



T.C.
AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÖRTÜALTINDA FARKLI BESİN ELEMENTLERİNİN
UYGULANMASI İLE YETİŞTİRİLEN MARUL (*Lactuca sativa* L.)
BİTKİLERİNDE FİZYOLOJİK VE MOLEKÜLER ANALİZLER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

AYŞENUR YAĞCI

HAZİRAN

**ÖRTÜALTINDA FARKLI BESİN ELEMENTLERİNİN UYGULANMASI
İLE YETİŞTİRİLEN MARUL (*Lactuca sativa* L.) BİTKİLERİNDE
FİZYOLOJİK VE MOLEKÜLER ANALİZLER**

Ayşenur YAĞCI

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

Danışman

Doç. Dr. Üyesi Sevgi MARAKLI

**AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

HAZİRAN 2020

Ayşenur YAĞCI tarafından hazırlanan “Örtüaltında Farklı Besin Elementlerinin Uygulanması ile Yetiştirilen Marul (*Lactuca sativa* L.) Bitkilerinde Fizyolojik ve Moleküler Analizler” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ/OY ÇOKLUĞU ile Amasya Üniversitesi Biyoteknoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Doç. Dr. Sevgi MARAKLI

Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Anabilim Dalı, Amasya Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

Başkan: Prof. Dr. Tuba Yıldırım

Biyoloji Anabilim Dalı, Amasya Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Yılmaz KAYA

Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

Tez Savunma Tarihi: 26.06.2020

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum

.....

Doç. Dr. Meryem EVECEN

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü



Anneme, Babama ve Abime

ETİK BEYAN

Amasya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
 - Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
 - Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
 - Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
 - Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,
- bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Ayşenur YAĞCI

26.06.2020

ÖRTÜALTINDA FARKLI BESİN ELEMENTLERİNİN UYGULANMASI İLE
YETİŞTİRİLEN MARUL (*Lactuca sativa* L.) BİTKİLERİNDE FİZYOLOJİK VE
MOLEKÜLER ANALİZLER
(Yüksek Lisans Tezi)

Ayşenur YAĞCI

AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Haziran 2020

ÖZET

Tarımda bitki üretimini ve üretilen bitkinin kalitesini artırmak amacıyla makro ve mikro elementler yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu tez çalışmasında; bor (B), bakır (Cu), demir (Fe), potasyum (K), azot (N), fosfor (P) ile bu elementlerin birleşimi olmak üzere 7 farklı gübre, damla sulama tekniği kullanılarak marul bitkisinin köküne uygulandı ve bu bitkilerde fizyolojik ve moleküler analizler gerçekleştirildi. Kontrol grubu için distile su kullanıldı. Fizyolojik çalışmalarda, çözünebilir protein miktarı belirlendi. Ayrıca örneklerde SOD (süperoksit dismutaz) ve CAT (katalaz) enzim aktiviteleri de analiz edildi. Sonuçlar, SPSS 20.0 kullanılarak ANOVA istatistik programı ile değerlendirildi. Kontrol ile karşılaştırıldığında; B, Fe ve K uygulamaları protein miktarını azalttı buna karşın diğer gübre uygulamaları ise protein miktarını arttırdı. Karışım ile diğer gübre uygulamaları kıyaslandığında ise sadece Cu ve N uygulamalarının protein miktarını arttırdığı belirlendi. Enzim aktivitelerinde kontrol ve karışım uygulamaları karşılaştırıldığında, B ve K uygulamalarının SOD aktivitesini arttırdığı ama Cu ve P uygulamalarının aktiviteyi azalttığı belirlendi. Diğer uygulamalar ise SOD enzim aktivitesinde farklı sonuçlar (artma ya da azalma) gösterdi. Kontrol ile karşılaştırıldığında, SOD aktivitesinde olduğu gibi B ve K uygulamaları CAT aktivitesini de arttırdı. Karışım ile diğer uygulamalar kıyaslandığında ise tüm uygulamaların CAT aktivitesini arttırdığı gözlemlendi. Moleküler çalışmalarda, marul genomunda ilk defa arpa bitkisine özgü *Nikita* ve *Sukkula* ile soya fasulyesine özgü *SIRE1* retrotranspozonlarının hareketleri IRAP (Inter Retrotransposon Amplified Polymorphism) moleküler markır tekniği kullanılarak analiz edildi. Bu retrotranspozonların marul genomunda hareketli olduğu ama farklı gübre uygulamalarının bu harekete etki etmediği belirlendi. Bu tez, farklı kimyasal gübrelerin marul bitkisindeki etkilerinin fizyolojik ve moleküler açıdan araştırıldığı ilk detaylı çalışmadır. Elde edilen sonuçların, marul ve benzeri çiğ tüketilen sebzelerde gübre kullanımının etkilerinin anlaşılmasına katkı sağlaması beklenmektedir.

Sayfa Adedi : 71

Anahtar Kelimeler : Gübre, Protein, Antioksidan, Epigenetik, Retrotranspozon

Danışman : Doç. Dr. Sevgi MARAKLI

PHYSIOLOGICAL and MOLECULAR ANALYSES in LETTUCE (*Lactuca sativa* L.)
PLANTS GROWN UNDER APPLICATION of DIFFERENT NUTRIENTS in
GREENHOUSE
(M.Sc. Thesis)

Ayşenur YAĞCI

AMASYA UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

June 2020

ABSTRACT

Macro and micro-elements have been widely used in agriculture to increase plant production and quality of produced plant. In this thesis study, 7 different fertilisers including boron (B), copper (Cu), iron (Fe), potassium (K), nitrogen (N), phosphorus (P) with combination of these elements were applied the root of lettuce plant by using drip irrigation technique, and physiological and molecular analyses were performed in these plants. Distilled water was used for control group. In physiological studies, total soluble protein contents were determined. Furthermore, SOD (superoxide dismutase) and CAT (catalase) enzyme activities were also analysed. Results were evaluated with ANOVA statistical program by using SPSS 20.0. When compared to control, B, Fe and K applications decreased protein content while other fertilisers' applications increased protein content. When the mixture and other fertiliser applications were compared, it was determined that only Cu and N treatments increased protein content. When control and the mixture applications are compared in enzyme activities, it was determined that B and K applications increased but Cu and P treatments decreased SOD activity. Other applications showed varying results (increase or decrease) in SOD enzyme activity. As compared to control, similar to SOD activity, B and K applications also increased CAT activity. It was also observed that all applications increased CAT activity when the mixture was compared with other applications. In molecular analyses, the movements of barley-specific *Sukkula* and *Nikita* with soybean-specific *SIRE1* retrotransposons were analysed by IRAP (Inter Retrotransposon Amplified Polymorphism) molecular marker technique in lettuce genome for the first time. It was determined that these retrotransposons were active in lettuce genome but different fertiliser applications did not affect this movement. This thesis is the first detailed study effects of different chemical fertilisers on lettuce plant in terms of physiological and molecular aspects. Obtaining results are expected to contribute to find out effects of fertiliser use in lettuce and similar raw consuming vegetables.

Page Number : 71

Key Words : Fertilised, Protein, Antioxidant, Epigenetics, Retrotransposon

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Sevgi MARAKLI

ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca her konuda benden sevgi, destek ve ilgisini esirgemeyen, bilgilerini ve tecrübelerini benimle paylaşan danışman hocam Doç. Dr. Sevgi MARAKLI'ya teşekkür ederim.

Jüri üyelerim Sayın Prof. Dr. Tuba YILDIRIM'a ve Dr. Öğr. Üyesi Yılmaz KAYA'ya teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam için deneylerin gerçekleştirilmesinde olanaklarını kullanmama izin veren Amasya Üniversitesi Merkezi Araştırma ve Uygulama Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne ve yardımlarını benden esirgenemeyen laboratuvar çalışanlarına teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca bana güvenen, gerek maddi gerekse manevi destekte bulunan AİLEME sonsuz teşekkür ederim.

Bu tez çalışması FMB-BAP 19-0386 Proje No'su ile Amasya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi kapsamında desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Sebze	4
2.2. Marul (<i>Lactuca sativa</i> L.)	6
2.2.1. Marul taksonomisi ve genetiği.....	6
2.2.2. Marul yetiştirilmesi.....	7
2.3. Epigenetik ve Epigenetik Mekanizmalar	9
2.4. Transpozonlar	11
2.4.1. Transpozonların sınıflandırılması.....	11
2.4.2. LTR retrotranspozonlarının yapısı ve yaşam döngüsü	16
2.4.3. <i>Nikita</i> retrotranspozonu	18
2.4.4. <i>Sukkula</i> retrotranspozonu.....	18
2.4.5. <i>SIRE1</i> retrotranspozonu	19
2.5. Bitki Biyoteknolojisinde Transpozonların Yeri.....	19
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	21
3.1. Seranın Kurulması Ve Bitki Materyalinin Yetiştirilmesi	21
3.2. Fizyolojik Analizler	22
3.2.1. Çözünabilir protein miktarının belirlenmesi.....	23
3.2.2. SOD enzim aktivitesinin belirlenmesi	24
3.2.3. CAT enzim aktivitesinin belirlenmesi	25
3.3 Moleküler Analizler	26
3.3.1. Genomik DNA izolasyonu	26
3.3.2. Genomik DNA'nın kalitatif ve kantitatif analizleri.....	27
3.3.3. IRAP-PCR	28
4. BULGULAR.....	30
4.1. Seranın Kurulması Ve Bitki Materyalinin Yetiştirilmesi	30
4.2. Fizyolojik Çalışmalar	32
4.2.1. Total çözünabilir protein miktarı analizi	32
4.2.2. SOD enzim aktivitesinin analizi	34
4.2.3. CAT enzim aktivitesinin analizi	35
4.3. Moleküler Çalışmalar.....	36
4.3.1. Genomik DNA analizleri	36
4.3.2 <i>Nikita</i> IRAP-PCR.....	36

4.3.3. <i>Sukkula</i> IRAP-PCR.....	37
4.3.4 <i>SIRE1</i> IRAP-PCR.....	38
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	39
KAYNAKLAR.....	43
ÖZGEÇMİŞ.....	55



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Türkiye’de üretilen sebze miktarları ton.....	4
Çizelge 3.1. Bradford yönteminde kullanılan çözeltilerin içeriği (5X)	23
Çizelge 3.2. SOD miktarının belirlenmesinde kullanılan substratın içeriği	25
Çizelge 3.3. CAT miktarının belirlenmesinde kullanılan substratın içeriği	26
Çizelge 3.4. Genomik DNA izolasyonunda kullanılan çözeltiler	27
Çizelge 3.5. Agaroz jel elektroforezinde kullanılan çözeltiler	28
Çizelge 3.6. Primerlerin dizileri.....	28
Çizelge 3.7. IRAP-PCR bileşenleri ve miktarları	29
Çizelge 3.8. IRAP-PCR döngüleri	29
Çizelge 4.1. Örneklerde belirlenen protein miktarları	33
Çizelge 4.2. Örneklerde ölçülen SOD enzim aktivitesi	34
Çizelge 4.3. Örneklerde ölçülen CAT enzim aktivitesi	35

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Epigenetik mekanizmalar	9
Şekil 2.2. LTR ve TIR dizileri	12
Şekil 2.3. LTR dizilerinin yapısı.....	12
Şekil 2.4. Transpozonların sınıflandırılması.....	14
Şekil 2.5. LTR retrotranspozonlarının teorik yaşam döngüsü	17
Şekil 2.6. <i>Nikita</i> transpozonu.....	18
Şekil 2.7. <i>Sukkula</i> transpozonu.....	19
Şekil 2.8. <i>SIRE1</i> transpozonu.....	19
Şekil 2.9. IRAP moleküler markırı	20
Şekil 4.1. Seranın kurulumu.....	30
Şekil 4.2. Kontrol ve gübre uygulamaları	31
Şekil 4.3. Hasat zamanında marullar	32
Şekil 4.4. Konsantrasyonları bilinen BSA çözeltilerinin 595 nm dalga boyundaki absorbans değerlerine göre çizilen standart grafik.....	33
Şekil 4.5. Genomik DNA'ların Agaroz jel görüntüsü	36
Şekil 4.6. <i>Nikita</i> retrotranspozonunun IRAP-PCR analizi.....	37
Şekil 4.7. <i>Sukkula</i> retrotranspozonunun IRAP-PCR analizi.....	37
Şekil 4.8. <i>SIRE1</i> retrotranspozonunun IRAP-PCR analizi	38

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

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

Simgeler

Açıklama

+

Artı

-

Eksi

%

Yüzde

°C

Santigrat derece

Gr

Gram

m²

Metrekare

µl

Mikrolitre

µM

Mikromolar

Kısaltmalar

Açıklama

ABD

Amerika Birleşik Devletleri

AC

Aktivatör

AP

Aspartik Proteaz

APX

Askorbat Peroksidaz

ATP

Adenozin Trifosfat

B

Bor

BÇ

Baz Çifti

CAT	Katalaz
cDNA	Tamamlayıcı DNA
CTAB	Setrimetilmonyum Bromür
Cu	Bakır
DHAR	Dehidroaskorbat Redüktaz
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DS	“Dissociator”
EN	Endonükleaz
env	Envelope
FAO	“Food And Agriculture Organization”
Fe	Demir
G	Guanin
Gb	Giga Baz
GPX	Glutatyon Peroksidaz
GR	Glutatyon Redüktaz
HAT	Histon Asetil Transferaz
HDAC	Histon Deasetilaz
HMT	Histon Metil Transferaz
INT	Integraz
IRAP	Retrotranspozonlar Arası Çoğaltım Polimorfizmi
IPBS	Primerler Arası Bağlanma Bölgesi
K	Potasyum
Kb	Kilo Baz

LINE	Uzun Dağılmış Transpozabl Element
LTR	Uzun Uç Tekrarları
M.Ö.	Milattan Önce
Mb	Mega Baz
MDA	Malondialdehit
MITE	Minyatür Evrik Tekrarlı Transpozabl Elementler
miRNA	Micro RNA
Mn	Mangan
mRNA	Haberci RNA
N	Azot
NaCl	Sodyum Klorür
NBT	Nitro Blue Tetrazolium
NCBI	National Center For Biotechnology Information
ncRNA	Nonconding RNA
Nm	Nano metre
OD	Optik Yoğunluk
ORF	Open Reading Frame - Açık Okuma Çerçevesi
P	Fosfor
PBS	Primer Bağlanma Bölgesi
PPT	Poly-Purine Tract
RBIP	Retrotranspozon Temelli İnsersiyon Polimorfizmi
rDNA	Ribozomal DNA
REMAP	Retrotranspozon Mikrosatellit Çoğaltım Polimorfizmi

RH	RNaz H
RNA	Ribonükleik Asit
RNAi	RNA İnterferans
Rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
RRAP	RAPD-Retrotranspozon Çoğaltım Polimorfizmi
Rt	Ters Transkriptaz
SINE	Kısa Dağılmış Transpozabl Element
siRNA	Small İnterfering RNA
SOD	Süperoksit Dismutaz
SSAP	Diziye Özgü Çoğaltım Polimorfizmi
T	Timin
TBE	Tris- Borik Asit- EDTA
TE	Transposable Elements
TEMED	Tetrametil Etilendiamin
TIR	Uç Evrik Tekrar
tRNA	Transfer RNA
TSD	Hedef Bölge Duplikasyonları
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
VLP	Virüs Benzeri Partikül
XIST	X inaktif özgü transkript
Zn	Çinko

1. GİRİŞ

Sebzeler, içerdikleri vitaminler ve mineraller bakımından beslenmede önemli yer tutan bitkilerdir. Ekonomik değerinden dolayı bitkisel yetiştiriciliğin önemli bir alanını teşkil eder. Yapılan ıslah çalışmaları ve değişik yetiştirme teknikleriyle farklı toprak koşullarında ve farklı coğrafyalarda yetiştirilebilen temel besin unsurlarından olan sebzeler; SOD (superoxide dismutase - süperoksit dismutaz), CAT (catalase - katalaz), APX (ascorbate peroxidase - askorbat peroksidaz), GR (Glutathione reductase - glutatyon redüktaz), GPX (glutathione peroxidase-glutatyon peroksidaz) ve DHAR (dehydroascorbate reductase - dehidroaskorbat redüktaz) olarak sayılabilecek birçok antioksidan enzim sayesinde bağışıklık sisteminin de güçlenmesine katkı sağlar [1].

Sebzeler arasında çiğ tüketilen sebzeler, özellikle son yıllarda kolay ulaşılabilir ve kolay tüketilebilir olmalarından dolayı yaygın olarak kullanılmaktadır. Çiğ tüketilen sebzelerden biri olan marul (*Lactuca sativa* L.) bitkisi, ülkemizde ve dünya genelinde farklı varyetelerde üretilen geniş yeşil yapraklı, tek yıllık ya da altı aylık bir serin iklim sebzesidir. Bununla birlikte açık tarla yetiştiriciliğinde ve örtü altı yetiştiriciliğinde farklı tekniklerin kullanılmasıyla yılın her ayında üretimi mümkündür [2].

Küresel ısınmanın etkisiyle toprakta, suda ve iklimde görülen değişimler sebze üretiminde de sorunlarına neden olmaktadır. Bu sorunları çözebilmek için geliştirilen yöntemlerden biri tarımsal üretimde bitkinin besin ihtiyacının karşılanması amacıyla ve toprağı besin maddeleriyle zenginleştirmek adına kullanılan gübrelerdir [3]. Toprağı beslerken gübrenin toprağı en uygun zamanlarda, bitkinin isteğı olan cinsten ve en uygun miktarlarda verilmesi, bitkinin kalite ve üretiminin artmasında önemli rol oynayan etmenlerdendir [2]. Gübreler, zamanında ve doğru konsantrasyonlarda kullanılmadığı zaman bitkiye yarardan çok zarar vermekte ve dolayısıyla onu tüketen canlıları da etkilemektedir. Kullanılan maddelerin bitki genomunda sebep olduğu etkilerin araştırılması, hangi maddenin ne kadar kullanılması ile ilgili detaylı bilgiler sağlamaktadır. Bununla birlikte bu konuda yapılan çalışmalarda, genelde morfolojik ve kimyasal analizlerin gerçekleştirildiğı görülmektedir [4, 5, 6].

Bitki üretiminde kullanılan farklı gübreler; bitki için farklı bir çevresel koşul oluşturmakta ve bazı durumlarda bitkiyi strese sokmaktadır. Bitkinin strese karşı direncinde birçok mekanizma rol oynar. DNA dizisinde herhangi bir değişiklik olmadan gen anlatımında meydana gelen farklılıklar olarak isimlendirilen epigenetik de bu mekanizmalardan biridir [7]. Transpozonlar, genom içerisinde hareket eden elementlerdir ve ilk defa mısır bitkisinde Barbara McClintock tarafından tanımlanmıştır. Epigenetik mekanizmalar içerisinde önemli bir yer tutan transpozonlar hemen hemen her canlıda farklı oranlarda bulunmasına karşın bitki genomlarının yaklaşık %90'ı transpozonlardan oluşmaktadır. Bu oranın marul genomunda %74.2 (1.8 Gb) olduğu bildirilmiştir [8]. Hareket mekanizmalarına göre RNA transpozonları (retrotranspozonlar) ve DNA transpozonları olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar. Retrotranspozonlar kopyala-yapıştır mekanizmasıyla, DNA transpozonları ise kes-yapıştır mekanizması ile hareket ederler [9].

Retrotranspozonlar hareketleri sonucunda genomik DNA ve korunmuş bölgeleri arasında yeni yerler oluşturdukları ve polimorfizme sebep oldukları için moleküler markır olarak kullanılabilir. Bu tez çalışmasında, iki retrotranspozon arasındaki genomik DNA'nın çoğaltılması temelli IRAP moleküler markır kullanıldı. Bu moleküler markır yönteminin yanı sıra farklı çalışmalarda retrotranspozon temelli; mikrosatellit dizilerinin kullanıldığı REMAP (Retrotransposon-Microsatellite Amplified Polymorphism - Retrotranspozon Mikrosatellit Çoğaltım Polimorfizmi), restriksiyon enzimleri ile kesim sonrası oluşan bölge ve transpozon arasındaki ilişkinin incelendiği SSAP (Sequence-Specific Amplified Polymorphism - Diziye-Özgü Çoğaltım Polimorfizmi), retrotranspozonun genomda hareket ettiği bölgenin incelendiği RBIP (Retrotransposon-Based Insertion Polymorphism - Retrotranspozon-Temelli İnsersiyon Polimorfizmi), RAPD moleküler markır ve retrotranspozonun birleştirildiği RRAP (RAPD-retrotransposon amplified polymorphism - RAPD-Retrotranspozon Çoğaltım Polimorfizmi) ve primer bağlanma bölgelerine (PBS) özgü primerleri kullanılarak çoğaltım yapan iPBS (Inter-Primer Binding Site - Primerler-Arası Bağlanma Bölgesi) olmak üzere farklı moleküler markırlar da geliştirilmiştir [10].

Bu tez çalışmasının amacı; kontrol (sadece su) ile bor (B), bakır (Cu), demir (Fe), potasyum (K), azot (N), fosfor (P) ve bu elementlerin birleşimi olmak üzere 7 farklı gübrenin, marul (*Lactuca sativa* L.) bitkisinde sebep olduğu etkilerin fizyolojik ve moleküler açıdan incelenmesidir.

