

Arpada Tuz Stresine Karşı Zingeronun Koruyucu EtkisiHüseyin BULUT^{1*}

ÖZET: Abiyotik stresler içerisinde tarım ürünlerinin üretimini en çok sınırlayan kuraklık olup, bunu tuzluluk faktörü takip etmektedir. İklimsel değişimler nedeniyle toprağın tuzluluk oranında artış beklendiği için bu sorunun daha da kötüleşeceği öngörülmektedir. Çevresel stres faktörleri, organizmaların savunma sistem aktivitelerinin azalmasına ve reaktif oksijen türlerinin (ROT) artmasına neden olmaktadır. Artan ROT' lar ise DNA ve RNA hasarına neden olurlar. Bu çalışmada 5 farklı dozda (50, 100, 150, 200 ve 250 mM) tuz stresine maruz bırakılan *Hordeum vulgare* L. tohumlarında zingeronun koruyucu etkisinin tespiti amaçlanmıştır. Tuz stresinin tetiklediği retrotranspozonların hareketliliği ile oluşan polimorfizm ve GTS (Genomic Template Stability) seviyelerinin tespiti için IRAP (Inter Retrotransposon Amplified Polymorphism) tekniği kullanılmıştır. IRAP analizi sonuçlarından, tuz stresine maruz kalan arpa örneklerinin polimorfizm değerleri %18.51 ile %40.74 arasında değişiklik göstermekte olup ortalaması % 28.88' dir. GTS değeri ise % 59.26 ile % 81.49 arasında değişiklik göstermekte ve ortalaması % 71.12' dir. Tuz stresinin yanı sıra zingeron uygulanan arpa örneklerinde ise polimorfizm değeri azalarak % 14.81 ile % 33.33 aralığında elde edilmiş ve ortalaması ise % 24.43' e düşmüştür. GTS değeri % 66.67 ile % 85.19 aralığına yükselmiş, ortalaması ise % 75.57' ye çıkmıştır. Çalışma sonuçlarından zingeronun tuz stresini hafiflettiği ve retrotranspozon hareketliliğini azalttığı saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Hordeum vulgare* L., irap, ltr-retrotranspozon, tuz stresi, zingeron

The Protective Effect of Zingeron Against Salt Stress in Barley

ABSTRACT: Among the abiotic stresses, drought is the most restrictive factor in the production of agricultural products. And the salinity comes after drought as a second major factor. It is foreseen that this problem will get worse as an increase in the salinity of the soil is predicted due to climatic changes. Environmental stress factors cause a decrease in the defense system activities of organisms and an increase in the reactive oxygen species (ROS). The increasing ROSs cause DNA and RNA damage. In this study, it is aimed to determine the protective effect of zingeron in *Hordeum vulgare* L. seeds exposed to salt stress in these 5 different doses (50, 100, 150, 200 ve 250 mM). IRAP (Inter Retrotransposon Amplified Polymorphism) technique has been used to determine the values of GTS (Genomic Template Stability) and polymorphisms constituted of the retrotransposon mobility triggered by the salinity stress. According to the results of IRAP analysis, polymorphism values of barley samples exposed to salt stress vary between 40.74% and 18.51% and the average is 28.88%. GTS value varies between 81.49% and 59.26% and its average is 71.12%. In addition to salt stress, the value of polymorphism decreased in the range of 14.81% to 33.33% in barley samples where zingeron was applied, and the average decreased to 24.43%. GTS value increased from 66.67% to 85.19%, and its average increased to 75.57%. It was determined from the study results that zingeron alleviates salt stress and reduces retrotransposon mobility.

Keywords: *Hordeum vulgare* L., irap, ltr-retrotransposone, salt stress, zingerone

¹ Hüseyin BULUT (Orcid ID: 0000-0003-3424-7012), Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Erzincan, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Hüseyin BULUT, huseyinbulut@erzincan.edu.tr

Geliş tarihi / Received: 08-02-2020

Kabul tarihi / Accepted: 14-07-2020

GİRİŞ

Abiyotik stresler içerisinde tarım ürünleri üretimini en çok sınırlayan kuraklık olup bunu tuzluluk faktörü takip emektedir. Toprak tuzluluğu, tüm dünyada ekili alanların % 50'sine ve tarım alanlarının % 20'sine zarar vermektedir (Munns ve Tester, 2008; Sun ve ark., 2017). Ülkemizde verimsiz alanlar yüzey alanının %2'sini kaplarken, bu çorak alanların %74'ü tuzlu topraklardan oluşmaktadır (Kendirli ve ark., 2005). Gelecek on yıllarda, iklim değişikliği nedeniyle toprak tuzlanmasında artış beklendiği için tuzluluk sorununun daha da kötüleşeceği öngörülmektedir (AbdElgawad ve ark., 2016).

Dünyada tüketim sıralamasında tahıllar içerisinde dördüncü sırada yer alan arpa, abiyotik streslere toleransı yüksek bir bitkidir (Colmer ve ark., 2005). Birçok bitkinin yaşamına devam edemeyeceği $EC_e=8$ dS m⁻¹ tuzluluk düzeyi arpanın verimini düşürmeye başladığı eşik değerdir. Sırasıyla $EC_e=10$, 13 ve 18 dS m⁻¹ tuz yoğunlukları, arpa bitkisi için %10, %25 ve %50 verim kaybına sebebiyet vermektedir (Ekmekçi, 2005). Bununla birlikte, arpa tuzluluk nedeniyle hala büyük verim kayıplarına maruz kalmaktadır (Munns ve Tester, 2008; Mahmood, 2011). Bu nedenle, arpada tuz toleransını iyileştirmeyi amaçlayan arpa yetiştirme programları için tuz tolerans mekanizmalarının incelenmesi ve geliştirilmesine yardımcı önlemler önemini korumaktadır (Mian ve ark., 2011a, b).

