various morphological, physiological and biochemical analyzes.

Hypoxia (oxygen deficiency) conditions caused by flooding led to significant decrease in shoot and root lengths, biomass, relative water content and leaf area of soybean genotypes (Cinsoy and Traksoy). Complete submerged flooding affected the photosynthetic activity of both genotypes more negatively than partial submerged flooding. Flooding led to the changes in fluorescence transients (Kaustky curve), decreases in specific ABS/RC, TR_0/RC , ET_0/RC , DI_0/RC , RE/RC) and phenomenological energy fluxes (ABS/CS, TR_0/CS_0 , ET_0/CS_0 , DI_0/CS_0) in the thylakoid membranes of genotypes.

These changes in JIP-test parameters caused decreases in the performance indexes (PI_{ABS} / PI_{TOP}) of the genotypes. The decrease in photosynthetic activity caused by flooding is probably due to disruption of the membrane structure, increase in inactive reaction centers and thus the inability to direct the excitation energy to photochemistry.

Flooding caused membrane damages and increase in production of reactive oxygen species in cells of soybean genotypes. MDA and H_2O_2 contents of genotypes support this hypothesis. Reactive oxygen species have been tried to be detoxified by enzymatic (SOD, GR, APX and POD) and non-enzymatic antioxidants (anthocyanin and flavonoid) of soybean genotypes. In this context, the tolerant Cinsoy genotype exhibited performance more effectively and successfully than Traksoy genotype.

With the outputs obtained within the scope of this thesis; Cinsoy genotype is recommended for cultivation in agricultural region that are prone to both partial submerged and complete submerged flooding.

Keywords: Antioxidant defense system, Flooding, Partial and complete submergence, Photosynthetic efficiency, Soybean, Tolerance

TEŞEKKÜR

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi, birikimini ve tecrübelerini paylaşan eğitim hayatım dışında da desteğini hiç esirgemeyen, bugüne kadar bana kattığı bakış açısı ve bilimsel etik ile tezimi ivedilikle bitirmemi sağlayan her zaman yanımda olan değerli hocam Prof. Dr. Nuran ÇİÇEK'e;

Yol gösterici kişiliği ile verdiği değerli önerileri ve sağladığı olanaklardan dolayı yüksek lisans eğitimim süresince desteğini esirgemeyen sayın hocam Prof. Dr. Yasemin EKMEKÇİ'ye;

Yaşadığım her sorunda ulaşabildiğim ve sabırla yardımını aldığım Dr. Arş. Gör. Şeküre ÇULHA ERDAL'a;

Çalışmalarım boyunca yanımda olan ve destekleyen, laboratuvar ekibim Kamile Hazal TATAR'a, Efe DALLI'ya, Seda YİRMİBEŞ'e;

Bugüne kadar aldığım her kararıma saygı duyan ve destek olan canım aileme;

Tez deneylerim boyunca yardımlarını esirgemeyen bütün özel çalışma öğrencilerimize ve stajyerlerimize;

Bu tez, FBA-2019-17326 nolu projenin bir kısmını oluşturması nedeni ile sağladığı destekten dolayı Hacettepe Üniversitesi, Bilimsel Araştırmalar Birimine çok teşekkür ederim.

Omar Khalid NASHAT Ağustos 2022, Ankara

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Soya (Glycine max (L.) Merr.) Bitkisi	4
2.2. Su Taşkını	6
2.2.1. Bitkilerin Su Taşkını Stratejileri	7
2.2.2. Su Taşkınının Bitki Gelişimi Üzerine Etkileri ve Bitkilerin Su	
Taşkını Stresine Adaptasyonları	8
2.2.3. Su Taşkını ve Fotosentez	13
2.2.4. Su Taşkını ve Savunma Sistemi	14
3. MATERYAL ve YÖNTEM	15
3.1. Bitki Materyali	15
3.2. Bitki Yetiştirme Yöntemi ve Deney Planı	15
3.3. Ölçümler ve Analizler	17

	3.3.1. Morfolojik Ölçümler	17
	3.3.1.1. Sürgün ve Kök Uzunluğu Ölçümü	17
	3.3.1.2. Yaprak Yüzey Alanı Ölçümü	18
	3.3.1.3. Yaş ve Kuru Ağırlık (Biyokütle) Ölçümleri	18
	3.3.2. Fizyolojik ve Biyokimyasal Ölçümler	18
	3.3.2.1. Oransal Su Kapsamının Ölçümü	18
	3.3.2.2. Fotosentetik Pigment Miktarının Belirlenmesi	18
	3.3.2.3. Malondialdehit (MDA) ve Hidrojen Peroksit (H_2O_2)	
	Miktarının Belirlenmesi	19
	3.3.2.4. Fotosentetik Aktivite Ölçümü	19
	3.3.2.5. Antosiyanin ve Flavonoid Miktarının Ölçümleri	22
	3.3.2.6. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Ölçümleri	22
	3.3.2.6.1. Protein İçeriğinin Belirlenmesi	22
	3.3.2.6.2. Süpeoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Belirlenmesi	22
	3.3.2.6.3. Askorbat Peroksidaz (APX) Aktivitesinin Belirlenmesi	23
	3.3.2.6.4. Glutatyon Redüktaz (GR) Aktivitesinin Belirlenmesi	23
	3.3.2.6.5. Peroksidaz (POD) Aktivitesinin Belirlenmesi	24
	3.4. Veri Analizi	24
4.	BULGULAR	25
	4.1. Dayanımları Farklı Soya Genotiplerinin Bazı Morfolojik Karakterleri Üzerine Su Taşkınının Etkileri	25
	4.1.1. Sürgün ve Kök Uzunluğu Üzerine Etkisi	25
	4.1.2 Yaş Ağırlık ve Kuru Ağırlık Üzerine Etkisi	27
		28

4.2. Dayanımları Farklı Soya Genotiplerinde Su Taşkınının Fizyolojik ve		
Biyokimyasal Değişkenler Üzerine Etkileri		
4.2.1 Oransal Su Kapsamı Üzerine Etkisi	28	
4.2.2. Fotosentetik Pigment İçerikleri Üzerine Etkisi	29	
4.2.3. Membran Bütünlüğü Üzerine Etkisi	31	
4.2.4. Su Taşkınının Fotosentetik Aktivite Üzerine Etkisi	31	
4.2.5. H_2O_2 İçeriği Üzerine Etkisi	37	
4.2.6. Antosiyanin ve Flavonoid İçerikleri Üzerine Etkisi	38	
4.2.7. Toplam Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi	39	
4.2.8. Toplam Askorbat Peroksidaz (APX) Aktivitesi	40	
4.2.9. Toplam Glutatyon Redüktaz (GR) Aktivitesi	40	
4.2.10. Toplam Peroksidaz (POD) Aktivitesi	41	
5. TARTIŞMA	43	
6. ÖNERİLER	48	
KAYNAKLAR	49	
ÖZGEÇMİŞ	58	

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Ülkelerin 2020 yılındaki soya üretimleri (ton)	4
Şekil 2.2.	Soya bitkisinin morfolojik özellikleri	5
Şekil 2.3.	Doğada karşılaşılan su taşkını tipleri	7
Şekil 2.4.	Su taşkını dayanım stratejileri	8
Şekil 2.5.	Köklerdeki iki farklı radyal oksijen kaybı (ROL) modeli	9
Şekil 2.6.	Su taşkını altındaki derin su pirincinde adventif kökler	10
Şekil 2.7.	Su taşkınında uzamanın etilen bağımlı yol ile düzenlenmesi	12
Şekil 3.1.	Deneysel süreç	16
Şekil 3.2.	Uygulamalardan genel görüntü	17
Şekil 3.3.	Cinsoy ve Traksoy genotiplerinin 14 günün sonundaki genel görüntüsü	17
Şekil 3.4.	 A) HandyPEA cihazının genel görünümü, B) Biolyzer HP3 programında analiz görüntüsü, C) JIP-Testinin şematik bir sunumu D) Fotosentetik materyaldeki tipik polifazik klorofil a fluoresans yükselişi ve fotosentetik aparattaki süreçler E) JIP-Test sonuçlarının grafiksel sunum türü (radar ve membran ile yaprak modelinde pipe-line) örnekleri (Tóth ve ark., 2005; Strasser ve ark., 2010'dan modifiye edilmiştir) 	20
Şekil 4.1.	Su taşkını stresinin (yarı ve tam batık) soya genotiplerinin (Cinsoy ve Traksoy) gelişimi (A), sürgün (B) ve kök (C) uzunlukları üzerine etkisi (K, kontrol; YB, yarı batık; TB, tam batık)	26
Şekil 4.2.	Su taşkını stresinin (yarı ve tam batık) soya genotiplerinin (Cinsoy ve Traksoy) yaş ağırlığı üzerine etkisi	27

Şekil 4.3.	Su taşkını stresinin (yarı ve tam batık) soya genotiplerinin (Cinsoy ve Traksoy) kuru ağırlığı üzerine etkisi	28
Şekil 4.4.	Su taşkını stresinin (yarı ve tam batık) soya genotiplerinin (Cinsoy ve Traksoy) yaprak alanı üzerine etkisi	29
Şekil 4.5.	Su taşkını stresinin (yarı ve tam batık) soya genotiplerinin (Cinsoy ve Traksoy) yaprak oransal su kapsamı (%) üzerine etkisi	29
Şekil 4.6.	Su taşkını stresinin (yarı ve tam batık) soya genotiplerinin (Cinsoy ve Traksoy) yaprak dokusunun MDA içeriği üzerine etkisi (Veriler kontrole göre normalize edilmiştir)	31
Şekil 4.7.	Su taşkını stresi (yarı ve tam batık) altındaki soya genotiplerinin (Cinsoy ve Traksoy) Kautsky eğrileri (klorofil a fluoresans transientleri) (CN, Cinsoy; TRK, Traksoy; K, kontrol; YB, yarı batık; TB, tam batık)	32
Şekil 4.8.	Su taşkını stresinin (yarı ve tam batık) soya genotiplerinin (Cinsoy ve Traksoy) fotosentetik aparattaki spesifik enerji akışları (membran modelde birim reaksiyon merkezi başına, RC) üzerine etkisi. Okların genişlikleri, parametrelerin nispi değerlerini temsil etmektedir. Enerji akışları; her bir reaksiyon merkezi başına absorplanan enerji (ABS/RC), yakalanan enerji (TRo/RC), elektron taşıma (ETo/RC) ve aşırı uyarılma enerjisinin ısı olarak yayılımını (Dlo/RC) göstermektedir.	34
Sekil 1 Q	Su taskini stresinin (vari ve tam batik) sova genotinlerinin (Cinsov	

Şekil 4.9. Su taşkını stresinin (yarı ve tam batık) soya genotiplerinin (Cinsoy ve Traksoy) fotosentetik aparattaki fenomenolojik enerji akışları (yaprak modelinde birim yaprak alanı başına, CSo) üzerine etkisi.
Fenomenolojik enerji akış parametrelerini gösteren okların genişlikleri, parametrelerin nispi değerlerini temsil etmektedir.
Enerji akışları; her bir yaprak alanı başına absorplanan enerji (ABS/CSo), yakalanan enerji (TR/CSo), elektron taşıma (ET/CSo) ve aşırı uyarılma enerjisinin ısı olarak yayılımını (DI/CSo) içermektedir. Siyah daireler inaktif, açık daireler aktif reaksiyon merkezlerini temsil etmektedir.

Şekil 4.10.	Su taşkını stresinin (yarı ve tam batık) soya genotiplerinin (Cinsoy ve Traksoy) SFI _{ABS} üzerine etkisi	36
Şekil 4.11.	Su taşkını stresinin (yarı ve tam batık) soya genotiplerinin (Cinsoy ve Traksoy) performans indekslerinde (PI _{ABS} , A; PI _{TOTAL} , B) üzerine etkisi	37
Şekil 4.12.	Su taşkını stresinin (yarı ve tam batık) soya genotiplerinin (Cinsoy ve Traksoy) yaprak dokusundaki H ₂ O ₂ içeriği üzerine etkisi	38
Şekil 4.13.	Su taşkını stresinin (yarı ve tam batık) soya genotiplerinin (Cinsoy ve Traksoy) yaprak dokularındaki antosiyanin (A) ve flavonoid (B) içerikleri üzerine etkisi	39
Şekil 4.14.	Su taşkını stresinin (yarı ve tam batık) soya genotiplerinin (Cinsoy ve Traksoy) yaprak dokularındaki toplam SOD aktivitesi üzerine etkisi	40
Şekil 4.15.	Su taşkını stresinin (yarı ve tam batık) soya genotiplerinin (Cinsoy ve Traksoy) yaprak dokularındaki toplam APX aktivitesi üzerine etkisi	41
Şekil 4.16.	Su taşkını stresinin (yarı ve tam batık) soya genotiplerinin (Cinsoy ve Traksoy) yaprak dokularındaki toplam GR aktivitesi üzerine etkisi.	41
Şekil 4.17.	Su taşkını stresinin (yarı ve tam batık) soya genotiplerinin (Cinsoy ve Traksoy) yaprak dokularındaki toplam POD aktivitesi üzerine etkisi	42

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1.	Hoagland besin çözeltisi içeriği	15
Çizelge 3.2.	Deney gruplarına ait rumuzlar ve açıklamaları	
Çizelge 3.3.	OJIP testte kullanılan bazı terimlerin, tanımlamalarının ve formüllerinin özeti (Strasser Tsimilli-Michael ve Srivastava, 2004; Tsimilli-Michael ve Strasser, 2008; Strasser ve ark., 2010; Çiçek ve ark., 2012; Guha, Sengupta ve Reddy, 2013).	21
Çizelge 4.1.	Su taşkını stresinin (yarı ve tam batık) soya genotiplerinin (Cinsoy ve Traksoy) fotosentetik pigment içerikleri (mg.ml- 1.g.YA-1) üzerine etkisi	30

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

°C	Santigrat derece
%	Yüzde
cm	Santimetre
dk	Dakika
g	Gram
kg	Kilogram
m	Metre
cm ²	Santimetrekare
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
nm	Nanometre
MA	Moleküler ağırlık
L	Litre
Log	Logaritma
ppm	Milyonda bir birim
rpm	Dakikadaki devir sayısı
S	Saniye
μg	Mikrogram
μΙ	Mikrolitre
µmol	Mikromol
μs	Mikro saniye

Kısaltmalar

ABA	Absisik asit		
ABS/RC	Aktif reaksiyon merkezinin verimli anten büyüklüğü		
ANOVA	Varyans analizi (Analyses of variance)		
ROS	Reaktif Oksijen Türleri		
APX	Askorbat peroksidaz		
ATP	Adenozin trifosfat		
BSA	Sığır serum albümini (Bovine serum albumin)		
DI ₀ /RC	Bir aktif reaksiyon merkezinin enerji dağılımı		
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit		
ET ₀ /ABS(¢ <i>E</i> ₀)	Elektron transportunun maksimum verimi (PHI(E ₀))		
ET ₀ /RC	Reaksiyon merkezi başına elektron transportu		
$ET_0/TR_0(\boldsymbol{\Psi}_0)$	Q _A -'dan elektron transport zincirine bir elektronu hareket ettirme etkinliğini		
F ₀	Karanlığa adapte olmuş yapraklardaki minimum fluoresans		
F _M	Karanlığa adapte olmuş yapraklardaki maksimum fluoresans		
Fv	Karanlığa adapte olmuş yapraklardaki değişken fluoresans		
$F_V/F_M(\phi_{Po})$	PSII'nin potansiyel fotokimyasal etkinliği (TR₀/ABS)		
F _V /F ₀	PSII'de O ₂ oluşturan kompleksin etkinliği		
GA	Giberellin		
GR	Glutatyon redüktaz		
GSH	İndirgenmiş glutatyon		

GSSG	Yükseltgenmiş glutatyon
H_2O_2	Hidrojen peroksit
HCI	Hidroklorik asit
IAA	İndolasetik asit-oksin
KA	Kuru ağırlık
MDA	Malondialdehit
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid
Na₂EDTA	Di sodyum etilendiamin tetraasetik asit
PI-PI _{abs}	Performans indeksi
PI _{top}	Toplam performans indeksi
POD	Peroksidaz
PSI	Fotosistem I
PSII	Fotosistem II
PVP	Polivinilpirolidon
RE ₀ /ABS (<i>φR</i> ₀)	Q _A ⁻ʻdan ferrodoksine elektron transportunun kuantum verimi
RE ₀ /ET ₀ (<i>δR₀</i>)	İndirgenmiş sistemler arası elektron alıcılarının bir elektronu PSI son elektron alıcılarına hareket ettirme etkinliği
SOD	Süperoksit dismutaz
SPSS	Sosyal bilimler için istatistik paket programı (Statistical Package for the Social Sciences)
YA	Taze ağırlık
YB	Yarı batık su taşkını
ТВ	Tam batık su taşkını
ТВА	Tiyobarbütirik asit
ТСА	Trikloroasetik asit