Bu amaçla, marul fideleri; kontrol (sadece su), B (0.2 gr/m²), Cu (0.46 gr/m²), Fe (0.2 gr/m²), K (2 gr/m²), N (2 gr/m²), P (2 gr/m²) ile bu gübrelerin karışım uygulamaları altında yetiştirildi. Fizyolojik analizlerde örneklerin protein miktarları belirlendi. Bununla birlikte SOD ve CAT enzim aktiviteleri de araştırıldı. Sonuçların deney grupları arasındaki farklılığın istatistik analizi, SPSS 20.0 programında ANOVA testi ile yapıldı. Moleküler analizlerde ise arpa bitkisine özgü *Nikita* ve *Sukkula* ile soya fasulyesine özgü *SIRE1* retrotranspozonlarının hareketleri kontrol ve gübre uygulamaları altında yetiştirilen marullarda karşılaştırmalı olarak analiz edildi.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sebze

Dünyanın genelinde yoğun olarak üretilen temel besin kaynaklarından biri olan sebzeler, insanoğlunun besin ihtiyaçlarını karşılayabilmek için zamanla kültüre alınan çeşitli bitkilerdir. Farklı iklimlerde ve farklı şartlarda kolaylıkla yetiştirilebilen sebzeler; vitaminler, mineraller ve antioksidan enzimler bakımından zengin olmaları ile beslenmenin yanı sıra çeşitli hastalıklara karşı vücudu korumakta, vücut direncini arttırmakta ve ayrıca birçok hayatsal önemi olan olayda da rol almaktadır [11, 12, 13].

Artan dünya nüfusu ile paralel olarak besine karşı olan ihtiyaçta gün geçtikçe artmaktadır. Bu nedenle günümüzde sebzelere yönelik çalışmaların artmakta ve kullanılan farklı yöntemler oldukça farklı coğrafik koşullarda farklı sebzelerin yetiştirilmesine olanak sağlamaktadır [14]. Ülkemiz ekonomisinde de sebze üretimi önemli bir yere sahiptir (Çizelge 2.1). FAO ve TÜİK verilerine göre sebze üretiminde ilk dört ülke, Çin (540 milyon ton), Hindistan (126 milyon ton) ve ABD (36 milyon ton) ve Türkiye (31 milyon ton) olarak belirtilmiştir [15, 16].

Çizelge 2.1. Türkiye’de üretilen sebze miktarları ton [15]

ÜRÜNLER	2015	2016	2017	2018	2019
Soğan (taze)	141,691	134,479	138,993	142,854	142,257
Soğan (kuru)	1,879,189	2,120,581	2,131,513	1,930,695	2,200,000
Sarımsak (taze)	24,356	25,987	26,328	25,519	23,351
Sarımsak (kuru)	94,867	109,161	121,805	117,688	103,096
Pırasa	231,678	227,172	208,239	252,958	234,052
Havuç	534,988	554,736	569,533	642,837	663,882
Şalgam	1,393	1,651	1,768	1,530	2,388
Pancar (kırmızı)	7,028	7,774	7,553	8,119	9,917
Kereviz (kök)	15,801	18,981	21,387	21,603	23,323
Turp (bayır)	14,944	14,109	14,444	14,003	14,534
Turp (kırmızı)	179,660	179,353	178,344	177,067	198,112
Turp (beyaz)	5,645	5,826	5,913	5,914	6,170
Domates	12,615,000	12,600,000	12,750,000	12,150,000	12,841,990
Hıyar	1,822,636	1,811,681	1,827,782	1,848,273	1,916,645
Acur	33,082	36,006	41,863	42,631	43,204

(devam) Çizelge 2.1. Türkiye’de üretilen sebze miktarları ton [15]

ÜRÜNLER	2015	2016	2017	2018	2019
Biber (salçalık)	879,775	957,03	1,107,713	1,128,060	1,234,423
Biber (dolmalık)	393,109	418,435	420,904	397,175	371,918
Biber (sivri)	919,004	967,466	945,361	930,349	902,203
Biber (çarliston)	115,568	114,891	134,194	99,390	117,125
Bamya	30,574	29,529	28,536	29,111	31,428
Patlıcan	805,259	854,049	883,917	836,284	822,659
Kabak (sakız)	312,923	351,550	449,561	474,527	447,830
Balkabağı	95,363	96,268	89,737	87,207	92,319
Kabak (çerezlik)	41,612	42,181	41,326	55,043	50,265
Kavun	1,719,620	1,854,356	1,813,422	1,753,942	1,777,059
Karpuz	3,918,558	3,928,892	4,011,313	4,031,174	3,870,515
Bezelye	112,638	112,643	107,124	107,344	98,200
Fasulye	640,836	638,532	630,347	580,949	596,074
Börülce	18,043	18,108	17,414	17,657	18,420
Bakla	35,359	35,081	37,511	38,921	40,068
Barbunya fasulye	79,704	88,362	92,402	88,024	89,860
Karnabahar	182,266	195,248	199,710	225,151	234,356
Brokoli	46,353	55,082	66,105	69,592	80,920
Mantar (kültür)	39,495	40,272	40,874	46,144	49,364
Lahana (beyaz)	514,344	524,976	520,796	516,951	567,622
Lahana (kırmızı)	178,679	186,826	188,316	187,948	192,219
Lahana (Brüksel)	2,534	3,151	3,170	3,343	3,100
Lahana (karayaprak)	71,118	71,018	66,605	57,034	56,726
Marul (kıvırcık)	157,981	179,712	185,070	187,658	198,491
Marul (göbekli)	225,021	233,662	223,449	215,725	215,728
Marul (aysberg)	64,490	65,068	81,904	84,160	85,547
Enginar	32,701	36,368	38,431	39,477	39,071
Kereviz (sap)	1,855	2,113	2,078	2,179	2,169
Ispanak	208,403	210,999	222,177	225,174	229,793
Pazı	5,594	5,881	7,770	9,631	8,049
Semizotu	5,878	5,819	5,149	4,382	4,931
Maydanoz	57,728	58,19	80,304	78,961	92,954
Roka	9,110	10,185	9,334	12,930	13,654
Tere	9,236	6,985	5,993	6,517	6,629
Nane	14,945	15,550	14,213	14,511	16,011
Dereotu	4,488	4,589	7,208	8,318	8,740
Kuşkonmaz	68	145	178	169	174
TOPLAM	29,552,290	30,266,897	30,825,569	30,032,727	31,089,644

2.2. Marul (*Lactuca sativa* L.)

Çiğ tüketilen sebzeler arasında yer alan marul (*Lactuca sativa* L.) bitkisi, ülkemizde ve dünya genelinde tüketilen geniş yeşil yapraklı, tek yıllık veya altı aylık bir serin iklim sebzesidir. Tek yıllık bir sebze olmasının yanı sıra tarla yetiştiriciliğinde ve örtü altı yetiştiriciliğinde, çeşitlerin ıslah edilmesiyle beraber yılın her ayında üretimi mümkündür [2]. Kolay üretilmesi ve elde edilen ürünün fazla olmasının ve yüksek besinsel içeriği son yıllarda taze marulun tüketimini arttırmaktadır [17]. 100 g marul yaprağının %95'e yakın oranı su, 1-1.5 g ham protein, 6-8 mg askorbik asit, 1.5-2.5 g karbonhidrat ve çeşitli miktarlarda mikro besin elementine sahiptir [18]. Sahip olduğu besinsel değerlerin yanı sıra antioksidan etkileri [12, 19], kanser, kalp hastalıkları, diyabet ve inme gibi hastalıklara karşı koruyucu fenolik içeriği [20, 21, 22], genetik [23, 24], moleküler sitogenetik [23] ve genetik transformasyon [25] olmak üzere farklı disiplinlerde de yaygın olarak çalışılan bir bitkidir.

2.2.1. Marul taksonomisi ve genetiği

Marul bitkisi; bitkiler alemi, Magnoliophyta şubesi, Magnoliopsida sınıfı, Asterales takımı, Asteraceae ailesi, *Lactuca* cinsi altında sınıflandırılmaktadır. NCBI (National Center for Biotechnology Information - Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi) veri tabanında *Lactuca* cinsi içerisinde; *Lactuca sativa* var. *angustana*, *Lactuca sativa* var. *capitata*, *Lactuca sativa* var. *crispa* ve *Lactuca sativa* var. *longifolia* olmak üzere dört varyete bulunmaktadır [26].

Çiçekli bitkiler içerisinde türlerin sayısı ve ekolojik olarak oldukça farklı alanlarda büyüebilmeleri sayesinde Asteraceae ailesi en büyük ailelerden biridir [27]. Bu ailesin bir üyesi olan marul, $2n = 2x = 18$ kromozoma sahiptir. Yaptıkları çalışmada marul genomunu Illumina yeni nesil dizileme teknolojisini kullanarak dizilediler ve genomun, yüksek tekrarlı diziler ile birlikte 2 Gb'dan daha büyük olduğunu rapor ettiler. Bununla birlikte genomda TE (Transposable Elements - Transpozabl Elementler) dizilerinden; retroelementlerin 1.5 Gb (%61.5), DNA elementlerinin 29.5 Mb (%1.2), MITE (Miniature Inverted Repeat Transposable Elements - Minyatür Evrik Tekrarlı Transpozabl Elementler) dizilerinin 103.7 Mb (% 4.4), diğer dizilerin 115.3 Kb (< %1) ve bilinmeyen diziler 152.9 Mb (%6.3) olmak üzere toplamda 1.8 Gb (%74.2) yer kapladığı da belirlendi [28].

2.2.2. Marul yetiştirilmesi

İlk defa, M.Ö. (Milattan Önce) 4500 yılında Mısır'da yetiştirilen serin iklim bitkisi olan marulun, günümüzde oldukça farklı coğrafik şartlarda ve iklimsel koşullarda yetiştirildiği bilinmektedir [29]. Ortalama sıcaklığın 15-18°C olduğu ortamlarda yetişen marulun, aynı zamanda maksimum 27-30°C, minimum ise 2-4°C'lerde de büyüme göstermektedir [30]. Ülkemizin hemen hemen her bölgesinde vejetasyon süresinin kısa olması sebebiyle kolaylıkla yetiştirilebilmektedir [31, 32].

Özellikle küresel ısınma ile beraber görülen çeşitli biyotik ve abiyotik stres faktörleri nedeniyle tarım alanlarında meydana gelen daralma ve artan dünya nüfusu, birim alandan elde edilmesi gereken kalite ve verimin artmasını zorunlu hale getirdi. Kalite ve verimin artırılması; gübreleme, sulama ve tarımsal mücadele ile sağlanır. Bitkilerin farklı mevsimlerde ve farklı coğrafik koşullarda yetiştirilmesine olanak tanıyan örtü altı tarımı, gübreleme, sulama ve tarımsal mücadelenin açık araziye kıyasla daha kontrol edilebilir olmasını sağladığı için son yıllarda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır [33]. Diğer bitkilere kıyasla sebzelerin daha fazla besin maddesine ihtiyaç duyduğundan gübreleme (gübrelerin yeterli konsantrasyonda ve zamanında verilmesi) ayrı bir öneme sahiptir [34].

Tarımda yaygın olarak kullanılan gübre çeşitlerinden biri farklı metabolik yollarda önemli roller üstlenen N (azot) elementidir. Noksanlığında, genel olarak bitkilerin büyüme ve gelişimi yavaşlar. Fenotipik olarak incelendiğinde sürgün sayısı az ve sürgün boyu normalden kısadır. Bununla birlikte, sürgünler kıvrılarak aşağı doğru büyür ve yapraklar vaktinden önce dökülür. Noksanlığında, yaşlılık hormonu salgılanan bitkide kök gelişimi zayıflar. Azotun fazla verilmesi durumunda da hastalıklara karşı direncin azalması, geç çiçeklenme ve erken meyve dökümü görülür [24, 35, 36].

Diğer gübre çeşidi olan ve toprakta serbest halde bulunan P (fosfor) bitkilerde en fazla genç dönemde kullanılır. Fosfor, çiçeklenme biyolojisi, tohum oluşumu, enerji transferi (ATP) ve gen aktarımı gibi farklı metabolik yollarda önemli rol oynayan bitki besin elementidir. Noksanlığında, yapraklarda, önce koyu yeşile, sonra mavi yeşile ve daha sonra da kırmızı ve kırmızı mora dönen farklı renk skalaları görülür. Fazlalığında ise bitki Fe (demir), Zn (çinko), Ca (kalsiyum), B (bor) ve Mn (mangan) alınımında sorun yaşar [34, 37, 38].

Potasyum (K) ise N ve P'den farklı olarak bitkinin yapısında değil daha çok bitkinin hayatsal olaylarında rol alır. Bu hayatsal olaylara; su potansiyelinin ayarlanması, karbonhidratların oluşumu ve taşınması ile amino asitlerin protein oluşturması gibi farklı metabolik yollar örnek verilebilir. Noksanlığı öncelikle yaşlı yaprakların uçlarında ve kenarlarında sararma ile kendini belli eder. Ayrıca K, su ayarlanmasında görevli olduğu için eksikliğinde su stresi ve beraberinde bitkinin cansızlaşması ile gelişiminin yavaşlaması görülür. Diğer besin elementleri noksanlığında olduğu gibi K noksanlığında da bitki, hastalık ve zararlılara karşı duyarlıdır [4, 39].

Demir (Fe) ülkemiz topraklarında görülen yüksek pH ve kireçten ötürü bitkilerde en fazla noksanlığı görülen elementlerden biridir. Klorofil oluşumunda önemli rol oynayan Fe noksanlığı ilk önce genç yaprakların beyaz olmasıyla kendini gösterir. Klorofil eksikliği doğrudan fotosentezi etkilediğinden dolayı büyüme ve gelişmede de gerileme görülür. Ayrıca enzimlerin elektron transferinde gerekli olduğu için mitokondri demir noksanlığından en fazla etkilenen organellerden biridir [40, 41, 42].

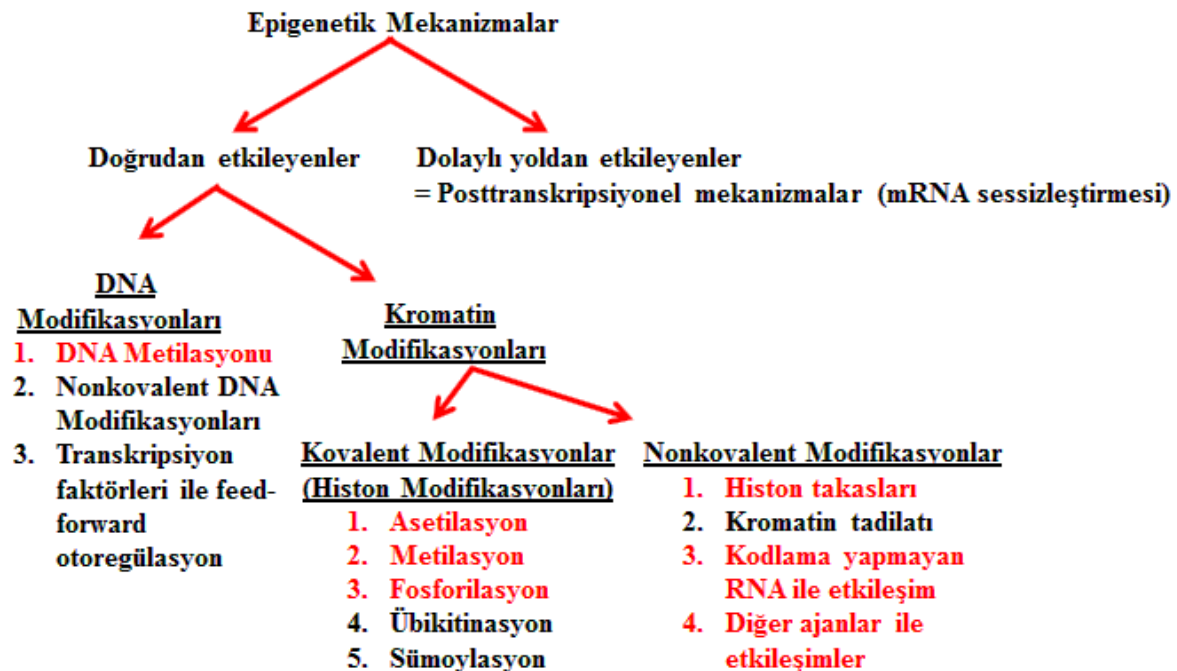
Dünyadaki B (bor) rezervlerinin %72'si Türkiyede bulunmaktadır [43]. B; bitkide protein sentezi, karbohidratların oluşumu ve taşınması ile polen oluşumu ve hormon sentezi için gereklidir. Hücre bölünmesinde de etkili olan B elementinin diğer besin elementleri gibi genel olarak bitkilerin büyüme ve gelişiminde rol oynadığı söylenebilir. Noksanlığında Fe noksanlığına benzer şekilde ilk olarak genç yapraklar etkilenir. Oluşan meyveler küçüktür ya da şekilleri bozuktur. Çiçek oluşumunun azalmasıyla beraber polende de azalma görülerek döllenme etkilenir [44, 45].

Bakır (Cu) besin elementinin farklı sistemlerde etkileri bulunmaktadır. Fe gibi klorofil oluşumunda etkiliyken K gibi suyun hareketinin dengelenmesini sağlar. Bitkinin yapısında da görev alan Cu, hücre duvarının oluşumunda rol oynar. Eksikliğinde bitkilerde çalılışma, çiçeklerde bozulma, meyve yapısında çatlama ve kök oluşumunda azalma görülür [46, 47].

2.3. Epigenetik ve Epigenetik Mekanizmalar

Epigenetik, DNA dizisinden bir değişim olmadan gen anlatımında meydana gelen kalıtsal olabilen değişikliklerdir. X kromozomu inaktivasyonu, genomik imprinting, paramutasyon, floral simetri, farelerde agouti lokusunun aktarılması, ‘polycomb’ sessizleştirilmesi, konum-etki çeşitliliği, sirke sineğinde (*Drosophila melanogaster* L.) *Hox* genlerinin modellenmesi, hücre farklılaşması, kanser gelişimi ve nöronal gelişim, epigenetik mekanizmalar ile meydana gelen değişimlere örnek olarak verilebilir [48, 49, 50].

Epigenetik mekanizmalar; doğrudan etkileyen ve dolaylı yoldan etkileyen mekanizmalar olarak ikiye ayrılır (Şekil 2.1). DNA modifikasyonları ve kromatin modifikasyonları doğrudan etkileyen mekanizmalardır. Bununla beraber RNA ile indüklenen sessizleşme ise dolaylı yoldan etkileyen mekanizmalara örnek verilebilir [51]. Bu mekanizmaların birlikte çalışması sonucu gen anlatımında kalıtsal değişiklikler meydana gelmektedir. Mekanizmaların herhangi birinde meydana gelen bir hata, gen anlatımının aşırı artmasına veya baskılanmasına neden olarak epigenetik bozukluklara yol açmaktadır [52, 53].



Şekil 2.1 Epigenetik mekanizmalar [54]

DNA metilasyonunda, adenin halkasının 6. pozisyonundaki karbon atomuna (6-metiladenin) ya da sitozin halkasının 5. pozisyonundaki karbonuna (5-metilsitozin) metil grubunu eklenir. Metillenme, türe ve dokuya özgü olabildiği gibi hormonlar tarafından da düzenlenebilir [55, 56]. Transpozonların susturulmasında önemli bir mekanizma olan metillenme, genom obezitesine karşı genomu korur [57]. DNA metilasyonu; LINE (Long Interspersed Transposable Elements – Uzun Dağılmış Transpozabl Element), SINE (Short Interspersed Transposable Elements – Kısa Dağılmış Transpozabl Element) ve satellit DNA'ları bulunduğu tekrarlı DNA bölgelerinde meydana gelir [58].

Histonlar da kromatin yapısında değişikliğe neden olduğu ve işlevini yitirdiği için epigenetik düzenlemeler olarak bilinmektedir. Modifikasyonlar, histonların elektrostatik yükünü etkileyerek kromatin yapısını değiştirmektedir. Histon-DNA, birçok moleküler olayı kontrol eder. Histon-histon etkileşimlerinde; DNA'nın paketlenmesi, replikasyonu, tamiri ve gen anlatımının düzenlenmesi bu olaylara örnek olarak verilebilir [59]. Başlıca histon modifikasyonları; asetillenme, deasetillenme, metilasyon ve fosforillenmedir. Histonların asetillenmesi, histon H3 ve H4'te 9. lizinde HAT (histone acetyltransferase - histon asetil transferazlar) tarafından gerçekleştirilir. Histonlardaki lizinler, “+” yüklü aminoasitlerdir. Asetillenmiş histonların “+” yükü azalır ve histonların DNA ile olan ilişkileri zayıflar. Gevşek paketlenme olur, kromatin açılır ve transkripsiyon aktif hale geçer. Histonların deasetillenmesi, HDAC (histon deacetylation - histon deasetilazlar) tarafından asetil gruplarının uzaklaştırılması ile gerçekleşir. Deasetillenme ile histonlardaki “+” yük artar. Bu da “-” yüklü DNA ile “+” yüklü histonların ilişkisini kuvvetlendirir; histonlar paketlenir ve transkripsiyon gerçekleşmez. Histonlarda N terminal kuyrukta bulunan lizin ve arjinin bakiyelerinin metillenmesi, HMT (histone methyl transferases - histon metil transferazlar) tarafından gerçekleştirilir [60]. Histonların fosforillenmesi, mitoz sırasında ve sinyal iletiminde kinazlar aracılığı ile serin bakiyelerinde gerçekleşir.