Evrin boyunca, bitkiler aşırı tuzla başa çıkmak için çok çeşitli stratejiler geliştirmişlerdir (Munns ve Tester, 2008; Roy ve ark., 2014). Çevresel stres faktörlerinin (tuzluluk, kuraklık, yüksek veya düşük sıcaklık, UV, ozon gibi) etkisiyle antioksidan sistemlerin aktiviteleri azalmakta ve bu koşullar reaktif oksijen türlerinin (ROT) sentezlenmesini teşvik ederek birikimine neden olmaktadır (Breusegem ve ark., 2001). Hücre metabolizmaları normal koşullar altında bu ROT'ların miktarını antioksidanlar ve çeşitli korunma sistemleri ile düşük düzeyde tutmaktadır. Ancak bitki yapısındaki fazla tuzdan dolayı meydana gelen iyonik dengesizlik ROT'ların aşırı üretilmesine, bu durumda membran lipitleri, nükleik asitler ve proteinlerde zarara neden olmaktadır (Mittler, 2002; Chaparzadeh ve ark., 2004).

Doğal antioksidanların koruyucu etkilerinin tespiti için farklı organizmalarda farklı bitki özüt ve ekstratları birçok çalışmada kullanılmıştır. Örneğin zerdeçal (Hosseini ve Hosseinzadeh, 2018), siyah kimyon (Tavakkoli ve ark., 2017), süt devedikeni (Fanoudi ve ark., 2018), tarçın (Dorri ve ark., 2018), kızamık (Mohammadzadeh ve ark., 2017) ve zencefilin (Lee ve ark., 2018) antioksidan etkileri incelenmiştir. Zencefil, bitki çeşitliliği ve aktif bileşikleri ile çok zengin bir gurubu oluşturmaktadır. Zencefil özleri ve bileşenleri gingerol, shagaol, zingerone ve zerumbone'un in vivo ve in-vitro prelinik modellerde farklı etkenlerin toksisitesini ve ROT üretimini etkin bir şekilde iyileştirdiği bildirilmiştir (Kim ve ark., 2007; Guahk ve ark., 2010; Thongrakard ve ark., 2014; Kamel ve ark., 2017; Yang ve ark., 2018; Lee ve ark., 2018a). Zencefilin aktif bileşenlerinden biri olan zingerone, antioksidan, antiapoptotik ve antienflamatuar özelliklere sahip bir fenolik alkanon (Kandemir ve ark., 2019) olduğu bildirilmiştir.

Çalışmamızda kullanılan *Hordeum vulgare* L., *Allium cepa*, *Triticum aestivum*, *Zea mays*, *Vicia faba* ve *Arabidopsis thaliana* gibi son yıllarda genotoksik etkinin tespiti için kullanılan model organizmalardan birisidir (Liu vd., 2005). Ülkemizde 2019 yılında 2.8 milyon hektar alandan 7.6 milyon ton arpa üretilmiş olup buğdaydan sonra ikinci sıradadır (TÜİK, 2019).

Bu çalışmada ülkemizde önemli miktarda yetiştirilen *Hordeum vulgare* L.' de tuzun neden olduğu strese karşı zencefil bileşeni zingeronun etkisinin tespit edilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesinden temin edilen saf *Hordeum vulgare* L. tohumlarının yüzey sterilizasyonlarının sağlanması amacıyla, 10 dakika süreyle %5'lik sodyum hipoklorit (NaClO) çözeltisinde yıkanmıştır. Tohumlar saf su ile durulanmış ve kurutulmuştur. Steril filtre kâğıtlı petrilere tohumlar yerleştirilip üzerine 50, 100, 150, 200 ve 250 mM NaCl' den (Ekmekci vd., 2005) eklenerek

çimlenmeye bırakılmıştır. Aynı dozlarda diğer grup petrilere 500 ppm zingeron ilave edilmiş, kontrol grubu ise su ile çimlendirilmiştir. Zingeron dozu ön çalışma ile belirlenmiştir. Ön çalışmada çimlendirilen tohumlar 200 mM NaCl stresine maruz bırakılmış ve 100 ppm, 200 ppm, 300 pm, 400 ppm, 500 ppm, 600 ppm ve 700 ppm zingeron ilave edilmiştir. Kontrol gurubu ile morfolojik karşılaştırması yapılmış ve elde edilen pozitif korelasyondan dolayı 500 ppm doz miktarı çalışmaya uygun bulunmuştur. Çimlendirme ortamı 25 °C - 22 °C'de 16 saat karanlık 8 saat gün ışığı olarak dizayn edilmiştir. Çimlenme sürecinde belirli periyotlarda aynı oranlarda tuzlu su ve tuzlu su + zingeron takviyesi yapılmıştır. Çimlendirme testlerinde; test süresinin uzunluğu stres koşullarına karşı tohum partilerinin dayanımlarının gözlemlenebilmesi açısından önemlidir. Özellikle strese maruz kalan tohumların canlılıkların belirlenmesinde Uluslararası Tohum Test Kuruluşu (ISTA-International Seed Testing Association) canlılık testleri çalışmalarında 4 x 50 tekerrür tohum olarak yürütülen testlerde, kâğıt (20x20 cm) arasında kurulmuştur. 14 gün sürdürülen çalışmada günlük sayım yapılmıştır. Çalışmamızda da benzer süre referans alınarak çimlendirme deneyi yapılmıştır. Literatürde streslere karşı koruyucu etkisi belirtilen zingeron strese maruz örneklerde takviye olarak uygulanmış, yalnızca zingeronun tohum çimlenmesindeki etkisi değerlendirilmemiştir. Deney ve kontrol grubu örnekleri 14 günün sonunda toplanmış, kullanılmak üzere -80 ° C'de muhafaza edilmiştir.

DNA İzolasyonu

IRAP analizi için bitki örneklerinden DNA izole edilmiştir. DNA izolasyonu Saghai-Marroof ve arkadaşlarının ifade ettikleri (1984) yöntemde küçük değişiklikler ile gerçekleştirilmiştir. DNA konsantrasyonları ACTGene Spektrofotometre (ACTGene UVIS-99, NJ, ABD) ile A260 280⁻¹ O.D. belirlenmiş ve tüm numunelerin DNA'sı 0.5 µg'a ayarlanmıştır.

IRAP Analizi

Çalışmada 6 IRAP primeri (Metabion International AG Lena-Christ-Strasse 44/I D82152 Martinsried, Deutschland) kullanılmıştır. Primerlerin adı, sekans ve erime dereceleri Çizelge 1' de gösterilmiştir.