Giriş

Küresel ısınma ile birlikte özellikle son zamanlarda meydana gelen ortalama sıcaklıklardaki artışlar, buzulların erimesi ve yağış rejimindeki sapmalar yeryüzündeki tüm canlıların yaşamını olumsuz yönde etkilemektedir. Bu durumdan en çok etkilenen canlı gruplarından biri de yaşamını sesil olarak sürdüren bitkilerdir. Küresel ısınma ile birlikte; Antarktik, Grönland ve Alaska gibi kara buzullarının erimesi ve okyanuslara karışması dünyadaki su seviyesinin yükselmesine ve su taşkınlarına sebep olmaktadır. Suyun içinde yüzen buz kütleleri oldukları için Arktik buzullarının erimesinin su seviyesindeki değişime etkisi çok azdır, ancak su olarak sisteme karıştıkları için su döngüsüne girmekte ve dolayısıyla yağışların artışına neden olarak su taşkınlarını tetiklemektedir. Ayrıca, artan sıcaklıklar ile birlikte atmosferdeki mutlak nem kapasitesinin maksimum nem kapasitesine daha kısa bir sürede ulaşması ve tahmin edilen ortalama yağış miktarlarından daha fazla yağış düşmesinden dolayı su taşkınları görülmektedir (Chen ve ark., 2013; Kurnaz, 2019). Yeryüzünde aşırı yağışlara ve buzulların erimesine bağlı olarak meydana gelen su taşkınları, özellikle tarımsal alanları etkileyerek ürün verimliliğinin azalmasına neden olmaktadır. Ülkemizde de önemli tarımsal bölgelerden biri olan Karadeniz başta olmak üzere, Trakya ve Akdeniz bölgelerinde de dönemsel olarak su taşkınları görülmektedir. Ayrıca gün geçtikçe su taşkınlarının sıklığının ve şiddetinin arttığı görülmektedir. Toprağın su ile doygun olması anlamına gelen su taşkını (Tewari ve Arora, 2016) şiddetli yağışların, aşırı sulamanın ve düşük toprak drenajının neden olduğu en hasar verici doğal olaylardan biridir ve stresin uzun sürmesi küresel olarak bitkilerin verimini ve üretkenliğini önemli ölçüde azaltmaktadır (Patel ve ark., 2014; Wu ve ark., 2017). Dünyadaki tarım alanlarının yaklaşık % 10'unun su taşkınlarının etkisi altında olduğu tahmin edilmektedir (Setter ve Waters, 2003; Tewari ve Arora, 2016). Bitkinin ya sadece köklerinin (Su baskını) ya da kökleri ile birlikte gövdesinin bir kısmının (Yarı Batık) veya bitkinin tümünün su altında kaldığı (Tam Batık) su taşkını çeşitleri görülmektedir (Ahmed ve ark., 2013). Su taşkını koşullarının, bitkileri oksijen, karbondioksit ve ışıktan mahrum bırakarak (Jackson ve ark., 2009), kök gelişimini azaltıp, su ve mineral besin maddelerinin emilimini olumsuz etkileyerek (Tewari ve Arora, 2016), bitkiler üzerinde stres oluşturduğu bildirilmektedir. Ayrıca, su taşkınının çimlenmenin inhibe olmasına, fotosentetik pigment miktarında azalmaya, kloroza,

nekroza, bitki boyunun kısalmasına, yaprak dökülmesine, azot fiksasyonunun azalmasına ve hatta bitkinin ölümüne neden olduğu bildirilmiştir (VanToai ve ark., 1994; Bacanamwo ve Purcell, 1999; Reyna ve ark., 2003; Yordanova ve Popova, 2007; Lin ve ark., 2015; Tewari ve Arora, 2016).

Dünyadaki en önemli baklagil bitkisinden biri olan soya (Glycine max L. Merril), insanlar ve hayvanlar için önemli bir yağ ve protein kaynağıdır. Tohumlarında, %36-40 protein, %18-24 yağ, %26 karbohidrat ve %8 mineral madde içermesi nedeniyle soyanın ekonomik değeri yüksektir (Nazlıcan, 2002; Arıoğlu, 2007). Küresel yağlı tohum üretiminin yaklaşık yarısının ve bitkisel ham yağ üretiminin de yaklaşık % 25'nin soya bitkisinden sağlandığı bildirilmektedir (Arıoğlu, 1999). Bununla birlikte soya, bakterilerle kurduğu simbiyotik ilişki sonucu oluşan kök nodüllerinde havanın serbest azotunun fikse edilmesi sürecinde yer alarak toprağın azotca zenginleşmesine de katkı sağlamaktadır. Böylece, bir rotasyon bitkisi olarak değerlendirilmesiyle gübre giderlerinde tasarruf sağlanarak ekonomik katkısı ve tarımda sürdürülebilirliğe yardımcı olmaktadır. Aynı zamanda, biyo-dizel (biyo-yakıt) üretimi için potansiyel bir kaynak olarak da düşünülmektedir (Koberg ve ark., 2011). Günümüzde Çukurova, Güneydoğu Anadolu, Ege ve Akdeniz bölgelerinde 2. ürün, Trakya, Marmara ve Karadeniz bölgelerinde ana ürün olarak sulu tarımı yapılmakta, bu üretimde Adana, Mersin ve Osmaniye ile Akdeniz havzası ilk sırada yer almaktadır (TUİK, 2017). Üretimin yeterli olmayıp yıllık yaklaşık 2 milyon ton soyanın dışarıdan temin edildiği bildirilmektedir (Açıkgöz, 2016). Soya bitkisinin gerek gıda gerek endüstriyel pek çok kullanım potansiyelinin olmasının yanı sıra, her geçen gün artan insan nüfusunun besin ihtiyacının karşılanması da düşünüldüğünde, soya veriminin arttırılmasına, değişen çevresel koşullarda verim kaybının önlenmesi ve/veya en aza indirilmesine yönelik daha fazla çalışmalara gereksinim vardır.

Bitkilerin yaşam döngüsünde büyüme ve gelişmeyi şekillendiren sıcaklık, ışık, su gibi pek çok çevresel değişkenin optimum değerlerinden uzaklaşması (diğer bir ifade ile stres faktörüne dönüşmesi), bitki gelişimi üzerinde önemli fizyolojik ve biyokimyasal süreçleri olumsuz etkileyerek, verim kayıplarını da beraberinde getirmektedir (Kalefetoğlu ve Ekmekçi, 2005). İklim tahmin modelleri, tarım bitkilerinin yetiştirme dönemlerinde kuraklık, su taşkını ve yüksek sıcaklık nöbetlerinin ortaya çıkışında artış olacağını göstermektedir (Mittler ve Blumwald, 2010) ve günümüzde taşkın

olaylarını yoğun bir şekilde tecrübe etmekteyiz. Bununla birlikte, su taşkınları nedeniyle dünya genelinde soya veriminde % 25'e varan azalmalar görülmektedir (Mustafa ve Komatsu, 2014).

Su taşkını, bitkilerin çeşitli metabolik yollarını olumsuz yönde etkileyerek hasarlara yol açmaktadır. Bu metabolik yolların en önemlilerinden birisi, fotosentetik işlevdir. Stres koşullarında fotosentetik etkinliği devam ettirebilme yeteneği bitkilerin strese karşı toleransında önemli etkenlerden biridir. Bitkiler, su taşkınında transpirasyonla su kaybını önlemek için stomalarını hızla kapatarak, yaprağa giren CO₂'i sınırlandırılmakta (Chaves, 1991; Cornic, 2000; Chaves ve ark., 2009) ve bu durum da fotosentetik aktivitede azalmaya neden olmaktadır. Fotosentetik aktivitedeki azalma, stomatal veya stomatal olmayan sınırlamaların bir sonucudur (Mahajan ve Tuteja, 2005; Chaves ve ark., 2009). Stresin, ışığın yakalanması ve kullanımı arasındaki bir dengesizliğe bağlı olarak dokularda fotosentetik aktiviteyi inhibe ettiği bildirilmektedir (Foyer ve Noctor, 2008; 2009). Fotosistemlerin inhibisyonu, yüksek enerjili elektronların moleküler oksijene (O2) aktarılması ile reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumuna neden olup, tilakoid membranlarda peroksidasyonlara yol açabilmektedir. Çevresel streslerin ortak bileşeni aslında hücrelerin farklı bölümlerinde ROT'ların aşırı üretimidir (Smirnoff, 1993; Chaves ve ark., 2009; Mittler, 2017) ve bu aşırı üretim, membranların peroksidasyonlarının yanı sıra DNA, protein ve enzimlerin denatürasyonlarına neden olan oksidatif stresi meydana getirir. Bitkiler, oksidatif stresin etkilerinden korunmak için birçok savunma mekanizmaları geliştirirler. Bu mekanizmalarından en önemlileri, ROT uzaklaştırıcı sistemler ve fotokimyasal yol ile aşırı eksitasyon enerjisinin ısı olarak dağıtıldığı ışık koruyucu mekanizmalardır. Su taşkını ile indüklenen ROT oluşumuna karşı bitkilerin savunma sistemlerini çalıştırdığını ve antioksidanları biriktirdiğini rapor eden araştırmalar literatürde yer almasına rağmen (Yordanova ve Popova, 2007; Yao ve ark., 2017; Zhai ve ark., 2020), bitkilerin su taşkınına karşı tolerans mekanizması ilgili yapılan çalışmalar sınırlı olup elde edilen bilgiler hala yeterli değildir. Bu tez kapsamında farklı tip su taşkınlarına maruz kalan [Yarı Batık ve Tam Batık] soya bitkisinin cevapları morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal analizler ile ortaya konularak karakterize edilip tolerans mekanizmalarının aydınlatılmaya çalışılması tezin amacını oluşturmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Soya (Glycine max (L.) Merr.) Bitkisi

Soya (*Glycine max* (L.) Merr.) bitkisi, Magnoliopsida (çift çenekliler) sınıfının, Fabales takımının, Fabaceae (Baklagiller) ailesinin, Glycine cinsine ait bir bitki türüdür. Bu bitkinin de içerisinde bulunduğu Fabaceae ailesi tipik legümen tipi meyve yapıları nedeniyle Leguminosae ailesi olarak da bilinmektedir. Glycine cinsinin dünyada yayılış gösteren 15 türü vardır. Bu türlerden hiçbiri Türkiye'de doğal olarak yayılış göstermemekle birlikte sadece (*Glycine max* (L.) Merr.) türünün tarımsal olarak kültürü yapılmaktadır. Ülkelerin soya üretim miktarları değişim göstermektedir (Şekil 2.1.).





Yapılan arkeolojik çalışmalara göre soyayı ıslah eden medeniyetlerin kökeni Asya'ya dayanmaktadır. Arkeolojik çalışmalarda elde edilen soya tohumlarına yapılan karbon testleri sonucu günümüzden yaklaşık 9000 ile 8600 yıl önce Çin'de ekimi yapıldığı ortaya konulmuştur. Ayrıca 7000-5000 yıl önce Japonya'da ve 3000 yıl önce ise Güney Kore'de de bu türün örneklerine rastlanılmıştır (Lee ve ark., 2011). Soya bitkisinin tohumlarının yüksek miktarda protein (%40-42), yağ (%18-24), karbohidrat (%26) ve mineral madde (%8) içermesi (Arıoğlu, 2007; Çopur ve ark., 2009) nedeni ile bitkinin gıda eldesi açısından önemi oldukça büyüktür. Bununla birlikte, doğadaki azot döngüsünün de bir bileşeni olması ve toprağa azot kazanımı sağlaması da soya



bitkisinin değerini arttırmaktadır. Soya bitkisinin genel morfolojik özellikleri Şekil 2.2'de görülmektedir.

Şekil 2.2. Soya bitkisinin morfolojik özellikleri (<u>https://www.copybob.net/bayercropscience'tan modifiye edilmiştir</u>)

Soya fasulyesinin kökeni ve evrimsel geçmişi dikkate alındığında; soya bir sıcak iklim bitkisidir. Yaşam süresi boyunca gelişim sıcaklık isteği 25-30 °C olup, 500-700 mm yağış alan bölgeler optimum yetişme koşullarıdır (Arıoğlu, 1999; Nazlıcan, 2010; Purcell, 2014). Soya bitkisi çevresel değişkenlere (streslere) hassas olmakla birlikte su taşkını stresine de oldukça duyarlı olduğu bildirilmektedir (Yin ve Komatsu, 2017).

2.2. Su Taşkını

Antropojenik veya doğal kaynaklı kısa ya da uzun süreli iklim değişiklikleri sıcaklıkların, kurak dönemlerin ve yağışların artmasına, bu durum da canlılar için ideal koşulların bozulmasına yol açmaktadır. Optimal koşullardan sapan tüm değerler bitkiler için stres oluşturmaktadır. Optimal koşullardan sapmaya sebep olan etkenler göz önüne alınarak bir sınıflandırma yapılınca; stresler canlı kaynaklı stresler, biyotik ve canlı kaynaklı olmayan stresler, abiyotik olarak iki gruba ayrılmaktadır. Su taşkınları, abiyotik stresler grubu altında incelenmektedir. Küresel ısınmanın beraberinde getirdiği iklim normallerinden sapmalar yağış rejimlerinde hem azalmalara (su kıtlığı), hem de aşırılığa ve yağış sıklığında artışa yol açmaktadır. Aşırı yağışların da su taşkınlarına sebep olduğu görülmektedir. Su taşkınları, neden olduğu uygun olmayan büyüme koşulları sonucu bitki büyüme ve gelişimini, dolayısı ile tarımsal verimi olumsuz yönde etkilemektedir.

Su taşkınları, bitkilerin organ düzeyinde suya maruz kalma durumuna göre üç başlıkta incelenmektedir (Striker, 2012). Bunlardan ilki, **kök su doygunluğu (su basması)** (waterlogging) olarak karşılaşılan su taşkını (baskını) stresidir(Şekil 2.3.). Su basması (kök su doygunluğu) durumunda toprak su ile tamamen doymuş olup sadece köklerin hipoksi koşul (oksijen kıtlığı) ile karşı karşıya kaldığı durumdur. Bitki kök hücrelerinin solunumu için gerekli olan oksijen toprak partikülleri arasında boşluklardan sağlanırken, su basması durumunda bu hava boşlukları tamamen su ile dolmuştur. Sonuçta hipoksi koşulu oluşur. İkincisi ise **yarı batık** (partial submergence) su taşkını: bitki kökünün tamamının ve toprak üstü kısmın bir bölümünün (gövde ile yaprakların bir kısmının, yaklaşık yarısının) su altında (içinde) olduğu ve bitkinin hipoksi koşullarda bulunduğu durumudur. Sonuncusu **tam batık** (complete submergence) su taşkınıdır. Bu tip su taşkınında bitkinin tamamı sular altındadır ve bitkinin tüm organları hipoksi koşula maruz kalmaktadır (Striker, 2012).



Şekil 2.3. Doğada karşılaşılan su taşkını tipleri (Striker, 2012'den modifiye edilmiştir)

2.2.1. Bitkilerin Su Taşkını Stratejileri

Su taşkınlarının sık görüldüğü habitatlardaki bitkiler iki tür davranış sergileyerek taşkın stresinin etkilerinin üstesinden gelebilirler (Şekil 2.4.). Bu davranışlardan biri, kaçış stratejisi (escape strategy)'dir. Bitki tamamen su altında kalmamak için toprak üstü kısmında hızlı uzamaya giderek gövdesini suyun üstünde tutmaya çalışır. Bu süreçte SNORKEL1 (SK1) ve SNORKEL2 (SK2) genlerinin ileri regülasyonunun çok önemli olduğu bildirilmektedir (Voesenek ve Bailey-Serres, 2009). Bu genlerin aktivitesinin artması dolaylı olarak hücre içi giberellin (GA) seviyesini artırmaktadır. GA, interkalar meristemdeki mitotik aktiviteyi uyararak sürgün uzamasını sağlamakta ve böylece bitkiler toprak üstü kısımlarını suyun üstünde tutarak kaçış stratejisini gerçekleştirmektedir. İkinci davranış ise **sessizlik stratejisi** (guiescence strategy)'dir. Bitki, su taşkını boyunca metabolik aktivitesini düşük düzeyde tutmaktadır. Bunu SUBMERGENCE (SUB1A-1) geninin ifadesini artırarak yapmaktadır. SUB1A-1 geni dolaylı olarak SLENDER RICE-1 (SLR1) ve SLENDER RICE-1 LIKE-1 (SLR1), büyüme baskılayıcı (GA baskılayıcı olarak çalışan) genlerin ileri regülasyonunu düzenlemektedir. GA baskılanması, dolayısıyla sürgün uzaması baskılanan bitki vejetatif dormansi denen bir evreye girmekte ve stres koşulları geçene kadar minimum biyokimyasal faaliyet ile yaşamına devam etmektedir. Su taşkını stresi ortadan kalktıktan sonra bitki, hızlı bir şekilde yeni yapılar oluşturup döller vererek ortamı tekrardan kolonize etmektedir. Bitkilerin bu iki farklı davranış göstermelerinin altında fizyoekolojik sebepler yatmaktadır. Kaçış stratejisini seçen bitkiler genellikle sık ve sığ su taşkınlarının görüldüğü habitatlarda yaşayan bitkilerken, sessizlik stratejisini sergileyen bitkiler periyodik fakat derin su taşkınlarının görüldüğü habitatlarda yaşamaktadır (Voesenek ve Bailey-Serres, 2009; Akman ve ark., 2014).