Bazı RNA türlerinin, RNA ile indüklenen sessizleşmede rol oynayarak, histon modifikasyonlarının ve DNA metilasyonunun başlaması için tetikleyici olduğu ve heterokromatin bölgenin oluşumuna katkı sağladığı bilinmektedir. Kodlama yapmayan RNA (noncoding RNA - ncRNA) adı verilen bazı küçük RNA moleküllerinin epigenetik süreçte rol aldıkları gösterilmiştir.

RNAi (RNA interference - RNA interferans) olarak bilinen, posttranskripsiyonel ve posttranslasyonel sessizleştirmede görevli olan miRNA (micro RNA), siRNA (small interfering RNA) ve X kromozom inaktivasyonundan sorumlu olan XIST (X-inactive specific transcript – X inaktif özgü transkript) RNA, ncRNA'lara örnek olarak gösterilebilir [61, 62].

2.4. Transpozonlar

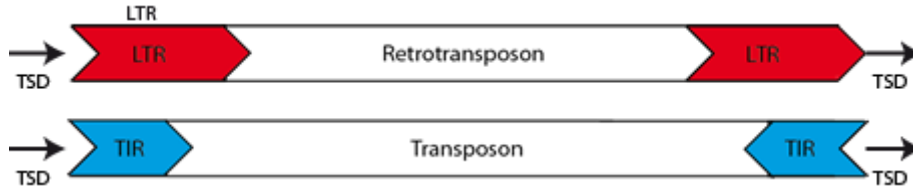
Transpozonlar, genom içinde transpozisyon olarak adlandırılan bir mekanizma ile bir bölgeden diğerine hareket edebilen DNA dizileridir. Bu yer değiştirebilen tekrarlı diziler, *Plasmodium* cinsinin birkaç türü hariç tüm ökaryot ve neredeyse tüm prokaryot genomlarında bulunur. Ökaryotik genomlarda büyük bir oranda bulunan transpozonların, bazı bitki (arpa ve buğday gibi) genomlarının %90'dan fazlasını ve hayvan genomlarının da %3-45 kadarını oluşturduğu rapor edilmiştir [63, 64, 65, 66, 67].

Barbara McClintock (1902-1992), mısırdaki yaptığı analizler sonucunda kontrol elementleri (controlling elements) olarak adlandırdığı transpozonları keşfetmiştir. Renklendirilen örnekler incelendiğinde, McClintock, iki element ile bir mutasyon sistemi tanımlamıştır. Mutasyona sebep olan ilk elementi, *Ac* (*activator*) ve mutasyon aktivitesini kontrol eden ikinci elementi *Ds* (dissociator) olarak adlandırmıştır [68]. Her iki elementin mısırdaki 9. kromozom üzerinde pozisyonlarını değiştirme yeteneğine sahip oldukları fark edilmiş ve çalışmanın sonucunda *Ac* elementinin kendi hareketini kontrol edebildiği anlaşılmıştır. McClintock, bu hareketi “transpozisyon” olarak adlandırmış ve 1956 yılında, mısırdaki “suppressor-mutator” sistemi olarak adlandırılan ikinci bir transpozisyon sistemi rapor etmiştir. Bu sistem, iki gen ve TE'lerin bir dizisini içermektedir [69]. Bu çalışmalar ile McClintock, 1983 yılında Nobel ödülüne layık görülmüştür.

2.4.1. Transpozonların sınıflandırılması

Bütün işlevsel TE dizileri, genomda bir bölgeden diğer bölgeye hareket ederler. Hareketli mekanizmaların birçoğu transpozisyon yoluyla genomda kopya sayılarını arttırabilir [70]. 1989 yılında Finnegan, aracı moleküle göre ilk TE sınıflandırma sistemini önermiştir ve bu sistemde, TE'ler transpozisyon mekanizmasına göre iki sınıfa ayrılmıştır: RNA (Sınıf I veya retrotranspozonlar) ya da DNA (Sınıf II veya DNA transpozonları).

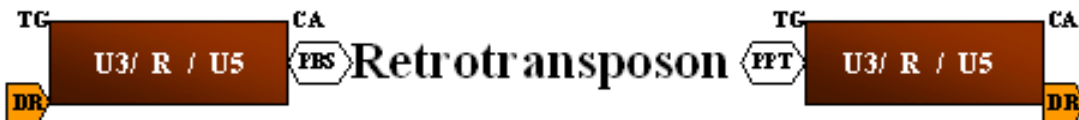
Sınıf I retrotranspozonlarının transpozisyon mekanizması kopyala ve yapıştır, Sınıf II'nin ise kes ve yapıştır olarak adlandırılır [71]. Retrotranspozonlar, LTR (Long Terminal Repeat - Uzun Uç Tekrarları) dizileri ile sınırlandırılırken; DNA transpozonlarının uç kısımlarında TIR (Terminal Inverted Repeat - Uç Evrik Tekrar) dizileri bulunur. LTR ve TIR dizileri, TE'leri sınırlandırmanın yanı sıra transpozisyonunda da önemli rollere sahiptir (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. LTR ve TIR dizileri.

LTR dizileri TIR dizilerinden daha büyüktür. Her iki dizide siyah oklar ile Hedef Bölge Duplikasyonları ("Target Site Duplications" - TSD) gösterilmiştir. TSD, integrasyon mekanizmasından kaynaklanan çoğaltılmış genomik dizidir [31, 72, 73]

LTR dizileri, genellikle 5'-TG CA-3' ters tekrarlar ile başlayıp biten, hareketli genetik elementlerin iç bölgelerini sınırlayan ve kodlama yapmayan DNA dizileridir (Şekil 2.3) [73]. LTR dizileri; U3, R ve U5 olmak üzere üç bölgeye ayrılabilir. U3 bölgesi 200-1,200 nükleotit uzunluğunda ve promotörlerin bulunduğu yerdir. R bölgesi, tekrarlı dizilerden oluşur. U5 bölgesi, 75-250 nükleotit uzunluğunda ve transkripsiyonu yapılmış genomun ilk bölümünü kapsar. PBS (Primer Binding Site – Primer Bağlanma Bölgesi) olarak adlandırılan 18 nükleotitlik bölge 5' LTR ucunda bulunur. PBS, hücresel tRNA'nın 3' ucuna tamamlayıcıdır ve 5' LTR'nin R-U5 bölgesine tamamlayıcı olan DNA ipliğinin sentezlenmesi için ters transkriptaz tarafından primer olarak kullanılır. Diğer küçük bir bölge olan PPT ise 3' LTR ucunda görülür ve proviral DNA ipliğinin sentezinin başlamasından sorumludur. Bazen LTR'ler arası rekombinasyon, LTR dizilerinin yalnız kalmasına sebep olmaktadır. Genomda tek kalan LTR dizilerine solo-LTR denir [74].



Şekil 2.3. LTR dizilerinin yapısı [76]

TIR dizileri, transpozaz tarafından tanınan DNA bağlanma bölgeleri içerir ve böylece transpozon genomik DNA'dan rahatça ayrılarak hareket eder [75]. TIR dizileri, transpozon aileleri arasında farklı sayıda ve uzunlukta olmasının karşın genelde iki işlevsel bölgeye ayrılır: ilk bölge, iki ya da üç baz çiftlik uç tekrarlar içerip hareket mekanizmasında görev alırken; ikinci bölge transpozona özgü tanıma ve bağlanma için gereklidir [75, 77].

Günümüzde TE dizilerinin sınıflandırılmasında, Thomas Wicker tarafından 2007 yılında önerilen bir sistem kullanılmaktadır [9]. Bu sınıflandırmada hem Finnegan'ın ikili sistemini hem de mekanik ve enzimatik kriterler kullanılmaktadır. Hiyerarşik bir sınıflandırma olduğundan; sınıf, alt sınıf, takım, üstaile, aile ve alt aile terimleri kullanılır (Şekil 2.4). En üst takson olan sınıf, ikili sınıflandırmadaki gibi retrotranspozonları ve DNA transpozonları içerir.

Retrotranspozonlar, transpozisyon aracı olarak RNA'yı kullanan hareketli elementlerdir. Bir RNA polimeraz enzimi aracılığı ile transpozonun mRNA'ya transkripsiyonu yapılır ve mRNA ters transkriptaz aracılığı ile bu mRNA, cDNA (complementary DNA - komplementer DNA)'ya dönüştürülür. Sentezlenen cDNA, genomdaki hedef bölgeye yerleşerek yeni konumunu alır. Kopyala ve yapıştır olarak adlandırılan bu transpozisyon çeşidinde kopya sayısı fazlalaşır ve sonuçta genom büyüklüğü artar [9, 67, 78].

Retrotranspozonlar; transpozisyon mekanizmalarına, organizasyonlarına ve ters transkriptaz filogenisine göre beş alt sınıfa ayrılabilir: *DIRS* benzeri elementler, *PLE* (*Penelope*) benzeri elementler, LINE ile SINE dizileri ve LTR retrotranspozonları. *DIRS* benzeri elementler, LTR retrotranspozonlarından farklı birçok özelliğe sahiptir. *DIRS* benzeri elementler, YR (tyrosine recombinase - tirozin rekombinaz) kodlamakla birlikte bir *ap* (Aspartic protease - *aspartik proteaz*) kodlamaz [79]. *PLE* dizileri, *Drosophila virilis*'ten izole edilmiştir ve *rt* (*reverse transcriptase – ters transkriptaz*) ile *en* (*endonuclease - endonükleaz*) olmak üzere iki temel domene sahiptir [80]. LINE dizileri yaygın olarak bulunan otonom elementlerdir. Otonom elementler, hareket için gerekli dizilere sahip olan dizilerdir. Transpozisyon için gerekli proteinleri kodlayan ORF (open reading frame - açık okuma çerçevesi), bir poly (A) dizisi ve polimereaz II promotörü ile 6,000 bp uzunluğuna kadar uzunlukta ve genomda 500,000 kopya bulunan retrotranspozon kökenli dizilerdir. İnsan genomunun yaklaşık %20'si LINE dizilerinden oluşur [81, 82].

Sınıflandırma	Yapı	HBD	Kod	Bulunduğu organizmalar	
Order	Superfamily				
<i>Sınıf I (retrotranspozonlar)</i>					
LTR	<i>Copia</i>		4-6	RLC	P, M, F, O
	<i>Gypsy</i>		4-6	RLG	P, M, F, O
	<i>Bel-Pao</i>		4-6	RLB	M
	<i>Retrovirus</i>		4-6	RLR	M
	<i>ERV</i>		4-6	RLE	M
DIRS	<i>DIRS</i>		0	RYD	P, M, F, O
	<i>Ngaro</i>		0	RYN	M, F
	<i>VIPER</i>		0	RYV	O
PLE	<i>Penelope</i>		Değişken	RPP	P, M, F, O
LINE	<i>R2</i>		Değişken	RIR	M
	<i>RTE</i>		Değişken	RIT	M
	<i>Jockey</i>		Değişken	RIJ	M
	<i>L1</i>		Değişken	RIL	P, M, F, O
	<i>I</i>		Değişken	RII	P, M, F
SINE	<i>tRNA</i>		Değişken	RST	P, M, F
	<i>7SL</i>		Değişken	RSL	P, M, F
	<i>5S</i>		Değişken	RSS	M, O
<i>Sınıf II (DNA transpozonları)- Alt sınıf 1</i>					
TIR	<i>Tc1-Mariner</i>		TA	DTT	P, M, F, O
	<i>hAT</i>		8	DTA	P, M, F, O
	<i>Mutator</i>		9-11	DTM	P, M, F, O
	<i>Merlin</i>		8-9	DTE	M, O
	<i>Transib</i>		5	DTR	M, F
	<i>P</i>		8	DTP	P, M
	<i>PiggyBac</i>		TTAA	DTB	M, O
	<i>PIF-Harbinger</i>		3	DTH	P, M, F, O
	<i>CACTA</i>		2-3	DTC	P, M, F
Crypton	<i>Crypton</i>		0	DYC	F
<i>Sınıf II (DNA transpozonları)- Alt sınıf 2</i>					
Helitron	<i>Helitron</i>		0	DHH	P, M, F
Maverick	<i>Maverick</i>		6	DMM	M, F, O

Semboller

Long Terminal Repeats (LTR) / Uzun uç tekrar dizileri
 Terminal Inverted Repeats (TIR) / Ters çevrilmiş uç tekrarları
 Kodlanan Bölge
 Kodlanmayan Bölge
 Kodlanmayan bölgelerde diyagnostik şekil
 Birden fazla ORF içeren bölge

Protein Kodlayan Domainler

AP: Aspartik Proteinaz	APE: Apürinik endonükleaz	ATP: ATPaz paketleme	C-INT: C-integraz	CYP: Sistein proteaz
ENV: Envelope Protein (Kilif proteini)	GAG: Kapsid proteini	HEL: helikaz	INT: integraz	ORF: Fonksiyonu bilinmeyen açık okuma bölgesi (Open reading frame)
POL B: DNA polimeraz B	RH: RNaz H	RPA: Replikasyon proteini A (Sadece bitkilerde bulunur)	EN: Endonükleaz	RT: Revers Transkriptaz (Ters Transkriptaz)
Tase: DDE motifli Transpozaz		YR: Tirozin rekombinaz		Y2: YY motifli YR

Bulunduğu Organizmalar

P: Plants (Bitkiler) M: Metazoans (Metazoalar) F: Fungi (Mantarlar) O: Others (Diğer organizmalar)

Şekil 2.4. Transpozonların sınıflandırılması [9]

Otonom olmayan (hareket etmek için gerekli enzimleri kodlamayan) TE'ler ise MITE (Miniature Inverted-Repeat Transposable Elements - Minyatür Evrik Tekrarlı Transpozabl Elementler) olarak isimlendirilir. MITE dizilerinin keşfi iki sınıflı sistemin değişmesini sağlamıştır. Çok küçük olmalarının (100-500 bç) dışında Sınıf II (DNA) transpozonlarına benzerdir. Genomda bulunan başka transpozonların transpozazları aracılığıyla hareket ettikleri düşünülmektedir. SINE'ler de otonom olmayan retrotranspozonlardır. SINE dizileri, bir iç promotöre ve genellikle poly (A) uca sahip kısa elementlerdir (<500 bç). Kodlama yapmamaları nedeni ile hareketleri için diğer genlere ihtiyaç duyarlar. Otonom olan LINE dizileri aynı zamanda SINE'lerin genom içine girişleri için gerekli proteinleri sağlar [83].

LTR'li retrotranspozonlar, LTR dizilerinde promotörleri ve retrotranspozisyon için gerekli olan en az iki enzimin genlerini taşır. Hem yapı hem de transpozisyon mekanizması açısından retrovirüslere çok benzerler. Tek farkları, virüs olarak paketlenmelerini sağlayan *env* (*envelope*) genine sahip olmamalarıdır. Bu elementler *env* genini edinmek veya kaybetmek yoluyla birbirlerine dönüşebildikleri için, retrovirüslerin evrim sürecinde ökaryotlardaki LTR'li retrotranspozonlardan kökenlenmiş olabileceği düşünülmektedir [9, 78, 84].

LTR'li retrotranspozonlar, *gag* ve *pol* adlı iki gen içerirler (Şekil 2.4). *Gag* geni, kılıf yapısında bir proteini, *pol* geni ise çok fonksiyonlu bir polipeptidi kodlar. Bu polipeptid, *ap*, *rt*, *rh* (*RNaz H*) ve *int* (*integrase* - *integraz*) aktivitelerine sahiptir. LTR'li retrotranspozonlar bitki genomlarının çok önemli bir yüzdesini kapsar. Birçok bitkide, genomun %40-70'ini LTR'li retrotranspozonlar oluşturmaktadır [85, 86, 87]. *Arabidopsis thaliana* genomunun %15 kadarı, arpa (*Hordeum vulgare* L.) ve buğday (*Triticum* sp.) gibi bazı türlerin genomlarının da %70-80 kadarı bu dizilerden oluşmuştur. Retrotranspozonlar genom boyunca bulunmalarına karşın, tahıllarda sıklıkla biri diğerinin içinde olacak şekilde yerleşmişlerdir ve retrotranspozon denizleri "retrotransposon seas" olarak tanımlanan bu bölgeler, gen adalarını çevreler [86, 88, 89]. LTR'li retrotranspozonlar evrim sürecinde genom boyutlarının hızlı bir şekilde artmasını sağlamıştır; buna karşın çok küçük bir kısmı aktiftir.

Sınıf II transpozonları olan DNA transpozonları ise kendilerini buldukları lokustan kesip çıkararak (konservatif) veya kendilerini replike ederek (replikatif) hareket ederler [9]. Sınıf II elementler iki alt sınıfa ayrılır: Alt sınıf I; TIR ve Crypton (tyrosine recombinase) dizilerini içerirken alt sınıf II, Helitron ve Maverick gruplarından oluşur (Şekil 2.4).

Helitron, ökaryotlarda bulunan bir transpozondur ve yuvarlanma (rolling-circle) mekanizması ile çoğalır. Maverick, uzun terminal evrik tekrarlar (Long Terminal-Inverted Repeats) şeklinde bulunur; ama diğer ORF dizilerini içermez. DNA transpozonlarının hepsi kes-yapıştır mekanizmasını kullanarak hareket etmez. Alt sınıf I ve alt sınıf II transpozonlar, kendilerini yeni bir hedef bölgeye replike ederler. Replikatif transpozisyonda, TE reaksiyon boyunca çoğalır ve bu sadece retrotranspozonlar için değil, aynı zamanda Sınıf II transpozonlar için de belli bir özelliktir [90].

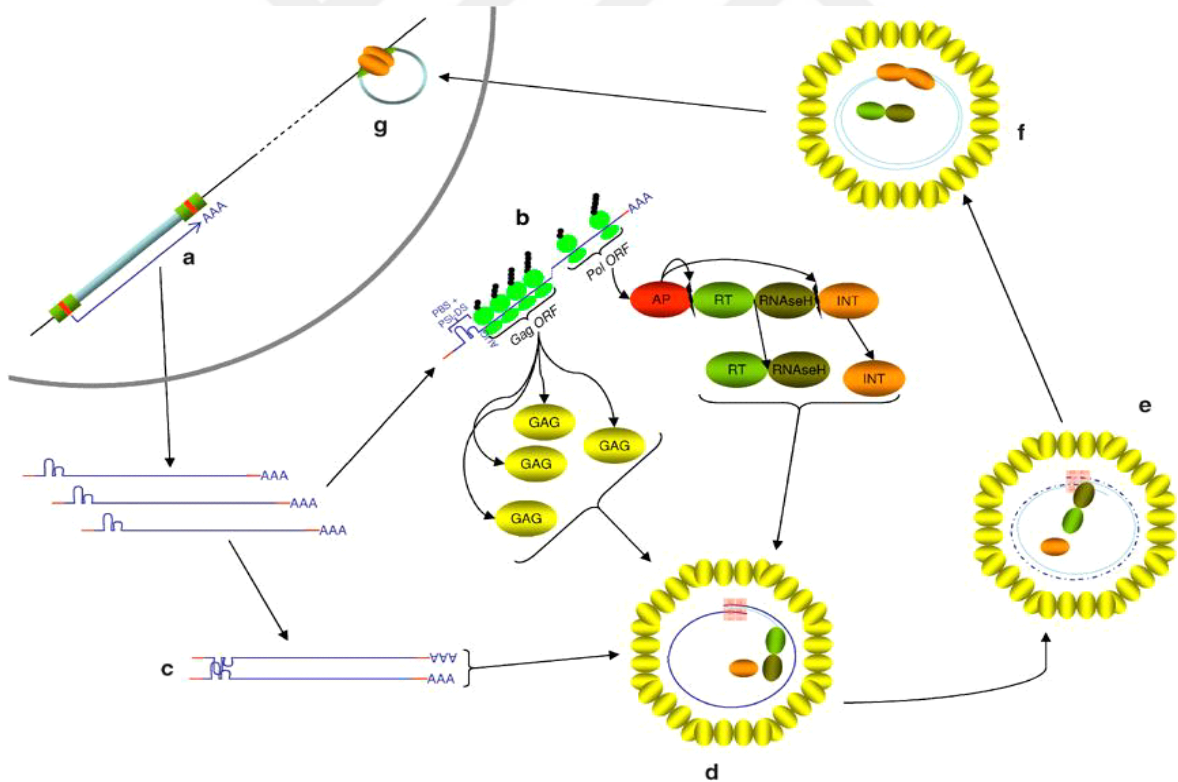
2.4.2. LTR retrotranspozonlarının yapısı ve yaşam döngüsü

LTR retrotranspozonlarının hepsi, genellikle 5'- TG CA-3' dizisini içeren kısa evrik tekrarlar ile sınırlandırılmıştır. Otonom elementlerde, 5' LTR promotör işlevini, 3' LTR ise terminatör (sonlandırıcı) ve poliadenilasyon aktivitelerini sağlar [91]. LTR dizisi, birkaç yüz baz çifti (mısır: *Bs1* ve çeltik: *Tos17*) uzunluğunda olabileceği gibi, binlerce baz çifti de (çeltik: *RIRE3*) içerebilir [92, 93]. LTR dizileri arasında iç kodlama bölgesi yer alır. Otonom elementlerin bu bölgesinde, retrotranspozonun paketlenmesi için gerekli olan *gag* proteini ile proteaz (*pr*), *rt*, *rh* ve *int* dizilerini içeren *pol* geni bulunmaktadır. Proteaz enzimi, *POL* poliproteinini yıkar. *Rt* ve *rh*, çoğalan RNA'nın genomu girmesini, *int* ise retrotranspozonun yeni cDNA kopyasının, genomda yeni bir yere girmesini sağlar [94].

