

ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BİBERDE (*Capsicum annuum* L.) KÖK GELİŞİMİYLE İLGİLİ MİYOZİN  
GENLERİNİN TUZLULUK STRESİ ALTINDA GEN İFADESİNİN  
BELİRLENMESİ**

**Esmâ İpek OĞUZKAN**

**BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

**ANKARA**  
**2021**

**Her hakkı saklıdır**

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### BİBERDE (*Capsicum annuum* L.) KÖK GELİŞİMİYLE İLGİLİ MİYOZİN GENLERİNİN TUZLULUK STRESİ ALTINDA GEN İFADESİNİN BELİRLENMESİ

Esmâ İpek OĞUZKAN

Ankara Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Gölge SARIKAMIŞ

Biber (*Capsicum annuum* L.), ülkemizde ve dünyada yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan, çeşitli şekillerde tüketilen ekonomik değeri oldukça yüksek bir türdür. Bitkisel üretimde bitki gelişimini ve bitki verimini etkileyen en önemli nedenlerden birisi tuz stresidir. Kökler, kök emici tüyleri aracılığıyla topraktan su ve besin maddelerini almaktadır. Toprakta tuz yoğunluğunun artmasına bağlı olarak köklerde su ve besin maddelerinin alınımı azalmakta, ileri düzeyde hücrelerde zararlı etkiler ortaya çıkmaktadır. Kök gelişiminin genetik mekanizmasını inceleyen çalışmalar, bitkide pek çok fizyolojik olayda yer alan miyozin genlerini, kök ve kök emici tüylerinin gelişimi ile de ilişkilendirmişlerdir. Miyozinler, hücrede ATP hidrolizi sırasında açığa çıkan enerjiyi mekanik enerjiye dönüştüren motor proteinleridir. Tez çalışmasında, miyozin 2 (*Capsicum annuum* myosin-2-like), miyozin 4 (*Capsicum annuum* myosin-4-like), miyozin 6 (*Capsicum annuum* myosin -6-like), miyozin 9 (*Capsicum annuum* myosin-9) ve miyozin 11 (*Capsicum annuum* myosin-11) genlerine ait primerler ve housekeeping gen olarak *Capsicum annuum* aktin geni kullanılarak gen ifadeleri 100 mM tuz uygulamasını takiben 3. saat ve 24. saatte alınan örneklerde belirlenmiştir.

İncelenen miyozin genleri içerisinde en fazla ifade artışının miyozin 9 geninde (30.57 kat) tuz uygulamasından 24 saat sonra olduğu belirlenmiştir. Miyozin 2 geninin ifadesi tuz uygulamasından 3 saat sonra istatistiki olarak önemli bir değişim göstermezken 24 saat sonra 8.95 kat artmıştır. Miyozin 4 geninin ifadesinde ise, uygulamadan 3 saat ve 24 saat sonra önemli bir değişiklik olmamıştır. Miyozin 6 geninin ifadesi, uygulamadan 3 saat sonra -8.22 kat azalırken, 24 saat sonra alınan örneklerde ise -2.16 kat azalmıştır. Miyozin 11 gen ifadesinin ise 3 saat sonra -3,53 kat azaldığı. 24 saat sonra ise 2.35 kat arttığı belirlenmiştir ( $P<0.05$ ).

**Ocak 2021, 56 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** Biber, *Capsicum annuum* L., Kök, Kök emici tüyleri, Miyozin, qRT-PCR

## ABSTRACT

Master Thesis

THE EXPRESSION OF MYOSIN GENES ASSOCIATED WITH ROOT HAIR DEVELOPMENT UNDER SALINITY STRESS IN PEPPER (*Capsicum annuum* L.)

Esmâ İpek OĞUZKAN

Ankara University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Horticulture

Supervisor: Prof. Dr. Gölge SARIKAMIŞ

Pepper (*Capsicum annuum* L.) is grown and consumed extensively and has high commercial value. Salinity stress negatively affects the growth, development and life of the plant. Roots take water and nutrients from the soil through their root hairs. Due to the increase in soil salt concentration, the water and nutrient intake through the roots decreases and toxic effects occur. Myosins are motor proteins that are involved in many physiological events in the plants. Studies investigating the genetic mechanism of root development linked them with the development of root and root hairs. In this study, gene expressions of myosin 2 (*Capsicum annuum* myosin-2-like), myosin 4 (*Capsicum annuum* myosin-4-like), myosin 6 (*Capsicum annuum* myosin -6-like), myosin 9 (*Capsicum annuum* myosin-9) and myosin 11 (*Capsicum annuum* myosin-11) and *Capsicum annuum* actin gene as the housekeeping gene were determined in root tissues of pepper seedlings 3 and 24 hours after 100 mM salt treatment. The highest increase in the expression was in myosin 9 gene (30.57 fold) 24 hours after salt treatment. The expression of myosin 2 gene did not show a statistically significant change 3 hours after salt treatment, however, it increased 8.95 fold after 24 hours. There was no significant change in the expression of the myosin 4 gene at both time points. Expression of the myosin 6 gene decreased -8.22 times after 3 hours of salt treatment, and -2.16 times after 24 hours. Myosin 11 gene expression decreased -3.53 times after 3 hours and it increased 2.35 times after 24 hours ( $P < 0.05$ ).

**January 2021, 56 pages**

**Keywords:** Pepper, *Capsicum annuum* L., Root, Root hair, Myosin, qRT-PCR

## ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Çalışmalarımın titizlikle yürütülmesine katkı sağlayan ve yönlendiren, araştırma sürecimin her basamağında tecrübe, yardım ve bilgisini hep hissettiğim, akademik olarak engin fikirleriyle yetişme ve gelişimime katkıda bulunan danışman hocam sayın Prof. Dr. Gölge Sarıkamış'a, çalışmalarım süresince manevi desteği, yönlendirmesi, bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Bitki Biyoteknolojisi öğretim üyesi Prof. Dr. Ali Ergül'e, çalışmalarım sırasında yönlendiren ve önemli katkılarda bulunan Dr. Canan Yüksel Özmen'e, her zaman yanımda olan desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmam süresince maddi manevi fedakarlıklarını esirgemeyen sevgili annem Aysun Oğuzkan'a, sevgili babam Orhan Oğuzkan'a ve sevgili kardeşim Elif Oğuzkan'a ve sevgili Gençay Tekin'e en derin duygularıyla teşekkür ederim.

Esmâ İpek OĞUZKAN

Ankara, Ocak 2021

## İÇİNDEKİLER

<b>TEZ ONAY SAYFASI</b>	
<b>ETİK</b> .....	<b>i</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>ii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>iii</b>
<b>ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR</b> .....	<b>iv</b>
<b>SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>vii</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>viii</b>
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	<b>ix</b>
<b>1.GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 Çalışmada Kullanılan Miyozin Genlerinin Arabidopsis'te Fonksiyonları ve Bulunduğu Bölgeler</b> .....	<b>5</b>
<b>1.1.1 Miyozin 2</b> .....	<b>5</b>
<b>1.1.2 Miyozin 4</b> .....	<b>6</b>
<b>1.1.3 Miyozin 6</b> .....	<b>6</b>
<b>1.1.4 Miyozin 9</b> .....	<b>7</b>
<b>1.1.5 Miyozin 11</b> .....	<b>8</b>
<b>1.1.6 Aktin</b> .....	<b>8</b>
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ</b> .....	<b>10</b>
<b>2.1 Biberde Tuzluluk Stresi</b> .....	<b>10</b>
<b>2.2 Kök Gelişimiyle İlişkili Miyozin Genlerinin Fizyolojik Etkilerinin Moleküler Düzeyde İncelenmesi</b> .....	<b>12</b>
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM</b> .....	<b>15</b>
<b>3.1 Materyal</b> .....	<b>15</b>
<b>3.2 Yöntem</b> .....	<b>17</b>
<b>3.2.1 Hoagland besin çözeltisinin hazırlanması</b> .....	<b>17</b>
<b>3.2.2 Tuz uygulaması</b> .....	<b>18</b>
<b>3.2.3 Köklerde yapılan morfolojik incelemeler</b> .....	<b>20</b>
<b>3.2.3.1 Kök boyu (cm)</b> .....	<b>20</b>
<b>3.2.3.2 Kök taze ağırlığı (g)</b> .....	<b>21</b>
<b>3.2.3.3 Kök kuru ağırlığı (g)</b> .....	<b>21</b>
<b>3.2.4 Miyozin gen ifade analizleri</b> .....	<b>22</b>
<b>3.2.4.1 Real Time PCR analizleri için örnek alınması</b> .....	<b>22</b>
<b>3.2.4.1.1 RNA izolasyonu</b> .....	<b>23</b>
<b>3.2.4.1.2 cDNA sentezi</b> .....	<b>25</b>
<b>3.2.5 Çalışmada kullanılan miyozin primerleri</b> .....	<b>26</b>
<b>3.2.6 Real Time PCR reaksiyonları</b> .....	<b>28</b>
<b>3.2.6.1 Primer optimizasyonu</b> .....	<b>28</b>

3.2.6.2 Standart eğri çizimi.....	29
3.2.7 İstatistik analizler.....	37
4. SONUÇLAR.....	38
4.1 Köklerde Yapılan Morfolojik İncelemeler.....	38
4.2 Biber Kök Örneklerinde Gen İfade Analiz Sonuçları.....	42
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	45
KAYNAKLAR.....	49
ÖZGEÇMİŞ.....	56