Şekil 2.4. Su taşkını dayanım stratejileri (Voesenek ve Bailey-Serres, 2009'dan modifiye edilmiştir)

2.2.2. Su Taşkınının Bitki Gelişimi Üzerine Etkileri ve Bitkilerin Su Taşkını Stresine Adaptasyonları

Tarımsal bitkilerin ve yabani bitkilerin çoğu, su altında zayıf gaz değişimi, enerji ve karbohidrat metabolizmaları bozulması nedeni ile su taşkını streslerine tolerans gösteremezler. Su taşkını stresine maruz kalan birçok bitkinin büyümesinde önemli azalmalar meydana gelmekte ve hatta bitkilerin yaşamlarını devam ettiremedikleri belirtilmektedir. Su taşkını stresi altında kök uçlarının oksijenlenmesi, kök uzamasına

ve toprak içine gelişiminin devam etmesi için çok önemlidir, çünkü su taşkını sırasında kökün gelişme ortamında hipoksi koşulu oluşur. Bunun sebebi, atmosferdeki ve sudaki kısmi oksijen basıncının farklı olması ve köklerin atmosferik kısmi oksijen basıncının mevcut olduğu ortamında gaz alışverişi yapmaya evrimleşmiş olmalarıdır (sucul ve yarı sucul ortamda yetişen bitkiler hariç). Karasal yaşama uyum sağlamış bitkilerde su taşkınlarına karşı bazı adaptasyonlar gelişmiştir. Bu adaptasyonlardan ilki **radyal oksijen kaybı** "ROL (ROL:radial oxygen loss)" bariyeridir (Colmer ve ark., 1998). Bazı bitki türleri, kök uçlarını oksijenlendirmek ve oksijenin toprağa difüzyonunu önlemek (oksijen sızıntısını) için hipodermiste süberinleşme ile bir bariyer (hipodermal süberinleşme) oluştururlar (Şekil 2.5.). Bu süberinleşmede bir ABC taşıyıcısı olan RCN1/OsABCG5, süberinin öncüsü olan malik asidi hipodermise taşır. Buğdayda ROL bariyerinin özellikleri ve işleyişinin su taşkını stresine karşı tolerans geliştirmek için büyük öneme sahip olduğu bildirilmektedir (Striker, 2012).



Şekil 2.5. Köklerdeki iki farklı radyal oksijen kaybı (ROL) modeli (Striker, 2012'ten modifiye edilmiştir)

İkinci olarak ROL bariyerinin yokluğu veya ince olması nedeni ile oksijen sızıntısının engellenememesi, kök boyunca oksijenin toprağa difüze ederek yitilmesi durumunda gaz difüzyonu için aerenkimaların (havalandırma parankiması) oluşumudur (Striker, 2012). Böylece, kök apeksinin oksijensiz kalmaması sağlanmaktadır. Gaz difüzyonunun sağlanamaması sonucu oluşan stresi bertaraf edebilmek için bitkiler etilen hormonunun korteks parankimasındaki programlı hücre ölümü sinyalini başlatması ile birlikte kortikal aerenkima denilen gaz difüzyonunun sağlandığı odacıkları oluşturmaktadır (Voesenek ve Bailey-Serres, 2015). Ayrıca, ROL bariyer kökün ucunda yer almaz ve bu kısımda oksijen toprağa difüz ederek aerobik bir bölge oluşturur. Bu aerobik bölgede toksik maddeler (Fe⁺², Mn⁺² gibi) oksitlenir ve detoksiffiye edilir (Striker, 2012; Ejiri ve ark., 2021).

Bitkiler, su taşkını sırasında oluşan mekanik strese ve hipoksi koşullara gövdede adventif kök, hipertrofik lentisel ve kaçış stratejisini devreye sokarak yanıt vermektedir (Şekil 2.6.). Adventif kökler, su taşkını döneminde bitkiye hem destek sağlamakta hem de kökün gaz difüzyonu görevine destekte bulunmaktadır.



Şekil 2.6. Su taşkını altındaki derin su pirincinde adventif kökler (Pedersen ve ark., 2021)

Adventif kök oluşumunda etilen ve oksin (IAA) hormonu birlikte çalışmaktadır (Veloccia ve ark., 2016). Yapılan bir çalışmada oksin taşıma inhibitörü olan naftalenasetik asit (NPA) ile muamele edilmiş ve hipoksi koşul oluşması için durgun oksijensiz besin çözeltisi [stagnat deoxygenated nutrient solution (SDNS)] bulunan ortamda bitkiler büyütülmüş ve NPA ile muamele edilmiş grupların SDNS ortamında

adventif kök oluşumunun baskılandığı gözlemlenerek oksinin adventif kök oluşumunda rolü olduğu saptanmıştır (McDonald ve Visser, 2003). Yapılan başka bir çalışmada ise su taşkını uygulanan domates bitkilerinin ayrıca amino-etoksi-vinil-glisin (AVG) uygulanmış gruplarında adventif kök oluşumunun baskılandığı gözlenmiştir (Vidoz ve ark., 2010). Oksin adventif kök primordiyumlarındaki mitotik aktiviteyi sağlarken, etilen adventif kök primordiyumlarının dışa doğru uzaması ve genişlemesi için dışa doğru bakan hücrelerde programlı hücre ölümünü teşvik ettiği bildirilmektedir. Dolayısıyla adventif kök oluşumu için bu iki bitki hormonunun (oksin ve etilen) çalışması önemlidir.

Köklerin tamamen sular altında kaldığı dönemlerde gaz difüzyonunun sekteye uğraması sonucu bitkilerin gövdelerinde sonradan oluşturduğu ve gaz difüzyonuna katkı sağlayan hipertrofik lentiseller olarak adlandırılan lentiseller meydana gelmektedir. Hipertrofik lentisellerin oluşmasında programlı hücre ölümü sürecinin sinyal iletimi etilen hormonu ile düzenlenmektedir (Shimamura ve ark., 2010).

Su taşkını sırasında kaçış stratejisini sergileyen bitkilerde hızlı bir büyüme/uzama gözlenmektedir. Bu süreç yine hormonal yolla düzenlenmektedir (Şekil 2.7.): Etilen hormonu, hem absisik asit 8-hidroksilaz (ABA8ox) enzim aktivitesinin artışını sağlayarak hücresel ABA miktarını azaltmakta ve dolaylı olarak GA miktarının artışını sağlamakta, hem de ETHYLENE INSENSITIVE 3 (EIN3) transkripsiyon faktörünü arttırır ve EIN3, SK1 ile SK2 (SNORKEL1 ve 2) genlerinin ileri regülasyonunu sağlayarak GA miktarının artışına neden olmaktadır. Bu iki yol ile su baskını stresi sırasında bitkilerde hızlı boy uzaması gerçekleştirilebilmektedir. Ayrıca etilen, SUBMERGENCE1A (SUB1A) geninin ileri regülasyonunu sağlayarak dolaylı yoldan SLENDER RICE 1 (SLR1) ve SLENDER RICE-LIKE 1 (SLRL1) genlerinin de düzenlenmesini sağlamaktadır (Şekil 2.7.). Bu gen regülasyonu sonucu oluşan yanıtta GA miktarı baskılanmaktadır ve böylece boy uzaması azalmaktadır (Voesenek ve Bailey-Serres, 2015).

Yaprakların su taşkınına verdiği en hızlı yanıtlardan biri olan yaprak sapındaki uzamaya hiponastik büyüme denilmektedir. Hiponastik büyüme, bitkilerde bilinen ve fenolojiye yansıyan en hızlı (6 saat gibi kısa bir sürede) yanıtlardan biridir (Striker, 2012). Bu cevabın oluşması bir dizi hormonun metabolik regülasyonu sonucu gerçekleşmektedir. İlk olarak etilen, absisik asidin inaktif hale gelmesini sağlayan

ABA-8-hidroksilaz (ABA8ox) artışı için bir takım sinyaller oluşturarak ve absisik asit biyosentez yolağında öncül olan 9-cis-epoksikarotenoid dioksijenaz (NCED) ifadesini baskılayacak sinyaller oluşturarak hücre içi absisik asit konsantrasyonunu düşürmektedir. Böylece, hücre içindeki GA ile ABA arasındaki antogonist ilişkisi üzerinden ABA'yı baskılayıp dolaylı olarak GA artışına yol açmaktadır. Sonuç olarak hiponastik büyüme yanıtı etilen, GA ve IAA hormonlarının tetiklediği bir dizi sinyal yolağı ile oluşmaktadır (Voesenek ve Bailey-Serres, 2015).





Bitkilerde genel stres cevaplarından biri olan erken çiçeklenme davranışı, su taşkını stresinde de görülmektedir. Stresin düzeyine bağlı olarak bitkiler çiçeklenmeyi iki sendroma bağlı olarak gerçekleştirmektedir. Bunlardan birincisi **düşük oksijenden kaçış sendromu** [low oxygen escape syndrome (LOES)]'na sahip bitkiler, çiçeklenme ve meyve oluşumunun gerçekleşeceği aksamlarını su seviyesinin üstünde tutarak erken çiçeklenmeye gitmektedir. İkincisi ise **düşük oksijene sessiz kalma sendromu** [low oxygen quiescence syndrome (LOQS)]'na sahip bitkiler, stres koşulları geçene kadar bir nevi vejetatif dormansiye girmektedir. Metabolik

aktivitelerini minimuma indirerek stres koşullarının geçmesinin ardından kalan tüm enerjisini üremeye harcamaktadır. Her iki sendromda da oluşan reaktif oksijen türlerinin uzaklaştırılması ve fotosentetik aktivitenin yeniden kazanılması ile homeostaza dönüş, çiçeklenme ile tohuma gitme için önemli olmaktadır (Voesenek ve Bailey-Serres, 2015).

2.2.3. Su Taşkını ve Fotosentez

Su taşkını, bitkilerin çeşitli metabolik yollarını olumsuz yönde etkileyerek hasarlara yol açmaktadır. Bu metabolik yolların en önemlilerinden birisi, fotosentetik işlevdir. Stres koşullarında fotosentetik etkinliği devam ettirebilme yeteneği bitkilerin strese karşı toleransında önemli etkenlerden biridir. Su taşkını strese altında düşük ışık şiddeti, sınırlı CO₂ konsantrasyonu, düşük elektron transportu ve karboksilasyon kapasiteleri bitkilerin fotosentetik etkinliğini büyük ölçüde engellemektedir (Mommer ve ark., 2005). Ayrıca; bitkiler, su taşkını altında transpirasyonla su kaybını azaltmak üzere stomalarını hızla kapatarak, yaprağa giren CO₂'i sınırlandırılmakta (Chaves, 1991; Cornic, 2000; Chaves ve ark., 2009; Else ve ark., 2009) ve bu durum da fotosentetik aktivitede azalmaya neden olmaktadır. Fotosentetik aktivitedeki azalma, stomatal veya stomatal olmayan sınırlamaların bir sonucudur (Mahajan ve Tuteja, 2005; Chaves ve ark., 2009). Stresin, ışığın yakalanması ve kullanımı arasındaki bir dengesizliğe bağlı olarak dokularda fotosentetik aktiviteyi inhibe ettiği bildirilmektedir (Foyer ve Noctor, 2008; 2009). Su taşkınlarının bitkilerin klorofil a, klorofil b ve karotenoid gibi fotosentetik pigmentlerin ifadesini olumsuz yönde etkilediği Brassica rapa ssp. pekinensis ile yapılan çalışmada gösterilmiştir (Sola ve ark., 2021). Su taşkınının bir etkisi de Calvin Döngüsünün anahtar enzimi olan RubisCO'nun baskılanmasıdır. RubisCO'yu hem rbcL/rbcS geninin (RubisCO ekspresyon genleri) ifadesini baskılayarak hem de sistein proteazların (RubisCO'yu alt birimlerine ayırıp inaktif hale getiren enzimler) ifadesini artırarak hücresel düzeyde azaltıp fotosentezi yavaşlatmaktadır (De Pedro ve ark., 2020).

2.2.4. Su Taşkını ve Savunma Sistemi

Antioksidant cevapların oluşmasındaki başlıca etkenlerden biri abiyotik stres sonucu meydana gelen fotosentetik ve biyokimyasal süreçlerin aksamasıdır. Fotosistemlerin inhibisyonu, yüksek enerjili elektronların moleküler oksijene (O₂) aktarılması ile reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumuna neden olup, tilakoid membranlarda

peroksidasyonlara yol açabilmektedir. Çevresel streslerin ortak bileşeni aslında hücrelerin farklı bölümlerinde ROS'ların aşırı üretimidir (Smirnoff, 1993; Chaves ve ark., 2009; Mittler, 2017) ve bu aşırı üretim, membranların peroksidasyonlarının yanı sıra DNA, protein ve enzimlerin denatürasyonlarına neden olan oksidatif stresi meydana getirir. Bitkiler, oksidatif stresin etkilerinden korunmak için birçok savunma mekanizmaları geliştirirler. Bu mekanizmalarından en önemlileri, ROS uzaklaştırıcı sistemler ve fotokimyasal yol ile aşırı eksitasyon enerjisinin ısı olarak dağıtıldığı ışık koruyucu mekanizmalardır. Su taşkını ile indüklenen ROS oluşumuna karşı bitkilerin savunma sistemlerini çalıştırdığını ve antioksidanları biriktirdiğini rapor eden araştırmalar literatürde yer almasına rağmen (Yordanova ve Popova, 2007; Yao ve ark., 2017; Zhai ve ark., 2020), hala sınırlı sayıdadır. Yapılan bir su baskını çalışmasında 0, 3, 7, 15, 30, 60, 90, 120 ve 150 gün su baskınına maruz kalan Cynodon dactylon bitkilerinde 3. günden itibaren APX, CAT, GR, POD ve SOD gibi antioksidant enzimlerin aktivasyonunda anlamlı artış görülmeye başlamıştır ve stres süresi uzadıkça bu aktivasyonun artışında da paralel olarak artış görülmüştür (Tan, Zhu ve Zhang, 2010). Bitkilerin su baskınına karşı verdiği antioksidant yanıtlar belirlenmişken, su taşkınına karşı yapılan antioksidant yanıt çalışmaları sınırlı olup elde edilen bilgiler hala yeterli değildir (Khan ve ark., 2020).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Bitki Materyali

Tez kapsamında materyal olarak Soya (*Glycine max* (L.) Merr.) bitkisinin su baskınına karşı farklı dayanıma sahip iki genotipi [dayanıklı, Cinsoy ve hassas, Traksoy çeşitleri (Nashat ve ark., 2021)] kullanılmıştır. Cinsoy genotipi Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden (Tescil tarihi: 15.04.2010) Traksoy genotipi ise Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden (Tescil tarihi: 31.03.2015) temin edilmiştir.

3.2. Bitki Yetiştirme Yöntemi ve Deney planı

Genotiplere ait tohumlar 15*20cm'lik çimlendirme kabında ½ seyreltilmiş Hoagland besin çözeltisi (Çizelge 3.1.) ile ıslatılmış iki katlı filtre kağıdının üzerine 30 adet tohum belirli aralıklarla konularak, 7 gün boyunca 25±1°C sıcaklık, 16 saat aydınlık/8 saat karanlık fotoperiyot, 200 µmol m⁻²s⁻¹ ışık şiddeti ve %45-55 nem koşullarındaki kontrollü iklim kabininde rastgele deneme deseninde çimlenmeye bırakılmıştır. Çimlenme sürecinde belirli aralıkla besin çözeltisi verilmiştir.

	Elementler	Reçete miktarı
ntler	Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	0.821 g.L ⁻¹
leme	KNO ₃	0.506 g.L ⁻¹
tro el	KH ₂ PO ₄	0.136 g.L ⁻¹
Mak	MgSO ₄ .7H ₂ O	0.120 g.L ⁻¹
Ļ	MnCl ₂ .4H ₂ O	1.80 g.L ⁻¹
entle	H ₃ BO ₃	2.9 g.L ⁻¹
elem	ZnCl ₂	0.12 g.L ⁻¹
likro	CuCl ₂ .2H ₂ O	0.05 g.L ⁻¹
2	FeEDTA	0.02 mM

Çizelge 3.1. Hoagland besin çözeltisi içeriği

Tez denemelerinde yetiştirme ortamı olarak torf, perlit, vermikülit ve kum kültürleri su baskını stres uygulamalarında kullanılmak üzere test edilmiş, bu ortamlardan sadece

kum kültürü suyun kaldırma kuvvetini yenerek su ile birlikte yükselmeyip bitkilerin tutunabileceği bir ortam sağlaması nedeni ile yetiştirme ortamı olarak kullanılmıştır. Yedi gün boyunca çimlenme kaplarında çimlendirilmiş fideler, yedinci günün sonunda 150 g silis kumu (akvaryum kumu) içeren 6*6*9 cm boyutlarına sahip saksılara (2'şer birey) aktarılmış ve Hoagland besin çözeltisi ile sulanarak kontrollü iklim dolabında 3 gün yetiştirilmiştir. Daha sonra 10 günlük bitkiler 4 gün boyunca (Yapılan ön çalışmalarla 5.gün tam batık uygulama grubu yapraklarında çürümeler görülmüştür, bu yüzden stres 4 gün olarak belirlenmiştir) yarı (YB) ve tam batık (TB) su baskınına maruz bırakılmıştır (Şekil 3.1 ve 3.2). On dört günün sonunda bitkiler çeşitli morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal analizler yapılmak üzere hasat edilmiştir (Şekil 3.3.). Uygulama gruplarına ait rumuzlar Çizelge 3.2.'de verilmiştir.





Çizelge 3.2. Deney gruplarına	ait rumuzlar ve	açıklamaları
-------------------------------	-----------------	--------------

Rumuz	Açıklama
С	14 günlük kontrol grubu bitkileri
YB	10 gün kontrol koşullarında büyütülmüş ve 4 gün boyunca yarı batık
	su baskını stresine maruz kalmış stres grubu
ТВ	10 gün kontrol koşullarında büyütülmüş ve 4 gün boyunca tam batık
	su baskını stresine maruz kalmış stres grubu



Şekil 3.2. Uygulamalardan genel görüntü



Şekil 3.3. Cinsoy ve Traksoy genotiplerinin 14 günün sonundaki genel görüntüsü

3.3. Ölçümler ve Analizler

3.3.1. Morfolojik Ölçümler

3.3.1.1. Sürgün ve Kök Uzunluğu Ölçümü

Kontrol ve su baskını stresi (yarı ve tam batık) maruz bırakılan soya genotiplerine (Cinsoy ve Traksoy) ait 10 bitkinin kök-sürgün ayrımından en son yaprağın çıktığı noktaya kadar olan uzunlukları ölçülerek sürgün uzunluğu (cm. bitki⁻¹), kök-sürgün ayrımından kök ucuna kadar olan uzunluk ölçülerek de kök uzunluğu (cm. bitki⁻¹) belirlenmiştir.