LTR retrotranspozonlarının transpozisyonları (Şekil 2.5) hakkındaki bilgilerin bir kısmı maya retrotranspozonları ile yapılan çalışmalar sonucunda elde edilmiştir [73] ama farklı konaklardan gelen benzer LTR retrotranspozonları arasında da bu mekanizmanın oldukça benzer olduğu varsayılmaktadır. Bir retrotranspozonun RNA'sı, 5' LTR içinde yer alan bir promotördeki RNA polimeraz II tarafından transkribe edilir. Hücresel genlerin çoğunda olduğu gibi, transkripsiyon TATA kutusundan sonra başlar.

RNA daha sonra ters transkripsiyonun gerçekleştirilmesi ve integrasyon basamaklarında kullanılması için gerekli proteinleri sentezlemek üzere sitoplazmada okunur. İki RNA molekülü bir VLP (Virus-Like Particle) içinde paketlenir ve RNA'dan ters transkripsiyon reaksiyonu boyunca tam uzunlukta cDNA kopyası oluşturulur (Şekil 2.5).

Retrotranspozonun diğer kopyası genoma yeniden eklenir [94]. Konak genoma cDNA kopyalarının eklenmesi, retrovirüslerin ve LTR retrotranspozonlarının yaşam döngüsünün tamamlanması açısından önemli bir aşamadır. Genoma girme süreci şu aşamalardan oluşur: LTR uçlarının bağlanması ve işlenmesi, konak genomda hedef DNA'nın tanımlanması ve kesilmesi, LTR dizilerinin hedef DNA ile birleşimi. İlk aşama sitoplazmada gerçekleşirken diğer aşamalar nükleusta olur. *Gypsy* süperailisinin tüm LTR retrotranspozonları, genoma girebilecekleri hedef bölgenin belirlenmesinde oldukça seçicidir. Diğer LTR retrotranspozonları bu şekilde bir seçicilik göstermez.

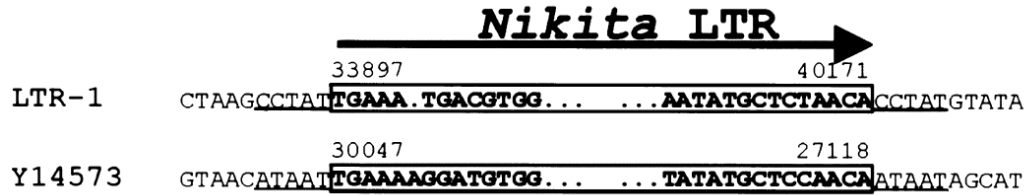


Şekil 2.5. LTR retrotranspozonlarının teorik yaşam döngüsü.

(a) Transkripsiyon 5'-3' doğrultusunda gerçekleşir. (b) gag ve pol bölgelerinde translasyon ve protein sentezi. Pol bölgesi; ap, rt, RNaz H ve int bölgeleri olarak ayrılmıştır. (c) Paketleme öncesi ve paketleme sırasında RNA dimerizasyonu. (d) RNA paketlenmesi ve ters transkripsiyonun başlaması. (e) RNA matriksinin bozulması ve cDNA'nın ikinci ipliğinin sentezi. (f) Çift iplikli cDNA sentezinin tamamlanması. (g) Çift sarmalın kırılması ve yeni sentezlenen kopyanın genomda yeni bir bölgeye integrasyonu [95].

2.4.3. *Nikita* retrotranspozonu

Nikita retrotranspozonu arpa genomunda 33,897 ve 40,171 nt pozisyonu arasında bulunan solo-LTR dizisidir. Bu diziler, *Mlo* lokusunda 30,047 ve 27,118 nt pozisyonlarındaki dizilerle ilişkilidir. Şekil 2.6'da *Nikita* elementinin yapısı gösterilmektedir. Elementin, her iki tarafında 5 bç uzunluktaki tekrarlı diziler bulunur. Bu diziler, CCTAT ve ATAAT dizileridir. *Nikita*, *Mlo* lokusunda devamlı bir element olmasına karşın *Rar1* lokusunda iki *BARE-1* LTR dizi ile kesintiye uğrar. Bu LTR dizileri, 34,586 ve 38,442 nt pozisyonlarında bulunan LTR-3 ve LTR-4 dizileridir [87].

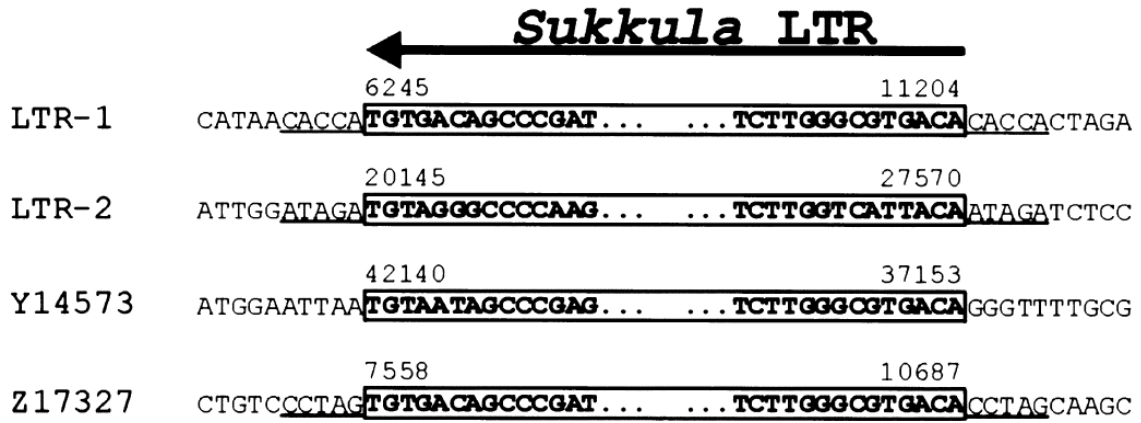


Şekil 2.6. *Nikita* retrotranspozonu.

LTR dizilerine komşu olan 5 bç uzunluğundaki tekrar dizilerin altı çizilmiştir. Ok, elementin yönünü göstermektedir [87]

2.4.4. *Sukkula* retrotranspozonu

Arpa genomunda 6,245 ve 11,204 nt pozisyonları arasında yerleşmiş olan *Sukkula* retrotranspozonu, *Nikita* gibi solo-LTR elementidir. *Sukkula* dizisi hem *Mlo* lokusundaki genler arasındaki dizilere (aksesyon numarası Y14573) hem de bir *BARE-1* elementinin 3' LTR'sinde bulunan bir insersiyon dizisine (aksesyon numarası Z17327 benzer [96]. *Sukkula* retrotranspozonunun uç dizilerinin, *gypsy*-benzeri retrotranspozonlarının (örneğin pirinç genomunda bulunan *RIRE* retrotranspozonu) [97] LTR dizilerine de benzerlik gösterdiği rapor edilmiştir [87] (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. *Sukkula* retrotranspozonu.

LTR dizilerine komşu olan 5 bç uzunluğundaki tekrar dizilerin altı çizilmiştir. Ok, elementin yönünü göstermektedir [87]

2.4.5. *SIRE1* retrotranspozonu

SIRE1 retrotranspozonu, soya fasülyesi genomunda bulunan ve 3' *pol* ORF ve 3' LTR dizileri arasında uzun retroviral env proteinlerine benzer yapıda ek bir ORF içeren *Ty1-copia* sınıfı retrotranspozondur (Şekil 2.8). Env içeren retroelementler Ty3-gypsy elementlerin yapısal organizasyonuna sahip iken *SIRE1 Ty1-copia* gene sırasına sahiptir. Bu durum, bu elementin ilginç bir özelliğidir. Yaklaşık 11 kb uzunluğundaki yüzlerce kopyası ile *SIRE1* en uzun retroelementlerdendir [98].



Şekil 2.8. *SIRE1* retrotranspozonu [99]

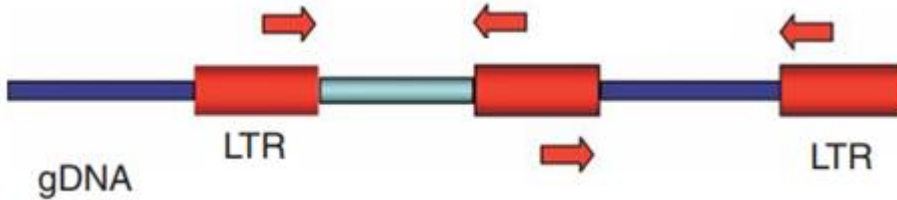
2.5. Bitki Biyoteknolojisinde Transpozonların Yeri

Retrotranspozonlar; DNA parmak izi, çeşitlilik ve filogeni araştırmaları ile genetik haritalamaya yönelik olarak birer markır olarak, gen klonlama, transgenik organizmaların eldesi, mutasyon algılayıcısı, mutasyon aracı olarak, prokaryotlarda klasik antibiyotik-direnç markırı olarak ve plazmid vektörler kullanılarak bakteri transformasyonunda kullanılabilirler [100, 101, 102].

Genom boyutunun büyümesine neden olan retrotranspozonlar, genlere çok yakın bölgelere veya genlerin promotör bölgelerine de insersiyon yaparak, gen anlatımının değişmesinde de rol oynamaktadır [103]. Bu değişim; bu dizilerin metil grupları bakımından zengin olması ve metil gruplarının komşu bölgeleri etkilemesi sayesinde RNAi (RNA interferans) mekanizması aracılı transkripsiyonu engellemesi ile gerçekleşir [104, 105].

Genomların büyük bir yüzdesini oluşturan retrotranspozonlar, farklı moleküler markırların geliştirilmesi için de kullanılmaktadır. Retrotranspozon temelli moleküler markırlara; REMAP, SSAP, RBIP ve RRAP teknikleri örnek olarak gösterilebilir. Bu markırlar kullanılarak, insan, hayvan ve bitki genomlarında tür içi ya da türler arası polimorfizm oranları hesaplanmakta ve ilgilenilen fenotipik ya da moleküler özellik ile ilgili detaylı bilgi edinilmektedir [106, 107].

Bu tez çalışmasında kullanılan IRAP markırı, retrotranspozonlar arasındaki genomik RNA'nın çoğaltılması temeline dayanır (Şekil 2.9). Herhangi bir enzim ya da ligasyon işlemine gerek duyulmadan LTR dizilerine özgü primerler tasralanarak IRAP-PCR reaksiyonunun gerçekleştirilmesi ile oluşan bantlar analiz edilir ve örnekler arasında polimorfizm oranları belirlenir [108].



Şekil 2.9. IRAP moleküler markırı.

Genomik DNA mavi, primerler ilse kırmızı oklar ile gösterilmiştir [108]

Bu tez çalışmasında, kontrol ve farklı gübre uygulamaları altında marul bitkilerinde fizyolojik ve moleküler analizler gerçekleştirildi. Fizyolojik analizler ile marul yapraklarında protein miktarı belirlendi. SOD ve CAT antioksidan enzim aktiviteleri de örnekler arasında karşılaştırılarak değerlendirildi. Moleküler çalışmalarda ise *Nikita*, *Sukkula* ve *SIRE1* retrotranspozon hareketleri IRAP moleküler markırı kullanılarak belirlendi.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu tez çalışmasında, kontrol (sadece su) ile bor (B), bakır (Cu), demir (Fe), potasyum (K), azot (N), fosfor (P) ve bu elementlerin birleşimi olmak üzere 7 farklı gübrenin uygulanmasıyla örtü altında yetiştirilen Marul (*Lactuca sativa* L. var. *crispa*) bitkilerinde fizyolojik ve moleküler analizler gerçekleştirildi. Fizyolojik analizler ile marul yapraklarında protein miktarı belirlendi. Ayrıca, SOD ve CAT antioksidan enzim aktiviteleri de ölçüldü. Moleküler çalışmalarda; örnekler arasında *Nikita*, *Sukkula* ve *SIRE1* retrotranspozon hareketleri, IRAP tekniği kullanılarak belirlendi.

3.1. Seranın Kurulması Ve Bitki Materyalinin Yetiştirilmesi

Deneme yapılacak olan seranın nereye kurulacağı belirlendikten sonra (40.52°N, 35.77°E/05500 Büyük Kızılca Köyü-AMASYA) seranın kenar etkilerini (sıcak-soğuk) azaltmak için orta bölgelerinden alan seçimi yapıldı. Daha sonra sera içerisindeki toprağın işlenmesi (toprağın 25 cm derinliğindeki bölge) gerçekleştirildi. Bu işlemde sonra taban gübresi (Diamonyum fosfat- DAP) atımı yapıldı. Çapa motoru ile toprak kezeklerinin kırılmasıyla gübrenin toprak altına inmesi sağlandı. Çalışmada, kıvırcık çeşidine ait marullarda damla sulama tekniği kullanılarak gübreleme yapıldı. Sulama sistemi kurulduğundan önce kullanılacak olan sulama suyunun pH ve EC değerleri Amasya Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarında ölçüldü.

Marul bitkisinin Kıvırcık varyetesine ait örnekler, Amasya ilinde bulunan bir fide üretim tesisinden çimlenmeyi takiben 40. gününde teslim alındı. Seranın içerisine kontrol (sadece su) ile birlikte 7 (6 iz elementi ile bunların kombinasyonu) farklı gübre uygulaması için sıra oluşturularak her bir sıraya ayrı ayrı sulama boruları yerleştirildi ve her sıraya biyolojik tekrar için 5'er adet marul fidesi dikildi. Fidelerin arası yaklaşık 40 cm olacak şekilde toplamda 40 marul fidesi dikildi ve sonra can suları verildi. Can suları verilen bitkiler 3 hafta boyunca sadece su verilerek büyütüldü.

3. haftadan itibaren belirlenen konsantrasyonlardaki makro ve mikro elementler [B (0.2 gr/m²), Cu (0.46 gr/m²), Fe (0.2 gr/m²), K (2 gr/m²), N (2 gr/m²), P (2 gr/m²)] marul bitkilerine uygulanmaya başlandı. Parantez içinde verilen konsantrasyonlar, marul bitkisinin yetiştirilmesi için normal koşullarda uygulanan konsantrasyonlardır ve bu maddeler suda çözündürülerek hazırlandı.

İlk dikimin yapıldığı tarihten itibaren ilk gübre uygulaması 23. gününde, ikinci gübre uygulaması 31. gününde ve 3. gübre uygulaması 38. gününde yapıldı. Uygulama yapılan marullar; ilk dikim tarihinden itibaren 44. gününde hasat edildi, sonraki analizde kullanılmak üzere sıvı azotta donduruldu ve -80°C'de saklandı.

3.2. Fizyolojik Analizler

Fizyolojik analizler kapsamında, kontrol ve gübre uygulamaları altında yetiştirilen marul bitkilerinde protein miktarı belirlendi ve SOD ile CAT enzim aktiviteleri incelendi. Bu analizleri gerçekleştirmek için öncelikle hasat edilen marullardan total protein izolasyonu gerçekleştirildi.

İzolasyonda kullanılacak cam malzemeler, porselen havan-havanelleri ve plastik malzemeler (mikrosantrifüj tüpleri ve pipet uçları), 121°C sıcaklıkta 20 dakika süre ile otoklavlandı. Otoklavdan sonra 65°C sıcaklıkta bir gece bekletildi. Sterilizasyondan sonra protein izolasyonunda kullanılmak üzere soğuk ortamın oluşturulabilmesi için kullanılacak havan ve havanelleri -20°C'de bir gece bekletildi. Bununla beraber izolasyon da soğuk ortamda gerçekleştirildi. Bu amaçla, çalışmada kullanılan tüm plastik malzemelerle buz içinde çalışıldı.

İzolasyon için yaprak örneklerinden 100 mg tartıldı ve hemen soğuk havan içine konuldu. Sıvı azot eklenerek ezilen örneklerin üzerine 1 ml soğuk fosfat tamponu (50 mM PBS [0,2 M monobazik sodyum fosfat; 0,2 mM dibazik sodyum fosfat; pH 7,0], 0.1 mM EDTA, % 4 polivinilpolipirrolidon) eklenerek parçalama işlemine devam edildi.

Daha sonra oluşan homojenat, buzda soğutulmuş 1,5 ml'lik santrifüj tüplerine aktarıldı ve 14000 rpm (revolutions per minute - dakikadaki devir sayısı) hızda, +4°C'de 20 dakika santrifüj edildi (Hermle, Beckman Coulter). Elde edilen süpernatant (izolat); total protein miktarının belirlenmesinde, SOD ve CAT enzim aktivite tayinlerinde kullanılıncaya kadar -20°C'de saklandı [109].

3.2.1. Çözünabilir protein miktarının belirlenmesi

Çözünabilir protein miktarının belirlenmesinde Bradford [110, 111] yöntemi kullanıldı. Analiz öncesi Bradford yönteminde kullanılmak üzere çözelti hazırlandı (Çizelge 3.1). Çözelti, 1X olarak sulandırılarak işlemler gerçekleştirildi. Total protein miktarını belirlemek amacıyla, bir önceki aşamada elde edilen izolattan 10 µl alındı ve 500 µl 1X Bradford çözeltisi ile karıştırılıp, oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi. Standartlardan da aynı şekilde 10 µl alındı ve 500 µl 1X Bradford çözeltisi ile karıştırılıp, karanlıkta ve oda sıcaklığında yaklaşık 10 dakika beklemeye bırakıldı. Bekleme süresinin ardından 'microplate'teki kuyucuklara örnekler ve standartlara ait karışımlardan 200'er µl eklendi. Örneklerin aborsbansı spektrofotometrede (Multiskan™ GO, Thermo Scientific) 595 nm dalga boyunda ölçüldü.

Çizelge 3.1. Bradford yönteminde kullanılan çözeltinin içeriği (5X) [110]

Bileşenin adı	Miktarı (ml)
'Coomassie brilliant blue'	25 mg
% 95 Etanol	12,5
% 85 H ₃ PO ₄	25
dH ₂ O ile 250 ml'ye tamamlanır.	

Standart olarak 2; 1,5; 1; 0,75; 0,5; 0,25; 0,125; 0,025 mg/ml olmak üzere 8 farklı konsantrasyonda BSA içeren çözeltiler kullanıldı (Thermo Scientific™ Pierce™ Bovine Serum Albumin Standard Ampules, 23209). Standartlar ve örneklerin 595 nm dalga boyunda ölçümünden sonra standartların absorbans değerleri kullanılarak Microsoft Excel programında standart grafik çizildi. Daha sonra standart grafiğin kesme noktası (y-intercept) ve eğim (slope) gibi değerleri hesaplandı ve aşağıdaki formülde absorbans değerleri yazılarak örneklerin konsantrasyonları belirlendi.

$$\text{Konsantrasyon} = (\text{A}_{595} - \text{kesme noktası}) / \text{eğim}$$

Protein miktarını belirlemek için her deneysel uygulamada (kontrol ve 7 farklı gübre altında) yetiştirilen marullardan 3 farklı biyolojik tekrar alındı ve her bir tekrarda 2 kere ölçüm yapıldı. Her bir ölçüm sonucu elde edilen absorbans değeri, yukarıda verilen konsantrasyon formülünde yazıldı ve her bir örnek için elde edilen konsantrasyon değerleri, aşağıdaki 2. formülde ilgili yere yazılarak örneklerin protein miktarları belirlendi.

Örneğin protein miktarı (mg/g) = [Ekstrenin protein konsantrasyonu (mg/ml) x Ekstre hazırlanmasında kullanılan tamponun hacmi (ml)] / Ekstre hazırlanan materyalin ağırlığı (g)

Örneklerin protein miktarları belirlendikten sonra deney grupları arasındaki farklılığın istatistik analizi, SPSS 20.0 programında ANOVA testi ile yapıldı.

3.2.2. SOD enzim aktivitesinin belirlenmesi

SOD aktivitesinin belirlenmesi için fotokimyasal bir analiz gerçekleştirildi. Bu analiz; riboflavin ve L-metionin ışık varlığında $O_2^{\cdot-}$ oluşması ve NBT (nitro blue tetrazolium) kimyasalının, $O_2^{\cdot-}$ ile reaksiyona girerek mavi renkli formazan kristalleri gözlenmesi temeline dayanan bir metottür. Ekstrede bulunan ve antioksidan enzimlerden biri olan SOD, $O_2^{\cdot-}$ radikallerini ortamdaki uzaklaştırarak formazan oluşumunu inhibe eder. SOD aktivitesi, NBT'den formazan oluşumunun inhibisyonu ile belirlenir. Sonuçta, ışık etkisiyle mavi-mor renk oluşumu, SOD enziminin aktivitesi ile ters orantılıdır [112].

Kontrol ve 7 farklı deney setinde yetiştirilen marul örneklerinden, 3.2 başlığı altında bahsedilen izolasyon yöntemi ile elde edilen 1 µl ekstre, 1 ml substrat tamponu ile karıştırıldı (Çizelge 3.2) ve tüplere son konsantrasyon 2 µM olacak şekilde riboflavin (0.2 mM) eklendi. Tüpler, renk değişimi görülünceye kadar floresan ışık altında bekletildi. Bu sürecin sonunda örneklerin üzeri, karanlık ortamın sağlanması için alüminyum folyo ile kapatıldı ve örneklerin absorbansı hemen spektrofotometrede 560 nm dalga boyunda ölçüldü (Multiskan™ GO, Thermo Scientific).