## SİMGELER DİZİNİ

mM	Milimolar
$\mu$ l	Mikrolitre
pmol	Pikomol

### **Kısaltmalar**

ACT1	Aktin
ATP	Adenozin trifosfat
C	Kontrol
<i>C. annum</i>	<i>Capsicum annum L.</i>
GTP	Guanozin trifosfat
MYA2, Myo 2	Miyozin 2
VIII-B, Myo 4	Miyozin 4
XI-2, Myo 6	Miyozin 6
XI-C, Myo 9	Miyozin 9
XI-E, Myo 11	Miyozin 11
qRT-PCR	Real Time PCR
3h	3 saat
24h	24 saat

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1 Tez çalışması için yetiştirilen biber bitkileri.....	15
Şekil 3.2 Hoagland besin çözeltisinde yetiştirilen biber fideleri.....	16
Şekil 3.3 İklim odası sıcaklık ve nem düzeyi.....	16
Şekil 3.4 Fidelere kademeli olarak (günlük 25 mM NaCl ilavesi) tuz uygulaması ve RNA analizleri için örnekleme zamanı (3 saat ve 24 saat) .....	18
Şekil 3.5 (a,b,c) (a) Tuz uygulaması yapılmış biber bitkileri (b) Kök kısımları (c) Stres örnekleri için günlük uygulanan 25mM NaCl miktarı (10L Hoagland için) .....	20
Şekil 3.6 100mM tuz stresi uygulanmış 3.saat (1 numaralı) örnek.....	20
Şekil 3.7 Stres uygulanmamış (Kontrol) 3.Saatte alınan kontrol örneği.....	21
Şekil 3.8 Stres uygulanmamış 24.Saatte alınan kontrol örneği.....	21
Şekil 3.9 Tuz uygulaması sonunda bitki köklerinin görünümü .....	22
Şekil 3.10 RNA izolasyonu için ayrılmış biber kök örneği .....	22
Şekil 3.11 Elde edilen RNA'ların jel görüntüsü C: kontrol; 3h (3. Saat örnekleri) ve 24 h (24.saat örnekleri) .....	25
Şekil 3.12 Miyozin 2 primeri (a) Standart ve (b) Amplifikasyon Eğrileri.....	30
Şekil 3.13 Miyozin 4 primeri (a) Standart ve (b) Amplifikasyon Eğrileri.....	31
Şekil 3.14 Miyozin 6 primeri (a) Standart ve (b) Amplifikasyon Eğrileri.....	32
Şekil 3.15 Miyozin 9 primeri (a) Standart ve (b) Amplifikasyon Eğrileri.....	33
Şekil 3.16 Miyozin 11 primeri (a) Standart ve (b) Amplifikasyon Eğrileri.....	34
Şekil 3.17 Aktin (Housekeeping) primeri (a) Standart ve (b) Amplifikasyon eğrileri .....	35
Şekil 3.18 Aktin (Housekeeping) primeri (a)Melting eğrisi ve (b)Melting pik görüntüsü..	36
Şekil 4.1 (a) Biber fideleri 3-4 gerçek yapraklı dönem (b) Su kültürüne alınan genç biber fideleri (c ve d) RNA izolasyonu için kök örneklerinin alındığı dönem .....	39
Şekil 4.2 Fidelerin kök gelişimi (a) 100 mM tuz uygulaması 3. Saat (b) 100 mM tuz uygulaması 24. Saat (c) Kontrol 3. Saat (d) Kontrol 24. saat .....	40
Şekil 4.3 Çalışılan miyozin genlerinin 100 mM tuz uygulamasından 3 saat ve 24 saat sonra ifade değişimleri .....	44



## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Hoagland besin çözeltisi protokolü .....	17
Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan biber ( <i>Capsicum annuum</i> L.) miyozin genleri ve oluşturulan primer dizileri.....	27
Çizelge 3.3 Primer optimizasyonunda kullanılan Real Time protokolü .....	28
Çizelge 4.1 Örnekleme zamanına göre 3.saatte kontrol ve tuz bitkilerin ortalama kök taze ağırlığı (g), kök kuru ağırlığı (g), kök boyu (cm).....	41
Çizelge 4.2 Örnekleme zamanına göre 24.saatte kontrol ve tuz bitkilerin ortalama kök taze ağırlığı (g), kök kuru ağırlığı (g), kök boyu (cm).....	41
Çizelge 4.3 Çalışılan miyozin genlerinin gen ifadeleri.....	43



## 1. GİRİŞ

Biber (*Capsicum annuum* L.), *Solanaceae* familyasının önemli türlerindedir. Anavatanının Orta ve Güney Amerika olduğu buradan dünyaya yayıldığı bilinmektedir. Ülkemizde ise biberin sebze kültürümüzdeki yeri çok eskiye dayanmaktadır. Türkiye'nin hemen her bölgesinde geniş alanlarda yetiştirilen, taze, kuru ve baharat şeklinde değerlendirilen biber, ticari değeri çok yüksek olan türler arasında bulunmaktadır. Açıkta ve örtü altında yetiştirilebilen biberin meyve ve bitki formunda geniş varyasyonlar bulunmaktadır (Hausmann vd. 2004, Zhang vd. 2016).

Türkiye'de biber üretim miktarı toplam 792.674 ha alanda 2.625.669 tondur. Bunun 1.234.423 tonu salçalık (kapy) biber, 371.918 tonu dolmalık biber, 902.203 tonu sivri biber, 117.125 tonu çarliston biber olarak gerçekleşmiştir (TÜİK 2019). Dünyada biber üretim miktarı ise, 1.990.423 ha alanda 36.771.482 tondur. Bölgelere göre biber üretiminde Asya kıtası %68, Amerika %13.7, Afrika %9.5, Avrupa %8.8, Okyanusya %0.1'dir (FAO 2018).

Ülkemiz dünyada biber üretim miktarı bakımından Çin ve Meksika'dan sonra üçüncü sırada yer almaktadır (FAO 2019). Türkiye'nin 97.31 bin ton biber ihracatı; 251 ton civarında ise biber ithalatı bulunmaktadır (Güvenç 2020).

Bitkisel üretimde bitki gelişimi ile verimi etkileyen en önemli unsurlar yetiştiricilik sırasında karşılaşılabilecek biyotik veya abiyotik kökenli stres etmenleridir. Biyotik stres, bitki gelişimini olumsuz etkileyen hastalık ve zararlılar nedeniyle oluşurken, abiyotik stres ise, bitkinin yetiştiği ortamdaki kuraklık, tuzluluk, soğuk-sıcak, su fazlalığı gibi çeşitli çevresel faktörlerin etkisiyle ortaya çıkmaktadır. Abiyotik stres faktörleri içerisinde önemli bir yer tutan tuzluluk stresi, tarım yapılan toprakları olumsuz etkilemekte ve bitki büyüme ve gelişimini, ileri düzeylerde bitkinin yaşamını olumsuz etkilemektedir (Mahajan ve Tuteja 2005). Toprak tuzluluğu toprak içerisinde bulunan suyun tuz konsantrasyonunun artmasıyla birlikte bitkinin su alımının kısıtlanmasına neden olmaktadır. İleri düzeyde bitki hücreleri içerisine ulaşan tuz

iyonlarının yarattığı toksik etkiler de hücrelerde zarar meydana getirmektedir. Hücresel hasarın düzeyine bağlı olarak bitkilerde hücre bölünmesinin, büyüme ve gelişmenin yavaşlaması, durması, fotosentez başta olmak üzere fizyolojik olayların yavaşlaması, ileri düzeylerde geri dönüşsüz olarak bitkilerde kurumunun meydana gelmesine neden olmaktadır.

Bitkiler, yaşamlarını sınırlayan bu gibi etkilere maruz kaldıklarında savunma mekanizmasını harekete geçirerek çeşitli tepkiler vermektedir. Tuz stresi, hücre uzamasını ve bölünmesini etkilemektedir. Bitkilerde gövde ve kökteki hücre sayılarında, mitoz bölünme ve hücre bölünmelerinin oranlarında düşümlere sebebiyet vermektedir (Bursens vd. 2000). Bu sebeple, bitki ağırlığında (gövde ve kök) düşüş gözlenmekle birlikte, yaprak boyutlarının küçülmesi, yaprak eninin ve yüzeyindeki tabakaların (epidermis ile kütikula) incilmesi ve yaprak sayısında azalma, kök ve gövde uzunluğunda kısılma, vasküler doku gelişiminde ve farklılaşmasında düşüş meydana gelmektedir. Kökte odunlaşma (lignifikasyon) erken dönemde gözlenebilmektedir (Mohammad vd. 1998, Reddy ve Iyengar 1999). Kök tüyleri, tuz konsantrasyonunun artmasıyla aktivitelerini kaybedebilir veya kaybolabilmektedir (Ali vd. 1999).