3.3.1.2. Yaprak Yüzey Alanı Ölçümü

Soya bitkilerinin uygulamalar sonunda elde edilen fotoğraf görüntülerinden ImageJ@ programı (Maloof ve ark., 2013) kullanılarak yaprak yüzey alanı (cm².bitki⁻¹) hesaplanmıştır.

3.3.1.3. Yaş ve Kuru Ağırlık (Biyokütle) Ölçümleri

Cinsoy ve Traksoy genotiplerine ait bitkilerinin uygulamalar sonrası yaş ağırlıkları tartılarak (gr. bitki⁻¹) kaydedildikten sonra, 80°C'lik etüvde 48 saat kurutulup yeniden tartılmasıyla kuru ağırlıkları (gr.bitki⁻¹) belirlenmiştir.

3.3.2. Fizyolojik ve Biyokimyasal Ölçümler

3.3.2.1. Oransal Su Kapsamının Ölçümü

Kontrol ve farklı şiddetteki su taşkını uygulamalarında maruz bırakılan bitkilerin yaprak dokularının oransal su içeriğini belirlemek üzere, yapraktan 1 cm'lik örnek (n= 5) alınıp tartılarak (taze ağırlık, TA) 5 ml distile su içeren falkon tüplere konulmuştur. Falkon tüpler, 24 saat oda sıcaklığında çalkalayıcıda çalkalanmış (100 rpm), sonra dokular tüplerden çıkarılıp tekrar tartılmıştır [hidrate (turgorlu) ağırlık, HA]. Daha sonra tartılan dokular, 80°C'lik etüvde 48 saat kurutularak kuru ağırlıkları (KA) kaydedilmiştir. Yaprak dokularındaki oransal su içeriği (%) Farrant (2000)'a göre hesaplanmıştır:

3.3.2.2. Fotosentetik Pigment Miktarının Belirlenmesi

Soya genotiplerinin yaprak dokularındaki klorofil (a+b) ve karotenoid (ksantofil+βkaroten) miktarları (mg. ml⁻¹cm-²) Lichtenthaler (1987)'a göre belirlenmiştir. Bu yöntemde kontrol ve uygulama gruplarına ait bitkilerin yaprak dokusundan her bir uygulama için 15 tekrarlı olacak şekilde yapraklar tartılarak ependorf tüplere aktarılmış ve üzerlerine 1 ml %100'lük aseton eklenmiştir. Örnekler bir hafta +4 C'de karanlıkta bekletilerek pigment içeriğinin asetona geçmesi sağlanmıştır. Ardından spektrofotometre (Shimadzu UV-Vis Double Beam) ile 470, 644.8 ve 661.6 nm dalga boylarında absorbanslar okunmuştur. Elde edilen bu verilere göre, pigment miktarlarları ve klorofil a/b belirlenmiştir. Pigment miktarları aşağıdaki formüllere göre hesaplanmıştır;

Klorofil a (kl.a) = $(11.24 * A_{661.6}) - (2.04 * A_{644.8})$ Klorofil b (kl.b)= $(20.13 * A_{644.8}) - (4.19 * A_{661.6})$ Toplam klorofil (kl a+b) = $(7.05 * A_{661.6}) - (18.09 * A_{644.8})$ Karotenoid (x+c) = [(1000 * A₄₇₀) - (1.9 * kl.a)- (63.14 * kl.b)] / 214

3.3.2.3. Malondialdehit (MDA) ve Hidrojen Peroksit (H_2O_2) Miktarının Belirlenmesi

Yaprak dokularındaki membran hasarının son ürünü olan malondialdehit (MDA) miktarı ile oksidatif stres sonucu oluşan ve bir aktif oksijen türü olan hidrojen peroksit (H_2O_2) 'in miktarı Esterbauer ve Cheeseman (1990)'ın metodu kullanılarak belirlenmiştir. Kontrol ve uygulama gruplarındaki bitkilerden alınan 0.1 g yaprak örneği 4 ml %0.1 trikloroasetik asit (TCA) ile 4°C'de homojenize edilmiştir. Homojenat 10000 rpm'de 15 dk santrifüj edilmiştir ve elde edilen süpernatandan aşağıda belirtilen yöntemler izlenerek MDA ve H_2O_2 miktarı belirlenmiştir:

MDA miktarını belirlemek için cam tüpe alınan 0.5 ml süpernatanın üzerine 1 ml TCA-TBA-HCI (%15 trikloroasetik asit, %0.375 tiobarbitürik asit, 0.25 N HCI) çözeltisi ve 0.5 ml pH'sı 7.6 olan 0.1 M tris/HCI tamponunundan eklenmiştir. Reaksiyon karışımı, 97°C'lik su banyosunda 45 dk reaksiyona sokulmuştur ve buradan çıkarılan tüpler buz banyosuna konularak reaksiyon durdurulmuştur. Bu işlemden sonra reaksiyon karışımı 10000 rpm'de 5 dk santrifüjlenip spektrofotometrede (Spektro UV-Vis Double Beam PC) 532 ve 600 nm dalga boylarında absorbans değerleri okunmuştur. Yaprak dokularındaki MDA miktarı nmol g T.A⁻¹ olarak belirlenmiştir.

 H_2O_2 miktarını belirlemek için cam tüpe alınan 0.5 ml süpernatanın üzerine 0.5 ml pH'sı 7.6 olan 0.1 M Tris/HCI tamponu ve 1 ml 1 M KI eklenmiştir. Reaksiyon karışımı 90 dk karanlıkta bekletilmiştir ve spektrofotometrede (Spektro UV-Vis Double Beam PC) 390 nm dalga boyunda absorbans değerleri okunmuştur. Yaprak dokularındaki H_2O_2 miktarı µmol g T.A^{.-1} olarak belirlenmiştir.

3.3.2.4. Fotosentetik Aktivite Ölçümü

Bitkilerin, portatif Fluoresans Ölçüm Cihazı (HandyPEA, Hansatech Ltd.) ile polifazik klorofil a fluoresans ölçümleri gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.4.). Polifazik klorofil a fluoresans verileri, tilakoid zarlardaki enerji akışı teorisini temel alan JIP-Testi ile biyofiziksel parametrelere çevrilerek, fotosistemlerin durumu, fonksiyonu ve yapısı hakkında oldukça detaylı bilgiler elde edilmesini sağlamaktadır.

Su baskını stresine maruz kalan bitkiler ile bunların kontrol grubundaki bitkilerden örneklenen yapraklar, yaprağa özel yaprak klipslerinin üstten tutturulmasıyla 30 dk karanlığa adapte edilmiştir ve tekrarlı (n=3*10) ölçüm yapılmıştır. Fluorometre, ışık reaksiyonları sürecini kırmızı ışıkla (maximum 650 nm'de emisyon) uyarır ve 685 nm

üzerindeki fluoresansı algılar. Ölçümler; 3 adet düzenli ışık yayan diyodun ürettiği bir saniyelik tek güçlü ışık pulsu (3000µmol m⁻² s⁻¹, tüm PSII reaksiyon merkezlerinin kapanması için yeterli olan eksitasyon şiddeti) ile 4 mm'lik yaprak alanında gerçekleştirilmiştir. Hızlı fluoresans kinetikleri (minimum fluoresans, F_o - maksimum fluoresans, F_M) 10 µs'den 1 s'ye kadar kaydedilmektedir ve 20 µs'de kaydedilen fluoresans şiddeti minimum fluoresans (F_o) olarak kabul edilmektedir (Strasser ve Strasser, 1995). Fotosentetik örneğin fizyolojik durumunu belirlemek için bir saniyelik ışıma sırasında belirlenen altı zaman noktasından elde edilen veriler, Biolyzer HP3 programı ile analiz edilmiştir. Analiz sonucunda elde edilen JIP-Testinin bazı parametreleri Çizelge 3.3'de verilmiştir.



Şekil 3.4. A) HandyPEA cihazının genel görünümü, B) Biolyzer HP3 programında analiz görüntüsü, C) JIP-Testinin şematik bir sunumu D) Fotosentetik materyaldeki tipik polifazik klorofil *a* fluoresans yükselişi ve fotosentetik aparattaki süreçler E) JIP-Test sonuçlarının grafiksel sunum türü (radar ve membran ile yaprak modelinde pipe-line) örnekleri (Tóth ve ark., 2005; Strasser ve ark., 2010'dan modifiye edilmiştir).
Çizelge 3.3. OJIP testte kullanılan bazı terimlerin, tanımlamalarının ve formüllerinin özeti (Strasser Tsimilli-Michael ve Srivastava, 2004; Tsimilli-Michael ve Strasser, 2008; Strasser ve ark., 2010; Çiçek ve ark., 2012; Guha, Sengupta ve Reddy, 2013)

Teknik ve hesaplanan fluoresans parametreleri						
$F_{O} \equiv F_{20\mu s}$	Minimum fluoresans intensitesi (O basamağı); PSII'nin tüm reaksiyon merkezleri açık					
<i>F_K</i> ≡ <i>F</i> _{300µs}	300 μs'deki fluoresans intensitesi					
$F_J \equiv F_{2ms}$	2 ms'deki fluoresans intensitesi (J basamağı)					
$F_{I} \equiv F_{30ms}$	30 ms'deki fluoresans intensitesi (I basamağı)					
F _P ≡ F _M	Maksimum fluoresans intensitesi (P basamağı); PSII'nin tüm reaksiyon merkezleri kapalı					
M ₀ (dV/dt) ₀	$4(F_{300\mu s} - F_0)/(F_M - F_0)$ Relative değişken klorofil fluoresans eğrisi V _t ($F_0 \equiv F_{20\mu s} i cin$)'nin tahmini başlangıç eğimi (ms-1'deki) veya fotokimyanın başlangıç hızı					
V _J	$(F_J - F_0)/(F_M - F_0)$ Fluoresansın indüklediği eğride J basamağında relatif değişken flüoresans					
Vı	$(F_{\Gamma}F_{O})/(F_{M}F_{O})$ Fluoresansının indüklediği eğride l basamağında relatif değişken flüoresans					
SFI _(abs)	PSII'nin yapısal ve fonksiyonel durumunu belirten indikatör					
Spesifik akışlar- Her bir reaksiyon merkezi başına enerji akışları						
ABS/RC	M _o (1/V _J) (1/φ _{Po}) Reaksiyon merkezi (RC) başına absorbsiyon (PSII anten klorofilleri için); t= 0'da absorplanan enerji akışı veya ortalama anten büyüklüğü					
TR ₀ /RC	M o (1/V J) t= 0'da yakalanan enerji akışı (reaksiyon merkezi başına)					
ET₀/RC	$M_o(1/V_J) \psi_o t= 0$ 'da elektron transportu (reaksiyon merkezi başına)					
DI ₀ /RC	(ABS/RC) - (TR _o /RC) t= 0'da yayılan enerji akışı (reaksiyon merkezi başına); Fotokimya dışında kaybedilen enerji					
RE₀/RC	M _o (1/V _J)(1−V _I) RC başına Q _A ⁻ 'dan PSI son elektron alıcılarına elektron transportun kuantum verimi					
Fenomenolojik akışlar-Ölçüm yapılan yaprak alanı bazında enerji akışları						
ABS/CS ₀	t= 0'da absorplanan enerji akışı					
TR ₀ /CS ₀	φ _{Po} (ABS/CS _o), t= 0'da yakalanan enerji akışı					
ET ₀ /CS ₀	φ _{PO} .ψ _O .(ABS/CS _O), t= 0'da elektron transportu					
DI ₀ /CS ₀	(ABS/CSo) – (TRo/ CSo), Bir PSII'de fotokimya dışında kaybedilen enerji					
Performans indeksleri ve bileşenleri						
RC/ABS	Reaksiyon merkezi başına PSII anten klorofilleri tarafından indirgenen Q _A miktarı					
$\varphi_{PO}/(1 - \varphi_{PO})$	Primer fotokimyasal reaksiyonun etkinliğinin göstergesi					
$\psi_0/(1-\psi_0)$	Sistemden ayrılan elektronların sistemde biriken elektronlara oranı					
δR ₀ /(1-δR ₀)	İndirgenen PSI son elektron alıcılarının kuantum verimi					
Pl _{abs}	$[\gamma_{RC}/(1 - \gamma_{RC})] \times [\phi_{PO}/(1 - \phi_{PO})] \times [\psi_O/(1 - \psi_O)]$ PSII tarafından foton absorbsiyonundan sistemler arası elektron alıcılarının indirgenmesine kadarki enerji korunumunun					

	performans indeksi (Potansiyel)
PI_{Top}	$[\gamma_{RC}/(1 - \gamma_{RC})] \times [\phi_{PO}/(1 - \phi_{PO})] \times [\psi_O/(1 - \psi_O)] \times [\delta_{RO}/(1 - \delta_{RO})]$ Toplam performans indeksi, PSI'in son elektron alıcısına kadar olan performans indeksi

3.3.2.5. Antosiyanin ve Flavonoid Miktarının Ölçümleri

Kontrol ve uygulama gruplarına ait bitkilerin yaprak dokularındaki antosiyanin içeriği Mancinelli ve ark. (1975)'na göre, flavonoid içeriği ise Mirecki ve Teramura (1984)'ya göre ölçülmüştür. Her bir uygulama 0.1 g taze yaprak örneğine 6 ml %79 metanol, 40 %20 distile su ve %1 HCI'den oluşan karışım eklenerek homojenize edilmiştir. Homojenat +4°C'de 10000 rpm'de 20 dk boyunca santrifüjlendikten sonra elde edilen süpernatandan aşağıda belirtilen metotlar takip edilerek antosiyanin ve flavonoid içeriği saptanmıştır:

Antosyanin içeriğini belirleyebilmek için, elde edilen süpernatanın spektrofotometrede (Shimadzu UV-Vis Double Beam) 530 ve 657 nm dalga boylarında absorbans değerleri kaydedilmiştir. Yaprak dokularındaki antosiyanin miktarları (ng ml⁻¹ g YA⁻¹) aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

Antosiyanin = A530 - (A657/3)

Flavonoid içeriğini belirleyebilmek için, elde edilen süpernatanın spektrofotometrede (Shimadzu UV-Vis Double Beam) 300 nm dalga boyunda absorbans değerleri okunmuştur. Yaprak dokularındaki flavonoid miktarı kontrole göre yüzde olarak hesaplanmıştır.

3.3.2.6. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Ölçümleri

3.3.2.6.1. Protein İçeriğinin Belirlenmesi

Glycine max kontrol ve uygulama gruplarına ait yaprak örneklerinin protein konsantrasyonları, Bradford (1976) yöntemine göre sığır serum albümini (BSA) standardı kullanılarak saptanmıştır. 20 µl örnek çözelti ile 480 µl distile su karıştırıldıktan sonra, karışıma 5 ml Bradford çözeltisi eklenmiştir. Vorteks ile yaklaşık 30 saniye homojen hale getirilen karışım oda sıcaklığında 10 dk inkübe edilmiştir. Çözeltinin absorbans değerleri spektrofotometrede (Shimadzu UV-Vis Double Beam) 595 nm dalga boyunda üç tekrarlı olacak şekilde okunmuştur.

3.3.2.6.2. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Belirlenmesi

SOD enzim (EC 1.15.1.1) aktivitesi, nitrobluetetrazolyum'un (NBT) fotokimyasal indirgenmesini esas alan yönteme göre 560 nm'de spektrofotometrik olarak belirlenmiştir (Beyer ve Fridovich, 1987). Yaklaşık 0.5 g taze doku, sıvı azotla

öğütüldükten sonra 100 mM K-PO₄ tamponu (pH 7.0), % 2'lik PVP (polivinilpirolidon) ve 1mM Na₂EDTA içeren ekstraksiyon çözeltisi ile homojenize edilmiştir. Bu karışım +4°C'de 14000 rpm'de 20 dakika santrifüjlendikten sonra ayrılan süpernatan kısmından alınmıs örnek, 50 mM fosfat tamponu (pH 7.8), 9.9 mM L-metiyonin, 57µM NBT ve % 1 Triton X-100 ile karıştırılmış ve reaksiyonu başlatmak için karışımın üzerine 10µL riboflavin ilave edilmiştir. Karıştırma işleminden sonra tüpler, 375 µmol.m⁻².s⁻¹ ışık yoğunluğunda 15 dakika boyunca floresan ışığına maruz bırakıldıktan sonra absorbans değerleri spektrofotometrede 560 nm dalga boyunda köre karşı okunmuştur. Toplam SOD aktivitesi Ünite/mg protein olarak hesaplanmıştır. Bir enzim ünitesinin aktivitesi, NBT redüksiyonunda % 50'lik bir inhibisyon yaratmak için gereken SOD miktarı Ünite/mg protein olarak tanımlanmaktadır.

3.3.2.6.3. Askorbat Peroksidaz (APX) Aktivitesinin Belirlenmesi

Askorbat peroksidaz (APX; EC 1.11.1.11) enzim aktivitesi Wang, Jiao ve Faust (1991)'nin metoduna göre belirlenmiştir. Kontrol ve stres gruplarına ait bitkilerden alınan taze yapraklar (0.25 g) sıvı azotta havanda ezildikten sonra 50 mM Tris-HCl (pH 7.2), %2 PVP, 1 mM Na₂EDTA ve 2 mM askorbat içeren 1.5 ml'lik süspansiyon çözeltisine eklenmiştir. Bu karışım +4°C'de 12000 rpm'de 20 dakika santrifüjlendikten sonra 75 µg protein içeren enzime 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 6.6), 2.5 mM askorbat ve 10 mM H₂O₂ ile son hacim 1 ml olacak şekilde ilave edilmiştir. H₂O₂'nin eklenmesi ile reaksiyon başlatılmıştır. Askorbatın okside olması nedeniyle askorbat konsantrasyonunda azalma görülmektedir. Bu azalma spektrofotometrik olarak 290 nm dalga boyundaki absorbans değerlerinin enzim özütü içermeyen reaksiyon çözeltisine karşılık kaydedilmesiyle değerlendirilmiştir. Toplam APX enzim aktivitesi, askorbatın ekstinksiyon katsayısı (2.8 mM.cm⁻¹) kullanılarak başlangıç hızından (nmol askorbat dak⁻¹ mg protein⁻¹) hesaplanmıştır.