Çizelge 1. IRAP-PCR analizinde kullanılan primerlerin detayları

Primer adı	Sekans 5'→3'	T.M. (°C)
SUKKULA	GATAGGGTCGCATCTTGGGCGTGAC	63.3
3LTR-5	TGTTTCCCATGCGACGTTCCCAACA	64.6
LTR 6150	CTGGTTCGGCCCATGTCTATGTATCCACACATGTA	64.4
NIKITA E2647-	ACCCCTCTAGGCGACATCC	58.7
5LTR1	TTGCCTCTAGGCATATTTTCCAACA	58.4
LTR 6149 -5	CTCGCTCGCCCACTACATCAACCGGTTTATT	65.9

Retrotranspozon hareketliliğinin değerlendirilmesi amacıyla yapılan IRAP-PCR işlemi için gerekli olan bileşenler ve miktarları Çizelge 2.' de verilen değerlerde hazırlanmıştır.

IRAP Elektroforez Protokolü

Elde edilen PCR ürünleri hazırlanan agaroz jele gel loading solution ile yüklenmiş ve 100 dakika 90 voltta yürütülmüştür. Elektroforez işlemi sonucunda oluşan bantlar UV cihazında 256 nm ultraviyole ışık altında görüntülenmiştir.

Çizelge 2. IRAP-PCR analiz bileşenleri

Bileşen	Miktar (µl)
10 x PCR buffer	2
dNTPs (10 nM)	0.5
MgCl ₂ (25 mM)	1.25
IRAP primer (5 mM)	1
Taq DNA polimeraz	1
Ultra saf su	13.25
Genomik DNA	1
Toplam hacim	20

Örnekler Çizelge 3.' de verilen PCR protokolüne tabii tutulmuşlardır.

Çizelge 3. IRAP-PCR protokolü

Döngü adı	Sıcaklık	Süre	Döngü sayısı
Başlangıç Denatürasyon	95 °C	2 dk	1
Denatürasyon	95 °C	30 sn	2
Primer bağlanma	* °C	1 dk	1
Uzama	72 °C	2 dk	1
Denatürasyon	95 °C	30 sn	41
Primer Bağlanma	35 °C	1 dk	1
Uzama	72 °C	2 dk	1
Son uzama	72 °C	5 dk	1
Sonlanma	4 °C	∞	1

* İlgili IRAP primerinin Çizelge 1' de verilen bağlanma sıcaklığı

IRAP Analizi ve Genomik Şablon Stabilitesinin (GTS) Hesaplanması

Genomik kalıp sabitliği (%) Ateizar'a (1999) göre her bir primer ürünü için $100(100 - a n)^{-1}$ formülünden yararlanılarak hesaplanmıştır. Formülde yer alan 'a' her bir örnek için saptanan IRAP polimorfik profillerini, 'n' ise ilgili primerle negatif kontrol grubunda elde edilen toplam DNA bant miktarını ifade etmektedir. Örneklere ait IRAP profillerinde gözlenen polimorfizm negatif kontrol grubuna göre oluşan yeni bir bantı ya da olan bantın kaybolmasını kapsamıştır. Bu bantların değerlendirilmesinde Total Lab TL120 kullanılmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

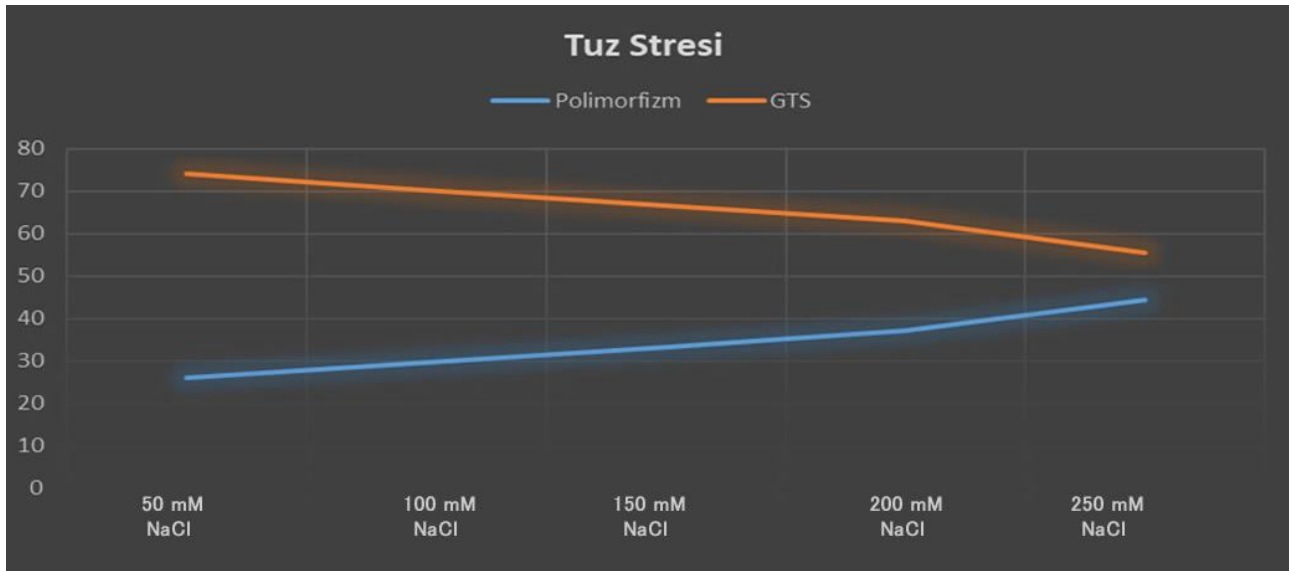
Uygulanan tuz konsantrasyonlarının kontrol grubu örneklerine göre bitkilerde kök, yaprak ve gövde boyunda kısılma gibi etkilerle strese neden olduğu belirlenmiştir. Stresin boyutunun moleküler düzeyde belirlenmesi için kullanılan 6 IRAP primerinden 286 adet bant elde edilmiştir. Bu bantların büyüklükleri 86 ile 1.468 bp arasında değişkenlik göstermektedir. En çok polimorfik bant 13 adet ile 5LTR1 primerinden elde edilmiştir. IRAP analizi sonuçlarının detayları Çizelge 4.'de verilmiştir.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tuz stresine maruz kalan tüm örneklerde polimorfizm tespit edilmiştir. Polimorfizm değerlerinin tuz dozundaki artışla doğru orantılı olarak arttığı gözlenmiştir. Polimorfizm değerleri % 18.51 ile % 40.74 arasında değişkenlik göstermekte olup, en yüksek polimorfizm 250 mM dozunda NaCl ile çimlendirilen tohumlarda %40.74, en düşük polimorfizm değeri ise % 18.51 ile 50 mM dozunda NaCl ile çimlendirilen örnekte tespit edilmiştir. Tuz stresi altında

çimlendirilen tohumların GTS değerlerinin artan tuz stresine bağlı olarak azaldığı saptanmıştır. GTS değerleri % 59.26 ile % 81.49 arasında değişkenlik göstermiştir. En yüksek GTS değeri en düşük doz tuz uygulaması olan 50 mM' dan % 81.49 olarak elde edilmiştir. Yalnızca tuz stresi altında çimlendirilen örneklerden elde edilen polimorfizm-GTS değerleri ve bu değerlerin doza bağlı değişimleri Şekil 2'de verilmiştir.