Bitkilerde tuz stresine diğer bitki organlarından daha çok kökler maruz kalmaktadır. Buna rağmen yaprak gelişiminin tuz stresine hassasiyeti köklerden daha yüksektir. Söz konusu duyarlılık, tuz stresinde bitkilerin kök/sürgün oranının artmasına sebep olmaktadır. Bu oranın artışına sebep olan mekanizma henüz açıklanamamıştır fakat tuz stresinde yaprak ve kök hücrelerinin hücre duvarlarında farklılaşma ve değişimlerin sebebi olarak gösterilebilir (Munns ve Tester 2008). Bitkiler üzerindeki birincil etkisini ozmotik ve iyon stresi ile gösteren tuz stresi, ikincil etki olarak bitkinin yapısında meydana gelen sorunlar ve toksisite şeklinde gösterebilmektedir. Tuzun neden olduğu ikincil etkileri; Serbest oksijen radikalleri (ROS) sentezi ile DNA, protein, klorofil ve hücre membranlarında zararlanma, fotosentezin engellenmesi, metabolizma toksisite; hücre ölümü ve potasyum alımının engellenmesi olarak bilinmektedir (Botella vd. 2005, Hong vd. 2009).

Günümüzde tarımsal üretimin sürdürülebilirliği için toprak tuzluluğuna yönelik çeşitli araştırmalar yapılmaktadır. Fizyolojik ve moleküler düzeyde yürütülen çalışmalar ile tuza toleransın mekanizması araştırılırken, ıslah çalışmaları ile bitkilerde tuza toleransın artırılmasına yönelik yaklaşımlardan yararlanılmaktadır.

Biber (*Capsicum annum* L.) tuzluluk stresine toleransı orta düzeyde olan bir kültür bitkisidir (Ayers ve Westcot 1976). Araştırmalar, biber bitkisinde  $EC_j=1.0-1.5$  dS/m tuzluluk düzeyinde verimde azalmaların görülmeye başlanacağını ve  $EC_j=3.4$  dS/m düzeyinde ise bitki verimliliğinde yaklaşık olarak %50 civarında bir azalmanın gözlemlendiğini bildirmişlerdir (Smith ve Cobb 1991). Bitkilerin tuza toleransları, içerisinde bulunduğu gelişme dönemi ile yakından ilgilidir. Genelde tüm bitkiler çimlenme ve ilk gelişme dönemlerinde tuza daha hassastırlar. Bu dönemlerde tuzluluktan etkilenmeleri, bitkinin ilerleyen dönemlerinde gelişimin yavaşlamasına neden olabilmektedir (Yurtseven vd. 1996). Kökler, kök emici tüyleri aracılığıyla topraktan su ve besin maddelerinin alımının gerçekleştiği bitki kısmıdır. Bu nedenle, olumsuz toprak koşullarının varlığı bitki gelişimini doğrudan etkilemektedir. Sağlam ve güçlü kök sistemine sahip bitkiler olumsuz toprak koşullarına daha dayanıklıdırlar.

Günümüzde moleküler biyoloji alanındaki gelişmeler sayesinde pek çok bitki türünde çeşitli özelliklere yönelik bilgiler veri bankalarında toplanmaktadır. Kök gelişiminin genetik mekanizmasını inceleyen araştırmacılar, bitkide pek çok fizyolojik olayda yer alan miyozin genlerinin kök ve kök emici tüylerinin gelişimi ile de ilişkilendirmişlerdir. Miyozin genleri ilk olarak model bitki *Arabidopsis*'te belirlenmiş ardından diğer bazı kültür bitkilerinde tanımlanmıştır.

Miyozinler, genel olarak hücrede ATP hidrolizi sırasında açığa çıkan enerjiyi mekanik enerjiye dönüştüren motor proteinleridir. Miyozinlerin, çeşitli hücre hareketlerinden sorumlu olan aktin filamentlerine bağlanarak filament hareketini sağlayan bir motor görevi gördüğü, aktin-miyozin interaksyonunun hücre bölünmesi de dahil pek çok hücresel olayda görev aldığı belirtilmektedir. Hemen hemen tüm ökaryotik canlılarda miyozin genleri bulunmakta ve canlılarda 35 farklı sınıfa ayrılmaktadır. Bitkilerde ise VIII ve XI. sınıfa mensup miyozinler bulunmaktadır (Odrionitz ve Kollmar 2007).

Organel hareketinin materyallerin hücre etrafına hızlı bir şekilde dağılması, bitkinin çevresel biyotik ve abiyotik sinyallere yanıt verme yeteneği ve büyüme için önemli olduğu düşünülmektedir. Bitki hücrelerinde organelleri harekete geçiren ana mekanizma, aktin hücre iskeletine ve motor proteinleri miyozinlere dayanmaktadır. Miyozin VIII yavaş bir motor protein olarak karakterize edilirken, XI sınıfından miyozinlerin bilinen en hızlı motor proteinleri olduğu bildirilmiştir.

XI sınıfındaki miyozinlerin çoğunun organel hareketini düzenlediği bilinmekle birlikte bu motor proteinlerin hareketlerini düzenledikleri organellere nasıl bağlandıkları tam olarak bilinmemektedir. Araştırmalar, her organelin bir miyozin XI motor proteinine bağlanarak aktin lifleri boyunca taşındığını, organellerin aktin liflerinin yönlerine göre değişik yönlere doğru hareket ettiğini, viskoz yapıdaki sitoplazmanın, organellerin hareketiyle sürüklendiğini belirtmektedir (Buchnik vd. 2015).

Bitkide miyozinler, sitoplazmik akış (Shimmen ve Yokota 1994, Esseling-ozdoba vd. 2008), plazmodezma fonksiyonları (Baluška vd. 2001, Volkmann vd. 2003) organel hareketi (Nebenführ vd. 1999, Jedd vd. 2002), sitokinez (Molchan vd. 2002, Collings vd. 2003, Volkmann vd. 2003), endositoz (Volkmann vd. 2003, Baluška vd. 2004, Šamaj vd. 2005) ve hedeflenen RNA aktarımı (Hamada vd. 2003) gibi çeşitli hücrel aktivitelere rol oynamaktadır.

Ağırlıklı olarak *Arabidopsis*'te yürütülen araştırmalar bu türde, XI sınıfına dahil 13 adet (XI1, XI2, XIA, XIB, XIC, XID, XIE, XIF, XIG, XIH, XII, XIJ ve XIK) ve VIII sınıfından 4 adet (ATM1, ATM2, VIII-A, VIII-B) miyozin izoformu bulunduğunu bildirmektedir (Peremyslov vd. 2011, Tominaga ve Nakano 2012). *Arabidopsis* miyozin XI izoformunun bitkinin farklı organlarında oldukça geniş ifade profili gösterdiğini belirtilmektedir. Bunlardan XI1, XI2, XIB, XII, ve XIK miyozin izoformlarının hücre içi organellerin hareketinden sorumlu oldukları bildirilmektedir (Nebenführ vd. 1999, Prokhnovsky vd. 2008). Kök emici kıllarının gelişimiyle ilgili olarak *Arabidopsiste* 13 adet XI izoformu içinde XI-2 ve XI-K nin kök tüylerinin uzamasını ve kök gelişimini etkilediği, XI-2 ve XI-K mutantlarında kök gelişiminin engellendiği belirlenmiştir (Peremyslov vd. 2008).

Çalışmada kullanılan miyozin genlerinin görevleri ve bitkide bulunduğu yerler model bitki *Arabidopsis*'te ve *Capsicum annuum* L. türünde tanımlanmıştır.

## **1.1 Çalışmada Kullanılan Miyozin Genlerinin *Arabidopsis*'te Fonksiyonları ve Buldukları Bölgeler**

### **1.1.1 Miyozin 2 (MYA2)**

Biyolojik Süreçlerde Görevi: Hücrede golgi lokalizasyonu, aktin filament organizasyonu, aktin filament bazlı hareket, dışı organ gelişimi, yaprak hücre gelişimi, mitokondri lokalizasyonu, peroksizom lokalizasyonu, kök tüylerinin uzaması, trikome morfogenezini, aktin filamentleri boyunca vezikül taşımasını olarak belirtilmektedir.

Bulduğu yer: Aktin hücre iskeleti, sitoplazma, sitozol, miyozin kompleksi, çekirdek, peroksizom, vezikül.

Moleküler Fonksiyonları: GTP (Metabolik reaksiyonlarda ATP gibi enerji kaynağı veya substrat aktivatörü rolüne sahiptir) 'ye bağımlı protein bağlanmasına katılır. Aktin filament bağlanması, aktin bağımlı ATPaz aktivitesi, mikro filament motor aktivitesi, motor aktivite, protein bağlama olaylarında bulunur.

Büyüme ve Gelişim Sırasında İfadesi: Bitkide gerçek yapraklı dönem, çiçeklenme aşaması, olgun embriyo aşaması, taç yapraklarda farklılaşma ve büyüme aşaması, embriyo bilateral aşaması, embriyo kotiledon aşaması, embriyo küresel aşaması, yaprak yaşlanma aşaması olarak tanımlanmaktadır.

Bitkide İfadesi: Kotiledon, çiçek, çiçek sapı, hipokotil, çiçek meristemi, yaprak ucu, taç yaprak, yaprak sapı, embriyo, polen, kök, rozet yaprağı, tohum, sepal, sürgün, sürgün ucu, stamen, gövde, yaprak damarı (Arabidopsis.org 2020a, Uniprot 2020b).