3.3.2.6.4. Glutatyon Redüktaz (GR) Aktivitesinin Belirlenmesi

Rao, Hale ve Ormrod (1995)'un metodu ile belirlenen toplam glutatyon redüktaz (GR: EC 1.6.4.2) aktivitesi için uygulama ve kontrol gruplarına ait bitkilerin yaprak dokularından 0.25 g taze yaprak örneği sıvı azot ile ezildikten sonra üzerine 100 mM potasyum fosfat (pH = 7.0) ve 1 mM Na₂EDTA içeren 1.5 ml'lik çözelti eklenmiştir. Bu karışım 14000 g +4°C'de 20 dk santrifüjlenmiştir. Süpernatan enzim ölçümü için ayrılmıştır. Konsantrasyonu 100 mM olan potasyum fosfat tamponu (pH 7.8), 2 mM

Na₂EDTA, 0.5 mM GSSG, 0.2 mM NADPH ve 100 μg protein içeren enzim ekstraktı son hacim 1 ml olacak şekilde hazırlanmıştır. NADPH'nin ortama eklenmesi ile reaksiyon başlamış örnekler 340 nm'de spektrofotometre'de (Shimadzu UV-Vis Double Beam PC) okunmuştur. NADPH'ın enzimatik olmayan oksidasyonu için 340 nm dalga boyunda GSSG eklenmeyerek kaydedilen azalışla düzeltme yapılmıştır. Toplam GR aktivitesi NADPH'nin ekstinksiyon katsayısı (6.2 mM.cm⁻¹) kullanılarak enzimatik olmayan oksidasyon çıkarıldıktan sonra reaksiyon başlangıç hızından (μmol NADPH dak⁻¹ mg protein⁻¹) hesaplanmıştır.

3.3.2.6.5. Peroksidaz (POD) Aktivitesinin Belirlenmesi

Guaiakol peroksidaz (POD; EC 1.11.1.7) enzim aktivitesi Pütter (1974)'e göre belirlenmiştir. Yapraktan alınan örnekle ölçülen bu metotta reaksiyon karışımı 3 ml olup 100 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7.0), 20.1 mM guaiakol, 12.3 mM H_2O_2 ve enzim özütü içermektedir. Reaksiyon, enzim özütünün ilavesiyle başlatılmıştır ve 10 dk'lık süre içerisinde izlenmiştir. Toplam POD enzim aktivitesi, guaiakol'ün ekstinksiyon katsayısı (6.39 mM.cm⁻¹, 436 nm) kullanılarak reaksiyon başlangıç hızından (nmol H_2O_2 dak⁻¹ mg protein⁻¹) hesaplanmıştır.

3.4. Veri Analizi

Denemeler rastgele deneme desenine göre 10 tekrarlı ve her bir tekrarda 2 bitki olacak şekilde düzenlenmiştir. Denemelerde her bir değişken için kullanılan örneklem sayısı (n) ilgili ölçüm açıklamasında verilmiştir. Denemelerden elde edilen verilere, istatistik paket programı (SPSS, versiyon 20) kullanılarak tek yönlü varyans analizi (ANOVA) yapılmıştır. Analiz sonucunda her bir değişken için uygulamalar arasındaki istatistiksel olarak en küçük anlamlı önemli fark (Least Significant Differences; LSD) %5 düzeyinde hesaplanmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Dayanımları Farklı Soya Genotiplerinin Bazı Morfolojik Karakterleri Üzerine Su Taşkınının Etkileri

4.1.1. Sürgün ve Kök Uzunluğu Üzerine Etkisi

Su taşkını koşulları dayanımları farklı olan soya genotiplerinin gelişimini olumsuz etkilemiştir (Şekil 4.1A). Su taşkını stresine (yarı ve tam batık) maruz kalan dayanıklı Cinsoy ve hassas Traksoy genotiplerinin sürgün boyu ölçümleri yapılmıştır (Şekil 4.1B). Cinsoy genotipi için yarı batık uygulama grubunda kontrole göre sürgün uzunluğunda %6.5 oranında anlamlı azalma görülürken, tam batık uygulama grubunda bu azalma kontrole göre %20.6 oranında anlamlı bulunmuştur. Ayrıca, tam batık uygulama grubunda yarı batık uygulama grubuna göre sürgün uzunluğundaki bu azalma %15'ten daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Traksoy genotipinde ise yarı batık ve tam batık uygulama gruplarında kontrol grubuna göre sürgün uzunluğunda sırası ile yaklaşık %8.1 ve %18.2 oranında anlamlı azalmalar saptanmıştır. Cinsoy genotipindeki değişime benzer şekilde; tam batık uygulama grubunda yarı batık uygulama grubunda yarı batık uygulama grubunda yarı batık uygulama grubunda jore %11 oranında daha önemli bir azalma görülmüştür (P<0.05 Şekil 4.1B).

Su taşkınına maruz kalan Cinsoy ve Traksoy genotiplerinin kök uzunluğu da olumsuz etkilenmiştir (Şekil 4.1C). Cinsoy genotipinde yarı batık su taşkını koşulları, kök uzunluğunda kontrole göre %26.1 oranında azalmaya yol açarken, tam batık stres koşulları yaklaşık %40 düzeyinde anlamlı bir azalmaya neden olmuştur. Bunun yanı sıra, su taşkını (tam ve yarı batık) koşullarındaki Cinsoy bitkisinin kök uzunlukları arasındaki değişim önemli bulunmamıştır. Traksoy genotipinde yarı batık su taşkını kök uzunluğunda kontrole göre %21.6 oranında önemli düzeyde azalma meydana getirirken, tam batık su taşkın koşulu ise kontrole göre %38.7'lik anlamlı bir azalmaya yol açtığı belirlenmiştir. Ayrıca, bu genotipte tam batık su taşkını, yarı batık su taşkını koşuluna göre kök uzunluğunu daha fazla olumsuz yönde etkilediği (%21.8 oranında azalma, P<0.05) belirlenmiştir (Şekil 4. 1C).



Şekil 4.1. Su taşkını stresinin (yarı ve tam batık) soya genotiplerinin (Cinsoy ve Traksoy) gelişimi (A), sürgün (B) ve kök (C) uzunlukları üzerine etkisi (K, kontrol; YB, yarı batık; TB, tam batık) (Ortalama ± Standart Hata)

4.1.2. Yaş Ağırlık ve Kuru Ağırlık Üzerine Etkisi

Su taşkını stresi Cinsoy ve Traksoy genotiplerinin yaş ve kuru ağırlıklarında da değişimlere neden olmuştur. Her iki genotipte de sadece tam batık su taşkını uygulamalarının kontrole göre sırasıyla %10.7 ve %13.4 oranında yaş ağırlıklarında önemli düzeyde azalmalara yol açtığı belirlenmiştir (P<0.05 Şekil 4.2.).



Şekil 4.2. Su taşkını stresinin (yarı ve tam batık) soya genotiplerinin (Cinsoy ve Traksoy) yaş ağırlığı üzerine etkisi (Ortalama ± Standart Hata)

Su taşkını stresi genotiplerin biyokütlelerini olumsuz etkilemiştir. Her iki genotipte de yarı batık su taşkını koşulunda biyokütledeki azalma kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Buna karşın, her iki genotipte de tam batık stres koşulu, hem yarı batık (Cinsoy %13.2 ile Traksoy %11.5), hem de kontrol gruplarına (Cinsoy %19.2 ile Traksoy %19.4) göre biyokütlede anlamlı düzeyde azalmaya neden olduğu saptanmıştır (P<0.05 Şekil 4.3.).



Şekil 4.3. Su taşkını stresinin (yarı ve tam batık) soya genotiplerinin (Cinsoy ve Traksoy) kuru ağırlığı üzerine etkisi (Ortalama ± Standart Hata)

4.1.3. Yaprak Alanı Üzerine Etkisi

Su taşkını stresinin Cinsoy ve Traksoy genotiplerinin yaprak alanı üzerine olan etkisi incelendiğinde; yaprak boyutunu küçültüğü gözlenmiştir: Cinsoy ve Traksoy genotiplerinin yaprak alanlarında yarı batık uygulama koşulunun sırası ile %12.5 ve %28, tam batık uygulama koşulunun ise kontrole göre yaklaşık %60 düzeyinde anlamlı azalmaya sebep olmuştur (Şekil 4.4.). Bununla birlikte; tam batık su taşkını koşulu, yarı batık koşuluna göre daha şiddetli stres yarattığı meydana gelen değişimlerin büyüklüğü ile anlaşılmaktadır (P<0.05, Şekil 4.4.).

4.2. Dayanımları Farklı Soya Genotiplerinde Su Taşkınının Fizyolojik ve Biyokimyasal Değişkenler Üzerine Etkileri

4.2.1. Oransal Su Kapsamı Üzerine Etkisi

Su taşkını koşulları her iki soya genotipinin (Cinsoy ve Traksoy) yaprak oransal su kapsamını olumsuz yönde etkilemiştir (Şekil 4.5.). Her iki su taşkını koşulunda genotiplerin oransal su kapsamları, kontrollerine göre yaklaşık %6-12 düzeyinde azalmıştır (P<0.05 Şekil 4.5.). Bu azalmanın Traksoy genotipinde Cinsoy'a göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Tüm stres uygulamalarında bitkilerin oransal su kapsamı %75'in altına inmemiştir.



Şekil 4.4. Su taşkını stresinin (yarı ve tam batık) soya genotiplerinin (Cinsoy ve Traksoy) yaprak alanı üzerine etkisi (Ortalama ± Standart Hata)



Şekil 4.5. Su taşkını stresinin (yarı ve tam batık) soya genotiplerinin (Cinsoy ve Traksoy) yaprak oransal su kapsamı (%) üzerine etkisi (Ortalama ± Standart Hata)

4.2.2. Fotosentetik Pigment İçerikleri Üzerine Etkisi

Su taşkınları soya genotiplerinin fotosentetik pigment içeriğini farklı etkilemiştir. Her iki su taşkını koşulunda genotiplerin fotosentetik klorofil pigment içerikleri (klo a, b ve a+b) incelendiğinde; yarı batık su taşkının kontrole göre pigment birikimine neden olurken tam batık su taşkınının pigment kaybına yol açtığı ve bu etkininde istatistiksel

olarak anlamlı olduğu saptanmıştır (P<0.05, Çizelge 4.1.). Bununla birlikte tam batıklık koşulunda genotiplerin pigment içerikleri arasında genel olarak fark belirlenmezken, yarı batık koşulunda dayanıklı Cinsoy genotipindeki pigment birikiminin daha fazla ve anlamlı olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.1.).

Su taşkını stresine maruz kalan Cinsoy ve Traksoy genotiplerinin klorofil a/b oranları hesaplanmıştır. Her iki genotipin yarı batık uygulama grubunda klorofil a/b oranının arttığı ve bu artışların kontrollerine göre önemli olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1.). Cinsoy genotipinde tam batıklık koşulunda kontrol grubuna göre anlamlı bir düşüş saptanırken (P<0.05), Traksoy genotipindeki artış önemli bulunmamıştır (Çizelge 4.1.).

Su taşkını stresine maruz kalan Cinsoy ve Traksoy genotiplerinin karotenoid içeriği de klorofil içeriklerindeki değişimlere benzer bir yanıt sergilemiştir (Çizelge 4.1.) Soya genotiplerinin karotenoid içeriğindeki değişim yarı batık uygulama koşullarında kontrole göre istatistiksel olarak önemsiz olduğu, ancak tam batık uygulama koşullarında ise yaklaşık %41-45 düzeyinde önemli düzeyde azalmanın olduğu saptanmıştır. Ayrıca, genotipler tam batık uygulama grubunda yarı batık uygulama grubuna göre yaklaşık %46-48 oranında istatistiksel olarak önemli bir azalmaya yol açtığı tespit edilmiştir (P<0.05, Çizelge 4.1.).

Çizelge 4.1. Su taşkını stresinin (yarı ve tam batık) soya genotiplerinin (Cinsoy ve
Traksoy) fotosentetik pigment içerikleri (mg.ml ⁻¹ .g.YA ⁻¹) üzerine etkisi (Ortalama ±
Standart Hata)

Genotip	Uygulama	Klorofil a	Klorofil b	Toplam klorofil (a+b)	Klorofil a/b oranı	Toplam karotenoid (x+c)
Cinsoy	Kontrol	1.99±0.06	0.63±0.02	2.62±0.08	3.16±0.04	0.47±0.01
	Yarı batık	2.28±0.09	0.70±0.03	2.98±0.11	3.27±0.03	0.50±0.03
	Tam batık	1.16±0.08	0.38±0.03	1.54±0.11	3.04±0.05	0.26±0.02
Traksoy	Kontrol	1.84±0.07	0.57±0.02	2.41±0.09	3.21±0.03	0.44±0.02
	Yarı batık	2.09±0.08	0.63±0.03	2.72±0.10	3.31±0.04	0.46±0.02
	Tam batık	1.08±0.04	0.33±0.01	1.42±0.06	3.25±0.05	0.26±0.01
	LSD%5	0.18	0.056	0.23	0.10	0.049

4.2.3. Membran Bütünlüğü Üzerine Etkisi

Su taşkını koşullarında (yarı batık ve tam batık) her iki genotipin membran hasarının bir göstergesi olan malondialdehit (MDA) içeriğinde istatistiksel olarak önemli artışlar meydana gelmiştir (P<0.05, Şekil 4.6.). Cinsoy genotipinde yarı batık ve tam batık uygulama gruplarında kontrole göre sırası ile yaklaşık 1.4 ve 2.4 kat anlamlı artışlar belirlenmiştir. Traksoy genotipinde ise; MDA içeriği kontrole göre yarı batık uygulama grubunda yaklaşık 2 kat artarken, tam batık uygulama koşulunda 3.4 kat artış saptanmıştır ve bu artışlar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0.05, Şekil 4. 6.). Ayrıca her iki genotipin tam batık uygulama grubunda yaklaşık 1.6-1.7 kat anlamlı bir artış tespit edilmiştir (P<0.05, Şekil 4. 6.). Su taşkını stresi altında Cinsoy genotipi membran bütünlüğü Traksoy'a göre daha fazla koruyabilmiş ve dayanım sağlayabildiği görülmektedir.



Şekil 4.6. Su taşkını stresinin (yarı ve tam batık) soya genotiplerinin (Cinsoy ve Traksoy) yaprak dokusunun MDA içeriği üzerine etkisi (Veriler kontrole göre normalize edilmiştir)

4.2.4. Su Taşkınının Fotosentetik Aktivite Üzerine Etkisi

Yarı ve tam batık su taşkını soya genotiplerinin fotokimyasal etkinliğinde önemli değişimler meydana getirtiği saptanmıştır. OJIP polifazik klorofil fluoresans (ChIF) ölçümleri, en az 30 dk karanlığa adapte edilen kontrol ile su taşkını koşullarında (yarı ve tam batık) büyüyen bitkilerin yapraklarında yapılmıştır. Fluoresans geçişlerinin

(transient) analizi, fotosentetik aparattaki enerji akışları teorisi temel alınan JIP-Test ile yapılmıştır.

Su taşkını stresinin (özellikle tam batık su taşkını koşulu) soya genotiplerinin fotosentetik aktivitesini azalttığı, ölçülen fluoresans transientlerinden logaritmik zaman skalasında çizilen Kautsky grafiğinden (Polifazik klorofil fluoresans eğrisi) açıkça görülmektedir (Şekil 4.6.). Tam batık su taşkını özellikle J, I ve P noktalarında fluoresans eğrisinde azalmaya neden olmuştur (Şekil 4.7.). Tipik bir Kautsky eğrisi (OJIP eğrisi); O-J, J-I ve I-P olmak üzere üç temel fazdan oluşmaktadır ve eğrinin şekli fotosentetik örneğin fotosistemlerinin redoks durumundaki değişiklikler hakkında bilgi vermektedir (Strasser ve ark., 2004).



Şekil 4.7. Su taşkını stresi (yarı ve tam batık) altındaki soya genotiplerinin (Cinsoy ve Traksoy) Kautsky eğrileri (klorofil a fluoresans transientleri) (CN, Cinsoy; TRK, Traksoy; K, kontrol; YB, yarı batık; TB, tam batık)

Su taşkını stresi, özellikle tam batık su taşkını koşulu her iki soya genotipinde OJIP eğrilerinin şeklini ve genliğini kontrollerine göre belirgin şekilde etkilemiştir (Şekil

4.7.). Her iki genotipte de hem yarı, hem de tam batık su taşkınında QA'nın redoks durumu hakkında bilgi veren faz, O-J, fluoresans geçişinin (transient) arttığı saptanmıştır. Bununla birlikte, tam batık su stresi PSII'nin donör kısmını da olumsuz etkilemiştir (F_{K} 'da artış). O-J, fazındaki artış, yarı batık koşulda J-I ve I-P fazlarında devam ederken, tam batık su taşkını grubunda J-I yükselişinin (her iki genotipte de yaklaşık %33 azalma) ve I-P genliğinin kontrollerine göre oldukça azaldığı (Cinsoy'da yaklaşık %35, Traksoy'da %40) görülmektedir.