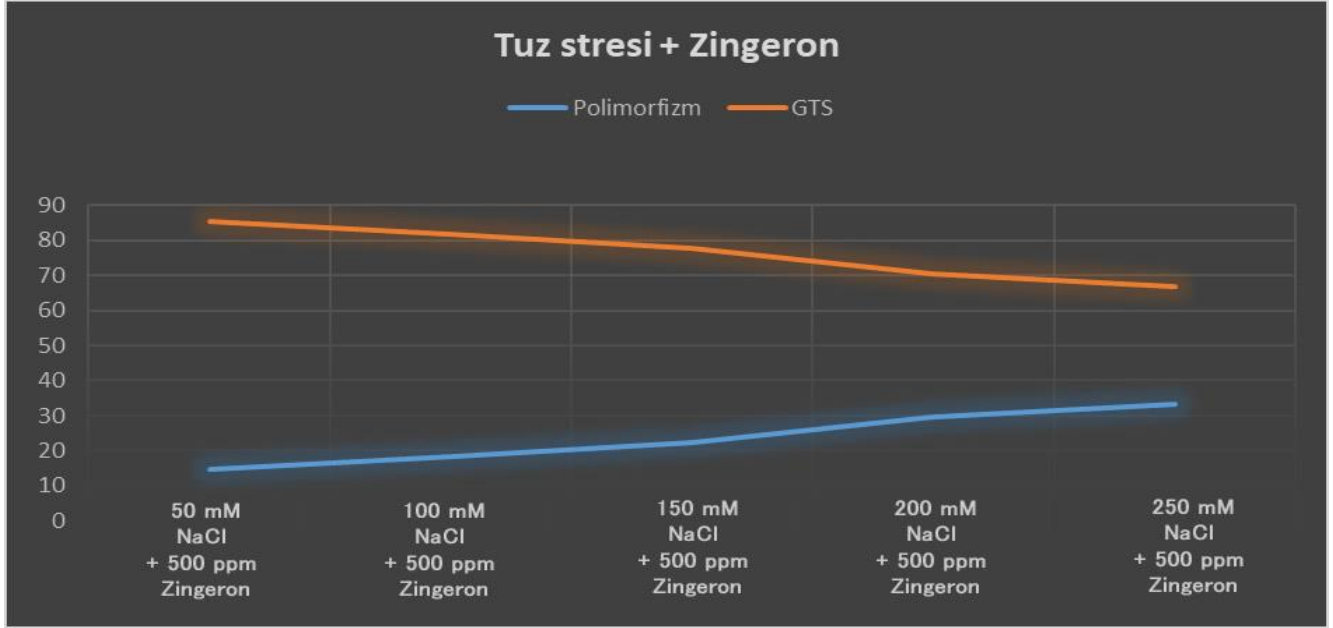
Çizelge 4. IRAP primerlerinden elde edilen bant değerleri

Primer adı Primer name	Kontrol Control	NaCl 50 mM	NaCl 100 mM	NaCl 150 mM	NaCl 200 mM	NaCl 250 mM	NaCl 50 mM + 500 ppm zingerone	NaCl 100 mM + 500 ppm zingerone	NaCl 150 mM + 500 ppm zingerone	NaCl 200 mM + 500 ppm zingerone	NaCl 250 mM + 500 ppm zingerone
<i>5LTR1</i>	5	+726	+812	+856 +658	-712	+946 +762	-712	-712	+806	+817	+822 +792
<i>LTR6150</i>	4	-786	+914	+942 -786	-786	+1.016 +823	-786	+780	+894	+908	+924
<i>SUKKULA</i>	6		+746	+789	+1.124 +804	+1.234 +825	+1.152	+1.164	+1.197
<i>LTR6149-5</i>	3	+592	+604	+654 -248	+675 -248	+706 -248	-248	-248	-248	+648 -248	+667 -248
<i>NIKITA- E2647-</i>	4	+384	+397	+418	-146	-146	-146	-146	-146	-146
<i>3LTR-5</i>	5	+612	+636	-318	+689 -318	+704 -318	-318	-318	-318	-318	+628 -318
Bant sayısı Number of bands	27	5	6	8	9	11	4	5	7	8	9
Polimorfizm değeri Polymorphism value		18.51	22.22	29.62	33.33	40.74	14.81	18.51	25.92	29.62	33.33
GTS Değeri GTS value		81.49	77.78	70.38	66.67	59.26	85.19	81.49	74.08	70.38	66.67