### 1.1.2 Miyozin 4 (VIII-B)

Çeşitli organellerin ve proteinlerin hücre içerisinde taşınması için miyozin ağır zinciri (myosin heavy chain) gereklidir. Kuyruklarıyla organeller üzerindeki reseptör proteinlerine bağlanırlar ve N-terminal motor alanıyla aktin filamentlerine karşı kuvvet uygularlar. Bu sayede yükünü polarize aktin flamenti boyunca taşırlar.

Biyolojik Süreçlerde Görevi: Aktin filament organizasyonu, aktin filament bazlı hareket, aktin flamenti boyunca vezikül taşınımı.

Bulunduğu yer: Aktin hücre iskeleti, sitoplazma, vezikül.

Moleküler Fonksiyonlarda Görevi: Aktin filament bağlanması, aktin bağımlı ATPaz aktivitesi, mikro filament motor aktivitesi, motor aktiviteler.

Büyüme ve Gelişim Sırasında İfadesi: Olgun çiçek tozu dönemi, 4 gerçek yapraklı dönem, çimlenmiş çiçek tozu dönemi, çiçeklenme dönemi, çiçeklenme aşaması, olgun embriyo aşaması, taç yaprak farklılaşma ve büyüme aşaması, embriyo bilateral aşaması, embriyo kotiledon aşaması, embriyo küresel aşaması, yaprak yaşlanma aşaması.

Bitkide İfadesi: Çiçek, çiçek sapı, hipokotil, yaprak ucu, taç yaprak, bitki embriyosu, mikrospor hücresi, polen tüpü hücresi, kök, tohum, çanak yaprak, sürgün ucu, erkek organ (stamen), yaprak damarlarında ifade olmaktadır (Arabidopsis.org 2020b, Uniprot 2020c).

### 1.1.3 Miyozin 6 (XI-2)

F-aktinleri bağlayan ve aktin filamentleri ve peroksizomlarla birlikte lokalize olan tip XI miyozin protein ailesinin bir üyesini kodlar. Kök tüylerinin uzaması ve organel hareketinde de rol oynar. GTP'ye bağlı bir şekilde RabC2a ve RabD1 ile etkileşime girer.

Biyolojik Süreçlerde Görevi: Hücrede golgi lokalizasyonu, aktin filament organizasyonu, aktin filament bazlı hareket, dişi organ gelişimi, yaprak hücresi,

mitokondri lokalizasyonu, peroksizom lokalizasyonu, kök tüylerinin uzaması, trikom morfogenezi, aktin filamenti boyunca vezikül taşınımı.

Bulunduğu yer: Aktin hücre iskeleti, sitoplazma, sitozol, miyozin kompleksi, çekirdek, peroksizom, vezikül.

Moleküler Fonksiyonlarda Görevi: GTP'ye bağımlı protein bağlanmasına katılır. Aktin filament bağlanması, aktin bağımlı ATPaz aktivitesi, mikro filament motor aktivitesi, motor aktivite, protein bağlama olaylarında bulunur.

Büyüme ve Gelişim Sırasında İfadesi: Bitkide gerçek yapraklı dönem, çiçeklenme aşaması, olgun embriyo aşaması, taç yaprak farklılaşma ve büyüme aşaması, embriyo bilateral aşaması, embriyo kotiledon aşaması, embriyo küresel aşaması, yaprak yaşlanma aşaması.

Bitkide İfadesi: Yaprak, kotiledon, çiçek, çiçek sapı, hipokotil, çiçek meristemi, yaprak ucu, taç yaprak, yaprak sapı, embriyo, polen, kök, rozet yaprağı, tohum, çanak yaprak, sürgün, sürgün ucu, stamen, gövde, yaprak damarı (Arabidopsis.org 2020a, Uniprot 2020d)

#### **1.1.4 Miyozin 9 (XI-C)**

Organel hareketliliği, aktin organizasyonu ve polen tüplerinin optimum büyümesinde rol oynayan sınıf XI miyozini kodlar. Golgi ve mitokondri taşınımında rol alırlar.

Biyolojik Süreçlerde Görevi : Aktin filament organizasyonu, aktin filament bazlı hareket, organel lokalizasyonu, polen tüpü büyümesi, aktin filamenti boyunca vezikül taşınması.

Bulunduğu yer: Aktin hücre iskeleti, sitoplazma, miyozin kompleksi, çekirdek, vezikül, sitozol.

Moleküler Fonksiyonlarda Görevi: Aktin filament bağlanması, aktin bağımlı ATPaz aktivitesi, mikro filament motor aktivitesi, motor aktiviteler.



Büyüme ve Gelişim Sırasında İfadesi: Olgun çiçek tozu dönemi, çiçeklenme aşaması, olgun embriyo aşaması, taç yaprak farklılaşması ve büyüme aşaması, embriyo bilateral aşaması, embriyo kotiledon aşaması.

Bitkide İfadesi: Yaprak, çiçek, çiçek sapı, hipokotil, taç yaprak, embriyo, mikrospor hücresi, polen tüpü hücresi, kök, tohum, çanak yaprak, sürgün ucu, kök (Arabidopsis.org 2020c , Uniprot 2020e).

### 1.1.5 Miyozin 11 (XI-E)

Organel hareketliliği, aktin organizasyonu ve polen tüplerinin optimum büyümesinde rol oynayan sınıf XI miyozini kodlar. Golgi, mitokondri ve peroksizom taşınımında rol alırlar.

Biyolojik Süreçlerde Görevi: Aktin filament organizasyonu, aktin filament bazlı hareket, organel lokalizasyonu, polen tüpü büyümesi, aktin filamentleri boyunca vezikül taşınması.

Bulunduğu yer: Miyozin kompleksi, Aktin hücre iskeleti, sitoplazma, çekirdek, vezikül.

Moleküler Fonksiyonlarda Görevi: Aktin filament bağlanması, aktin bağımlı ATPaz aktivitesi, mikro filament motor aktivitesi, motor aktiviterler.

Büyüme ve Gelişim Sırasında İfadesi: Olgun polen dönemi, çiçeklenme aşaması, taç yaprak farklılaşması ve büyüme aşaması.

**Bitkide İfadesi:** Yaprak, çiçek, polen, polen tüpü hücresi, kök, çanak yaprak, stamen, gövde (Arabidopsis.org 2020d, Uniprot 2020f).

### 1.1.6 Aktin (ACT1)

Aktinler (ACT1), çeşitli hücre hareketliliği görevlerinde yer alan ve tüm ökaryotik hücrelerde her yerde ifade olan yüksek oranda korunmuş proteinlerdir. Hücre iskeletinin (sitoskeleton) (Hücrelerin tümünün sitoplazmasında bulunur,protein filamentlerini birbirine bağlar, hücre çekirdeğinden hücre zarına kadar uzanan kompleks ve dinamik

bir ađ sistemidir) gerekli bileşenidir. Sitoplazmik akış, hücre şekli belirleme, hücre bölünmesi, organel hareketi, uzama ve büyümesinde önemli bir rol oynar (Uniprot 2020a).



## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1 Biberde Tuzluluk Stresi

Tuz stresinin biber tohumlarının çimlenmesi ve çıkışı üzerine etkisinin belirlenmesi ve biber çeşitlerinin tuza tolerans yönünden genetik potansiyelini ortaya çıkarmak amacıyla yapılan bir çalışmada, seçilen 11 biber çeşidi 14 gün boyunca 0 mM, 85 mM, 170 mM ve 215 mM NaCl içeren çözeltilerde çimlendirilmiştir. Tohumların yüzde olarak çimlenmelerinin, tuz konsantrasyonunun artması ile birlikte azaldığı tespit edilmiştir. 170mM ve 215 mM tuz uygulamasında çalışılan çeşitlerin tamamında çıkışın gözlemlenmediği bildirilmiştir (Yıldırım ve Güvenç 2006).

Tuzlu su (15 ve 30 mM NaCl) ile sulamanın biberin verimi ve kalitesi üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada, biber bitkileri perlit içinde sera koşullarında yetiştirilmiştir. Meyveler üç olgunluk düzeyinde (yeşil, renk dönüşümü, kırmızı olum) toplanmış ve bu olgunluk aşamalarında meyve kalitesinde meydana gelen değişimler, meyve kalitesine göre en uygun hasat zamanını bulmak için incelenmiştir. 15 ve 30 mM tuz stresi ile, toplam biber veriminde azalma arasında doğrusal bir ilişki bulunmuştur (Navarro vd. 2010).

Tuzluluk, üretimi sınırlayan en önemli abiyotik stres faktörlerindedir. Kaouther vd. (2012), beş adet Tunus acı biber (*Capsicum frutescens* L.) çeşidinde tuzluluğun bazı fizyolojik ve biyokimyasal parametreler üzerindeki etkisini değerlendirmişlerdir. Sera koşullarında 5 aylık bir sürede yürütülen çalışmada 0, 2, 4, 6, 8, 10 ve 12 g/L NaCl bitkilere uygulanmıştır. Çalışma sonucunda, tüm çeşitler için artan tuzluluk stresinin kökler (uzunluk, taze ve kuru ağırlıklar) ve yapraklar (sayı ve alan) üzerinde olumsuz etki yarattığını göstermişlerdir. Tuz stresi altında tüm biber örneklerinin kök taze ağırlığında önemli ölçüde azalma olduğunu bildirmişlerdir.