Su taşkını stresi (özellikle tam batık koşulu), iki soya genotipinin fotosistemlerinin davranışlarını ve fonksiyonlarını gösteren spesifik enerji akışlarında (ABS/RC, TRo/RC, ETo/RC ve DIo/RC) önemli değişikliklere neden olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.8.).

Su taşkını stresine maruz kalan Cinsoy ve Traksoy genotiplerinin reaksiyon merkezi başına absorplanan enerji akışı veya ortalama anten büyüklüğü (ABS/RC, t=0'da) kontrole göre önemli düzeyde artmıştır (P<0.05, Şekil 4. 8.). Her iki genotipin tam batık koşulunda ABS/RC'de istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış (Cinsoy'da yaklaşık %20, Traksoy'da %26) belirlenmiştir. Kontrol grubu ile yarı batık uygulama grubu arasındaki fark Cinsoy genotipinde anlamlı bulunmazken, Traksoy genotipinde önemli bulunmuştur (P<0.05, Şekil 4.8.).

Su taşkınına maruz kalan Cinsoy ve Traksoy genotiplerinin reaksiyom merkezi başına yakalanan enerji akışları (TRo/RC, t=0'da) ve elektron transportu (ETo/RC, t=0'da) ABS/RC'ye benzer bir trend sergilemiştir. Kontrol grubu ile yarı batık uygulama grubu arasındaki fark genel olarak Cinsoy'da bu parametreler istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken, Traksoy genotipinde değişim önemli bulunmuştur (P<0.05, Şekil 4.8.). Bununla birlikte, her iki soya genotipinin TRo/RC değerinin özellikle tam batık uygulama grubunda kontrole göre sırasıyla %13 ile %18 oranında anlamlı şekilde arttığı buna karşın, ETo/RC'deki değişim tüm uygulama gruplarında istatistiksel olarak önemli olmadığı tespit edilmiştir (P<0.05, Şekil 4.8.).

Su taşkını stresi koşullarında Cinsoy ve Traksoy genotiplerinin fotokimya dışında kaybedilen enerji (DIo/RC) miktarı önemli düzeyde artmıştır. Cinsoy genotipinin DIo/RC miktarı tam batık uygulama grubunda kontrol grubuna göre yaklaşık 1.5 kat anlamlı şekilde arttığı saptanırken (P<0.05), kontrol grubu ile yarı batık uygulama grubu arasındaki fark anlamlı bulunmamıştır (Şekil 4.8.). Traksoy genotipinde su

33

taşkını koşulları [yarı batık (%9,) ve tam batık(%54)] Dlo/RC miktarını kontrole göre önemli düzeyde arttırmıştır (P<0.05 Şekil 4.8.).



Spesifik Enerji Akışları (Membran Modeli)

Uygulamalar

Şekil 4.8. Su taşkını stresinin (yarı ve tam batık) soya genotiplerinin (Cinsoy ve Traksoy) fotosentetik aparattaki spesifik enerji akışları (membran modelde birim reaksiyon merkezi başına, RC) üzerine etkisi. Okların genişlikleri, parametrelerin nispi değerlerini temsil etmektedir. Enerji akışları; her bir reaksiyon merkezi başına absorplanan enerji (ABS/RC), yakalanan enerji (TRo/RC), elektron taşıma (ETo/RC) ve aşırı uyarılma enerjisinin ısı olarak yayılımını (Dlo/RC) göstermektedir.

Soya genotiplerinin su taşkını tipine bağlı olarak fenomenolojik enerji akışlarında da önemli değişimler meydana gelmiştir (Şekil 4.9.). Su taşkını stresine maruz kalan soya genotiplerinin ölçüm yapılan yaprak alanı başına absorplanan enerji akışı (ABS/CSo, t=0'da), yakalanan enerji (TR/CSo, t=0'da) ve elektron transportunun (ETo/CSo, t=0'da) tam batık su taşkını koşullarında kontrollerine göre önemli düzeyde azalmıştır (P<0.05, Şekil 4.9.). Kontrol grubu ile yarı batık su taşkını uygulama grubu arasındaki değişimler ETo/CSo hariç Cinsoy genotipinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken, Traksoy genotipinde ise ETo/CSo hariç artışlar önemli bulunmuştur (P<0.05, Şekil 4.9.).



Fenomenolojik Enerji Akışları (Yaprak Modeli)

Uygulamalar

Şekil 4.9. Su taşkını stresinin (yarı ve tam batık) soya genotiplerinin (Cinsoy ve Traksoy) fotosentetik aparattaki fenomenolojik enerji akışları (yaprak modelinde birim yaprak alanı başına, CSo) üzerine etkisi. Fenomenolojik enerji akış parametrelerini gösteren okların genişlikleri, parametrelerin nispi değerlerini temsil etmektedir. Enerji akışları; her bir yaprak alanı başına absorplanan enerji (ABS/CSo), yakalanan enerji (TR/CSo), elektron taşıma (ET/CSo) ve aşırı uyarılma enerjisinin ısı olarak yayılımını (DI/CSo) içermektedir. Siyah daireler inaktif, açık daireler aktif reaksiyon merkezlerini temsil etmektedir.

Su taşkını stres koşulları Cinsoy ve Traksoy genotiplerinin fotosentetik aparatlarında fotosistemlerden (PS) fotokimya dışında kaybedilen enerji (Dlo/CSo) artmasına yol açmıştır. Yarı batık koşullarda ısı şeklinde kaybedilen enerji kontrole göre sırası ile yaklaşık %3 ve %9 düzeyinde olurken, tam batık koşullarda bu kayıp (ısı kaybında artış) yaklaşık %13 ve %15 düzeyinde olduğu tespit edilmiştir. Su taşkını stresinin neden olduğu değişimler Cinsoy genotipinin yarı batık uygulama grubu hariç diğer tüm uygulamalarda kontrollerine göre anlamlı bulunmuştur (P<0.05, Şekil 4.9.).

Fotosistem II'nin fonksiyonelliği ve kararlılığını gösteren SFI_{ABS} (yapı-fonksiyon indeksi) değerinin hem yarı hem de tam batık su taşkını koşulunda Cinsoy ve Traksoy genotiplerinde kontrole göre anlamlı düzeyde azaldığı belirlenmiştir (P<0.05, Şekil 4.10.). Her iki genotipte de etkilenme, tam batık su taşkınında yarı batık su taşkına göre daha şiddetli bulunmuştur (%30-35 azalma).



4.10. Su taşkını stresinin (yarı ve tam batık) soya genotiplerinin (Cinsoy ve Traksoy) SFI_{ABS} üzerine etkisi (Ortalama ± Standart Hata)

Fotosentetik örnekte fotosistem II (PSII) tarafından absorbe edilen fotonların, sistemler arası elektron alıcılarının indirgenmesine kadar olan enerji korunumu (PI_{ABS}) ile PSI'in son elektron alıcısına kadar olan toplam performansını (PI_{TOTAL}) gösteren performans indeksleri de hesaplanmıştır. Cinsoy ve Traksoy genotiplerinin performans indekslerinde (PI_{ABS} ve PI_{TOTAL}); yarı batık uygulama grubunda kontrole göre sırası ile yaklaşık %13-16 ile %20-23 düzeyinde, tam batık su taşkınında ise sırası ile yaklaşık %50-53 ve %51-57 düzeyinde anlamlı azalma belirlenmiştir. (P<0.05, Şekil 4.11A-B).



Şekil 4.11. Su taşkını stresinin (yarı ve tam batık) soya genotiplerinin (Cinsoy ve Traksoy) performans indekslerinde (PI_{ABS}, A; PI_{TOTAL}, B) üzerine etkisi (Ortalama ± Standart Hata)

4.2.5. H₂O₂ İçeriği Üzerine Etkisi

Yarı ve tam batık su taşkınına maruz kalan Cinsoy ve Traksoy genotiplerinin H_2O_2 içeriğindeki değişimler belirlenmiştir. Cinsoy genotipinin H_2O_2 içeriği yarı batık uygulama grubunda kontrol ve tam batık uygulama grubuna göre sırasıyla yaklaşık olarak %20 ve %17 oranında istatistiksel olarak anlamlı bir artış belirlenmiştir (P<0.05, Şekil 4.12.). Buna karşın yarı batık uygulama koşulunda Traksoy genotipinin H_2O_2 içeriğindeki kontrole göre değişimin, Cinsoy genotipinin içeriğindekine göre daha yüksek olduğunu saptanmıştır. Yarı batık su taşkını koşulunda H_2O_2 miktarı kontrol ve tam batık uygulama grubuna göre sırasıyla yaklaşık %62 ile %45 oranında istatistiki olarak önemli düzeyde arttığı bulunmuştur (P<0.05, Şekil 4.12.). Genotiplerin kontrol ile tam batık uygulama grubu arasında saptanan değişimler önemli bulunmamıştır.



Şekil 4.12. Su taşkını stresinin (yarı ve tam batık) soya genotiplerinin (Cinsoy ve Traksoy) yaprak dokusundaki H_2O_2 içeriği üzerine etkisi (Ortalama ± Standart Hata)

4.2.6. Antosiyanin ve Flavonoid İçerikleri Üzerine Etkisi

Su taşkını stresi her iki soya genotipinde koruyucu pigmentler olan antosiyanin ve flavonoid içeriklerinde birikime neden olmuştur. Cinsoy genotipinde hem yarı hem de tam batık uygulama koşullarında antosiyanin içeriğindeki artışın kontrole göre sırasıyla yaklaşık %60 ile %31 düzeyinde önemli olduğu bulunmuştur (P<0.05, Şekil 4.13A.). Traksoy genotipinin tüm uygulama grupları arasında değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Yarı batık su taşkını koşulu her iki soya genotipinin de (Cinsoy ve Traksoy) flavonoid içeriğinin diğer gruplara göre yaklaşık %30 düzeyinde artışa (birikime) neden olmuştur (Şekil 4.13B.). Bu artışlar her iki genotip için istatistiksel olarak önemli bulunurken (P<0.05), kontrol ile tam batık su taşkını koşullarında meydana gelen değişimler anlamlı bulunmamıştır. Stres koşulları altında toleranslı Cinsoy genotipi Traksoy'a göre daha fazla antosiyanin ve flavonoid biriktirmiştir.





4.2.7. Toplam Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi

Su taşkını stresi Cinsoy genotipinde toplam süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesini kontrole göre önemli düzeyde artmasına neden olurken (P<0.05), Traksoy genotipinde kontrole göre istatistiksel olarak önemli bir değişime sebep olmadığı belirlenmiştir (Şekil 4.14.). Cinsoy genotipindeki SOD aktivitesinin kontrole göre; yarı batık uygulama grubunda yaklaşık 1.5, tam batık uygulama grubunda ise 2.9 kat arttığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.14. Su taşkını stresinin (yarı ve tam batık) soya genotiplerinin (Cinsoy ve Traksoy) yaprak dokularındaki toplam SOD aktivitesi üzerine etkisi (Ortalama ± Standart Hata)

4.2.8. Toplam Askorbat Peroksidaz (APX) Aktivitesi

Su taşkını stres koşullarının, soya genotiplerinin toplam askorbat peroksidaz (APX) aktivitesi üzerine farklı yönde etki yaptığı belirlenmiştir (Şekil 4.15.). Cinsoy genotipinin APX aktivitesi yarı batık uygulama grubunda kontrole göre yaklaşık 2 kat artarken, tam batık su taşkını koşulunda enzim aktivitesinde istatistiki olarak önemli bir değişim saptanmamıştır. Traksoy genotipinde su taşkını koşulları, APX aktivitesinin önemli düzeyde azalmasına (yarı batık, yaklaşık %23; tam batık %50) neden olmuştur (P<0.05, Şekil 4.15.).

4.2.9. Toplam Glutatyon Redüktaz (GR) Aktivitesi

Soya genotiplerinin toplam glutatyon redüktaz (GR) aktivitesi üzerine su taşkının etkisi SOD aktivitesininkine benzer olmuştur. Cinsoy genotipinin GR aktivitesi her iki su taşkını koşulunda anlamlı düzeyde artarken, Traksoy genotipinin enzim aktivitesindeki değişim ise istatistiki olarak önemli bulunmamıştır (Şekil 4.16.) Cinsoy genotipindeki toplam GR aktivitesinin kontrole göre; yarı batık uygulama grubunda yaklaşık 1.8, tam batık uygulama grubunda ise 2.4 kat arttığı saptanmıştır.



Şekil 4.15. Su taşkını stresinin (yarı ve tam batık) soya genotiplerinin (Cinsoy ve Traksoy) yaprak dokularındaki toplam APX aktivitesi üzerine etkisi (Ortalama ± Standart Hata)



Şekil 4.16. Su taşkını stresinin (yarı ve tam batık) soya genotiplerinin (Cinsoy ve Traksoy) yaprak dokularındaki toplam GR aktivitesi üzerine etkisi (Ortalama ± Standart Hata)

4.2.10. Toplam Peroksidaz (POD) Aktivitesi

Su taşkını stresi (hem yarı hem de tam batık) her iki soya genotipinin toplam peroksidaz (POD) aktivitesinin kontrollerine göre istatistiksel olarak önemli düzeyde

artmasına yol açmıştır (P<0.05, Şekil 4.17.). Cinsoy genotipinde enzim aktivitesi yarı ve tam batık uygulama grubunda kontrole göre sırası ile yaklaşık 3.6 ve 2.9 kat artarken, Traksoy genotipinde ise enzim aktivitesi sırası ile yaklaşık 1.4 ve 1.8 kat arttığı belirlenmiştir.



Şekil 4.17. Su taşkını stresinin (yarı ve tam batık) soya genotiplerinin (Cinsoy ve Traksoy) yaprak dokularındaki toplam POD aktivitesi üzerine etkisi (Ortalama ± Standart Hata)

5. TARTIŞMA

Su, tüm canlılık için olduğu gibi bitkiler için de yaşamın devamlılığını sağlamada gerekli bir yaşam sıvısıdır. Değişen iklim koşulları ile birlikte bitkiler ya ihtiyaç duyduğu optimal su miktarından azıyla yetinmek (kuraklık) ya da fazlasıyla mücadele etmek (su taşkını/baskını) durumunda kalmaktadır. Su taşkınları sınırlı solunuma neden olup enerji metabolizmasını azaltmakta, bu durum bitkinin maruz kaldığı gelişim evresine bağlı olarak büyüme ve gelişim süreçlerini sınırlandırmaktadır (Bailey ve Voesenek, 2008; He ve ark., 2022). Su baskınlarına maruz kalma süresi ve şiddeti stresin oluşturacağı hasarın büyüklüğünü belirleyen faktörlerin başında gelmektedir. Bu tez kapsamında iki farklı su taşkını (yarı batık ve tam batık) stresine maruz kalan soya genotiplerinin (Cinsoy ve Traksoy) morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal değişimleri ve bu değişimlere karşı oluşturulan yanıtları araştırılmıştır. Bitkiler, su baskını stresi koşullarına ya hızla sürgün boyunu artırarak ya da azaltarak cevap verebilirler. Bu cevapların oluşturulmasında çeşitli sinyal yolakları, gen regülasyonları ve enzimatik aktivasyonlar rol almaktadır.

Bu çalışmada, her iki genotipin (Cinsoy ve Traksoy) su taşkını koşullarında hem sürgün hem de kök uzunluğunun azaldığı saptanmıştır (Şekil 4.1A ve B). Bitkilerde toprak üstü kısmın (sürgün) gelişimi köklerle sağlanan besin maddelerine bağlıdır. Diğer taraftan da köklerin gelişimi için, sürgünlerden sağlanan fotosentez ürünleri çok önemlidir. Bu nedenle, stres altında kök ve sürgünlerin fonksiyonelliklerinin sürdürülebilmesi bitki büyüme ve gelişmesi için hayati öneme sahiptir. Bitkiler, su taşkını stresine maruz kaldığı zaman kökler tamamen su içinde bulunmakta ve hipoksi (oksijen azlığı) koşulu oluşmaktadır. Hipoksi koşullunun en tahrip edici sonuçlarından biri, pirüvatın trisiklik asit (TCA) döngüsüne girmesini engellemektir. TCA döngüsüne giremeyen pirüvat, fermentasyon sonucu laktata dönüşmekte ve ATP metabolizması sekteye uğramaktadır (Taiz ve ark., 2015). Çeşitli çalışmalarda hem su baskını, hem de hipoksi koşullarına yol açan kimyasallar ile muamele edilen bitkilerin kök uzunluğunun azaldığı saptanmıştır (Bai ve ark., 2010; Ventura ve ark., 2020). Su taşkını stresinin, orta derece düzeydeki strese karşılık gelebilecek, yarı batık koşuluna maruz kalan kamış (Phragmites australis) gibi yarı sucul ve sucul adaptif türlerde biyokütleyi olumsuz etkilemediği, sadece tam batık su taşkını koşulunun biyokütleyi olumsuz etkilediği belirlenmiştir (Mauchamp ve ark., 2001). Gazalboynuzu (Lotus sp.) bitkisi gibi karasal adaptif türlerde ise hem yarı batık, hem

43

de tam batık su baskını stresinin biyokütleyi olumsuz yönde etkilediği gözlenmiştir (Antonelli ve ark., 2019). Bu tez kapsamında su baskını koşullarının hem Cinsoy hem de Traksoy genotiplerinin yaş ağırlık ve biyokütlelerinin azalmasına yol açtığı bulunmuştur (Şekil 4.2. ve 3.). Buna ilaveten, su taşkınına maruz kalan her iki genotipin yaprak yüzey alanlarında da önemli düzeyde azalmalar meydana gelmiştir (Şekil 4.4.). Su taşkını yaşanan habitatlarda yetişen tosbağa kulağı (*Rumex palustris*) bitkisinin yaprak yüzey alanında, karasal habitatta yetişen türdeşlerine göre anlamlı seviyede bir azalma belirlenmiştir (Mommer ve ark., 2005). Sürgün ve kök uzunluğu, yaş ve kuru ağırlık ile yaprak alanı gibi morfolojik parametreler genel olarak ele alındığında; oluşan hipoksi koşulları büyüme ve gelişmenin olumsuz etkilenmesinin temel sebeplerden biridir. Su baskınına maruz kalan Sesamum indicum bitkisinde su baskını süresi arttıkça boy uzunluğunda, yaprak alanında, bağıl su içeriğinde azalmalar saptanmıştır (Mensah ve ark., 2006). Bu azalmaların sebebinin karasal yaşama adapte olmuş bitkilerde su taşkını sırasında hipoksi nedeni ile oluşan kısıtlı oksijen koşulları, sitozolik pH'ın düşüşüne sebep olduğu, bu durumun da aquaporinlerin hızla kapanmasına ve stomatal iletkenliğin de azalmasına yol açarak bitkilerin suyu alamamasına ve kurumasına neden olduğu ileri sürülmektedir (Frick ve ark., 2013). Bu tez çalışmasında da her iki genotipin su baskını stresi sonucu oransal su içeriğinde azalma belirlenmiştir (Şekil 4.5.).