Çizelge 3.2. SOD miktarının belirlenmesinde kullanılan substratın içeriği

Bileşenin adı	Miktarı (µl)	Son konsantrasyonu
Fosfat tamponu (100 mM)	500 µl	50 mM
Sodyum karbonat (2 M)	25 µl	50 mM
EDTA (0,5 M)	0,2 µl	100 µM
L-Metionin (300 mM)	43,3 µl	13 mM
NBT (7,5 mM)	10 µl	75 µM
dH ₂ O	421,5	
Toplam	1000 µl	-

Örnekler ile beraber pozitif ve negatif kontroller de hazırlandı. Pozitif ve negatif kontrol için hazırlanmış tüplere örnek yerine 1 µl 200 mM fosfat tamponu (pH 7,0) eklendi. Tek fark, pozitif kontrolün örnekler ile beraber aynı sürede ışık altında bekletilmesi bununla beraber negatif kontrolün aynı sürede karanlıkta bekletilmesidir. Pozitif kontrol, SOD içermediği için inhibe olmamış reaksiyon olarak kabul edildi ve reaksiyon değeri 100 olarak alındı. Negatif kontrol de blank (kör örnek) olarak kullanıldı. Örneğin A560 değerinden kör örneğin absorbansı çıkarıldıktan sonra kalan değer, aşağıdaki formülde yerine konarak, örnekteki % inhibisyon değeri hesaplandı.

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{(\text{Örnek A560} - \text{Blank A560}) \times 100}{(\text{Pozitif kontrol A560} - \text{Blank A560})}$$

SOD aktivitesi için 3 farklı biyolojik tekrarda her bir tekrarda 2 kere ölçüm olacak şekilde okuma yapıldı. Deney grupları arasındaki farklılığın istatistiksel analizi SPSS 20.0 programında ANOVA testi ile gerçekleştirildi.

3.2.3. CAT enzim aktivitesinin belirlenmesi

CAT enzim aktivitesi; H₂O₂ (hydrogen peroxide - hidrojen peroksitin) yıkımının, spektrofotometrik olarak 240 nm'de izlenmesi temeline dayanan yöntemle analiz edildi [113]. Standart olarak H₂O₂ kimyasalının 240 nm'de ölçümü yapılmasıyla elde edilen değer 1.09 olduğu zaman konsantrasyonun 25 mM olduğu belirlenmiştir. Bu amaçla, deney başlamadan önce deneyde kullanılacak H₂O₂'nin 240 nm'de ölçümü yapıldı ve konsantrasyonu belirlendi. Çizelge 3.3'de verilen bileşenler, santrifüj tüpünde karıştırıldı ve oda sıcaklığında yaklaşık 5 dakika bekletildi.

Daha sonra bu tampon, 240 nm'ye ayarlanan spektrofotometrede (Multiskan™ GO Thermo Scientific) bulunan ölçüm alınacak kuyucuğa eklendi ve kuyucuğa daha sonra 5 µl örnek konularak hemen ölçüm alındı. Örnek eklendiği zaman reaksiyon hemen başladığı için örnek en son eklendi ve hemen aktivite ölçüldü.

Çizelge 3.3. CAT miktarının belirlenmesinde kullanılan substratın içeriği

Bileşenin adı	Miktarı (µl)	Son konsantrasyonu
Fosfat tamponu (200 mM)	20	20 mM
H ₂ O ₂ (72 mM)	16,7	6 mM
dH ₂ O	158,3	-
Toplam	195	-

Spektrofotometrede kinetik olarak 120 saniye boyunca her 10 saniyede bir olmak üzere 12 kere ölçüm gerçekleştirildi. Bu süreler içindeki absorbans değişimi belirlendi. CAT aktivitesi, 240 nm'de gerçekleşen absorbanstaki düşüşün gözlemlenmesiyle belirlendi [113]. Absorbans değerindeki değişim, $\Delta A_{240}/\text{mg protein.dak}$ olarak ifade edildi. CAT aktivitesi için 3 farklı biyolojik tekrarda her bir tekrarda 2 kere ölçüm olacak şekilde okuma yapıldı. Deney grupları arasındaki farklılığın istatistiksel analizi SPSS 20.0 programında ANOVA testi ile gerçekleştirildi.

3.3 Moleküler Analizler

Kontrol (sadece su) ve 7 farklı gübre uygulaması altında yetiştirilen marul bitkilerinde, arpa bitkisine özgü *Nikita* ve *Sukkula* ile soya fasülyesine özgü *SIRE1* retrotranspozonlarının hareketleri analiz edildi. Gübre uygulamalarının retrotranspozon hareketliliğine olan etkileri kontrol ve deney grupları arasında karşılaştırılarak değerlendirildi.

3.3.1. Genomik DNA izolasyonu

Her bir uygulamada 3 farklı biyolojik tekrardan genomik DNA izolasyonu gerçekleştirildi. İzolasyonda kullanılacak cam malzemeler, porselen havan-havanelleri ve plastik malzemeler (mikrosantrifüj tüpleri ve pipet uçları), 121°C sıcaklıkta 20 dakika süre ile otoklavlandı. Otoklavdan sonra 65°C sıcaklıkta bir gece bekletildi. Genomik DNA, aşağıdaki basamaklar takip edilerek gerçekleştirildi [114].

1. Marul yaprağı (yaklaşık 100 mg); sıvı azot yardımıyla, porselen havan ve porselen havaneli kullanılarak parçalanıp, toz haline getirildi.
2. 100 mg doku için 65°C’de ısıtılmış, 1000 µl ekstraksiyon tamponu (Çizelge 3.4) porselen havan içerisine eklenip karıştırıldı.
3. Oluşan homojenat, sıvı azotun içinde soğutulmuş santrifüj tüplerine aktarıldı.
4. Tüp, 60°C’lik su banyosunda yaklaşık 15 dakikada bir karıştırılarak en az 1 saat bekletildi.
5. Süre sonunda tüpler, 5 dakika buzda bekletildi.
6. Daha sonra tüplere eşit hacimde yaklaşık (750 µl) kloroform:izoamil alkol (24:1 v/v) eklendi.
7. Tüpler karıştırıldıktan sonra 2000 rpm hızda, oda sıcaklığında, 20 dakika santrifüj edildi (Hermle, Beckman Coulter).
8. Oluşan süpernatant (yaklaşık 750 µl), yeni bir tüpe aktarıldı.
9. Üzerine 0.1 hacim (75 µl v/v) CTAB/NaCl çözeltisi eklendi. Tüpler, birkaç defa karıştırıldıktan sonra, 60°C’lik su banyosunda 10 dakika bekletildi.
10. Süre sonunda tüpler buzun içerisinde alındı ve 5 dakika bekletildi.
11. Tüplere eşit hacim (yaklaşık 800 µl) kloroform:izoamil alkol (24:1 v/v) eklendi.
12. Tüpler karıştırıldıktan sonra 2000 rpm hızda, oda sıcaklığında, 20 dakika santrifüj edildi (Hermle, Beckman Coulter).
13. Süpernatant, yeni bir tüpe aktarıldı ve eşit hacim izopropanol (-20°C) eklendi.
14. Tüpler, karıştırıldıktan sonra -20°C’de 30 dakika bekletildi.
15. Süre sonunda üst sıvı döküldü. Yıkama işlemi için pelletin üzerine, 100 µl %70 etanol (-20°C v/v) eklendi ve tüpler 13.500 rpm hızda, 2 dakika santrifüj edildi.
16. Yıkama işlemi bir kere daha tekrarlandı. Tüpler etanolün uzaklaşması için oda sıcaklığında yaklaşık 10 dakika kapakları açık bir şekilde bekletildi.
17. Pelletin üzerine, 50 µl nükleaz içermeyen su eklendi ve pellet çözdürüldü.

Çizelge 3.4. Genomik DNA izolasyonunda kullanılan çözeltiler

Çözeltilerin Adı	Çözeltilerin Bileşimi
Ekstraksiyon Tamponu	100 mM Tris, 25 mM EDTA; pH 8,0; 1,4 M NaCl ve %2 CTAB
Kloroform:İzoamil alkol	24:1 v/v
CTAB/NaCl	%10 CTAB; 0,7 M NaCl
Etanol/Amonyum asetat	%76 EtanolOH, 10 mM Amonyum asetat

3.3.2. Genomik DNA’nın kalitatif ve kantitatif analizleri

İzole edilen genomik DNA’ların kalitesi, %1 (w/v)’lik agaroz jelde kontrol edildi. Bu amaçla 5X TBE (Tris- Borik Asit- EDTA) hazırlandı (Çizelge 3.5). Deneyde kullanılmak üzere, 5X TBE tamponunun sulandırılmasıyla hazırlanan 500 ml 1X TBE tamponuna, 5 gr agaroz eklendi ve mikrodalga fırında eritildi. Eridikten sonra jel, ılık hale gelmesi için bir süre oda sıcaklığında bekletildi. Daha sonra jel, yatay elektroforez kasetine döküldü, uygun tarafa yerleştirildi ve oda sıcaklığında katılaşmaya bırakıldı.

Daha sonra, genomik DNA örneğinden 1 µl alınarak 6X yükleme tamponu (Çizelge 3.5) ile karıştırıldıktan sonra yükleme yapıldı. Elektroforezde markır olarak GeneRuler™ 1 kb DNA Ladder (Fermentas, SM0313) kullanıldı. Jel 125 voltta 2 saat süre ile yürütüldü. Süre sonunda UV transillüminatör cihazında görüntülendi (Fusion FX, Vilber Lourmat).

Genomik DNAlar, kalitatif olarak %1 agaroz jelde analiz edilirken kantitatif olarak spektrofotometrede ölçümler gerçekleştirildi (Multiskan™ GO, Thermo Scientific). Spektrofotometrede; 260 nm’de nükleik asitler, 280 nm’de proteinler ve 230 nm’de fenolik bileşikler ölçülerek elde edilen sonuçlardan genomik DNA’ların konsantrasyonlarının belirlenmesinin yanı sıra saflıkları da analiz edildi.

Örneklerin konsantrasyon “DNA konsantrasyonu (µg/ml)= [OD (Optik yoğunluk)260 x sulandırım oranı x 50 (µg/ml)]” formülünden yararlanılarak hesaplandı.

Çizelge 3.5. Agaroz jel elektroforezinde kullanılan çözeltiler

Adı	İçeriği
5X TBE tamponu	1,1 M Tris, 900 mM boric asit tamponu, 25 mM EDTA (pH 8,3)
1X TBE tamponu	200 ml 5X TBE, 800 ml dH ₂ O
6X yükleme tamponu	10 mM Tris-HCl (pH 7,6), %0,03 bromofenol mavisi, %0,03 ksilen siyanol FF, %60 gliserol, 60 mM EDTA
Etidyum bromür solüsyonu	1 g etidyum bromür, 100 ml dH ₂ O

3.3.3. IRAP- PCR

Çalışmada, farklı koşullar altında yetiştirilen marul bitkilerinde *Nikita*, *Sukkula* ve *SIRE1* retrotranspozon hareketlerinin, farklılık gösterip göstermediği IRAP moleküler markır tekniği ile belirlendi. Bu retrotranspozonlara ait primer dizileri Çizelge 3.6’da verilmiştir.

Çizelge 3.6. Primerlerin dizileri

Primer İsimleri	Diziler	Kaynaklar
<i>Nikita</i>	5’ACCCCTCTAGGCGACATCC3’	[115]
<i>Sukkula</i>	3’GGAACGTCGGCATCGGGCTG5’	
<i>SIRE1</i>	5’CAGTTATGCAAGTGGGATCAGCA3’	[116]

Bireyler arasında retrotranspozon hareketliliği bakımından doğal bir polimorfizm olup olmadığının belirlenmesi amacı ile deneyler 3 biyolojik tekrar ile yürütüldü. PCR tüplerine, Çizelge 3.7’de verilen bileşenler eklendi. IRAP-PCR reaksiyonu Çizelge 3.8’de belirtilen koşullarda gerçekleştirildi. Reaksiyon sonunda elde edilen PCR ürünleri ile DNA markırı (GeneRuler™ 1 kb DNA Ladder, SM0313), %1’lik agaroz w/v jelde ayrılarak değerlendirildi. Agaroz jel, başlık 3.3.2’de belirtildiği şekilde yapıldı. Örneklere ait bant profilleri agaroz jelde değerlendirildi.

Çizelge 3.7. IRAP-PCR bileşenleri ve miktarları

Bileşenin adı	Miktarı (μl)	Son konsantrasyonu
Reaksiyon Tamponu (10X)	2	1X/ μ l
MgCl ₂ (25 mM)	1,5	1,875 mM/ μ l
dNTP (2 mM)	1	0,1 mM/ μ l
Primer (10 nmol/ μ l)	1	0.5 pmol/ μ l
*Kalıp (20 ng/ μ l)	2	2 ng/ μ l
Enzim (5 U/ μ l)	0.7	0,175 U/ μ l
dH ₂ O (nükleaz içermeyen)	11,8	-
Toplam	20	

Çizelge 3.8. IRAP-PCR döngüleri

Basamak	Sıcaklık ($^{\circ}$C)	Süre	Döngü sayısı
Başlangıç denatürasyonu	94	3 dk.	1
Denatürasyon	94	30 sn.	
Bağlanma	51	30 sn.	30
Uzama	72	3 dk.	
Son uzama	72	10 dk.	1

4. BULGULAR

Bu tez çalışmasında; kontrol (su), N (2 gr/m²), P (2 gr/m²), K (2 gr/m²), Fe (0,2 gr/m²), Cu (0,46 gr/m²), B (0,2 gr/m²) ile bu elementlerin birleşimi olmak üzere 7 farklı gübre damla sulama tekniği kullanılarak marul bitkisinin köküne uygulandı ve hasat bitkilerde fizyolojik ve moleküler analizler gerçekleştirildi. Fizyolojik analizler kapsamında örneklerin protein miktarları belirlendi ve ayrıca SOD ile CAT enzim aktiviteleri analiz edildi. Moleküler çalışmalarda ise arpa bitkisine özgü *Nikita* ve *Sukkula* retrotranspozonu ile soya fasulyesine özgü *SIRE1* retrotranspozonunun hareketleri incelendi.

4.1. Seranın Kurulması Ve Bitki Materyalinin Yetiştirilmesi

Seranın kurulacağı alan belirlendikten ve toprak hazırlığı yapıldıktan sonra damla sulama sistemi kuruldu. Deneyde kullanılacak suyun pH ve EC değerleri Merkezi Araştırma Laboratuvarında ölçülerek pH 6,2 ve EC 1200 mS/cm olarak belirlendi (Şekil 4.1).



Şekil 4.1 Seranın kurulumu

Serada, kontrol ve 7 farklı gübre uygulaması altında yetiştirilmek üzere her bir uygulama için 5 farklı marul fidesi dikildi. Can suları verilen bitkiler 3 hafta boyunca sadece su verilerek büyütüldü. 3. haftadan itibaren belirlenen konsantrasyonlardaki makro ve mikro elementler [N (2gr/m²), P (2 gr/m²), K (2 gr/m²), Fe (0.2 gr/m²), Cu (0.46 gr/m²), B (0.2 gr/m²), Mg (0.46 gr/m²)] marul bitkilerine uygulanmaya başlandı (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Kontrol ve gübre uygulamaları

Gübreler, marul fidelerinin ekiminin yapıldığı tarihten itibaren; haftada bir kez olmak üzere 3 hafta süresince uygulandı. Bu amaçla; ilk uygulama 23. günde, ikinci uygulama 31. günde ve üçüncü uygulama 38. gün gerçekleştirildi. Uygulama yapılan marullar, ilk ekim tarihinden itibaren 44. gününde hasat edildi (Şekil 4.3).



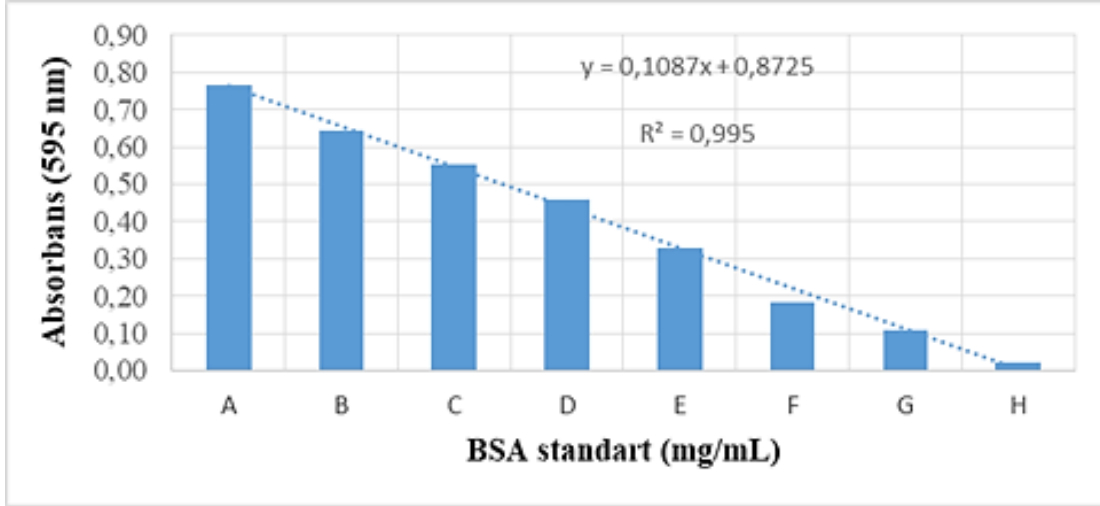
Şekil 4.3. Hasat zamanında marullar

Tez çalışması için haftada 2 defa gübreleme yapılacağı ve marulların 60. günde hasat edileceği planlanmıştı. Marulların ekim yapıldığı zaman hava şartlarının marulların yetişmesi için uygun olması hasadın, belirlenen zamandan daha kısa sürede gerçekleşmesini sağladı. Bununla birlikte haftada tek gübre uygulaması, marulların büyümesi için yeterli oldu.

4.2. Fizyolojik Çalışmalar

4.2.1. Total çözünebilir protein miktarı analizi

Kontrol koşullarında (sadece su ile) ve 7 farklı gübre uygulamasında yetiştirilen marullardan protein izolasyonu gerçekleştirildi. İzolatlardaki total çözünebilir protein miktarları (mg/g taze ağırlık) belirlendi. Bradford [110] yöntemine göre Şekil 4.4'te verilen standart grafik kullanılarak analizler gerçekleştirildi.



Şekil 4.4. Konsantrasyonları bilinen BSA çözeltilerinin 595 nm dalga boyundaki absorbans değerlerine göre çizilen standart grafik.

A, 2 mg/mL; B, 1,5 mg/mL; C, 1 mg/mL; D, 0,75 mg/mL; E, 0,5 mg/mL; F, 0,25 mg/mL; G, 0,125 mg/mL ve H, 0,025 mg/mL

Protein miktarının belirlenmesi için her bir uygulamada 3 biyolojik tekrar kullanıldı ve her bir örnek 2 kere ölçüldü. Sonuçların ortalaması alınarak SPSS 20.0 programında bulunan ANOVA testi ile istatistiksel olarak analiz edildi (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Örneklerde belirlenen protein miktarları

Kontrol	B	Cu	Fe	K	N	P	Karışım
3,69±0,58	2,22±0,31	5,61±1,22	3,36±0,84	3,26±0,59	5,01±0,89	3,88±0,27	4,57±1,20

± değeri standart sapmayı göstermektedir, $p > 0,1$. Kontrol, sadece su; B, bor; Cu, bakır; Fe, demir; K, potasyum; N, azot; P, fosfor; karışım, farklı gübre uygulamaları.

Kontrol ve gübre uygulaması yapılan marullar karşılaştırıldığında, kontrole (3,69±0,58) kıyasla B uygulamasının (2,22±0,31), Fe uygulamasının (3,36±0,84), ve K uygulamasının (3,26±0,59) protein miktarını azalttığı belirlendi. Buna karşın Cu uygulamasının (5,61±1,22), N uygulamasının (5,01±0,89), P uygulamasının (3,88±0,27) ve karışım uygulamasının protein miktarını arttırdığı gözlemlendi.

Karışım uygulamasının ($4,57 \pm 1,20$) diğer gübre uygulamaları ile karşılaştırıldığında ise B uygulamasının ($2,22 \pm 0,31$), Fe uygulamasının ($3,36 \pm 0,84$), K uygulamasının ($3,26 \pm 0,59$) ve P uygulamasının ($3,88 \pm 0,27$) protein miktarını azalttığı belirlendi. Bununla birlikte Cu uygulamasının ($5,61 \pm 1,22$) ve N uygulamasının ($5,01 \pm 0,89$) protein miktarını arttığı görüldü. Gübrelerin tek tek uygulanması ile elde protein miktarlarının ortalaması alındığında, karışım uygulamasının bu orandan daha fazla protein miktarını arttırdığı belirlendi.

Kontrol ve karışım uygulamaları karşılaştırılarak analiz edildiğinde marul bitkilerinde genel olarak Cu uygulamasının ve N uygulamasının protein miktarını arttırdığı belirlendi. Tam tersi B uygulamasının, Fe uygulamasının ve K uygulamasının ise hem kontrole hem de karışım uygulanan örneklerle kıyasla protein miktarını azalttığı görüldü. Diğer uygulamaların ise protein miktarını arttırdığı veya azalttığı belirlendi.