Bazı biber çeşitleri ile tuz stresi denemesi yapılan çalışmada, Demre Sivrisi, Çalabi İri Yağlık, Yalova Charleston 341 ve Kandil Dolma çeşitlerinin tuzluluk toleransları incelenmiştir. Bu amaçla 0, 50, 100, 250 mM NaCl uygulaması yapılan biberlerde,

çimlenme yüzdesi, bağıl büyüme oranı, toplam klorofil içeriği ve lipid peroksidasyon kriterleri, bağıl su içeriği, ozmotik potansiyel incelenmiştir. Sonuç olarak, tüm çeşitlerin tuz stresinden olumsuz etkilendiği tespit edilmiştir; ne kadar fazla tuz stresi uygulanırsa, o kadar olumsuz etki meydana geldiği bildirilmiştir. Ancak Demre Sivrisinin, diğer çeşitlere göre daha yüksek toleransa sahip olduğu belirlenmiştir (Özdemir vd. 2016).

Su kültüründe yetiştirilen dolmalık biberde tuzluluğun kök gelişimi ve meyve tutumu üzerine etkisini inceleyen bir araştırmada, tuzluluğun bitkilerin kök büyümesi ve gelişimi üzerine etkisi belirlenmiştir. Araştırmaya göre tuzluluğun, kök, sürgün ve meyve büyüme ve gelişimini önemli ölçüde etkilediği bildirilmiştir (Erel vd. 2019).

Biberde büyümeyi teşvik eden *Pseudomonas putida* Rs-198 bakterisi uygulanmış ve uygulanmamış bitkilerde tuz stresinin kök ve sürgünler üzerine etkisinin incelendiği çalışmada bitkilere 150-300 mM tuz uygulanmıştır. Ozmotik tolerans göstergeleri gözlenmesine rağmen, düşük tuz stresinin bitki büyümesi üzerinde olumsuz etkiler göstermediği belirtilmiştir. Sonuçlar, 150 mM ve 300 mM tuz stresi altında prolin içeriğinin sürgünlerde %7.75 ve %20.20 oranında kökte ise %323.73 ve % 449.38 oranında arttığını göstermiştir. Artan tuz stresi peroksidaz enzim (POD) aktivitesinin sürgünlerde %16.5 ve %15.49, kökte %46.03 ve %39.36 azalmasına yol açmıştır. Biber köklerinde gözlenen değişimlerin sürgünlere göre daha belirgin olduğunu bildirmişlerdir. *Pseudomonas putida* Rs-198'in bakterisi ile inoküle edilen tuz stresi altındaki bitkilerde etkilerin hafiflediği belirtilmiştir. *Pseudomonas putida* Rs-198 ile inoküle edilmiş bitkiler, 150 mM NaCl stresinde kontrol bitkilere kıyasla polifenol oksidaz enzim aktivitesindeki en yüksek artışı %78.06 ile sürgünlerde ve POD aktivitesinde ise %25.22 ile köklerde göstermiştir. Bu bilgiler ışığında tuz stresi ve bitki gelişimini teşvik eden bakteriler arasındaki ilişkiyi açıkladıklarını bildirmişlerdir (He vd. 2019).

Tuz stresi altında geçici stres dönemi ve geri kazanım sürecinde (geçici stres sonrası süreç) çarliston ve acı biberde metabolik olayların nasıl etkilendiği ve hangi uyum mekanizmaları geliştirildiğini araştıran çalışmada, tuz uygulaması yapılacak fideler için besin çözeltisine 50 mM NaCl eklenmiştir. Tuz uygulamasının 10. ve 20. gününde örnek alma işlemi yapılmıştır. Örneklemeden sonra tuz uygulaması kesilip, bitkiler tuz

eklenmeden Hoagland besin çözeltilisine yerleştirilmiştir. Böylece bitkilerin geri kazanım dönemine alınması sağlanmıştır. Geri kazanım dönemindeki bitkilerden örneklemeler 10. ve 20. günde yapılmıştır. Biber fidelerinden, yaprak sayısı, yaprak ağırlığı, kök ağırlığı, gövde ağırlığı, bitki boyu, ilk çiçeklenme ile yaprak kısımlarında, Na, K, Ca, Cl içerikleri belirlenmiştir. Fiziksel ölçüm ve analizler sonucunda, her iki biber çeşidinde de tuz stresinin bitki gelişimi üzerinde olumsuz etkisinin olduğu tespit edilmiştir. Biyokimyasal analizler sonucunda ise, fideler üzerindeki tuz stresinin olumsuz etkisinin geri kazanım sürecinin 20. gününde azaldığını bildirilmektedir (Kadan ve Üzal 2020).

Giorio vd. (2020) ticari bir biber çeşidi ile bir yerel biber hattında tuz stresine toleransın fizyolojik temelini araştırılmasına yönelik bir çalışma yürütmüşlerdir. Araştırmacılar, İtalya'da yaygın olarak kullanılan bir biber çeşidi (Quadrato D'asti) ile Campania bölgesinden bir yerel biber hattının (Cazzone Giallo) tuza toleransını karşılaştırmışlardır. Buna göre verim yönünden bakıldığında Quadrato D'asti çeşidinin tuza daha tolerant olduğunu belirlemişlerdir. İyon birikimi yönünden incelemeler sonucunda, Quadrato D'asti çeşidinin dokulardan klorürü daha etkili olarak uzaklaştırdığını bildirmişlerdir. Öte yandan daha duyarlı olan diğer hattın (Cazzone Giallo) sodyumun büyük kısmını gövdede biriktirdiğini belirlemişlerdir.

## **2.2 Kök Gelişimiyle İlişkili Miyozin Genlerinin Fizyolojik Etkilerinin Moleküler Düzeyde İncelenmesi**

*Arabidopsis thaliana*'da XI miyozinlerin bir temsilcisi olan XI-K geninin etkilerini incelemek için oluşturdukları ve benzer fenotipe sahip 3 adet mutant bitkide, kök tüyü hücrelerinde büyümenin engellenmesi, gövdede trikomların bükülmesi, yapraklarda trikomların irilik, dağılım ve gelişiminin düzensizleşmesi gibi belirtiler gözlemlenmiştir. Mutant fidelerin morfometrik analizleri sonucunda, kök tüylerinin ortalama uzunluğunun, yabani formdaki bitkilere göre % 50'ye kadar azaldığını belirlemişler, bu bilgiler ışığında, XI sınıfı XI-K miyozininin kök ucu büyümesinde etkili olabileceğini belirtmişlerdir (Ojangu vd. 2007).

Bu çalışmada araştırmacılar, *Arabidopsis*'te XI sınıfından 13 adet miyozin genin inaktive edildiği mutant bitkiler geliştirmişlerdir. Bunlar arasında 11 miyozin geninin inaktif olduğu mutantlarda normal şartlar altında fenotipik olarak farkedilebilir bir değişikliğin görölmediği ancak, XI-2 ve XI-K mutantlarında kök tüylerinin uzamasında sorunlar olduğunu belirlenmiştir. Bu bilgiler doğrultusunda miyozin tarafından yönlendirilen hareketliliğin polar kök ucu büyümesinde etkili olduğunu göstermiştir (Peremyslov vd. 2008).

*Arabidopsis* mutantları ile yapılan bir başka çalışmada ise, XI-I, XIB, XI1, XI2 ve XI-K izoformlarının bulunmadığı mutant bitkilerde kılcal kök gelişiminin önemli düzeyde engellendiği bildirilmiştir (Peremyslov vd. 2010).

Miyozin genlerinin 6 adet XI izoformunun (XIA, XIB, XIC, XID, XIE ve XIJ) *Arabidopsis* çiçek tozlarında yüksek ifade gösterdiği belirlenmiştir (Peremyslov vd. 2011, Sparkes 2011).

İki model bitki *Arabidopsis* ve *Brachypodium* (*Brachypodium distachyon*)'da miyozin genlerini araştırmak için, transkriptom dizileme ve biyoinformatik analizler kullanılmıştır. XI-K geninin kısmi bir kopyası yoluyla ortaya çıkan HDK (miyozin XI-K'nin türevi) olarak adlandırılan *Arabidopsis* geninin gelişimsel olarak düzenlendiğini bulmuşlar ve *Brachypodium*'da da benzer mimariye sahip bir gen bulunduğunu bildirmişlerdir. İki baskın miyozin gen ekspresyon modelini yani Polen/Stamen spesifik ve bitki boyunca her yerde bulunan ekspresyonu ortaya çıkarmışlardır (Peremyslov vd. 2011).

*Arabidopsis*'te miyozin XI-K geninin ifadesinin engellenmesi durumunda kök tüylerinin uzamasının azaldığını, bu durumda XI-K geninin kodladığı motor proteininin bu hücrelerin büyümesinde etkili olduğunun anlaşıldığını belirtmişlerdir. Çalışmada bu grup bitkilerin kök tüylerinin yabancı formdaki bitkilere göre daha yavaş uzadığı ve gelişiminin daha hızlı durduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar, miyozin XI-K'nin büyüyen kök tüylerinin uç kısmında optimum gelişim için gerekli olduğu sonucuna ulaşmışlardır (Park ve Nebenführ 2013).

Araştırmacılar, organel hareketliliği için gerekli olan miyozin genlerinden polen spesifik XI miyozin geninin XI-C XI-E izoformlarının her ikisinin birlikte susturulduğu durumda polen tüpü gelişimi ve buna bağlı döllenme ve tohum oluşumunun engellendiğini bildirmişlerdir (Madison vd. 2015).