Su taşkını uygulamaları her iki soya genotipinin fotosentetik pigment (klorofiller ve karotenoidler) içeriklerini farklı etkilemiştir (Çizelge 4.1.). Canlı yaşamının devamlılığında en önemli metabolik süreçlerden biri olan fotosentez reaksiyonlarının gerçekleşmesi, fotosentetik pigmentler tarafından ışık fotonunun yakalanması ile başlamaktadır. Yarı batık su taşkını koşulunda tüm pigment içerikleri artarken, tam batık koşullarında önemli düzeyde azalmaktadır (Çizelge 4.1.). Bu değişimler, fotosentetik etkinliğe de yansımaktadır. Abiyotik stres faktörü olan su taşkınları doğrudan veya dolaylı olarak fotosentetik aktiviteyi etkilemektedir. Su baskını ile birlikte fotosentez hızında meydana gelen inhibisyon, stomatal engelleme sonucu CO₂ kullanılabilirliğindeki azalmadan olabileceği gibi, metabolik bozukluktan da kaynaklanabilir. Stomatal düzenleme, taşkın koşullarında bitkilerdeki fotosentetik etkinliğin korunmasında önemli bir süreçtir. Hipoksi koşullarında enerji dağılımının (dissipation) bozulması sonucu fotosentetik performansta azalmalar meydana

44

gelmektedir (Ahmed ve ark., 2002; Ashraf ve Arfan 2005; Shao ve ark., 2013; Mutava ve ark., 2015; Zhang ve ark., 2019; Kaur ve ark., 2019; De Pedro ve ark., 2020). Bitkilerde stres koşullarında fotosentetik aktivitedeki değişimleri ortaya konulabilmek için bitkiye zarar vermeyen ve yüksek duyarlılığa sahip olan etkin yöntemlerden biri de, klorofil a fluoresans ölçümleridir (Kalaji ve ark., 2016). Bu tez çalışmasının tam batık su taşkını uygulama gruplarında, her iki soya genotipinin polifazik OJIP fluoresan transientlerinin şekli ve genlikleri kontrol ve yarı batık su taşkını gruplarının eğrilerinkinden belirgin bir şekilde farklılık sergilediği belirlenmiştir (Şekil 4.7.). OJIP transientlerinin yükselişindeki azalma, özellikle J basamağı ile başlamakta ve I ve P basamaklarında oldukça belirginleşmektedir. Tam batık su taşkını uygulamasında meydana gelen J-I-P basamaklarındaki kontrollerine göre düşüş, Q_A'nın reaoksidasyonu ile başlayan sorunun (Strasser ve ark., 1995), PSI'deki akseptör kısmındaki etkinliğin azalması (Kalaji ve ark., 2016) ile devam ettiği anlamına gelmektedir. Polifazik OJIP eğrisindeki değişimler, Cinsoy ve Traksoy genotiplerinin tilakoid membranlarındaki spesifik (reaksion merkezi başına enerji akışı) ve fenomenolojik (yaprak alanı başına enerji akışı) enerji akışlarının da su taşkınından olumsuz etkilendiğini yansıtmaktadır (Şekil 4.8. ve 4.9.). Ölçüm ve analizlerle, tilakoid membranlarda anten kompleksleri tarafından absorblanan eksitasyon (uyarılma) enerjisinin su taşkını stresi nedeni ile fotokimyaya yönlendirilmekten çok ısı şeklinde yitirildiği (DIo/RC ve DIo/CSo) ortaya konulmuştur. Bu durum, su taşkınlarının (yarı ve tam batık) genotiplerin klorofil fluoresansının en hassas parametrelerinden olan fotosistem I ve II (PSI ve PSII)'deki aktif reaksiyon merkezlerinin yoğunluğu, fotokimyasal ve fotokimyasal olmayan kullanım ile uyarılma enerjisinin plastokinon havuzuna ve devamında PSI'nin son elektron alıcısına kadar olan taşınım etkinliğini ve enerjinin korunumunu yansıtan performans indekslerindeki (PI- PI_{ABS}-PI_{TOT}) azalmalarla da desteklenmektedir (Şekil 4.11A ve B). Ayrıca su taşkını koşullarında, soya genotiplerinden Traksoy'da Cinsoy genotipine göre MDA miktarının kontrollerine göre anlamlı düzeyde arttığı tespit edilmiştir (Şekil 4.6.). Bu çalışmada belirlenen özellikle tam batık su taşkını koşullarındaki fotosentetik pigment birikimindeki ve dolayısı ile fotosentetik performanstaki azalma (Şekil 4.7. ve 4.11.) muhtemelen oluşan ROS sonucu membranlarda meydana gelen hasarlardan kaynaklanmıştır. SFI_{ABS}'deki azalma (Şekil 4. 10.), MDA (Şekil 4. 6.) ve H₂O₂ (Şekil 4.12.) miktarlarındaki önemli artışlar da bu sonucu desteklediği kabul edilebilir. Bu bulgular, diğer çalışma bulguları ile de uyumludur. Sorghum bicolor, Hordeum *vulgare*, *Sesamum indicum*, *Citrullus lanatus* ve *Cynodon dactylon* bitkilerinde su taşkını stresi koşullarında hem MDA, hem de H_2O_2 miktarının arttığı saptanmıştır (Tóth ve ark., 2005; Tan ve ark., 2010; Luan ve ark., 2018; Anee ve ark., 2019; Zhang ve ark., 2019; He ve ark., 2022).

Bitkilerde reaktif oksijen türleri (ROS) genellikle kloroplast ve mitokondrilerdeki metabolik süreçler sırasında elektronların moleküler oksijene aktarılması sonucu oluşmaktadır (Asada, 2006). Su taşkını stresinin bitki metabolizması üzerindeki önemli etkileri, hücre zarlarının lipid yapısını, membran organizasyonunu ve bütünlüğünü bozarak oksidatif hasarlara neden olmasıdır. ROS'ların yol açtığı oksidatif hasarların bertaraf edilmesinde ve membran bütünlüğünün korunmasında enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sisteminin etkin bir rol oynadığı görülmektedir. Bitkilerde SOD enzimi, süperoksit radikalininin (O₂) hidrojen peroksit (H₂O₂) ve oksijene (O₂) dönüşümünü katalizleyerek, ROS'lara karşı savunma hattının ilk basamağını oluşturur (Ali ve ark., 2003; Melchiorre ve ark., 2009). Soya genotiplerinden Cinsoy'un yaprak dokularında, Traksoy'a göre su taşkınına bağlı olarak toplam SOD enzim aktivitesinin daha fazla arttığı belirlenmiştir (Şekil 4.14.). Dayanıklı Cinsoy genotipinde H₂O₂ miktarının duyarlı genotipe göre yüksek olması (Şekil 4.12.) da, membranlarda elektron sızıntısı sonucu oluşan süperoksit radikalinin artan SOD aktivitesi ile bertaraf edilmesinden kaynaklanıyor olabilir. Cinsoy genotipinin tüm uygulama gruplarında belirlenen yüksek H₂O₂ içeriği, Asada–Halliwell döngüsü enzimlerinden olan APX ve GR aktivitesini su baskını koşullarında Traksoy göre daha fazla arttırdıklarını ortaya koymaktadır (Şekil 4.15. ve 16.). Bununla birlikte, her iki genotipte su baskını stresi H₂O₂ detoksifikasyonunda yer alan POD aktivitesinin önemli düzeyde artmasına neden olmuştur (Şekil 4.16.). Bunlara ek olarak, stres koşulunda Cinsoy genotipinin hem antosiyanin (Şekil 4.13A) hem de flavonoid içeriklerinde (Şekil 4.13B) belirlenen anlamlı düzeydeki artışlar, Traksoy genotipine göre savunmada üstünlük sağlamıştır. Oryza sativa, Dyckia brevifolia, Chrysanthemum morifolium, Malus sp. ve Pyrus sp. bitkileri ile yapılan çalışmalarda su taşkını koşullarında antosiyanin ve flavonoid içeriğinin genellikle arttığı tespit edilmiştir (Andersen ve ark., 1984; Banerjee ve ark., 2015; Wang ve ark., 2019; Costa ve ark., 2022).

Bütüncül olarak değerlendirdiğimizde de; Cinsoy genotipinin su taşkını koşullarında enzimatik SOD, GR ve POD ve enzimatik olmayan antioksidanlardan antosiyanin

flavanoidlerin koordineli aktivasyonu ile oksidatif hasarlara karşı korumada başarılı olduğu tespit edilmiştir.

Bu tez sonuçları bütün olarak değerlendirildiğinde;

Su taşkını stresi ile ilgili çalışmaların literatürde yer olmasının yanı sıra, farklı su taşkını tipleri olan yarı ve tam batık su baskını koşullarında fizyolojik ve biyokimyasal yanıtlar değerlendirilerek farklı dayanım düzeyine sahip soya genotipleri ilk defa bu tez kapsamında karşılaştırmalı olarak incelenmiştir.

- Su taşkını koşulları (yarı ve tam batık) soya genotiplerinin gelişimini engellediği ve bu etki biyokütledeki azalışla açıkça görülmektedir. Cinsoy genotipinin Traksoy genotipine göre her iki tip su taşkını koşulunda daha iyi bir dayanım sergilediği tespit edilmiştir.
- Yarı ve tam batık su baskını soya genotiplerinin fotosentetik aparatlarındaki • fotokimyasal aktivitelerini olumsuz yönde etkilemiştir. Tilakoid membranlardaki enerji akışlarının stres ile birlikte yönünün değişmesi, tilakoid membranın bütünlüğünün bozulması, Q_A redükte etmeyen reaksiyon merkezlerindeki artış enerjinin dışındaki fotokimya kaybından (ISI şeklinde yayılım) ve kaynaklandığını göstermektedir. Ayrıca, su taşkını stresi altında Traksoy genotipinin fotosistemlerinin yapı ve fonksiyonelliğinin, Cinsoy genotipine göre daha fazla etkilediği belirlenmiştir. Her iki soya genotipindeki etkilenme, fotosistemlerdeki enerji ve elektron akışını bloke edecek düzeyde olmamıştır. Büyüme ve membran stabilitesindeki değişimler de bu sonuçlar ile uyumludur.
- Su taşkını stresi koşulları altında soya genotiplerinin yaprak dokularında biriken reaktif oksijen türlerine bertaraf edilmesinde, enzimatik ve enzimatik olmayan bazı antioksidanlar ve fenolikler grubunda yer alan antosiyanin ve flavonoidler eş güdümlü olarak görev almıştır. Oluşan oksidatif zararlara karşı özellikle Cinsoy genotipinde SOD POD, GR ve bunlara ek olarak antosiyanin ile flavonoid miktarlarındaki artışlarla birlikte Traksoy'a göre savunma sistemini daha etkin çalıştırarak üstesinden geldiği ve daha iyi tolerans sergilediği belirlenmiştir.
- Bitkiler, su taşkını stresi koşullarına ya hızla sürgün boyunu artırarak ya da azaltarak *kaçış* olarak ya da *sessiz* kalarak cevap verebilirler. Bu tez çalışma sonuçları iki farklı su taşkını (yarı batık ve tam batık) stresine maruz kalan

soya genotiplerinin (Cinsoy ve Traksoy) stresin olumsuz etkisine karşı morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal değişimleri ve bu değişimlere karşı oluşturulan dayanım mekanizmalarını çalıştırarak başarılı olabilmişlerdir. Her iki genotip de yarı batık uygulama stresine *kaçış* cevabı oluştururken, tam batık uygulama stresine *sessiz* kalarak cevap oluşturmuştur.

Öneriler;

- Dayanıklı soya genotipi olan Cinsoy hem yarı, hem de tam batık su taşkını tehdidi altında olan tarımsal alanlarda ekimi uygun olup, bunun yanı sıra Traksoy genotipi sadece yarı batık su taşkını koşullarında alternatif genotip olarak değerlendirilebilir.
- Ayrıca, streslere dayanıklı yeni çeşit geliştirme çalışmalarında Cinsoy genotipi ıslah materyali olarak kullanılabilir.
- Daha sonra yapılacak kapsamlı araştırmalarla su taşkını stresine karşı dayanımda yer alan metabolik basamaklar, örneğin transkriptomik ve proteomik değişimler, soyanın yanı sıra diğer tarımsal bitkilerde de incelenebilir ve bitkilerin dayanım kazanımındaki süreçler daha ayrıntılı olarak araştırılabilir. Bu tez kapsamının fizyolojik ve biyokimyasal çıktıları da gelecekte yapılacak araştırmalara yön verebilir.
- Bu çalışmadan elde edilen morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal çıktılara, farklı su taşkını koşullarına maruz kalan bireylerin çeşitli organlarında (kök, sürgün) yapılacak olan anatomik incelemelerle bu strese karşı geliştirilen adaptasyonlar (aerankima, hipertrofik lentisel) belirlenip katkı sağlanabilir.

KAYNAKLAR

Açıkgöz, N., Türkiye'nin Soya Serüveni. https://nazimiacikgoz.wordpress.com/ 2016/12/14/ turkiyenin-soya-seruveni/, **2016.**

Ahmed, F., Rafii, M.Y., Ismail, M.R., Juraimi, A.S., Rahim, H.A., Asfaliza, R. and Latif, M.A., Waterlogging tolerance of crops: breeding, mechanism of tolerance, molecular approaches, and future prospects. BioMed research international, **2013.**

Ahmed, S., Nawata, E., Hosokawa, M., Domae, Y. and Sakuratani, T., Alterations in photosynthesis and some antioxidant enzymatic activities of mungbean subjected to waterlogging. Plant Science, 163(1), 117-123, **2002.**

Akman, M., Bhikharie, A.V., Mustroph, A. ve Sasidharan, R., Extreme flooding tolerance in Rorippa. Plant signaling and Behavior, *9*(2), e27847, **2014.**

Ali, A.A., Bilodeau, J.F. and Sirard, M.A., Antioxidant requirements for bovine oocytes varies during in vitro maturation, fertilization and development. Theriogenology, 59(3-4), 939-949, **2003.**

Andersen, P.C., Lombard, P.B. and Westwood, M.N., Leaf conductance, growth, and survival of willow and deciduous fruit tree species under flooded soil conditions. Journal of the American Society for Horticultural Science, *109*(2), 132-138, **1984.**

Anee, T. I., Nahar, K., Rahman, A., Mahmud, J. A., Bhuiyan, T. F., Alam, M. U. And Hasanuzzaman, M., Oxidative damage and antioxidant defense in *Sesamum indicum* after different waterlogging durations. Plants, 8(7), 196, **2019.**

Antonelli, C.J., Calzadilla, P.I., Vilas, J.M., Campestre, M.P., Escaray, F.J. and Ruiz, O.A., Physiological and anatomical traits associated with tolerance to long-term partial submergence stress in the Lotus genus: responses of forage species, a model and an interspecific hybrid. Journal of Agronomy and Crop Science, *205*(1), 65-76, **2019.**

Arıoğlu, H., Yağ Bitkileri Yetiştirme ve Islahı. ÇÜ Ziraat Fakültesi Yayın, (220), 175, **1999.**

Arıoğlu, H.H., Yağ Bitkileri Yetiştirme ve Islahı Ders Kitapları Yayın No: A-70. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Atölyesi, 204s., Adana, **2007.**

Asada, K., Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. Plant Physiology, *141*(2), 391-396, **2006.**

Ashraf, M. and Arfan, M., Gas exchange characteristics and water relations in two cultivars of *Hibiscus esculentus* under waterlogging. Biologia Plantarum, 49(3), 459-462, **2005.**

Bacanamwo, M. and Purcell, L.C., Soybean root morphological and anatomical traits associated with acclimation to flooding. Crop science, 39(1), 143-149, **1999.**

Bai, T., Li, C., Ma, F., Feng, F. and Shu, H., Responses of growth and antioxidant system to root-zone hypoxia stress in two Malus species. Plant and Soil, *327*(1), 95-105, **2010**.

Bailey-Serres, J. and Voesenek, L.A.C.J., Flooding stress: acclimations and genetic diversity. Annual Review of Plant Biology, 59, 313, **2008.**

Banerjee, S., Dey, N., and Adak, M.K., Assessment of some biomarkers under submergence stress in some rice cultivars varying in responses. American Journal of Plant Sciences, *6*(01), 84, **2015.**

Beyer Jr, W.F. and Fridovich, I., Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions. Analytical Biochemistry, 161(2), 559-566, **1987.**

Bradford, M. M., A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72(1-2), 248-254, **1976.**

Chaves, M.M., Effects of water deficits on carbon assimilation. Journal of Experimental Botany, 42(1), 1-16, **1991.**

Chaves, M.M., Flexas, J. and Pinheiro, C., Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. Annals of Botany, 103(4), 551-560, **2009.**

Chen, J.L., Wilson, C.R. and Tapley, B.D., Contribution of ice sheet and mountain glacier melt to recent sea level rise. Nature Geoscience, *6*(7), 549-552, **2013**.