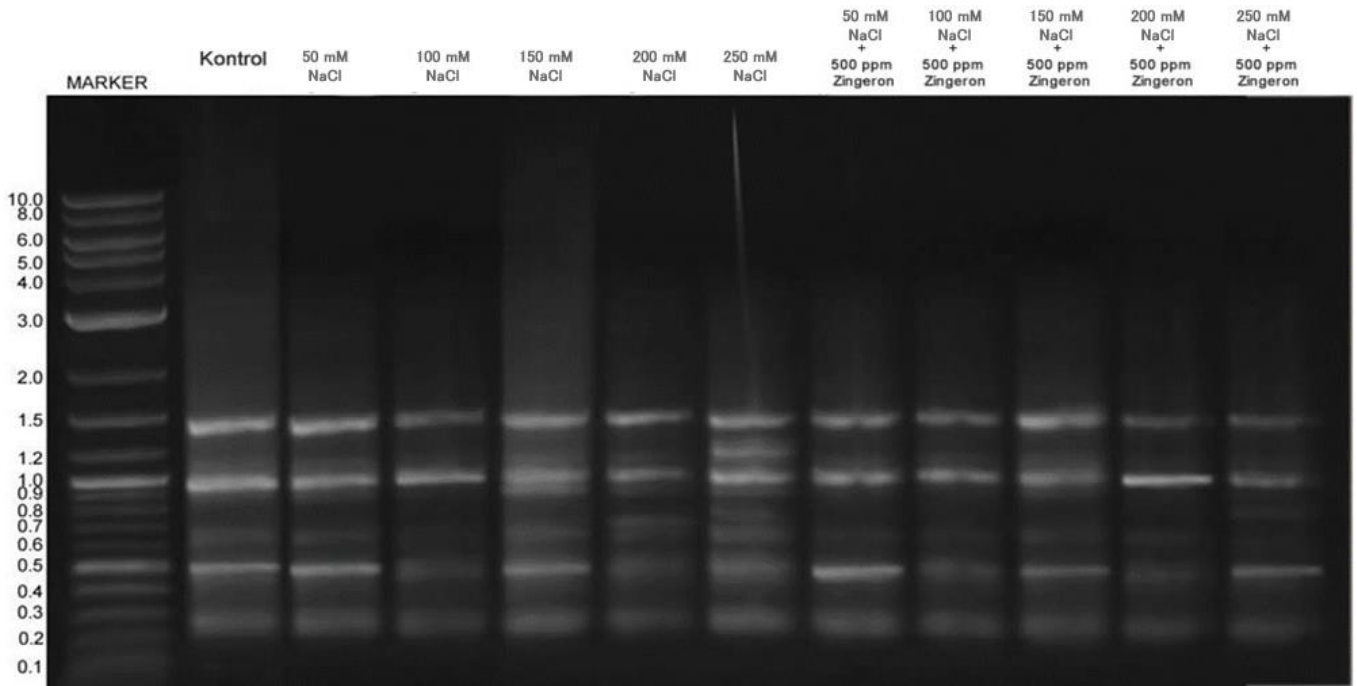


Şekil 2. Tuz stresine maruz tohumlardan elde edilen polimorfizm ve GTS değerleri

Zingeron eklenerek uygulanan tuz stresinde ise tüm doz seviyelerinde çimlendirilen örneklerde polimorfizm değerlerinde düşüş tespit edilmiştir. Bu örneklerden elde edilen polimorfizm değerleri % 14.81 ile % 33.33 arasında değiştiği tespit edilmiştir. Bu örneklerde de tuz dozu ile polimorfizm arasında pozitif korelasyon tespit edilmiştir. GTS değerleri ise sadece tuz stresine uygulanan örneklere göre daha yüksek olarak tespit edilmiştir. GTS değerlerinin % 66.67 ile % 85.19 arasında değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir. Tuz stresi ile birlikte eklenen zingeron uygulamalarından elde edilen polimorfizm-GTS değerleri ve bu değerlerin doza bağlı değişimleri Şekil 3'de gösterilmiştir. Şekil 4'de Sukkula primerinden elde edilen bant görüntüsü verilmiştir.



Şekil 3. Tuz stresine maruz tohumlara zingeron eklenmesi ile elde edilen polimorfizm ve GTS değerleri



Şekil 4. Sukkula primerinden elde edilen bant görüntüsü

Toprak tuzluluğu insanlık tarihi boyunca küresel tarım için büyük bir endişe kaynağı olmuştur. Şu anda dünya genelinde 800 milyon hektarın üzerinde arazi tuzdan etkilenmektedir (Ma ve ark. 2011).

Yapısında % 67 karbonhidrat, % 9-13 protein, selenyum, bakır ve niasin (B3 vitamini) bulunmasından dolayı arpa canlılar için önemli bir besin kaynağıdır (Gupta ve ark., 2010). Arpa, tahıl üretimi içerisinde Türkiye’de buğdaydan sonra ikinci sırada yer alırken; dünyada mısır (*Zea mays* L.), buğday (*Triticum aestivum* L.) ve pirinçten (*Oryza sativa* L.) sonra dördüncü sırada yer almaktadır (FAO, 2018). Arpada yüksek tuz stresi muamelesinin kantitatif RT-PCR analizi sonucunda OsWRKY82 ekspresyonunun azalma yönünde eğilim gösterdiği (Peng ve ark., 2011), farklı tuz konsantrasyonlarında çimlendirilen 12 arpa çeşidinde tuz konsantrasyonu arttıkça çimlenme oranının düştüğü (Othman ve ark.,

2006), tuz stresinin buğday kök uzunluğunda kontrol grubuna göre azalmaya neden olduğu (Bilkis ve ark., 2016), tuz stresi koşullarındaki domatestede yapraktan methyl jasmonate uygulamalarının fizyolojik ve biyokimyasal dayanıklılığa katkı sağladığı (Manan ve ark., 2016), 75 mM tuz maruziyetine karşı humik asit uygulamasının biberde olumlu etki yaptığı (Bacilio ve ark., 2016), mısır bitkisinde yüksek düzeyde sulama suyu miktarı ile polietilen malç uygulamalarının bitkide tuz stresinin olumsuz etkilerini azalttığı (Sikder ve ark., 2016) rapor edilmiştir.

Çalışmamızda arpada tuz stresinin moleküler düzeydeki etkisi ve bu strese karşı zencefil özütü zingeronun koruyucu özelliği retrotranspozon hareketliliği üzerinden incelenmiştir. Transpozonlar, bitki genomlarının ortalama %50-90' nını oluşturmakta (Roberts ve ark., 2008; Lerat, 2009; Wessler, 2009) olup normal büyüme ve gelişme sırasında genellikle sessizdirler (Ito ve ark., 2011). Bununla birlikte retrotranspozonlar çevresel stresler gibi çeşitli biyotik ve abiyotik streslerle transkripsiyonel aktivite gösterebilmektedir (He ve ark., 2012; Voronova ve ark., 2014). Retrotranspozonların gen ekspresyonunu değiştirerek veya DNA'nın yeniden düzenlemesini indükleyerek konak genom evriminde önemli roller oynadığı bilinmektedir (Friedli ve Trono, 2015). Retrotranspozon hareketlilik düzeyinin araştırılması amacıyla farklı stress koşulları altında farklı metabolizmalarda IRAP analizi ile yapılmış literatür çalışmaları mevcuttur (Hamad-Mecbur ve ark., 2012; Temel ve Gözükırmızı, 2013; Yağcı, 2015; Yiğider ve ark., 2016). Tuzluluk gibi bitki üzerindeki çevresel streslere karşı epigenetik mekanizmalar, genomun gen ekspresyonunu farklı şekilde düzenleyerek strese yanıt vermede önemli rol oynarlar (Angers ve ark., 2010; Studer ve ark., 2011; Deng ve ark., 2017).