Miyozin ve oksin aracılı süreçlerin etkileşimi ile ilgili yapılan bir araştırmada, üçlü miyozin geni (XI-K, XI-1, XI-2) susturulmuş mutantlar kullanılarak bu mutantlarda kök gelişimi incelenmiştir. Çalışmada, yabani formdaki fonksiyonel XI-K geni taşıyan bitkilere göre mutant bitkilerde daha fazla yan ve adventif kök oluştuğu belirlenmiştir. Bitki genelinde yüksek oranda ifade edilen miyozin reseptörleri MyoB1 ve MyoB2, bölünmekte olan hücrelerde tespit edilememiş, bu da hücre bölünmesindeki miyozin fonksiyonunun farklı adaptör proteinlerine dayandığını göstermiştir. Araştırmacılar bu bilgiler ışığında miyozin XI proteininin, oksin tepkilerinin kutupsal dağılımı ve hücre bölünmesi üzerindeki etkiler yoluyla kök organogenezinin düzenlenmesinde rol oynadığını göstermektedir (Abu-Abied vd. 2018).

*Physcomitrella* yosununun protonemal hücrelerini model olarak kullanılan çalışmada, hücre bölünmesi sırasında miyozin XI'in aktine bağımlı ve aktinden bağımsız davranışlarını araştırmışlar ve hücre bölünmesi sırasında miyozin XI'in işlevinin anlaşılmasına katkıda bulunmuşlardır (Sun vd. 2018).

Bitki büyümesini, üretimini ve lif uzamasını düzenlemede miyozin genlerinin işlevini inceleyen çalışmada, *Gossypium arboreum*, *Gossypium hirsutum*, *Gossypium raimondii*, *Gossypium barbadense*'de ve toplam 114 miyozin geni bulunmuştur. Araştırmacılar, absisik asit, metil jasmonat ve salisilik asit gibi bitki hormonlarının miyozinlerin ekspresyonunu kontrol edebileceğini ortaya çıkarmışlardır (Ma vd. 2020).

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1 Materyal

Tez çalışmasında denemeler için Yalova Charleston (*Capsicum annuum* L.) biber çeşidi bitkisel materyal olarak kullanılmıştır. Denemeler Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü ve Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri bölümü laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Biber tohumları torf:perlit (2:1) ortamına ekilerek  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de iklim odasında çimlendirilmişlerdir (Şekil 3.1).



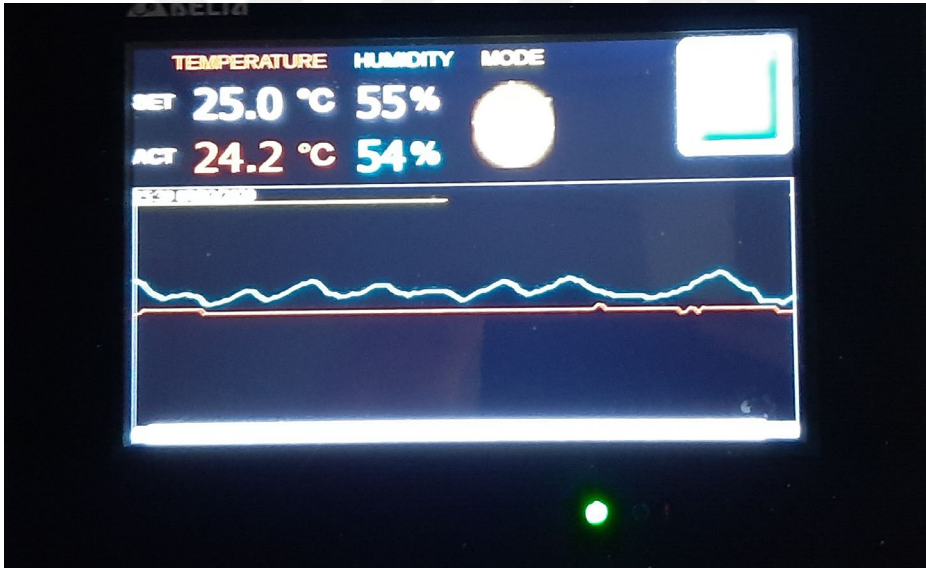
Şekil 3.1 Tez çalışması için yetiştirilen biber bitkileri

Biber fideleri 2-3 gerçek yapraklı döneme ulaştığında Hoagland besin çözeltisi içerisine aktarılmıştır. Biber fideleri  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de %55 nem düzeyinde ışık kaynağı 16/8 aydınlık/karanlık olacak şekilde iklim odasında yetiştirilmiştir (Şekil 3.2 ve Şekil 3.3).





Şekil 3.2 Hoagland besin çözeltilisinde yetiştirilen biber fideleri



Şekil 3.3 İklim odası sıcaklık ve nem düzeyi

## 3.2 Yöntem

### 3.2.1 Hoagland besin çözeltisinin hazırlanması

Bitkilerin yetiştirildiği Hoagland besin çözeltisi protokolü Çizelge 3.1’de verilmiştir.

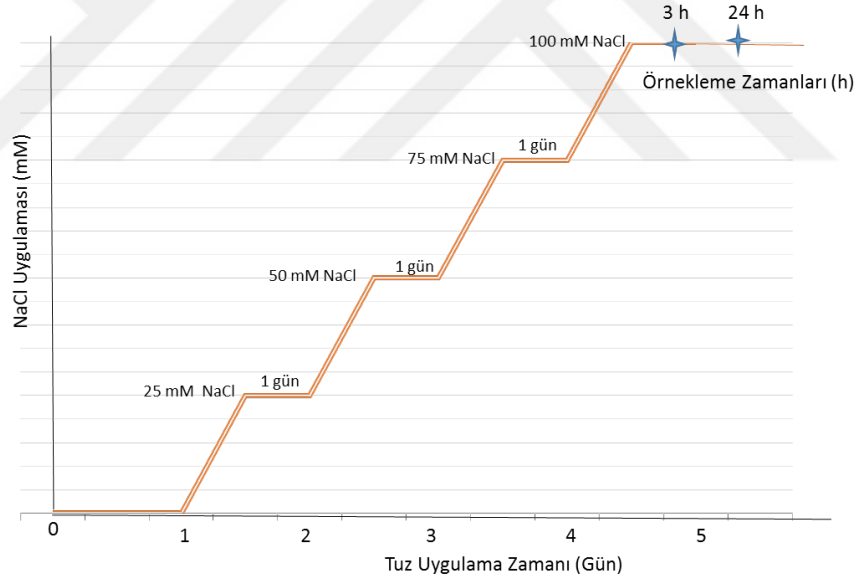
Çizelge 3. 1 Hoagland besin çözeltisi protokolü (Hoagland ve Arnon 1950)

<b>Makro besin elementleri (10x 10L)</b>	<b>Miktar (g)</b>
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	15.7
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2.7
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	24
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	47.23
KCl	0.0746
<b>Mikro Besin Çözeltisi (1L)</b>	<b>Miktar (g)</b>
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0.124
MnSO <sub>4</sub>	0.066
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0.100
NH <sub>4</sub> Mo	0.048
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.1553
<b>FeEDTA (Stok) (10000X 1L)</b>	365gr FeEDTA 1L dH <sub>2</sub> O içerisinde çözülür.

Denemede 2 ayrı tank Hoagland solüsyonu ile doldurulmuştur. Tanklardan birine tuz uygulanmayan kontrol örnekleri, diğer tanka ise tuz uygulaması yapılacak biber fideleri aktarılmıştır.

### 3.2.2 Tuz uygulaması

Bitkiler 4-5 gerçek yapraklı döneme ulaştığında tuz uygulaması yapılmıştır. Tek doz 100 mM NaCl olarak belirlenen tuz konsantrasyonu kademeli olarak yükseltilmiştir (Şekil 3.4). Fidelere 1.günden 4.güne kadar 25 mM (14.625 gr 10L Hoagland için) tuz verilmiştir (Şekil 3.5 (c)). Denemenin 4. günü 100 mM tuz seviyesine ulaşılmıştır. Tuz uygulaması yapılmayan bitkiler kontrol grubunu oluşturmuştur. Tuz uygulamasında 100 mM NaCl konsantrasyonuna ulaşıldıktan 3 saat ve 24 saat sonra köklerden örnek alınarak gen ifadesindeki değişimler incelenmiştir.