Colmer, T.D., Gibberd, M.R., Wiengweera, A. and Tinh, T.K., The barrier to radial oxygen loss from roots of rice (*Oryza sativa* L.) is induced by growth in stagnant solution. Journal of Experimental Botany, 49(325), 1431-1436, **1998.**

Cornic, G., Drought stress inhibits photosynthesis by decreasing stomatal aperture– not by affecting ATP synthesis. Trends in Plant Science, 5(5), 187-188, **2000**.

Costa, L.M.S., Vilasboa, J., Fett-Neto, A.G., Rodrigues, N.F., Bered, F. and Margis, R., Responses to submergence and recovery in seedlings of the rheophyte *Dyckia brevifolia* (Bromeliaceae). Environmental and Experimental Botany, *201*, 104984, **2022.**

Çiçek, N., Çakirlar, H. and Strasser, R.J., Arpa bitkisinde Ultravıyole-B stresinin fotosistem II etkinliği üzerine etkisi, Anadolu University of Sciences & Technology-C: Life Sciences and Biotechnology, 2(1) **2012.**

Çopur, O., GÜR, M.A., Demirel, U. and KARAKUŞ, M., Performance of some soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] genotypes double cropped in semi-arid conditions. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 37(2), 145-151, **2009.**

De Pedro, L.F., Mignolli, F., Scartazza, A., Melana Colavita, J.P., Bouzo, C.A. and Vidoz, M.L., Maintenance of photosynthetic capacity in flooded tomato plants with reduced ethylene sensitivity. Physiologia Plantarum, 170(2), 202-217, **2020**.

Ejiri, M., Fukao, T., Miyashita, T. and Shiono, K.A., Barrier to radial oxygen loss helps the root system cope with waterlogging-induced hypoxia. Breeding Science, 71(1), 40-50, **2021.**

Else, M.A., Janowiak, F., Atkinson, C.J. and Jackson, M.B., Root signals and stomatal closure in relation to photosynthesis, chlorophyll a fluorescence and adventitious rooting of flooded tomato plants. Annals of Botany, 103(2), 313-323, **2009.**

Esterbauer, H. and Cheeseman, K.H., Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. In methods in enzymology (Vol. 186, pp. 407-421). Academic Press, **1990.**

Farrant, J.M., A comparison of mechanisms of desiccation tolerance among three angiosperm resurrection plant species. Plant Ecology, 151(1), 29-39, **2000**.

Foyer, C.H. and Noctor, G., Oxygen processing in photosynthesis: regulation and signalling. New Phytologist, 146(3), 359-388, **2008**.

Foyer, C.H. and Noctor, G., Redox regulation in photosynthetic organisms: signaling, acclimation, and practical implications. Antioxidants and Redox Signaling, 11(4), 861-905, **2009.**

Frick, A., Järvå, M., and Törnroth-Horsefield, S., Structural basis for pH gating of plant aquaporins. FEBS Letters, *587*(7), 989-993, **2013.**

Guha, A., Sengupta, D. and Reddy, A.R. Polyphasic chlorophyll a fluorescence kinetics and leaf protein analyses to track dynamics of photosynthetic performance in mulberry during progressive drought, Journal of Photochemistry and Photobiology Biology, 119, 71-83, **2013.**

He, N., Umer, M.J., Yuan, P., Wang, W., Zhu, H., Zhao, S. and Sun, X., Expression dynamics of metabolites in diploid and triploid watermelon in response to flooding. PeerJ, 10, e13814, **2022.**

Jackson, M.B., Ishizawa, K. and Ito, O., Evolution and mechanisms of plant tolerance to flooding stress. Annals of Botany, 103(2), 137-142, **2009.**

Kalaji, H.M., Jajoo, A., Oukarroum, A., Brestic, M., Zivcak, M., Samborska, I.A. and Ladle, R.J., Chlorophyll a fluorescence as a tool to monitor physiological status of plants under abiotic stress conditions. Acta Physiologiae Plantarum, 38(4), 1-11, **2016.**

Kalefetoğlu, T. and Ekmekci, Y., The effects of drought on plants and tolerance mechanisms. Gazi University Journal of Science, 18(4), 723-740, **2005.**

Kaur, G., Zurweller, B., Motavalli, P.P. and Nelson, K.A., Screening corn hybrids for soil waterlogging tolerance at an early growth stage. Agriculture, 9(2), 33, **2019.**

Khan, M.I.R., Trivellini, A., Chhillar, H., Chopra, P., Ferrante, A., Khan, N.A. and Ismail, A.M., The significance and functions of ethylene in flooding stress tolerance in plants. Environmental and Experimental Botany, 179, 104188, **2020.**

Koberg, M., Abu-Much, R. and Gedanken, A., Optimization of bio-diesel production from soybean and wastes of cooked oil: combining dielectric microwave irradiation and a SrO catalyst. Bioresource Technology, 102(2), 1073-1078, **2011.**

Kurnaz, L., Son buzul erimeden: iklim değişikliği hakkında merak ettiğiniz herşey. Doğan Egmont Yayıncılık, İstanbul, Türkiye, **2019.**

Lee, G.A., Crawford, G.W., Liu, L., Sasaki, Y. and Chen, X., Archaeological soybean (*Glycine max*) in East Asia: does size matter?. PloS one, *6*(11), e26720, **2011.**

Lichtenthaler, H.K., Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In methods in enzymology (Vol. 148, pp. 350-382). Academic Press, **1987.**

Lin, K.H., Chen, L.F.O., Li, S.D. and Lo, H.F., Comparative proteomic analysis of cauliflower under high temperature and flooding stresses. Scientia Horticulturae, 183, 118-129, **2015.**

Luan, H., Shen, H., Pan, Y., Guo, B., Lv, C. and Xu, R., Elucidating the hypoxic stress response in barley (*Hordeum vulgare* L.) during waterlogging: A proteomics approach. Scientific Reports, 8(1), 1-13, **2018**.

Mahajan, S. and Tuteja, N., Cold, salinity and drought stresses: an overview. Archives of Biochemistry and Biophysics, 444(2), 139-158, **2005**.

Maloof, J.N., Nozue, K., Mumbach, M.R. and Palmer, C.M., LeafJ: an ImageJ plugin for semi-automated leaf shape measurement. JoVE (Journal of Visualized Experiments), (71), e50028, **2013.**

Mancinelli, A.L., Yang, C.P.H., Lindquist, P., Anderson, O.R. and Rabino, I., Photocontrol of anthocyanin synthesis: III. The action of streptomycin on the synthesis of chlorophyll and anthocyanin, Plant Physiology, 55(2), 251-257, **1975.**

Mauchamp, A., Blanch, S. and Grillas, P., Effects of submergence on the growth of *Phragmites australis* seedlings. Aquatic Botany, *69*(2-4), 147-164, **2001.**

McDonald, M.P., and Visser, E.J.W., A study of the interaction between auxin and ethylene in wild type and transgenic ethylene-insensitive tobacco during adventitious root formation induced by stagnant root zone conditions. Plant Biology, *5*(05), 550-556, **2003.**

Melchiorre, M., Robert, G., Trippi, V., Racca, R. and Lascano, H.R., Superoxide dismutase and glutathione reductase overexpression in wheat protoplast: photooxidative stress tolerance and changes in cellular redox state. Plant Gwanrowth Regulation, 57(1), 57-68, **2009.**

Mensah, J.K., Obadoni, B.O., Eruotor, P.G. and Onome-Irieguna, F., Simulated flooding and drought effects on germination, growth, and yield parameters of sesame (Sesamum indicum L.). African Journal of Biotechnology, *5*(13), **2006.**

Mirecki, R.M. and Teramura, A.H., Effects of ultraviolet-B irradiance on soybean: V. The dependence of plant sensitivity on the photosynthetic photon flux density during and after leaf expansion, Plant Physiology, 74(3), 475-480, **1984.**

Mittler, R. and Blumwald, E., Genetic engineering for modern agriculture: challenges and perspectives. Annual Review of Plant Biology, 61(1), 443-462, **2010**.

Mittler, R., ROS are good. Trends in Plant Science, 22(1), 11-19, 2017.

Mommer, L., Pons, T.L., Wolters-Arts, M., Venema, J.H. and Visser, E.J., Submergence-induced morphological, anatomical, and biochemical responses in a terrestrial species affect gas diffusion resistance and photosynthetic performance. Plant Physiology, *139*(1), 497-508, **2005.**

Mustafa, G. and Komatsu, S., Quantitative proteomics reveals the effect of protein glycosylation in soybean root under flooding stress. Frontiers in Plant Science, 5, 627, **2014.**

Mutava, R.N., Prince, S.J. K., Syed, N.H., Song, L., Valliyodan, B., Chen, W. and Nguyen, H.T., Understanding abiotic stress tolerance mechanisms in soybean: A comparative evaluation of soybean response to drought and flooding stress. Plant Physiology and Biochemistry, 86, 109-120, **2015**.

Nashat, O.K., Dalli, E., Yirmibeş, S., Çulha Erdal,Ş., Çiçek, N., Ekmekçi, Y., Revealing of flooding tolerance levels of soybean genotypes at the early seedling stage using morpho-physiological characters. III. Balkan Agricultural Congress-AGRIBALKAN, Edirne, Turkey. **2021**- 29 August – 01 September **2021**.

Nazlıcan, A.N., Soya Yetiştiriciliği, http://arastirma.tarim.gov.tr/cukurovataem/Belgeler/Yeti%C5%9Ftiricilik/soyayetistiriciligi_1.pdf, **2002.**

Nazlıcan, A.N., Soya yetiştiriciliği, **2010.**

Patel, P.K., Singh, A.K., Tripathi, N., Yadav, D. and Hemantaranjan, A., Flooding: abiotic constraint limiting vegetable productivity. Advances in Plants and Agriculture Research, 1(3), 96-103, **2014.**

Pedersen, O., Sauter, M., Colmer, T.D. and Nakazono, M., Regulation of root adaptive anatomical and morphological traits during low soil oxygen. New Phytologist, 229(1), 42-49, **2021.**

Purcell, L.C., Salmeron, M. and Ashlock, L., Arkansas soybean production handbook. MP197. Purcell, LC, Ed.(Little Rock, AR: University of Arkansas Cooperative Extension Service) *pp*, 1-8, **2014.**

Pütter, J., Peroxidases, in: Bergmeyer HU (Ed.). Methods of Enzymatic Analysis, Vol. II, Academic Press, New York, pp 685-690, **1974.**

Rao, M.V., Hale, B.A. and Ormrod, D.P., Amelioration of ozone-induced oxidative damage in wheat plants grown under high carbon dioxide (role of antioxidant enzymes), Plant Physiology, 109(2), 421-432, **1995.**

Reyna, N., Cornelious, B., Shannon, J.G. and Sneller, C.H., Evaluation of a QTL for waterlogging tolerance in southern soybean germplasm. Crop Science, 43(6), 2077-2082, **2003.**

Setter, T.L. and Waters, I., Review of prospects for germplasm improvement for waterlogging tolerance in wheat, barley and oats. Plant and Soil, 253(1), 1-34, **2003.**

Shao, G.C., Lan, J.J., Yu, S.E., Liu, N., Guo, R.Q. and She, D.L., Photosynthesis and growth of winter wheat in response to waterlogging at different growth stages. Photosynthetica, 51(3), 429-437, **2013**.

Shimamura, S., Yamamoto, R., Nakamura, T., Shimada, S., and Komatsu, S., Stem hypertrophic lenticels and secondary aerenchyma enable oxygen transport to roots of soybean in flooded soil. Annals of Botany, *106*(2), 277-284, **2010**.

Smirnoff, N., Tansley Review No. 52. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. New Phytologist, 27-58, **1993.**

Šola, I., Stić, P. and Rusak, G., Effect of flooding and drought on the content of phenolics, sugars, photosynthetic pigments and vitamin C, and antioxidant potential of young Chinese cabbage. European Food Research and Technology, 247(8), 1913-1920, **2021.**

Strasser, B.J. and Strasser, R.J., Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: the JIP test, P. Mathis (Ed.), Photosynthesis: From Light to Biosphere, Vol. V. In Proceedings of the Xth International Photosynthesis Congress. Montpellier, France, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, **1995.**

Strasser, R.J., Tsimilli-Michael, M. and Srivastava, A., Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient, In Chlorophyll A Fluorescence, 321-362, **2004.**

Strasser, R.J., Tsimilli-Michael, M., Qiang, S. and Goltsev, V., Simultaneous in vivo recording of prompt and delayed fluorescence and 820-nm reflection changes during drying and after rehydration of the resurrection plant Haberlea rhodopensis. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics, 1797(6-7), 1313-1326, **2010.**

Striker, G.G., Flooding stress on plants: anatomical, morphological and physiological responses. Botany, *1*, 3-28, **2012.**

Taiz, L., Zeiger, E., Møller, I.M. and Murphy, A., Plant physiology and development (No. Ed. 6). Sinauer Associates Incorporated, **2015.**

Tan, S., Zhu, M. and Zhang, Q., Physiological responses of bermudagrass (*Cynodon dactylon*) to submergence. Acta Physiologiae Plantarum, *32*(1), 133-140, **2010**.

Tewari, S. and Arora, N.K., Soybean production under flooding stress and its mitigation using plant growth-promoting microbes. In Environmental Stresses in Soybean Production (pp. 23-40). Academic Press, **2016.**

Tóth, S.Z., Schansker, G., Kissimon, J., Kovács, L. and Strasser, R.J., Biophysical studies of photosystem II-related recovery processes after a heat pulse in barley seedlings (*Hordeum vulgare* L.), Journal Of Plant Physiology, 162(2), 181-194, **2005**.

Tsimilli-Michael, M. and Strasser, R.J., In vivo assessment of stress impact on plant's vitality: applications in detecting and evaluating the beneficial role of mycorrhization on host plants, In Mycorrhiza, 679-703, **2008.**

TUIK, Türkiye İstatistik Kurumu, 2016 yılı istatistikleri. <u>http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_</u>, **2017.**

VanToai, T.T., Beuerlein, A.F., Schmitthenner, S.K. and St. Martin, S.K., Genetic variability for flooding tolerance in soybeans. Crop Science, 34(4), 1112-1115, **1994.**

Veloccia, A., Fattorini, L., Della Rovere, F., Sofo, A., D'angeli, S., Betti, C. and Altamura, M.M., Ethylene and auxin interaction in the control of adventitious rooting in *Arabidopsis thaliana*. Journal of Experimental Botany, 67(22), 6445-6458, **2016**.

Ventura, I., Brunello, L., Iacopino, S., Valeri, M.C., Novi, G., Dornbusch, T. and Loreti, E., Arabidopsis phenotyping reveals the importance of alcohol dehydrogenase and pyruvate decarboxylase for aerobic plant growth. Scientific Reports, *10*(1), 1-14, **2020.**

Vidoz, M.L., Loreti, E., Mensuali, A., Alpi, A., and Perata, P., Hormonal interplay during adventitious root formation in flooded tomato plants. The Plant Journal, *63*(4), 551-562, **2010.**

Voesenek, L.A. and Bailey-Serres, J., Genetics of high-rise rice. Nature, *460*(7258), 959-960, **2009.**

Voesenek, L.A. and Bailey-Serres, J., Flood adaptive traits and processes: an overview. New Phytologist, *206*(1), 57-73, **2015.**

Wang, S.Y., Jiao, H.J. and Faust, M., Changes in ascorbate, glutathione, and related enzyme activities during thidiazuron-induced bud break of apple, Physiologia Plantarum, 82(2), 231-236, **1991.**

Wang, T., Zou, Q., Guo, Q., Yang, F., Wu, L. and Zhang, W., Widely targeted metabolomics analysis reveals the effect of flooding stress on the synthesis of flavonoids in *Chrysanthemum morifolium*. Molecules, *24*(20), 3695, **2019**.

Wu, C., Chen, P., Hummer, W., Zeng, A., and Klepadlo, M., Effect of flood stress on soybean seed germination in the field. American Journal of Plant Sciences, 8(01), 53, **2017.**

Yao, Y., He, R.J., Xie, Q.L., Zhao, X.H., Deng, X.M., He, J.B. and Wu, A.M., ETHYLENE RESPONSE FACTOR 74 (ERF74) plays an essential role in controlling a respiratory burst oxidase homolog D (RbohD)-dependent mechanism in response to different stresses in Arabidopsis. New Phytologist, *213*(4), 1667-1681, **2017.**

Yin, X. and Komatsu, S., Comprehensive analysis of response and tolerant mechanisms in early-stage soybean at initial-flooding stress. Journal of Proteomics, 169, 225-232, **2017.**

Yordanova, R.Y. and Popova, L.P., Flooding-induced changes in photosynthesis and oxidative status in maize plants. Acta Physiologiae Plantarum, 29(6), 535-541, **2007**.

Zhai, F.F., Li, H.D., Zhang, S.W., Li, Z.J., Liu, J.X., Qian, Y.Q. and Sun, Z.Y., Male and female plants of Salix viminalis perform similarly to flooding in morphology, anatomy, and physiology. Forests, 11(3), 321, **2020**.

Zhang, R. D., Zhou, Y.F., Yue, Z.X., Chen, X.F., Cao, X., Xu, X.X. and Huang, R.D., Changes in photosynthesis, chloroplast ultrastructure, and antioxidant metabolism in leaves of sorghum under waterlogging stress. Photosynthetica, 57(4), 1076-1083, **2019.**