4.2.2. SOD enzim aktivitesinin analizi

Örneklerden elde edilen protein miktarından yararlanılarak SOD enzim aktivitesi hesaplandı. Deney 3 farklı biyolojik tekrar ve her bir tekrarda 2 kere ölçüm yapılarak gerçekleştirildi. Sonuçların ortalaması alınarak SPSS 20.0 programında ANOVA testi ile istatistiksel olarak analiz edildi (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Örneklerde ölçülen SOD enzim aktivitesi

Kontrol	B	Cu	Fe	K	N	P	Karışım
0,014±0,007	0,023±0,008	0,006±0,001	0,013±0,002	0,030±0,024	0,011±0,005	0,005±0,001	0,008±0,002

± değeri standart sapmayı göstermektedir, $p > 0,1$. Kontrol, sadece su; B, bor; Cu, bakır; Fe, demir; K, potasyum; N, azot; P, fosfor; karışım, farklı gübre uygulamaları

SOD enzim aktivitesinin, kontrole ($0,014 \pm 0,007$) kıyasla B ($0,023 \pm 0,008$) ve K ($0,030 \pm 0,024$) gübreleri uygulanan marullarda arttığı, buna karşın diğer gübre uygulanan marullarda ise azaldığı gözlemlendi. Azalma gösteren gübreler arasında P uygulamasının ($0,005 \pm 0,001$) ve Cu uygulamasının ($0,006 \pm 0,001$) enzim aktivitesini daha da azalttığı gözlemlendi.

Karışım uygulaması ($0,008\pm 0,002$) diğer uygulamalar ile kıyaslandığında kontrol karşılaştırmalarında olduğu gibi P uygulamasının ($0,005\pm 0,001$) ve Cu uygulamasının ($0,006\pm 0,001$) enzim aktivitesini azalttığı bununla birlikte diğer uygulamaların aktiviteyi arttırdığı gözlemlendi. Karışım uygulaması yapılan marullardaki enzim aktivitesinin, tek tek gübre uygulanan marulların enzim aktivitelerinin ortalamasından daha az olduğu belirlendi.

Kontrol ve karışım uygulamaları karşılaştırılarak analiz edildiğinde marul bitkilerinde genel olarak B uygulamasının ve K uygulamasının enzim aktivitesini arttırdığı görüldü. Cu uygulamasının ve P uygulamasının ise aktiviteyi azalttığı belirlendi. Diğer uygulamaların ise SOD enzim aktivitesinde farklı sonuçlar verdiği (artma ya da azalma) gözlemlendi.

4.2.3. CAT enzim aktivitesinin analizi

Örneklerden elde edilen protein miktarından yararlanılarak CAT enzim aktivitesi hesaplandı. Deney, 3 farklı biyolojik tekrar ve her bir tekrarda 2 kere ölçüm yapılarak gerçekleştirildi. Sonuçların ortalaması alınarak SPSS 20.0 programında bulunan ANOVA testi ile istatistiksel olarak analiz edildi (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3 Örneklerde ölçülen CAT enzim aktivitesi

Kontrol	B	Cu	Fe	K	N	P	Karışım
0,017±0,005	0,035±0,016	0,074±0,064	0,015±0,003	0,050±0,033	0,022±0,014	0,011±0,003	0,009±0,001

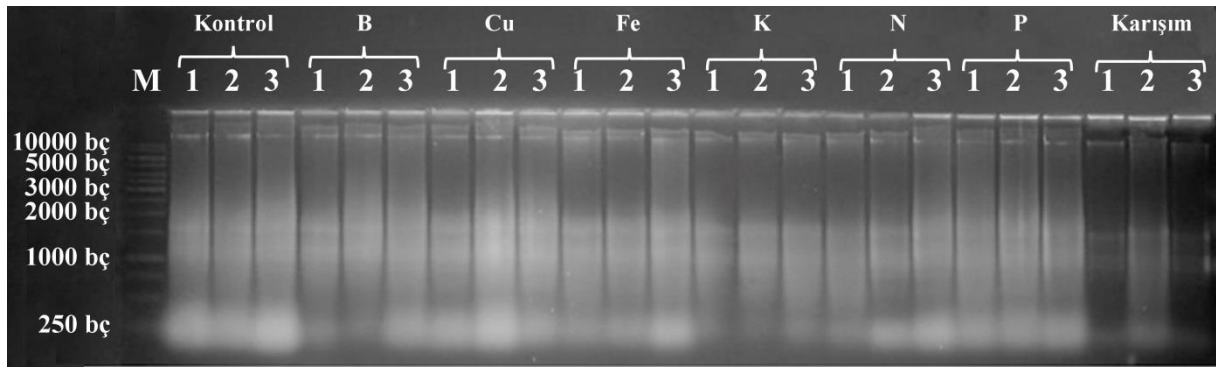
± değeri standart sapmayı göstermektedir, $p > 0,1$. Kontrol, sadece su; B, bor; Cu, bakır; Fe, demir; K, potasyum; N, azot; P, fosfor; karışım, farklı gübre uygulamaları.

Uygulama yapılan örneklerin CAT enzim aktiviteleri kontrol ($0,017\pm 0,005$) ile karşılaştırıldığında, sonuçların SOD enzim aktivitesine benzer şekilde olduğu görüldü. SOD sonuçları gibi B uygulaması ($0,035\pm 0,016$) ve K uygulamasının ($0,050\pm 0,033$) CAT enzim aktivitesini arttırdığı gözlemlendi. Bununla birlikte Cu uygulaması ($0,074\pm 0,064$) ve N uygulamasında da ($0,022\pm 0,014$) enzim aktivitesinin arttığı belirlendi. P uygulaması ($0,011\pm 0,003$), Fe uygulaması ($0,015\pm 0,003$) ve karışım uygulamasında ($0,009\pm 0,001$) ise enzim aktivitesinin azaldığı gözlemlendi. Karışım uygulaması ile diğer uygulamalar kıyaslandığında ise CAT enzim aktivitesinin hepsinde arttığı görüldü.

4.3. Moleküler Çalışmalar

4.3.1. Genomik DNA analizleri

Kontrol ile 7 farklı gübre uygulaması altında yetiştirilen marullardan izole edilen genomik DNA'ların kalitatif analizi sonucunda DNA'ların IRAP-PCR reaksiyonlarında kullanılabilir kalitede ve saflıkta olduğu görüldü. Her bir uygulama için 3 biyolojik tekrar ile DNA izolasyonu gerçekleştirildi (Şekil 4.5).



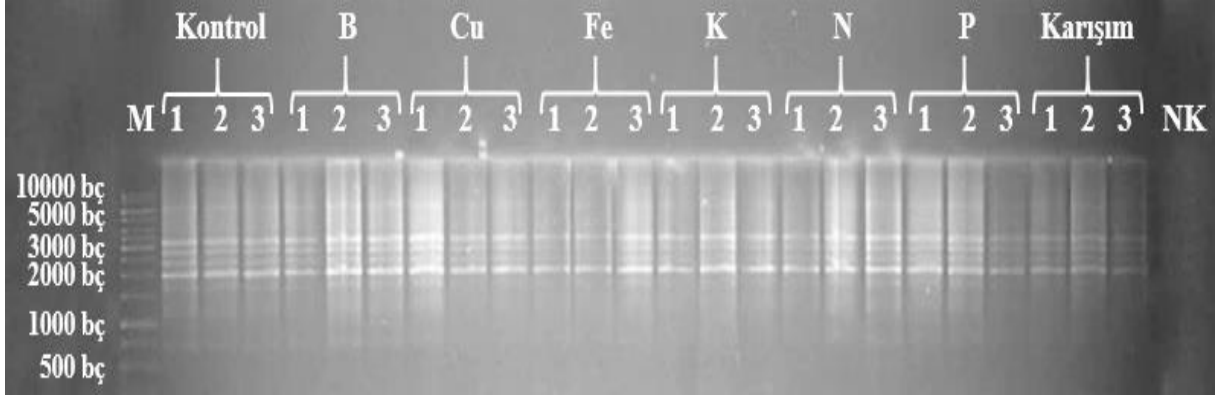
Şekil 4.5. Genomik DNA'ların Agaroz Jel Görüntüsü.

M, markır; kontrol, sadece su; B, bor; Cu, bakır; Fe, demir; K, potasyum; N, azot; P, fosfor; karışım, farklı gübre uygulamaları

Agaroz jelde kontrol edilen DNA'ların kantitatif analizleri de spektrofotometrede gerçekleştirildi. Konsantrasyonları ve saflıkları belirlenen DNA'lar son konsantrasyonları 20 ng/μl olacak şekilde sulandırıldı. Sulandırılan genomik DNA'lar IRAP-PCR reaksiyonlarından kalıp olarak kullanıldı.

4.3.2 *Nikita* IRAP-PCR

Arpa bitkisine özgü *Nikita* retrotranspozonu marul bitkisinde ilk defa tanımlandı ve bu retrotranspozunun hareketleri kontrol ile 7 farklı gübre uygulaması altında yetiştirilen marul bitkilerinde incelendi. Örneklere ait bant profilleri incelendiğinde 500 - 10000 bp aralığında homomorfik bantlar görüldü (Şekil 4.6). Örneklere *Nikita* retrotranspozununun hareketli olduğu her bir örnekte birden fazla bantın varlığı ile kanıtlandı ama kontrol ve farklı gübre uygulamalarının band profilleri karşılaştırmalı olarak analiz edildiğinde herhangi bir polimorfik banda rastlanmadı.

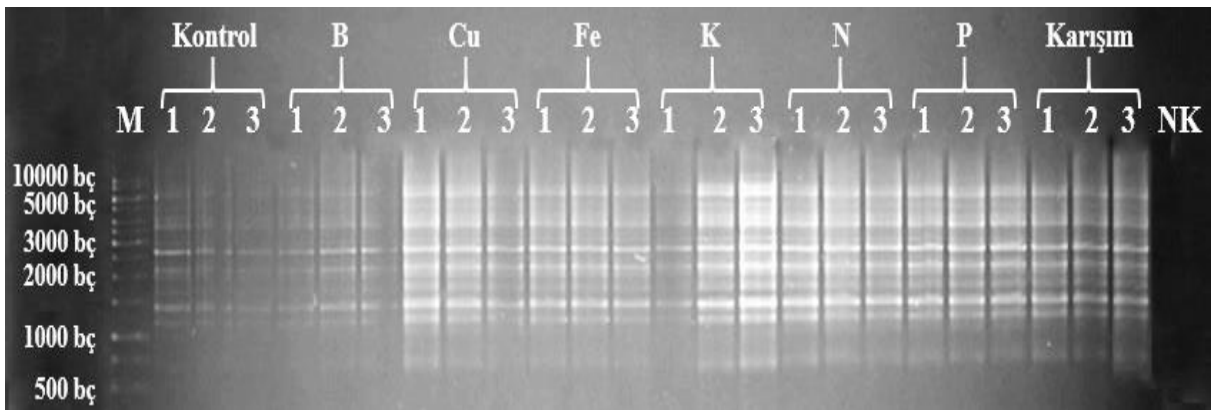


Şekil 4.6. *Nikita* retrotranspozonunun IRAP-PCR analizi.

M, markır; Kontrol, sadece su; B, bor; Cu, bakır; Fe, demir; K, potasyum; N, azot; P, fosfor; karışım, farklı gübre uygulamaları

4.3.2. *Sukkula* IRAP-PCR

Arpa bitkisine özgü *Sukkula* retrotranspozonu de marul bitkisinde ilk defa tanımlandı. Kontrol ve 7 farklı gübre uygulaması altında yetiştirilen marul bitkilerinde ait band profilleri incelendiğinde *Nikita* retrotranspozonunda olduğu gibi *Sukkula* retrotranspozonunda da örnekler arasında 500-10000 baz çifti büyüklüğünde bandlar tespit edildi. Bununla birlikte kontrol ve farklı gübre uygulamalarının *Sukkula* retrotranspozonunun hareketine herhangi bir şekilde etki etmediği belirlendi (Şekil 4.7).

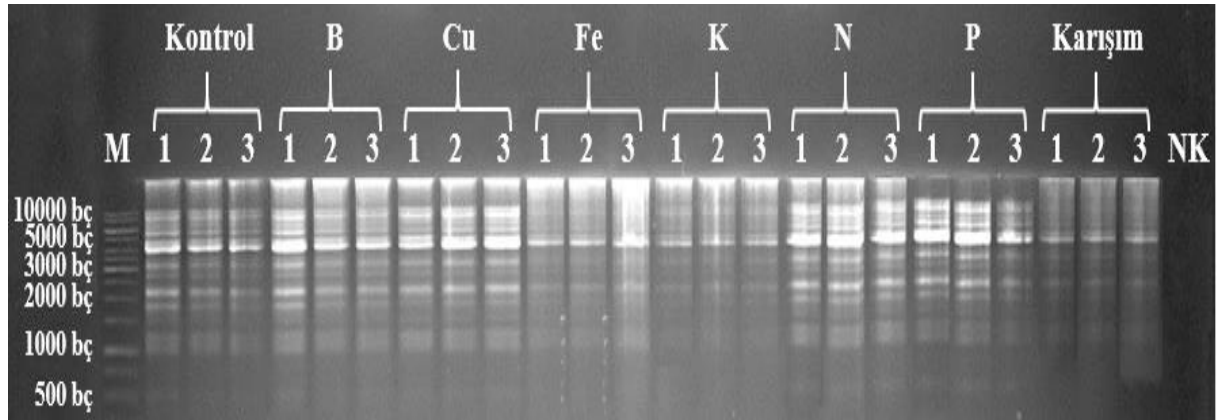


Şekil 4.7. *Sukkula* retrotranspozonunun IRAP-PCR analizi.

M, markır; kontrol, sadece su; B, bor; Cu, bakır; Fe, demir; K, potasyum; N, azot; P, fosfor; karışım, farklı gübre uygulamaları

4.3.2. *SIRE1* IRAP-PCR

Marul bitkilerinde ilk defa tanımlanan 3. retrotranspozon olan *SIRE1*, soya fasulyesine özgü tekrarlı elementtir. Örneklere ait bant profilleri incelendiğinde 500 - 10000 baz çifti aralığında homomorfik bantlar görülmesine karşın herhangi bir polimorfik bant belirlenmedi (Şekil 4.8). *SIRE1* retrotranspozonunun da, *Nikita* ve *Sukkula* gibi hareketli olduğu ama farklı gübre uygulamalarının bu harekete etki etmediği görüldü.



Şekil 4.8. *SIRE1* retrotranspozonunun IRAP-PCR analizi.

M, markır; kontrol, sadece su; B, bor; Cu, bakır; Fe, demir; K, potasyum; N, azot; P, fosfor; karışım, farklı gübre uygulamaları

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez çalışmasında, kontrol (sadece su) ile 7 farklı gübre (B, Cu, Fe, K, N, P ve karışım) uygulmasının marul bitkisinde neden olduğu etkiler fizyolojik ve moleküler açıdan incelendi. Fizyolojik çalışmalarda, örneklerin protein miktarları belirlendi ve bununla birlikte örneklerdeki SOD ve CAT enzim aktiviteleride araştırıldı. Moleküler çalışmalarda, arpa bitkisine özgü *Nikita* ve *Sukkula* retrotranspozonları ve soya fasulyesi bitkisine özgü *SIRE1* retrotranspozonlarının aktiviteleri incelendi.

Tarımsal topraklarda kullanıma bağlı olarak zamanla birçok besin elementinin azaldığı bilinmektedir. Artan dünya nüfusu ile birlikte besin ihtiyacının karşılanması için topraktaki besin elementlerini yenilemek ve ayrıca tarımsal ürünlerin miktarını ve kalitesini artırmak için kimyasal gübrelere bağımlı hale gelmektedir [117]. Dünyada görülen bu durum Akdeniz havzasında da kendini göstermekte ve topraktaki organik maddelerde azalma, toprak veriminin azalması, erozyonun artması ile yer altı sularının kontraminyasyonu tarım alanlarındaki zararı geçtikçe arttırmaktadır [118]. İnorganik (kimyasal) gübrelerin kullanımı bitkilerin büyüme ve gelişimini arttırarak birim alanda elde edilen üründe artış sağlamaktadır. Kimyasal gübrelerin, bitki verimini hektar başına 26.39 tondan 39.08 tona arttırdığı rapor edilmiştir [119]. Bununla birlikte bu gübrelerin uzun süre ve bilinçsiz uygulanması toprağı olumsuz etkilemektedir [120]. Örneğin, azot gübresinin fazla kullanımı toprakta ve yer altı sularında metal kirliliğine ve toprağın asidifikasyonuna neden olmaktadır [121].

Marul, dünyanın hemen hemen her yerinde yaygın olarak tüketilen sebzelerden biridir. Antioksidanlar, polifenol, askorbik asit ve tokoferol gibi birçok biyoaktif bileşen bakımından zengin olan bu sebze; kimyasal, organik ve inorganik gübrelerin marul büyüme ve gelişimi, ürün verimi ve kalitesi olmak üzere farklı açılardan etkileri analiz edilmektedir [122]. Bu tez çalışmasında; kontrol ile B, Cu, Fe, K, N, P ve karışım olmak üzere 7 farklı gübre uygulaması altında yetiştirilen marullarda protein miktarı ve antioksidan enzim aktiviteleri incelendi. Farklı gübre uygulamalarının protein miktarını, SOD ve CAT aktivitesini arttırdığı görüldü. Bu gübreler içinde özellikle B ve K uygulamalarının her iki enzimin de aktivitesini arttırdığı belirlendi.

Birçok çalışmada bitkinin antioksidan koruyucu mekanizmalarında B elementinin düzenleyici bir faktör olarak rol oynadığı ve B uygulamasının antioksidan enzimlerinin aktivitelerini arttırdığı görülmüştür [123, 124]. Benzer bir sonuç yusuf hırkası olarak bilinen *Amaranth tricolor* L. bitkisinde de rapor edilmiştir. Farklı konsantrasyonlarda (28,5 - 200,5 ppm) K gübre uygulaması altında yetiştirilen bu bitkide artan K konsantrasyonuna bağlı olarak antioksidan aktivitesinin arttığı belirlenmiştir [125].

Bazı durumlarda azot, fosfor ve kalsiyum bakımından zengin balık ya da diğer deniz ürünlerinin de özellikle marul bitkilerine gübre olarak uygulandığı ve bu gübrelerin bitki verimini arttırdığı görülmektedir. Bu çalışmalardan birinde deniz yosunundan elde edilen bir gübrenin marul bitkilerinde antioksidan enzim aktivitelerinin arttığını bildirilmiştir [126]. Benzer bir çalışma da bitki büyüme düzenleyicileri bakımından zengin olan deniz yosunu kullanılarak yapılmıştır [127]. Antioksidan ile ilgili yapılan çalışmalarda genelde total antioksidan kapasitesine bakılmış ve bu amaçla da DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) metodunun kullanılmış olduğu görülmektedir. Bu tez çalışmasında ise SOD ve CAT olarak iki farklı antioksidan enziminin aktivitesi incelenmiştir.

Kimyasal gübrelerin yanı sıra son zamanlarda organik ürünlerin popüler hale gelmesi ve aynı zamanda besin güvenliği ile taze ürün elde etmedeki gereklilik çiftçileri organik gübreler kullanmaya doğru itmiştir [128, 129]. Borges vd. [130] yaptıkları çalışmada organik gübrelerin de antioksidanların sentezini arttığını rapor etmiştir. Bitkinin büyüme ile gelişimi ve içerdiği antioksidan enzimlerinin aktiviteleri, uygulanan gübrelerin konsantrasyonu, uygulama zamanı ve hasat zamanına bağlı olarak belirgin bir şekilde etkilenmektedir [131]. Hangi gübre çeşidi olursa olsun bu parametrelere bağlı olarak sonuçların değişiklik göstereceği düşünülmektedir. Bu görüşte yapılan bir çalışmada kimyasal (NPK 16-16-16®), organik (Orgevit®) ve biyolojik (Micoseeds MB®) olmak üzere üç farklı gübre uygulaması altında yetiştirilen Ravent (*Rheum rhabarbarum* L.) bitkisi incelendiğine antioksidan enzim aktivitelerinin biyolojik>organik>kimyasal olacak şekilde etki ettiği bildirilmiştir [119]. Diğer bir araştırmada ise su stresi altında yetiştirilen domates bitkilerinde sıvı gübre uygulamasının etkisi incelenmiştir.

Total antioksidan kapasitesinin FRAP (Ferric Reducing/Antioxidant Power) yöntemi kullanılarak analiz edildiği bu araştırmada, Bio-algeen S-92 (deniz yosunundan elde edilen), Slavol (mikrobiyolojik kökenli gübre) ve Ergonfill (hayvansal proteinlerden elde edilen) olmak üzere üç sıvı gübrenin total antioksidan aktivitelerini istatistiksel olarak belirgin şekilde arttırdığı belirlenmiştir [132].

Nanoteknoloji, son yıllarda artan bir ilgi ile çalışılan gübrelemede alternatif bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır. Nanoteknolojinin, ürünün büyüme ve gelişimini, topraktan ve sudan besin alımının artmasını ve tohum çimlenmesini arttırdığını rapor eden çalışmalar bulunmaktadır [133, 134, 135]. Bitkiler üzerindeki nanopartiküllerin etkileri; bitkinin hangi evrede olduğuna, uygulama metoduna, zamana-konsantrasyona ve nanopartikülün fiziksel ve kimyasal kompozisyonuna bağlı olarak değişmektedir [136]. Meie vd. [137], marul bitkilerine bor içeren NF (nanopartikül gübre – nanoparticle fertiliser) yapraklara sprey aracılığı ile uygulamışlar ve bitkinin bor alımında NF temelli sistemin oldukça etkili olduğunu rapor etmişlerdir. Pandorf vd. [138] benzer bir çalışmada grafit karbon nanopartiküllerini (graphite carbon nanoparticles) uyguladıkları marularda, bitkilerin azot alımının arttığını ve bu bakımdan azot bakımından fakir olan topraklarda bu sistemin kullanılabileceğini rapor etmişlerdir.