Çevresel koşulların değişmesi veya stres faktörleri bu genomik elementlerin aktifliğine etki eden epigenetik yapılanmayı değiştirebilmektedirler (Wessler, 2009). Transpozonlar, transpozisyonları sonucu genomun birçok farklı bölgelerine insersiyon yapabilmektedirler. Özellikle eksonlara veya gen yakınındaki bölgelere yerleştiklerinde; nokta mutasyonu, çerçeve-kayma mutasyonu, delesyon, duplikasyon, insersiyon gibi birçok mutasyonlara yol açmaktadırlar. Bu mutasyonların sonucunda genlerin okuma çerçevesinde kaymalara, alternatif gen ürünlerinin oluşumuna, gen ürünü proteinlerin sentezlenememesine sebep olabilir. Gen fonksiyonunu, yapısını ve aktivitesini değiştirebilmesinden dolayı genom ve kromozom yapılarının değişmesini de sağlayabilmektedirler (Bennetzen, 2000; Federoff, 2000; Wicker vd., 2007). Bu durum IRAP analizinde elde edilen bant profillerinde farklılığa sebep olmaktadır. Bu farklılıklar polimorfizm olarak ifade edilmektedir.

Çalışmamızda tuz dozuna bağlı olarak oluşan stresin retrotranspozon hareketliliğini arttırdığı, oluşan hareketliliğe bağlı olarak polimorfizm değerinde artışa neden olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca genomun kararlılığını ifade GTS değerinde azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. GTS değerindeki azalma, tuz stresinin genomun kararlılığını etkilediğinin göstergesidir.

Önceki çalışmalarda zencefil özütlerinin kullanımının ROT üretimini ve DNA iplik kopma oranını düşürdüğü (Vipin ve ark., 2017), sitotoksiteyi engellediği (Na ve ark., 2016), civanın neden olduğu toksik etkiyi tersine çevirdiği (Joshi vd., 2017) raporlanmıştır. Tuz stresine maruz kalan örnekler ile zingeron takviyesi yapılan örneklerin polimorfizm değerleri karşılaştırıldığında pozitif korelasyon tespit edilmiştir. Zingeron uygulamasının arpa örneklerinde polimorfizm değerleri de % 11.13 ile % 19.98 arasında azalttığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda zingeron takviyesinin GTS değerine katlı sağladığı belirlenmiştir. Zingeronun genomik kararlılıkta yalnızca tuz stresine maruz kalan örneklere göre % 4.50 ile % 11.11 aralığında artışa neden olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda zencefil özütü zingeronun arpada tuz stresinin neden olduğu genomdaki farklılaşmaya karşı, koruyucu etki gösterdiği polimorfizm ve GTS değerlerinde meydana gelen pozitif değişimden anlaşılmaktadır.

SONUÇ

Yağış rejimindeki değişimler, ekim yapılan arazilerin ve doğal kaynakların azalması gibi etkenlerden dolayı tuzluluk tarımsal üretimde önemli sorunlardan birisini oluşturmaktadır. Bu sorunun aşılması açısından bu strese dayanıklılığın artırılması önemli bir bulgu olacaktır. Bu çalışmada tuz stresinin arpada strese neden olduğu, bu stresin büyüklüğü ile doğru orantılı olarak genom profilini değiştirdiği tespit edilmiştir. Stres etkeni ile bitki genom kararlılığında azalma meydana geldiği anlaşılmıştır. Bununla beraber bu stres seviyesini azaltmak amacıyla çimlenme sırasında tuz çözeltisine eklenen zencefil özütü zingeronun bu stresi azalttığı yine genom profiline yansımıştır. Çalışmadan elde edilen bulgular ışığında zingeronun tuz stresine karşı koruyucu etki gösterdiği saptanmıştır.

Ayrıca stres kaynaklı meydana gelen genomik değişimlerin protein sentezindeki rolü, etki miktarının anlaşılması abiyotik stres problemlerini somut hale getirecektir. Bu açıdan protein sentezlerinin hedeflenmesi stres mekanizmalarının önemini anlaşılmasına ve bu duruma karşı çözüm yolları üretilmesine katkıda bulunacaktır.

KAYNAKLAR

- Abdelgawad H, Zinta G, Hegab MM, Pandey R, Asard H, Abuelsoud W, 2016. High salinity induces different oxidative stress and antioxidant responses in maize seedlings organs. *Frontiers in plant science*, 7: 1-11.
- Angers B, Castonguay E, Massicotte R, 2010. Environmentally induced phenotypes and DNA methylation: how to deal with unpredictable conditions until the next generation and after. *Mol. Eco.*, 19:1283-1295.
- Atienzar FA, Conradi M, Evenden AJ, Jha AN and Depledge MH, 1999. Qualitative assessment of genotoxicity using random amplified polymorphic DNA: comparison of genomic template stability with key fitness parameters in *Daphnia magna* exposed to benzo[a]pyrene. *Environmental Toxicology Chemster*, 18, 2275-2282.
- Bacilioa, M., Morenoa, M., Bashana, Y., 2016. Mitigation of negative effects of progressive soil salinity gradients by application of humic acids ve inoculation with *Pseudomonas stutzeri* in a salttolerant ve a salt-susceptible pepper. *Applied Soil Ecology*, 107: 394-404.
- Bennetzen, J.L., 2000. Transposable elements contributions to plant gene and genome evolution. *Plant Molecular Biology*, 42:251-269.
- Bilkis, A., Islam, M.R., Hafiz, M.H.R., Hasan, M.A., 2016. Effect of NaCl induced salinity on some physiological ve agronomic traits of wheat. *Pakistan Journal of Botany*, 48 (2): 455-460.
- Breusegem FV, Vranová E, Dat J, Inz D, 2001. The Role of Active Oxygen Species in Plant Signal Transduction. *Plant Science*, 161: 405-414.
- Chaparzadeh N, D'Amico ML, Khavari-Nejad RA, Izzo R, Navari-Izzo F, 2004. Antioxidative responses of *Calendula officinalis* under salinity conditions. *Plant Physiol Biochem*, 42: 695-701.
- Colmer TD, Munns R, Flowers TJ, 2005. Improving salt tolerance of wheat and barley: future prospects. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 45: 1425-1443.
- Deng Y, Zhai K, Xie Z, Yang D, Zhu X, Liu J, Wang X, Qin P, Yang Y, Zhang G, 2017. Epigenetic regulation of antagonistic receptors gives rice burst resistance with yield balance. *Science*, 355:962 – 965.
- Dorri M, Hashemitabar S, Hosseinzadeh H, 2018. Cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) as an antidote or a protective agent against natural or chemical toxicities. a review. *Drug and chemical toxicology*, 41 (3): 338-351.
- Ekmekçi E, Apan M, Kara T, 2005. Tuzluluğun bitki gelişimine etkisi. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20(3): 118-125.
- Fanoudi S, Alavi MS, Karimi G, Hosseinzadeh H, 2018. Milk thistle (*Silybum Marianum*) as an antidote or a protective agent against natural or chemical toxicities: a review. *Drug Chemster Toxicology*, 1-15.
- Federoff, N., 2000. Transposons and Genome Evolutions in Plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97 (13):7002-7007.