Kimyasal gübrelerin farklı bitkilerde sebep olduğu etkiler genellikle bitki büyümesi, total fenolik içeriği ve antioksidan aktivite üzerine yoğunlaşmıştır [139]. Bununla birlikte bu gübrelerin marul genomundaki etkileri ile ilgili çalışmalar yok denecek kadar azdır. Ökaryotik genomların büyük bir kısmı transpozonlardan oluşmaktadır. Retrotranspozonlar, hareketli olan bu elementlerin bir sınıfıdır ve kopyala yapıştır mekanizması ile hareket ettikleri için genomda polimorfizme sebep olur. Retrotranspozonların hareketleri onların moleküler markır olarak kullanılabilmelerine olanak sağlar [10]. Retrotranspozon temelli moleküler markır yöntemlerinden biri olan IRAP aynı canlının farklı organlarında, aynı tür içindeki farklı canlılarda ve farklı türler arasında polimorfizimlerin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır [140, 141, 142]. Bu çalışmada ilk defa arpa bitkisine özgü (*Nikita* ve *Sukkula*) ve soya fasulyesine özgü (*SIRE1*) özgü retrotranspozonlar marul bitkisinde IRAP tekniği ile tanımlandı ve ayrıca bu retrotranspozonların hareketleri farklı gübre koşulu altında yetiştirilen marul bitkilerinde analiz edildi.

Farklı bitkilere özgü retrotranspozonların tamamen farklı bitki, hayvan ve insan genomlarında tanımlandığı birçok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmamın birinde kavun, karpuz ve hıyar bitkilerinde *Sukkula* ve *Nikita* transpozonu IRAP metodu ile tanımlanmıştır. Bu tez çalışmasında olduğu gibi her iki retrotranspozonun da sadece homomorfik bant profili gösterdiğini rapor etmiştir [143]. Benzer şekilde anason bitkisinde de bu iki retrotranspozon tanımlanmış ama hareketli olmadıkları görülmüştür [144]. *Nikita* ve *Sukkula* ile yapılan çalışmalarda bu iki retrotranspozonun hareketli olduğunu bildiren raporlar da bulunmaktadır. Anadoluya özgü iki karaçam varyetesinde (*Pinus nigra* ssp. *pallasiana* var. *pyramidata* and var. *Seneriana*) yapılan çalışmada örnekler arasında *Nikita* için %0-56 ve *Sukkula* için %0-76 oranlarında polimorfizm olduğu görülmüştür [145]. Sarı kantaron bitkisinde yapılan çalışmada ise her iki retrotranspozon içinde daha yüksek polimorfizm oranları belirlenmiştir (*Nikita* için %81.25 ve *Sukkula* için %79,48) [146]. İnsan genomunda da *Sukkula* retrotranspozonunun tanımlandığı araştırmalar bulunmaktadır. Cakmak vd [147], 24 farklı bireyden aldıkları kanlardan genomik DNA izolasyonu gerçekleştirmiş ve bu bireylerde *Sukkula* retrotranspozonunun hareketini analiz etmişlerdir. Yapılan çalışma sonucunda tüm bireyler arasında %8-100 polimorfizm oranını rapor etmişlerdir. Bununla birlikte kadınlar arasında %10-91 ve erkekler arasında da %13-100 olacak şekilde farklı sonuçlar bulmuşlardır.

SIRE1 ile yapılan çalışmaların birinde bu retrotranspozon ilk defa arpa bitkisinde tanımlanmıştır. Her birinden 4 biyolojik tekrar olmak üzere arpa embriyosu, 10 günlük kök ve 10 günlük yaprak örneklerinde yapılan analizlerde polimorfizm oranları embriyolar için %0-27, kökler için %8-60 ve yapraklar için %11-50 olmak üzere farklı polimorfizm oranları rapor edilmiştir [148]. Bu tez çalışmasında da farklı olarak *SIRE1* retrotranspozonunun marul bitkilerinde aktif olmadığı görüldü.

Küresel ısınmanın etkisiyle toprakta, suda, iklimde görülen ve bunlara bağlı olarak bitkiyi etkileyen biyotik ve abiyotik stresler tüm bitkileri olduğu gibi marul bitkisinin büyüme ve gelişmesini de olumsuz yönde etkilemektedir. Bu tez, farklı gübrelerin marul bitkilerinde neden olduğu etkilerin fizyolojik ve moleküler açıdan araştırıldığı ilk detaylı çalışmadır. Elde edilen sonuçların, marul ve benzeri çığ tüketilen sebzelerde gübre kullanımının etkilerinin anlaşılmasına katkı sağlaması beklenmektedir. Toprakta yapılacak analizler ile gübrelerin sadece bitkilerde değil toprakta oluşturduğu değişimlerin belirlenmesi de bu konuda yapılan çalışmalara fayda sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Gill, S. S. and Tuteja, N. (2010). Reactive Oxygen Species and Antioxidant Machinery in Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48, 909-930.
2. Qadeer, A., Butt, S. J., Asam, H. M., Mehmood, T., Nawaz, M. K. and Haidree, S. R. (2020). 3. Hydroponics as an Innovative Technique For Lettuce Production in Greenhouse Environment. *Pure and Applied Biology*, 9(1), 20-26.
3. Yıldız, N. (2008). *Bitki Beslemenin Esasları ve Bitkilerde Beslenme Bozukluğu Belirtileri* (İkinci Baskı). Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, ISBN 975-442-110-2.
4. El-Mogy, M. M., Salama, A. M., Mohamed, H. F., Abdelgawad, K. F. and Abdeldaym, E. A. (2019). Responding of Long Green Pepper Plants to Different Sources of Foliar Potassium Fertiliser. *Agriculture (Pol'nohospodárstvo)*, 65(2), 59-76.
5. Zainuddin, N., Keni, M. F. and Ibrahim, S. A. S. (2019). Effect of Biofertiliser Containing Different Percentage Rates of Chemical Fertiliser on Oil Palm Seedlings. *Journal of Oil Palm Research*, 31(4), 582-591.
6. Kiobia, D. O., Graef, H. A., Reuben, P., Kahimba, F. C., Graef, F., Eichler-Löbermann, B. and Silayo, V. C. (2019). Combining Biochar With Low Rate of Chemical Fertiliser Boosts Maize Biomass Yield, Regardless of Tillage System, Under Humid Conditions. *Journal of Agriculture and Rural Development in the Tropics and Subtropics*, 120(1), 55-62.
7. Tomkova, D. and Berr, A. (2019). Book review: Epigenetics in Plants of Agronomic Importance. *Frontiers in Plant Science*, 10, 882.
8. Reyes-Chin-Wo, S., Wang, Z., Yang, X., Kozik, A., Arikat, S., Song, C. and Xia, R. (2017) Genome Assembly with *in Vitro* Proximity Ligation Data and Whole-Genome Triplication in Lettuce. *Nature Communications*, 8(1), 1-11.
9. Wicker, T., Sabot, F., Hua-Van, A., Bennetzen, J. L., Capy, P., Chalhoub, B., Flavell, A., Leroy, P., Morgante, M., Panaund, O., Paux, E., SanMiguel, P. and Schulman, A. H. (2007). A Unified Classified Classification System for Eukaryotic Transposable Elements, *Nature Reviews Genetics*, 8, 973-982.
10. Gozukirmizi N., Yilmaz S., Marakli S. and Temel A. (2015). Retrotransposon-Based Molecular Markers; Tools For Variation Analyses in Plants, Taski-Ajdukovic, K. (ed.), In: *Applications of Molecular Markers in Plant Genome Analysis and Breeding*, Research Signpost, Kerala, 19-45.
11. Simko, I. (2019). Genetic Variation and Relationship Among Content of Vitamins, Pigments, and Sugars in Baby Leaf Lettuce. *Food Science & Nutrition*, 7(10), 3317-3326.
12. Ketnawa, S., Suwannachot, J. and Ogawa, Y. (2020). *In Vitro* Gastrointestinal Digestion of Crisphead Lettuce: Changes in Bioactive Compounds and Antioxidant Potential. *Food Chemistry*, 311, 125885.

13. Kerr, B. (2020). Transplanting Lettuce Seedlings: Vegetable Production. *Farmer's Weekly*, 2020, 44-44.
14. Parajuli, R., Thoma, G., and Matlock, M. D. (2019). Environmental Sustainability of Fruit and Vegetable Production Supply Chains in the Face of Climate Change: a Review. *Science of The Total Environment*, 650, 2863-2879.
15. İnternet: URL: http://tuik.gov.tr/VeriBilgi.do?alt_id=1001. Son Erişim Tarihi: 18.05.2020.
16. İnternet: URL: <http://www.fao.org/home/en/>. Son Erişim Tarihi: 18.05.2020.
17. Maisanaba, S., Guzmán-Guillén, R., Valderrama, R., Meca, G., Font, G., Jos, Á. and Cameán, A. M. (2018). Bioaccessibility and Decomposition of Cylindrospermopsin in Vegetables Matrices after the Application of an *In Vitro* Digestion Model. *Food and Chemical Toxicology*, 120, 164-171.
18. Vural, H., Eşiyok D. and Duman, İ. (2000). *Kültür Sebzeleri (Sebze Yetiştirme)*. Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, 440.
19. El-Nakhel, C., Pannico, A., Graziani, G., Kyriacou, M. C., Giordano, M., Ritieni, A. and Rouphael, Y. (2020). Variation in Macronutrient Content, Phytochemical Constitution and *In Vitro* Antioxidant Capacity of Green and Red Butterhead Lettuce Dictated by Different Developmental Stages of Harvest Maturity. *Antioxidants*, 9(4), 300.
20. Zhou, W., Liang, X., Dai, P., Chen, Y., Zhang, Y., Zhang, M. and Lin, X. (2019). Alteration of Phenolic Composition in Lettuce (*Lactuca sativa* L.) by Reducing Nitrogen Supply Enhances its Anti-Proliferative Effects on Colorectal Cancer Cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(17), 4205.
21. Adedayo, B. C., Oyeleye, S. I. and Oboh, G. (2020). Inhibition of Some Enzymes Implicated in Diabetes Mellitus by Raw And Blanched Extracts of African Lettuce (*Launaea taraxacifolia*). *Biokemistri*, 32(1), 69-76.
22. Lafarga, T., Villaró, S., Rivera, A., Bobo, G. and Aguiló-Aguayo, I. (2020). Bioaccessibility of Polyphenols and Antioxidant Capacity of Fresh or Minimally Processed Modern or Traditional Lettuce (*Lactuca sativa* L.) Varieties. *Journal of Food Science and Technology*, 57(2), 754-763.
23. Widarmi, W. D., Kikuchi, S., Sassa, H. and Koba, T. (2020). Characterization of Lettuce Chromosomes Based on Condensation Patterns and Physical Mapping of 45S and 5S rDNAs Using Fluorescence in Situ Hybridization. *Cytologia*, 85(1), 49-55.
24. Yang, Y., Xiong, J., Tao, L., Cao, Z., Tang, W., Zhang, J. and Lu, Y. (2020). Regulatory Mechanisms of Nitrogen (N) on Cadmium (Cd) Uptake and Accumulation in Plants: a Review. *Science of The Total Environment*, 708, 135186.

25. Park, J., Choi, S., Park, S., Yoon, J., Park, A. Y. and Choe, S. (2019). DNA-Free Genome Editing via Ribonucleoprotein (RNP) Delivery of CRISPR/Cas in Lettuce, Qi, Y. (ed.), In: *Plant Genome Editing With CRISPR Systems*, Humana Press, New York, 337-354.
26. İnternet: URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>. Son Erişim Tarihi: 20.05.2020.
27. McDonald-Spicer, C., Knerr, N. J., Encinas-Viso, F., and Schmidt-Lebuhn, A. N. (2019). Big data for a large clade: Bioregionalization and ancestral range estimation in the daisy family (Asteraceae). *Journal of Biogeography*, 46(2), 255-267.
28. Scaglione, D., Reyes-Chin-Wo, S., Acquadro, A., Froenicke, L., Portis, E., Beitel, C. and Faccioli, P. (2016). The Genome Sequence of the Outbreeding Globe Artichoke Constructed de Novo Incorporating a Phase-Aware Low-Pass Sequencing Strategy of F1 progeny. *Scientific Reports*, 6, 19427.
29. Ryder., E. J. (1979). 'Salinas' Lettuce [Breeding, California]. *HortScience*.
30. da Silva, A. F. T., Avelino, R. C., da Silva Brito, L. P., dos Anjos, J. C. R., da Silva Júnior, J. V. and Beckmann-Cavalcante, M. Z. (2017). Growth and Yield of Lettuce Cultivars Under Organic Fertilization And Different Environments. *Comunicata Scientiae*, 8(2), 264-274.
31. Günay, A. (2005). *Sebze Yetiştiriciliği, Özel Sebze Yetiştiriciliği* (İkinci Baskı). Ankara, 531.
32. Taşbaşı, B. İ. (2013). *Farklı Rhizobakteri Uygulamalarının Tuzlu Koşullarda Kıvrıkcık Marul (Lactuca sativa var. crispa) Çeşitlerinde Tohum Çimlenmesi ve Fide Gelişimi Üzerine Etkisi* (Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, 2013), 68.
33. Xia, M. (2019). *Improving Romaine Lettuce Production in Greenhouse Hydroponic Systems* (Master Thesis, Auburn University, 2019), 62.
34. Zandvakili, O. R., Barker, A. V., Hashemi, M. and Etemadi, F. (2019). Biomass and Nutrient Concentration of Lettuce Grown with Organic Fertilizers. *Journal of Plant Nutrition*, 42(5), 444-457.
35. Testani, E., Montemurro, F., Ciaccia, C. and Diacono, M. (2020). Agroecological Practices For Organic Lettuce: Effects on Yield, Nitrogen Status and Nitrogen Utilisation Efficiency. *Biological Agriculture & Horticulture*, 36, 84-95.
36. Aydinsakir, K., Karaca, C., Ozkan, C. F., Dinc, N., Buyuktas, D. and Isik, M. (2019). Excess Nitrogen Exceeds the European Standards in Lettuce Grown Under Greenhouse Conditions. *Agronomy Journal*, 111(2), 764-769.
37. Mitchell, M. L., McCaskill, M. R. and Armstrong, R. D. (2020). Phosphorus Fertiliser Management For Pastures Based on Native Grasses in South-Eastern Australia. *Crop and Pasture Science*, 70(12), 1044-1052.

38. Fletcher, D. M. M., Keyes, S. D., Daly, K. R., Van Veelen, A. and Roose, T. (2019). A Multi Image-Based Approach For Modelling Plant-Fertiliser Interaction. *Rhizosphere*, 10, 100152.
39. Nascimento, S., Cruz, M., Cecílio-Filho, A. B., Silva, A. S. N. D. and Vargas, P. F. (2019). Carotene Yield in Sweet Potato After Potassium and Phosphorus Fertiliser Application. *Revista Caatinga*, 32(3), 851-857.
40. Filipek-Mazur, B., Tabak, M., Koncewicz-Baran, M. and Bobowiec, A. (2019). Mineral Fertilizers with Iron Influence Spring Rape, Maize and Soil Properties. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 65(11), 1575-1585.
41. Nahim-Granados, S., Oller, I., Malato, S., Pérez, J. S. and Polo-Lopez, M. I. (2019). Commercial Fertilizer as Effective Iron Chelate (Fe³⁺-EDDHA) For Wastewater Disinfection Under Natural Sunlight For Reusing in Irrigation. *Applied Catalysis B: Environmental*, 253, 286-292.
42. Abdelhameed, R. M., Abdelhameed, R. E. and Kamel, H. A. (2019). Iron-Based Metal-Organic-Frameworks as Fertilizers for Hydroponically Grown *Phaseolus vulgaris*. *Materials Letters*, 237, 72-79.
43. Helvacı, C. and Orti, F. (2004). Zoning in the Kırka Borate Deposit, Western Turkey: Primary Evaporitic Fractionation or Diagenetic Modifications. *The Canadian Mineralogist*, 42(4), 1179-1204.
44. Tursun, T., Akinci, S. and Bozkurt, E. (2019). Determination of the Effect of Humic Acid on Growth and Development Parameters of Parsley (*Petroselinum sativum* Hoffm.) Grown in Boron Soil. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 47(1), 183-193.
45. Pérez, C. D. P., Pozza, E. A., Pozza, A. A. A., Elmer, W. H., Pereira, A. B., Guimarães, D. D. S. G. and de Rezende, M. L. V. (2020). Boron, Zinc and Manganese Suppress Rust on Coffee Plants Grown in a Nutrient Solution. *European Journal of Plant Pathology*, 156(3), 727-738.
46. Kah, M., Navarro, D., Kookana, R. S., Kirby, J. K., Santra, S., Ozcan, A. and Kabiri, S. (2019). Impact of (Nano) Formulations on the Distribution and Wash-Off of Copper Pesticides and Fertilisers Applied on Citrus Leaves. *Environmental Chemistry*, 16(6), 401-410.
47. Yusefi-Tanha, E., Fallah, S., Rostamnejadi, A. and Pokhrel, L. R. (2020). Particle Size and Concentration Dependent Toxicity of Copper Oxide Nanoparticles (Cuonps) on Seed Yield and Antioxidant Defense System in Soil Grown Soybean (*Glycine Max* cv. Kowsar). *Science of The Total Environment*, 715, 136994.
48. Bird, A. (2007). Perceptions of Epigenetics. *Nature*, 447, 396-398.
49. Kiefer, J. C. (2007). Epigenetics in Development. *Developmental Dynamics*, 236(4), 1144-1156.

50. Martin, C. and Zhang, Y. (2007). Mechanisms of Epigenetic Inheritance. *Current Opinion in Cell Biology*, 19(3), 266-272.
51. Egger, G., Liang, G., Aparicio, A. and Jones, P. A. (2004). Epigenetics in Human Disease and Prospects for Epigenetic Therapy. *Nature*, 429, 457-463.
52. Bennetzen, J. L. (2000). Transposable Elements Contributions to Plant Gene and Genom Evolution. *Plant Molecular Biology*, 42(1), 251-269.
53. Pagnotta, M. A., Mondini, L. and Porceddu, E. (2009). Quantification and Organization of *WIS2-1A* and *BARE-1* Retrotransposons in Different Genomes of *Triticum* and *Aegilops* Species. *Molecular Genetics and Genomics*, 282, 245-255.
54. Kubota, T., Miyake, K. and Hirasawa, T. (2013). The Mechanisms of Epigenetic Modifications During DNA Replication, David, S. (ed.), In: *The Mechanisms of DNA Replication*, IntechOpen, Kerala, 333-350.
55. Vanyushin, B. F., Mazin, A. L., Vasiliev, V. K. and Belozersky, A. N. (1973). The Content of 5-methylcytosine in Animal DNA: The Species and Tissue Specificity. *Biochimica et Biophysica Acta*, 299(3), 397-403.
56. Vanyushin, B. F. and Kirnos, M. D. (1988) DNA Methylation in Plants. *Gene*, 74, 117-121.
57. Martienssen, R. A. and Colot, V. (2001). DNA Methylation and Epigenetic Inheritance in Plants and Filamentous Fungi. *Science*, 293, 1070-1074.
58. Robertson, K. D. (2005). DNA Methylation and Human Disease. *Nature Reviews Genetics*, 6, 597-610.
59. Ho, L. and Crabtree, G. R. (2010). Chromatin Remodelling During Development. *Nature*, 463, 474-484.
60. Szyf, M. (2005). DNA Methylation and Demethylation as Targets for Anticancer Therapy. *Biochemistry (Moscow)*, 70, 533-549.
61. Mattick, J. S. (2012). RNA Driving The Epigenetic Bus. *The Embo Journal*, 31, 515-516.
62. Minkovsky, A., Patel, S. and Plath, K. (2012). Concise Review: Pluripotency and the Transcriptional Inactivation of the Female Mammalian X Chromosome, *Stem Cells*, 30, 48-54.
63. Okomato, H. and Hirochika, H. (2001). Silencing of Transposable Elements in Plants. *Trends in Plant Science*, 6 (11), 527-534.
64. Bowen, N. J. and Jordan, K. I. (2002). Transposable Elements and the Evolution of Eukaryotic Complexity. *Current Issues in Molecular Biology*, 4, 65-76.
65. Grzebelus, D. (2006). Transposon Insertion Polymorphism as a New Source of Molecular Markers. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 14(1), 21-29.

66. Jurka, J. (2008). Conserved Eukaryotic Transposable Elements and the Evolution of Gene Regulation. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 65, 201-204.
67. Huang, J., Zhang, K., Shen, Y., Huang, Z., Li, M., Tang, D., Gu, M. and Cheng, Z. (2009). Identification of a High Frequency Transposon Induced by Tissue Culture, *nDaiz*, a Member of the *hAT* Family in Rice, *Genomics*, 93(3), 274-281.
68. McClintock, B. (1953). Induction of Instability at Selected Loci in Maize. *Genetics*, 38(6), 579-599.
69. McClintock, B. (1956). Controlling Elements and the Gene, *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 21, 197-216.
70. Le Rouzic, A., Boutin, T. S. and Capy, P. (2007). Long-Term Evolution of Transposable Elements. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104, 19375-19380.
71. Finnegan, D. J. (1989). Eukaryotic Transposable Elements and Genome Evolution, *Trends in Genetics*, 5, 103-107.
72. Jiang, N., Bao, Z., Temnykh, S., Cheng, Z., Jiang, J., Wing, R. A., McCouch, S. R. and Wessler, S. R. (2002). Dasheng: A Recently Amplified Nonautonomous Long Terminal Repeat Element that is a Major Component of Pericentromeric Regions in Rice. *Genetics*, 161(3), 1293-1305.
73. Voytas, D. F. and Boeke, J. D. (2002). *Ty1 and Ty5 of Saccharomyces cerevisiae*. Washington, DC: ASM Press, 631-662.
74. Han, M., Sun, Q., Zhou, J., Qiu, H., Guo, J., Lu, L. and Sun, J. (2017). Insertion of a Solo LTR Retrotransposon Associates With Spur Mutations in 'Red Delicious' Apple (*Malus× domestica*). *Plant Cell Reports*, 36(9), 1375-1385.
75. Craig, N. L., Craigie, R., Gellert, M. and Lambowitz, A. M. (2002). *Mobile DNA II*, ASM Press, Washington, DC.
76. Galindo-González, L., Mhiri, C., Deyholos, M. K. and Grandbastien, M. A. (2017). LTR-Retrotransposons in Plants: Engines of Evolution. *Gene*, 626, 14-25.
77. Szabo, M., Kiss, J. and Olsz, F. (2010). Functional Organization of the Inverted Repeats of IS30, *Journal of Bacteriology*, 192, 3414-3423.
78. Marco, A. and Marin, I. (2005). Retrovirus-Like Elements in Plants. *Recent Research Development Plant Sciences*, 3, 15-24.
79. Poulter, R. T. M. and Goodwin, T. J. D. (2005). *DIRS-1* and the other Tyrosine Recombinase Retrotransposons. *Cytogenetic and Genome Research*, 110, 575-588.
80. Evgen'ev, M. B. and Arkhipova, I. R. (2005). *Penelope*-like Elements-a New Class of Retroelements: Distribution, Function and Possible Evolutionary Significance, *Cytogenetic and Genome Research*, 110(1-4), 510-521.

81. Lander E. S., Linton L. M., Birren B., Nusbaum C., Zody M. C., Baldwin J., Devon K., Dewar K., Doyle M., FitzHugh W., Funke R., Gage D., Harris K., Heaford A., Howland J., Kann L., Lehoczky J., LeVine R., McEwan P., McKernan K., Meldrim J., Mesirov J. P., Miranda C., Morris W., Naylor J., Raymond C., Rosetti M., Santos R., Sheridan A., Sougnez C., et al. (2001). Initial Sequencing and Analysis of the Human Genome. *Nature*, 409, 860-921.
82. Ostertag E. M. and Kazazian H. H. (2001). Biology of Mammalian L1 Retrotransposons. *Annual Review of Genetics*, 35, 501-538.
83. Piskurek, O., Nishihara, H., and Okada, N. (2009). The Evolution of Two Partner *LINE/SINE* Families and a Full-Length Chromodomain-Containing *Ty3/Gypsy* LTR Element in the First Reptilian Genome of *Anolis Carolinensis*. *Gene*, 441(1-2), 111-118.
84. Feschotte, C., Jiang, N. and Wessler, S. R. (2002). Plant Transposable Elements: Where Genetics Meets Genomics, *Nature*, 3, 329-341.
85. Pearce, S. R., Harrison, G. Li. D., Heslop-Harrison, J. S., Kumar, A. and Flavell, A. J. (1996). The *Ty1-Copia* Group of Retrotransposons in *Vicia* species: copy number, sequence heterogeneity and chromosomal localisation. *Molecular and General Genetics*, 205, 305-315.
86. SanMiguel, P., Tikhonov, A., Jin, Y-K., Motchoulskaia, N., Zakharov, D., Melake-Berhan, A., Springer, P. S., Edwards, K. J., Lee, M., Avramova, Z. and Bennetzen, J. L. (1996). Nested Retrotransposons in the Intergenic Regions of the Maize Genome. *Science*, 274, 765-768.
87. Shirasu, K., Schulman, A. H., Lahaye, T. and Schulze-Lefert, P. (2000). A Contiguous 66-kb Barley DNA Sequence Provides Evidence For Reversible Genome Expansion. *Genome Research*, 10, 908-915.
88. Ramakrishna, W., Dubcovsky, J., Park, Y-J., Busso, C., Emberton, J., SanMiguel, P. and Bennetzen, J. L. (2002). Different Types and Rates of Genome Evolution Detected by Comparative Sequence Analysis of Orthologous Segments from Four Cereal Genomes, *Genetics*, 162(3), 1389-1400.
89. Gu, Y. Q., Coleman-Derr, D., Kong, X. and Anderson, O. D. (2004). Rapid Genome Evolution Revealed by Comparative Sequence Analysis of Orthologous Regions from Four *Triticeae* genomes. *Plant Physiology*, 135, 459-470.
90. Duval-Valentin, G., Marty-Cointin, B. and Chandler, M. (2004). Requirement of *IS911* Replication Before Integration Defines a New Bacterial Transposition Pathway. *The EMBO Journal*, 23, 3897-3906.
91. Casacuberta, J. M. and Santiago, N. (2003). Plant LTR-Retrotransposons and MITEs: Control of Transposition and Impact on the Evolution of Plant Genes and Genomes, *Gen*, 311, 1-11.
92. Kumar, A. and Bennetzen, J. L. (1999). Plant Retrotransposons. *Annual Review of Genetics*, 33, 479-532.

93. Witte, C-P., Le, Q. H., Bureau, T. and Kumar, A. (2001). Terminal-Repeat Retrotransposons in Miniature (TRIM) are Involved in Restructuring Plant Genomes, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(24), 13778-13783.
94. Havecker, E. R., Gao, X. and Voytas, D. F. (2004). The Diversity of LTR Retrotransposons. *Genome Biology*, 5, 225.
95. Sabot, F. and Schulman, A. H. (2006). Parasitism and the Retrotransposon Life Cycle in Plants: A Hitchhiker's Guide to the Genome. *Heredity*, 97, 381-388.
96. Manninen, I. and Schulman, A. H. (1993). *BARE-1*, a Copia-Like Retroelement in Barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Molecular Biology*, 22(5), 829-846.
97. Kemekawa, N., Ohtsubo, H., Horiuchi, T. and Ohtsubo, E. (1999). Identification and Characterization of Novel Retrotransposons of the Gypsy Type in Rice. *Molecular and General Genetics*, 260, 593-602.
98. Laten, H. M., Majumdar, A. and Gaucher, E. A. (1998). *SIRE-1*, a Copia/Ty1-like Retroelement From Soybean, Encodes a Retroviral Envelope-Like Protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(12), 6897-6902.
99. Pearce, S. R. (2007). *SIRE-1*, a Putative Plant Retrovirus is Closely Related to a Legume *Ty1-Copia* Retrotransposon Family. *Cellular & Molecular Biology Letters*, 12(1), 120.
100. Hanasaki, M. and Masumoto, H. (2019). CRISPR/Transposon Gene Integration (CRITGI) Can Manage Gene Expression in a Retrotransposon-Dependent Manner. *Scientific Reports*, 9(1), 1-10.
101. Kalendar, R., Amenov, A. and Daniyarov, A. (2019). Use of Retrotransposon-Derived Genetic Markers to Analyse Genomic Variability in Plants. *Functional Plant Biology*, 46(1), 15-29.
102. Barut, M., Nadeem, M. A., Karaköy, T. and Baloch, F. S. (2020). DNA Fingerprinting and Genetic Diversity Analysis of World Quinoa Germplasm Using IPBS-Retrotransposon Marker System. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 44.
103. Hsu, C. C., Su, C. J., Jeng, M. F., Chen, W. H. and Chen, H. H. (2019). A *HORT1* Retrotransposon Insertion in the *PeMYB11* Promoter Causes Harlequin/Black Flowers in *Phalaenopsis* Orchids. *Plant Physiology*, 180(3), 1535-1548.
104. Oberlin, S. (2018). *Genome Expression Constraints of Arabidopsis Retrotransposons Impact Their Silencing via Innate RNAi* (Doctorate thesis, ETH Zurich, 2018).
105. Fischer, S. E. and Ruvkun, G. (2020). *Caenorhabditis elegans* ADAR Editing and the ERI-6/7/MOV10 RNAi Pathway Silence Endogenous Viral Elements and LTR Retrotransposons. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(11), 5987-5996.

106. Marzang, N., Mandoulakani, B. A., Shaaf, S., Ghadmizadeh, M., Bernousi, I., Holasou, H. A. and Sadeghzadeh, B. (2020). IRAP and REMAP-Based Genetic Diversity Among Iranian, Turkish, and International Durum Wheat (*Triticum turgidum* L.) Cultivars. *Journal of Agricultural Science & Technology*, 22(1), 271-285.
107. Ghonaim, M., Kalendar, R., Barakat, H., Elsherif, N., Ashry, N. and Schulman, A. H. (2020). High-Throughput Retrotransposon-Based Genetic Diversity of Maize Germplasm Assessment and Analysis. *Molecular Biology Reports*, 47, 1589-1603.
108. Kalendar, R. and Schulman, A. (2006), IRAP and REMAP for Retrotransposon-Based Genotyping Fingerprinting. *Nature Protocols*, 1(5), 2478-2484.
109. Pan, Y., Wu, L. J. and Yu, Z. L. (2006). Effect of Salt and Drought on Antioxidant Enzymes Activities and SOD Isoenzymes of Liquorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch), *Plant Growth Regulation*, 49, 157-165.
110. Bradford, M. M. (1976). A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding, *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
111. Temizkan, G. ve Arda, N. (2004). Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler, Nobel Kitabevi, 224-225.
112. Cakmak, I. and Marschner, H. (1992). Magnesium Deficiency and High Light Intensity Enhance Activities of Superoxide Dismutase, Ascorbate Peroxidase and Glutathione Reductase in Bean Leaves, *Plant Physiology*, 98(4), 1222-1227.
113. Cho, Y. W., Park, E. H. and Lim, C. J. (2000). Catalase, Glutathione S-Transferase and Thioltransferase Respond Differently to Oxidative Stress in *Schizosaccharomyces pombe*, *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 33(4), 344-348.
114. Kidwell, K. K. and Osborn, T. C. (1992). Simple Plant DNA Isolation Procedures, Beckmann J.S. and Osborn, T. C. (eds.), In: *Plant Genomes: Methods for Genetic and Physical Mapping*, Springer, Dordrecht.
115. Leigh, F., Kalendar, R., Lea, V., Lee, D., Donini, P. and Schulman, A. H. (2003). Comparison of the Utility of Barley Retrotransposon Families for Genetic Analysis by Molecular Marker Techniques. *Molecular Genetics and Genomics*, 269(4), 464-474.
116. Chesnay, C., Kumar, A. and Pearce, S. R. (2007). Genetic Diversity of *SIRE-1* Retroelements in Annual and Perennial Glycine Species Revealed Using SSAP, *Cellular & Molecular Biology Letters*, 12, 103-110.
117. Guo, J. H., Liu, X. J., Zhang, Y., Shen, J. L., Han, W. X., Zhang, W. F., Christie P., Goulding, K. W. T., Vitousek, P. M., Zhang, F. S. (2010). Significant Acidification in Major Chinese Croplands. *Science*, 327, 1008-1010.
118. Montemurro, F., Ciaccia, C., Leogrande, R., Ceglie, F. and Diacono, M. (2015). Suitability of Different Organic Amendments From Agro-Industrial Wastes in Organic Lettuce Crops. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 102(2), 243-252.

119. Cojocaru, A., Vlase, L., Munteanu, N., Stan, T., Teliban, G. C., Burducea, M. and Stoleru, V. (2020). Dynamic of Phenolic Compounds, Antioxidant Activity, and Yield of Rhubarb Under Chemical. *Organic and Biological Fertilization*, 9(3), 355.
120. Liang, B., Zhao, W., Yang, X. and Zhou, J. (2013). Fate of Nitrogen-15 as Influenced by Soil and Nutrient Management History in a 19-Year Wheat–Maize Experiment. *Field Crops Research*, 144, 126-134.
121. Sierra, J. Causeret, F., Diman, J. L., Publicol, M., Desfontaines, L., Cavalier, A. and Chopin, P. (2015). Observed and Predicted Changes in Soil Carbon Stocks Under Export and Diversified Agriculture in the Caribbean. The case study of Guadeloupe. *Journal of Agriculture, Ecosystem and Environment*, 213, 252-264.
122. Yang, X., Cui, X., Zhao, L., Guo, D., Feng, L., Wei, S., Zhao, C. and Huang D. (2017). Exogenous Glycine Nitrogen Enhances Accumulation of Glycosylated Flavonoids and Antioxidant Activity in Lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Frontiers in Plant Science*, 8, 2098.
123. Landi, M., Remorini, D., Pardossi, A. and Guidi, L. (2013). Boron Excess Affects Photosynthesis and Antioxidant Apparatus of Greenhouse Cucurbita Pepo and Cucumis Sativus. *Journal of Plant Research*, 126(6), 775-786.
124. Meriño-Gergichevich, C., Reyes-Díaz, M., Guerrero, J. and Ondrasek, G. (2017). Physiological and Nutritional Responses in Two Highbush Blueberry Cultivars Exposed to Deficiency and Excess of Boron. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 17(2), 307-318.
125. Sawatdee, S., Prommuak, C., Jarunglumert, T., Pavasant, P. and Flood, A. E. (2019). Enhancement of Antioxidants Content in *Amaranthus tricolor* L. by Adjustment of Cationic Ions in Fertilizer. *Journal of Advanced Agricultural Technologies*, 6(2), 108-112.
126. Jung, H. Y. and Kim, J. K. (2020). Complete Reutilisation of Mixed Mackerel and Brown Seaweed Wastewater as a High-Quality Biofertiliser in Open-Flow Lettuce Hydroponics. *Journal of Cleaner Production*, 247, 119081.
127. Yusuf, R., Kristiansen, P. and Warwick, N. (2019). Effect of Two Seaweed Products and Equivalent Mineral Treatments on Lettuce (*Lactuca sativa* L.) Growth. *Journal of Agronomy*, 18(3), 100-106.
128. Altaey, D. K. and Majid, Z. Z. (2018). The Activity of Antioxidants Enzymes and NPK Contents as Affected by Water Quality, Kinetin, Bio and Organic Fertilization in Lettuce (*Lactuca sativa* L.). *The Iraqi Journal of Agricultural Science*, 49(3), 506-518.
129. Stoleru, V., Munteanu, N. and Istrate, A. (2019). Perception Towards Organic vs. Conventional Products in Romania. *Sustainability*, 11, 2394.
130. da Silva Borges, L., de Souza Vieira, M. C., Vianello, F., Goto, R. and Lima, G. P. P. (2016). Antioxidant Compounds of Organically and Conventionally Fertilized Jambu (*Acmella oleracea*). *Biological Agriculture & Horticulture*, 32(3), 149-158.

131. Moussa, M. I. D., Alashi, A. M., Sossa-Vihotogbé, C. N., Akponikpè, P. I., Baco, M. N., Djènontin, A. J. and Akissoé, N. H. (2019). Fertilizer Micro-Dosing and Harvesting Time of Indigenous Leafy Vegetables Affect *in vitro* Antioxidant Activities. *Journal of Food Bioactive*, 6, 118-130.
132. Senad, M., Rodoljub, O., Ivana, K., Lutvija, K. and Vida, T. (2018). Response of Cherry Tomato Seedlings To Liquid Fertiliser Application Under Water Stress. *Horticultural Science*, 45(1), 22-28.
133. Arruda, S. C. C., Silva, A. L. D., Galazzi, R. M., Azevedo, R. A. and Arruda, M. A. Z. (2015). Nanoparticles Applied to Plant Science: a Review. *Talanta*, 131, 693-705.
134. Mukherjee, A., Majumdar, S., Servin, A. D., Pagano, L., Dhankher, O. P. and White, J. C. (2016). Carbon Nanomaterials in Agriculture: A Critical Review, *Frontiers in Plant Science*, 7(172), 172, 1-16.
135. Pandey, K., Lahiani, M. H., Hicks, V. K., Hudson M. K., Green M. J. and Khodakovskaya M. (2018). Effects of Carbon-Based Nanomaterials on Seed Germination, Biomass Accumulation and Salt Stress Response of Bioenergy Crops, *PLoS One*, 13(8), e0202274.
136. Aslani, F., Bagheri, S., Muhd Julkapli, N., Juraimi, A. S., Hashemi, F. S. G. and Baghdadi, A. (2014). Effects of Engineered Nanomaterials on Plants Growth: an Overview. *The Scientific World Journal*, 2014, 1-29.
137. Meier, S., Moore, F., Morales, A., González, M. E., Seguel, A., Meriño-Gergichevich, C. and Mejías, J. (2020). Synthesis of Calcium Borate Nanoparticles and its Use as a Potential Foliar Fertilizer in Lettuce (*Lactuca sativa* L.) and zucchini (*Cucurbita pepo*). *Plant Physiology and Biochemistry*, 151, 673-680.
138. Pandorf, M., Pourzahedi, L., Gilbertson, L., Lowry, G. V., Herckes, P. and Westerhoff, P. (2020). Graphite Nanoparticle Addition to Fertilizers Reduces Nitrate Leaching in Growth of Lettuce (*Lactuca sativa*). *Environmental Science: Nano*, 7, 127-138.
139. Sinkovič, L., Jamnik, P., Korošec, M., Vidrih, R. and Meglič, V. (2020). *In-vitro* and *in-vivo* Antioxidant Assays of Chicory Plants (*Cichorium intybus* L.) as Influenced by Organic and Conventional Fertilisers. *BMC Plant Biology*, 20(1), 1-10.
140. Strioto, D. K., Kuhn, B. C., Nagata, W. S. L., Marinelli, G., Oliveira-Collet, S. A., Mangolin, C. A. and Maria de Fátima, P. S. (2019). Development and use of Retrotransposons-Based Markers (IRAP/REMAP) to Assess Genetic Divergence Among Table Grape Cultivars. *Plant Genetic Resources*, 17(3), 272-279.
141. Widyawan, M. H. and Wulandary, S. (2020). Genetic diversity analysis of yardlong bean genotypes (*Vigna unguiculata* subsp. *sesquipedalis*) based on IRAP marker. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 21(3), 1101-1107.

142. Saraswathi, M. S., Uma, S., Ramaraj, S., Durai, P., Mustaffa, M. M., Kalaiponmani, K. and Chandrasekar, A. (2020). Inter Retrotransposon Based Genetic Diversity And Phylogenetic Analysis Among the Musa Germplasm Accessions. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnolog*, 29(1), 114-124.
143. Marakli, S. (2019). Retrotransposon Analyses in Cucurbitaceae Family. *International Journal of Science Letters*, 1(1), 68-76.
144. Marakli, S. (2018). Transferability of Barley Retrotransposons (*Sukkula* and *Nikita*) to Investigate Genetic Structure of *Pimpinella anisum* L., *Marmara Journal of Pure and Applied Science*, 3, 299-304.
145. Marakli, S., Calis, A. and Gozukirmizi, N. (2019). Determination of Barley-Specific Retrotransposons' Movements in *Pinus nigra* ssp. *pallasiana* Varieties: *pyramidata* And *Seneriana*, *Russian Journal of Genetics*, 55(1), 71-78.
146. Mamaghani, R. A., Mohammadi, S. A. and Aharizad, S. (2015). Transferability of Barley Retrotransposon Primers to Analyze Genetic Structure in Iranian *Hypericum perforatum* L. populations. *Turkish Journal of Botany*, 39(4), 664-672.
147. Cakmak, B., Marakli, S. and Gozukirmizi, N. (2017). *Sukkula* Retrotransposon Movements in the Human Genome. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 31(4), 756-760.
148. Cakmak B., Marakli S., Gozukirmizi N. (2015). *SIRE1* Retrotransposons in Barley (*Hordeum vulgare* L.), *Russian Journal of Genetics*, 51(7), 661-672.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı-Soyadı : Ayşenur YAĞCI
 Uyuşu : Türkiye Cumhuriyeti
 Doğum tarihi ve yeri : 22.12.1991- Malatya
 Medeni hali : Bekar
 e-posta : zm.aysenuryagci@gmail.com



Eğitim Derecesi Okul/Program Mezuniyet Yılı

Lisans	Ondokuz Mayıs Üniversitesi	2015
Yüksek Lisans	Amasya Üniversitesi	2020

İş Deneyimi Çalıştığı yer Görevi

2018-2020	Bakır Fide Üretim Tesisi	Üretim Müdürü
-----------	--------------------------	---------------

Yabancı Dili

İngilizce

Bilimsel Faaliyetler (Yayınlar, Bildiriler, Katıldığı Projeler)

- Yağcı, A., Maraklı, S. (2020). Örtü altında yetiştirilen kıvrıkcık marul (*Lactuca sativa* L.) bitkilerinde farklı iz elementlerin fizyolojik etkilerinin belirlenmesi. 6. Uluslararası ISPEC Mühendislik ve Fen Bilimleri Kongresi, 24-26 Ocak 2020, Şanlıurfa, Türkiye.
- Farklı iz elementlerin uygulandığı marul (*Lactuca sativa* L.) bitkilerinde fizyolojik ve moleküler analizler, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Araştırmacı, 2019-2020 (Ulusal).