- Food and Agriculture Organization [FAO]. (2018). Erişim Tarihi: 12 Aralık 2019, <http://faostat3.fao.org>
- Friedli, M. and Trono, D., 2015. The developmental control of transposable elements and the evolution of higher species. *Annu Rev Cell Dev Biol.*, 31:429-51. doi: 10.1146/annurev-cellbio-100814-125514.
- Guahk G, Sang K H, Hyuk-Sang J, Chulhun K, Chang-Hyu K, Yoon B K, Sun Y K, 2010. Zingiber officinale Protects HaCaT cells and C57BL/6 Mice from Ultraviolet B-Induced Inflammation, *Journal of Medicinal Food*, 13(3):673-680.
- Gupta M, Abu Ghannam N, Gallagher E. 2010. Barley for brewing: characteristic changes during malting, brewing and applications of its by products. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 9 (3):318-328.
- Hamad-Mecbur, H. Yilmaz, S. Temel, A., Sahin, K., Gozukirmizi, N., 2014. Effects of epirubicin on barley seedlings. *Toxicology Indiana Health*, 30:52-59.
- He P, Ma Y, Dai HY, Li LG, Liu YX, Li H, Zhao GL, Zhang ZH, 2012. Characterization of the hormone and stress-induced expression of FaRE1 retrotransposon promoter in strawberry. *Journal of Plant Biology*, 55(1): 1-7.
- Hosseini, H. and Hosseinzadeh, H. 2018. Antidotal or protective effects of *Curcuma longa* (turmeric) and its active ingredient, curcumin, against natural and chemical toxicities: a review *Biomed Pharmacother*, 99: 411-421.
- ISTA (International Seed Testing Association), 2013. *International Rules for Seed Testing Edition*, Zurich, Switzerland.
- Ito H, Gaubert EB, Mirouze M, Vaillant I, Paszkowski J, 2011. An siRNA pathway prevents transgenerational retrotransposition in plants subjected to stress. *Nature*, 472:115-119.
- Joshi D, Srivastav S, Belemkar S, Dixit V A, 2017. Zingiber officinale and 6-gingerol alleviate liver and kidney dysfunctions and oxidative stress induced by mercuric chloride in male rats: A protective approach. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. Volume 91:645-655.
- Kamel A, Bourguignon L, Marcos M, Ducher M, Goutelle S, 2017. Is Trough Concentration of Vancomycin Predictive of the Area Under the Curve? A Clinical Study in Elderly Patients. *Therapeutic drug monitoring*, 39(1):83-87.
- Kandemir FM, Yildirim S, Caglayan C, Kucukler S, Ese G, 2019. Protective effects of zingerone on cisplatin-induced nephrotoxicity in female rats. *Environmental science and pollution research international*, 26(22):22562-22574.
- Kendirli B, Çakmak B, Uçar Y, 2005. Salinity in the Southeastern Anatolia Project (GAP). Turkey: Issues and Options. *İrrigation and Drainage*, 54 (1): 115-122.
- Kim MK, Chung SW, Kim DH, Kim JM, Lee EK, Kim JY, Ha YM, Kim YH, No JK, Chung HS, Park KY, Rhee SH, Choi JS, Yu BP, Yokozawa T, Kim YJ, Chung HY, 2010. Modulation of age-related NF-kappa B activation by dietary zingerone via MAPK pathway, *Experimental gerontology*, 45:419-426.
- Lee J, Oh SW, Shin SW, Lee KW, Cho JY, Lee J, 2018. Zingerone protects keratinocyte stem cells from UVB-induced damage, *Chemico-biological interactions*, 279: 27-33.
- Lerat E, 2009. Identifying repeats and transposable elements in sequenced genomes: How to find your way through the dense forest of programs. *Heredity*, 104: 520-523.
- Liu L, Wang YX, Zhou J, Long F, Sun HW, Liu Y, Chen YZ, Jiang CL, 2005. Rapid non-genomic inhibitory effects of glucocorticoids on human neutrophil degranulation. *Inflammation research*, 54(1):37-41.
- Ma X, Dong H, Li W, 2011. Genetic improvement of cotton tolerance to salinity stress. *Afr. J. Agric. Res.*, 6 6798-6803, 10.5897/AJARX11.052.
- Mahmood K, 2011. Salinity tolerance in barley (*Hordeum vulgare* L.): Effects of varying NaCl, K⁺/Na⁺ and NaHCO₃ levels on cultivars differing in tolerance. *Pakistan Journal of Botany*, 43 (3): 1651-1654.
- Ekmekeçi, E., Apan, M., Kara, T., (2005). Tuzluluğun bitki gelişimine etkisi. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20(3): 118-125.
- Manan, A., Ayyub, C.M., Pervez, M.A., Ahmad, R., 2016. Methyl jasmonate brings about resistance against salinity stressed tomato plants by altering biochemical ve physiological processes. *Pakistan Journal of Agricultural Science*, 53(1): 35-41.

- Mian A, Oomen RJ, Isayenkov S, Sentenac H, Maathuis FJ, Véry AA, 2011a. Over-expression of a Na⁺- and K⁺-permeable HKT transporter in barley improves salt tolerance. *The Plant journal : for cell and molecular biology*, 68 (3): 468–479.
- Mian A, Senadheera P, Maathuis, FJ, 2011b. Improving crop salt tolerance: anion and Cation Transporters as genetic engineering targets. *Plant Stress*, 5: 64–72.
- Mittler R, 2002. Oxidative Stress, Antioxidants and Stress Tolerance. *Trends in Plant Science*, 7: 405-410.
- Mohammadzadeh N, Mehri S, Hosseinzadeh H, 2017. *Berberis vulgaris* and its constituent berberine as antidotes and protective agents against natural or chemical toxicities. *Iranian journal of basic medical sciences*, 20 (5): 538-551.
- Munns R, Tester M, 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual review of plant biology*, 59: 651-681.
- Na J-Y, Song K, Lee J-W, Kim S, Kwon J. 2016. Pretreatment of 6-shogaol attenuates oxidative stress and inflammation in middle cerebral artery occlusion-induced mice. *European Journal of Pharmacology* Volume 7885 October 2016 Pages 241-247.
- Othman Y, Al-Karaki G, Al-Tawaha AR, Al-Horani A. 2006. Variation in germination and ion uptake in barley genotypes under salinity conditions. *World journal of agricultural sciences*, 2:11-15.
- Peng XX, Tang XK, Zhou PL, Hu YJ, Deng XB, He Y, Wang HH. 2011. Isolation and Expression Patterns of Rice WRKY82 Transcription Factor Gene Responsive to Both Biotic and Abiotic Stresses. *Agricultural Sciences*, 10(6):893-901.
- Roberts AP, Chandler M, Courvalin P, Guédo, G, Mullany P, Pembroke T, Rood JI, Smith J, Summers AO, Tsuda M, Berg DE, 2008. Revised Nomenclature for Transposable Genetic Elements. *Plasmid*, 60: 167-173.
- Roy SJ, Negrão S, Tester M, 2014. Salt tolerant crop plants. *Current Opinion in Biotechnology* 26, 115–124.
- Saghai-Marooif MA, Soliman KM, Jorgensen RA, Allard RW, 1984. Ribosomal DNasepacer-length polymorphism in barley: mendelian inheritance, chromosomal location, and population Dynamics. *Proceedings of the National Academy Sciences*, 81: 8014-8019.
- Sikder, M.U., Asadul Haque, M., Jodder, R., Kumar, T., Mondal, D., 2016. Polythene mulch ve irrigation for mitigation of salinity effects on maize (*Zea mays* L.). *The Agriculturists*, 14 (2): 01-13.
- Studer A, Zhao Q, Ross-Ibarra J, Doebley J, 2011. Identification of a functional transposon insertion in the maize domestication gene *tb1*. *Nature genetics*, 43: 1160 – 1163.
- Sun ZX, Wang YN, Mou FP, Tian YP, Chen L, Zhang SL, Jiang Q, Li X, 2016. Genome-wide small RNA analysis of soybean reveals auxin-responsive microRNAs that are differentially expressed in response to salt stress in root apex. *Frontiers in plant science*, 18;6:1273
- Tavakkoli A, Ahmadi A, Razavi BM, Hosseinzadeh H, 2017. Black seed (*Nigella sativa*) and its constituent thymoquinone as an antidote or a protective agent against natural or chemical toxicities Iran. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 16: 2-23.
- Temel, A., Gözükmirmizi, N., 2013. Analysis of retrotransposition and DNA methylation in barley callus culture. *Acta Biologica Hungarica*, 64 (1):86-95.
- Thongrakard Rossella Visa, Titone Carlo F, Ciro I, 2014. Turmeric Toxicity in A431 Epidermoid Cancer Cells Associates with Autophagy Degradation of Anti-apoptotic and Anti-autophagic p53 Mutant. *Phytotherapy research: PTR*, 28(12):1761-1790.
- TÜİK (Türkiye İstatistik Kurumu). 2019. <http://www.tuik.gov.tr/UstMenu.do?metod=temelist>. Son Erişim: 12.11.2019.
- Vipin A.V., Raksha Rao K., Nawneet Kumar K., Anu Appaiah K.A., Venkateswaran G. 2017. Protective effects of phenolics rich extract of ginger against Aflatoxin B1-induced oxidative stress and hepatotoxicity. *Biomedicine & pharmacotherapy*. 91:415-424. doi: 10.1016/j.biopha.2017.04.107
- Voronova A, Belevich V, Rungis D, Jansons A, 2014. Stress-induced transcriptional activation of retrotransposon-like sequences in the Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) genome. *Tree Genetics Genomes*, 10: 937-951.
- Wessler SR, 2009. Eukaryotic transposable elements: teaching old genomes new tricks'', http://www.plantbio.uga.edu/wesslerlab/The_Implicit_Genome.pdf, Son Erişim Tarihi: 10.03.2017.

- Wicker, T., Sabot, F., Hua-Van, A., Bennetzen, J., Capy, P., Chalhoub, B., Flavell, A., Leroy, P., et al., 2007. A Unified Classification System for Eukaryotic Transposable Elements. *Nature Genetics*, 8:973-982.
- Yağcı, S., 2015. Tuzluluk Stresinin Buğdayda (*Triticum aestivum* L.) Meydana Getirmiş Olduğu Retrotranspozon Polimorfizmi Üzerine B-Östradiol'ün Etkisinin Belirlenmesi. Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 31-34.
- Yang P, Chen Y, Wu H, Fang W, Liang Q, Zheng Y, Olsson S, Zhang D, Zhou J, Wang Z, Zheng W, 2018. The 5-oxoprolinase is required for conidiation, sexual reproduction, virulence and deoxynivalenol production of *Fusarium graminearum*. *Current genetics*, 64(1):285-301.
- Yigider, E., Taspınar, M.S., Sigmaz, B., Aydın, M., Agar, G., 2016. Humic acids protective activity against manganese induced LTR (long terminal repeat) retrotransposon polymorphism and genomic instability effects in *Zea mays*. *Plant Gene*, 6:13-17.