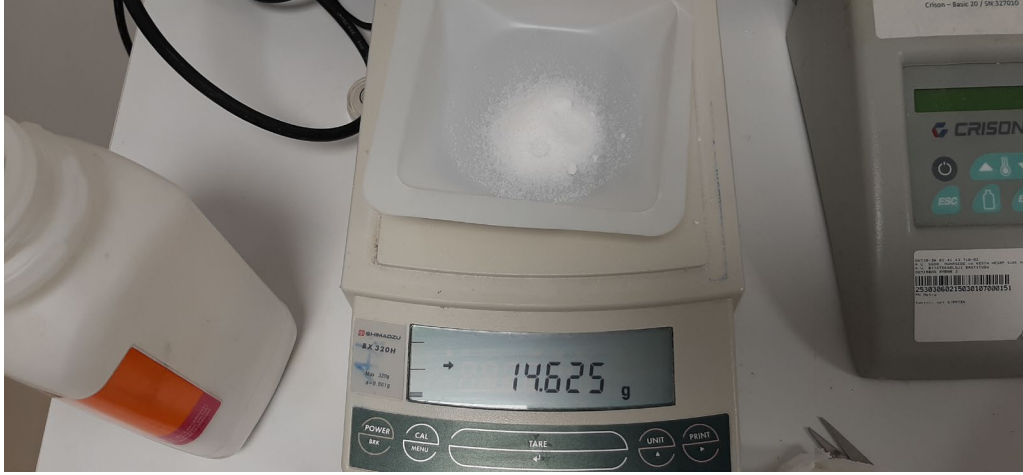
Şekil 3.4 Fidelere kademeli olarak (günlük 25 mM NaCl ilavesi) tuz uygulaması ve RNA analizleri için örnekleme zamanı (3 saat ve 24 saat)



(a)



(b)



(c)

Şekil 3.5 (a,b,c) (a) Tuz uygulaması yapılmış biber bitkileri (b) Kök kısımları (c) Stres örnekleri için günlük uygulanan 25mM NaCl miktarı (10L Hoagland için)

### 3.2.3 Köklerde yapılan morfolojik incelemeler

Tuz uygulaması yapılan ve yapılmayan (kontrol) fidelerde örnekleme saatinde kökler steril saf su ile yıkanıp, fazla suları kurutma kâğıdı ile alındıktan sonra aşağıdaki parametreler bakımından değerlendirilmiştir.

#### 3.2.3.1 Kök boyu (cm)

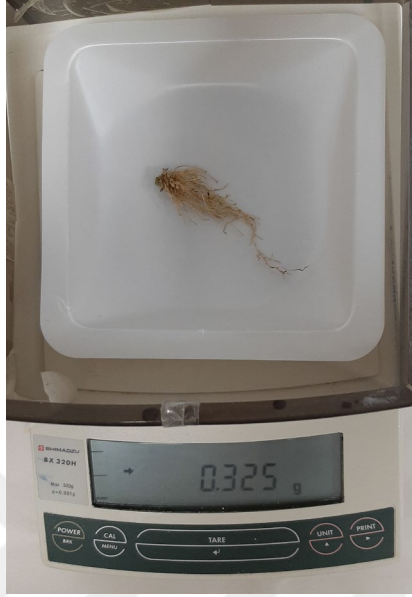
Fidelerde kökün başlangıcından, kök ucuna kadar kök bölgesinin ölçülmesiyle (cm) belirlenmiştir (Şekil 3.6).



Şekil 3.6 100mM tuz stresi uygulanmış 3.saat (1 numaralı) örnek

### 3.2.3.2 Kök taze ağırlığı (g)

Fidelerde kök taze ağırlığı (g) terazide tartılarak belirlenmiştir (şekil 3.7).



şekil 3.7 Stres uygulanmamış (Kontrol) 3.Saatte alınan kontrol rneği

### 3.2.3.3 Kök kuru ağırlığı (g)

Fidelerin kökleri 48 saat 60°C etüvde kurutulduktan sonra kök kuru ağırlığı (g) terazide tartılarak belirlenmiştir (şekil 3.8).



şekil 3.8 Stres uygulanmamış 24.Saatte alınan Kontrol rneği

### 3.2.4 Miyozin gen ifade analizleri

Tuz uygulamasından 3 saat ve 24 saat sonra tuz uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) köklerden örnek alınarak gen ifadesindeki değişimler qRT-PCR analizleri ile incelenmiştir (Şekil 3.5 (a,b)).

#### 3.2.4.1 Real Time PCR analizleri için örnek alınması

Kademeli olarak yapılan tuz ilavesi sonrasında 100 mM tuz konsantrasyonuna ulaştıktan sonra 3. saat ve 24. saatte bitkilerin kökleri makas yardımıyla kesilip, kuru buz üzerinde alüminyum folyo ile paketlenerek RNA izolasyonunda kullanılmak üzere -80°C derin dondurucuya yerleştirilmiştir (Şekil 3.9-3.10) .



Şekil 3.9 Tuz uygulaması sonunda bitki köklerinin görünümü



Şekil 3.10 RNA izolasyonu için ayrılmış biber kök örneği

#### **3.2.4.1.1 RNA izolasyonu**

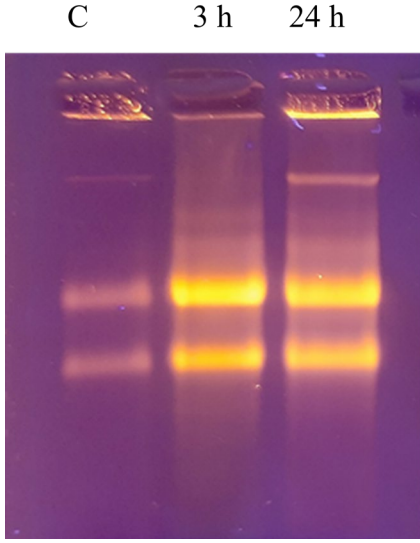
Kök kısımlarından RNA izolasyonu yapılmıştır.

Uygulama Basamakları Aşağıdaki şekilde özetlenmiştir:

1. 50 mg doku örneği için 500 µL D solüsyonu ile 4 °C'de liziz edilmesi
2. pH 4.0 olacak şekilde, 2 molar sodyum asetat (0.1 hacim) eklenerek karıştırılması
3. Su ile doyurulmuş fenolden 1 hacim eklenerek karıştırılması
4. Kloroform : izoamil alkol (49:1) 0.2 hacim eklenerek karıştırılması



- 5.10 dakika buz üzerinde bekletilmesi
6. 14,000 rpm'de 15 dakika soğutmalı santrifüj (4°C) santrifüj edilmesi
7. RNA bulunan üst fazın temiz bir mikrosantrifüj tüpüne aktarılması.
8. İzopropanol eklenmesi (RNA çöktürmesi için) -20°C dolabında en az 1 saat yada bir gece bekletilmesi
9. 14,000 rpm'de 4°C'de 20 dakika soğutmalı santrifüj kullanılarak santrifüj edilmesi (Bu aşamada RNA tüpün dibinde pellet halinde görülmelidir).
10. RNA'nın %70'lik etil alkol ile yıkanması.
11. RNA'nın 12,000 g'da 4°C'de 5 dakika santrifüj edilerek çöktürülmesi
12. Üst faz (Supernatant) pipet yardımıyla uzaklaştırılarak RNA'dan vakum aracılığıyla etil alkolün uzaklaştırılması
13. RNA'nın moleküler su içerisinde çözülmesi.
14. RNA dan 1/25 -1/40 dilüsyon hazırlanarak, NanoDrop® ND-1000 spektrofotometre ile A280 / A260 oranının ölçülmesi (oran >1.5 olmalıdır). 280 nanometredeki absorbans 40 ile çapılır, elde edilen sonuç daha sonra dilüsyon faktörü ile çarpılarak RNA konsantrasyonu belirlenir (Birnboim 1988, Chomzynski ve Sacchi 1987, Hunter 1996) (Şekil 3.11).



Şekil 3.11 Elde edilen RNA'ların jel görüntüsü C: kontrol; 3h (3. Saat örnekleri) ve 24 h (24.saat örnekleri)

#### 3.2.4.1.2 cDNA sentezi

Real Time PCR'ın ilk aşaması olarak WizScript cDNA Synthesis Kit (High Capacity) ile, örneklere ait RNA'lardan NanoDrop® ND-1000 spektrofotometre ile ölçülerek eşit konsantrasyonda alınarak cDNA sentezi yapılmıştır.

1. Total RNA (10-5000 ng arası)
2. 2x RT master mix hazırlanması (1 örnek için, örnek sayılarının toplamı kadar çarpılarak hazırlanmalıdır.)

Protokol (1 örnek için);

Reaction Buffer	2 µl
dNTP mix	1 µl
R. Hekzamer	2 µl
RTase	1 µl
RNaz Inhibitör	0.5 µl
RNaz İçermeyen Su	3.5 µl
TOTAL	10 µl

2X RT master mix buz üzerinde 1.5 ml mikrosantrifüj tüp içerisinde hazırlanır. 10 µl RNA örneği alınır, master mix örneklere dağıtılır.

Revers transkripsiyon PCR programı:

1. Basamak: 25<sup>0</sup>C 10 dk
2. Basamak: 37<sup>0</sup>C 120 dk
3. Basamak: 85<sup>0</sup>C 5 dk
4. Basamak: 10<sup>0</sup>C ∞

Elde edilen cDNA miktarı ölçülerek miktar tayini yapılmış, cDNA'lar Real-Time PCR reaksiyonuna kadar -20<sup>0</sup>C'de saklanmıştır.

### **3.2.5 Çalışmada kullanılan miyozin primerleri**

Tez çalışmasında kullanılan biber (*Capsicum annuum* L) miyozin genleri ve bu gen bölgelerinden çalışmada kullanılmak üzere oluşturulan primer dizileri Çizelge 3.2'de verilmiştir. Çalışmada 5 adet miyozin geni kullanılmıştır. Miyozin 2 (*Capsicum annuum* myosin-2-like), miyozin 4 (*Capsicum annuum* myosin-4-like), miyozin 6 (*Capsicum annuum* myosin -6-like), miyozin 9 (*Capsicum annuum* myosin-9) ve miyozin 11 (*Capsicum annuum* myosin-11) genlerine ait primerler ve housekeeping gen olarak Aktin geni kullanılarak gen ifadelerini belirlemek amacıyla Real-time PCR yapılmıştır.

Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan biber (*Capsicum annuum* L) miyozin genleri ve oluşturulan primer dizileri (NCBI 2020).

No	Gen Adı	Primer Dizileri
1	XM_016686547.1 <i>Capsicum annuum</i> myosin -6-like	F- 5'-AAGCCTGTTGCAGCTTTTACC R- 5'-GTGGTTTGC GGGTAGGAGTA
2	XM_016696632.1 <i>Capsicum annuum</i> myosin-11	F- 5'-CAAGAGAGCCAGGAGTTGCT R- 5'-CGACGTAGAGGGGTCATTGC
3	XM_016712689.1 <i>Capsicum annuum</i> myosin-9	F- 5'-ACCTCCATCTCATCTGCCCT R- 5'-GAGATTACAGCCTCCTGGGC
4	XM_016717240.1 <i>Capsicum annuum</i> myosin-4-like	F- 5'-CTCGTGGAGAGAGGTCTTGC R- 5'-CAGAGCCGCAACCATCTGAA
5	XM_016725799.1 <i>Capsicum annuum</i> myosin-2-like	F- 5'-CGAGTGATAACAAGGGTGCCA R- 5'-ACCTCAAGAACACCACAGCA

Her bir primere ve ilgili housekeeping bölgesine yönelik primer optimizasyonlarında; örneğe ait RNA'larda  $10^1$ - $10^6$  sulandırılmalar ile her gene ait primerlere (10 pmol) standart eğriler çizilmiştir (Şekil 3.12-3.16). Aktin housekeeping genine ait melting eğrisi ve pik görüntüsü Şekil 3.17-3.18'de verilmiştir. Örneklere ait cDNA'lar, her primer için optimize edilen koşullara göre hazırlanan SYBR Green mix ile karıştırılarak,

384'lük plakelere yerleştirilmiş, sealing foil ile kaplanarak Roche Light Cycler 480 cihazında analiz edilmiştir.

Çizilen standart eğriler yardımıyla ifade analizi yapılmak istenen örneklerin C<sub>T</sub> (cycle threshold) değerlerine, Rest 2009 (<http://rest-2009.gene-quantification.info/>) yazılımı ile  $2^{-\Delta\Delta C_T}$  metoduna göre, p<0.05 anlamlılık düzeyinde analizler yapılmıştır.

### 3.2.6 Real Time PCR reaksiyonları

#### 3.2.6.1 Primer optimizasyonu

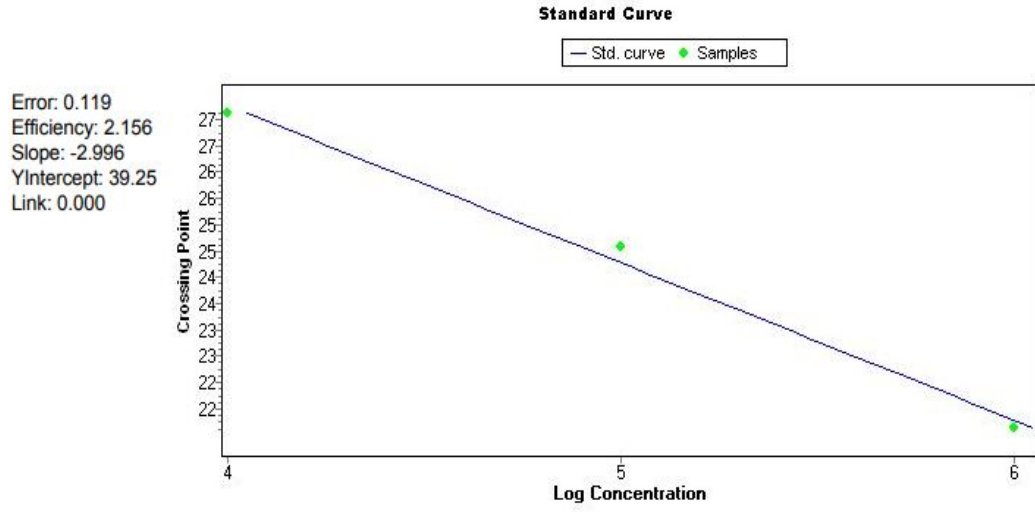
Çalışmada kullanılan Myo2, Myo4, Myo6, Myo9, Myo11 ve Aktin gen bölgelerine ait primerlerin Roche SYBR Green Master mix kullanılarak optimizasyonları yapılmıştır. Primerlerin optimizasyonuna ait Real Time reaksiyon protokolü Çizelge 3.3'te verilmiştir.

Çizelge 3.3 Primer optimizasyonunda kullanılan Real Time protokolü

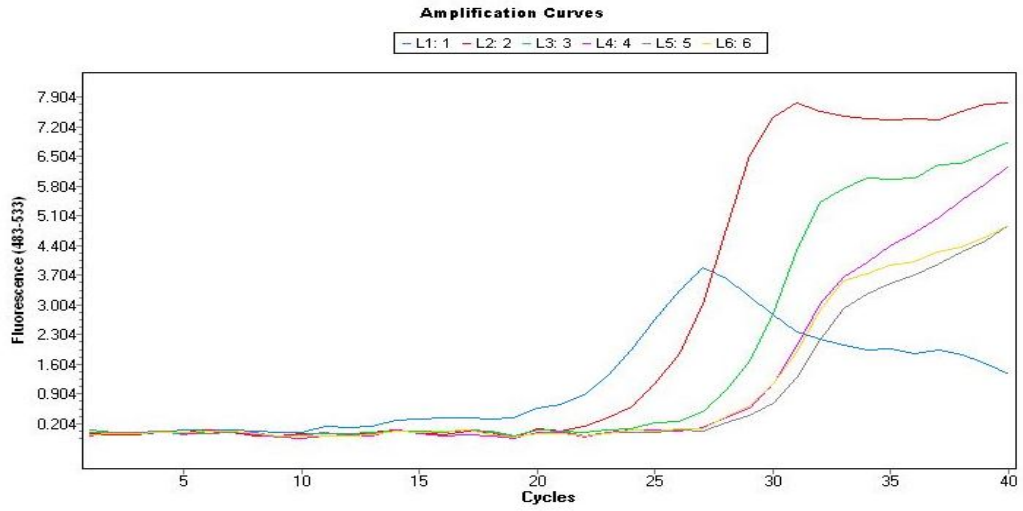
<b>Real Time PCR Protokolü</b>	
<b>cDNA</b>	1 µl
<b>F- Primer</b>	0.75 µl
<b>R- Primer</b>	0.75 µl
<b>SYBER Green</b>	2.5 µl
<b>Total Hacim</b>	5 µl

### 3.2.6.2 Standart eğri çizimi

Standart eğrilerin çizilebilmesi için, kontrol örneklerinden (stres uygulanmamış) sentezlenen cDNA örnekleri ile Real-Time PCR reaksiyonu yapılmıştır. Bu cDNA'lardan  $10^6$ ,  $10^5$ ,  $10^4$ ,  $10^3$ ,  $10^2$  ve  $10^1$  oranlarda konsantrasyonlar hazırlanarak, primer ve SYBER Green mix ilavesi ile Real Time reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. Real Time PCR'ın analiz programı kullanılarak her bir primere ait standart eğriler ayrı ayrı çizilmiştir. Standart eğrinin efficiency ve slope değerlerinin optimum değerlere yakın olması ile uygunluğu kontrol edilmektedir. Efficiency 1.7-2.2 arasında ve slope değeri ise -3.3 değerine yakın değerde olması güvenilirliğini artırmaktadır. Standart eğriler, en az 3 konsantrasyon kullanılarak çizilebilmektedir.

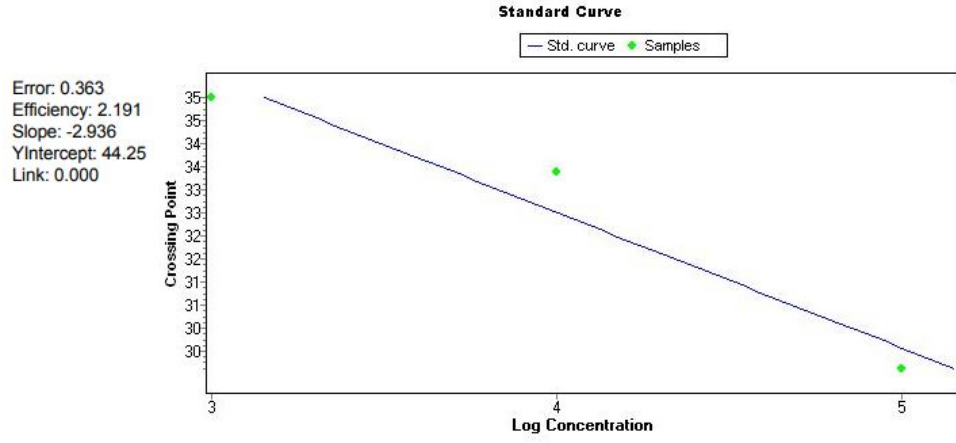


(a)

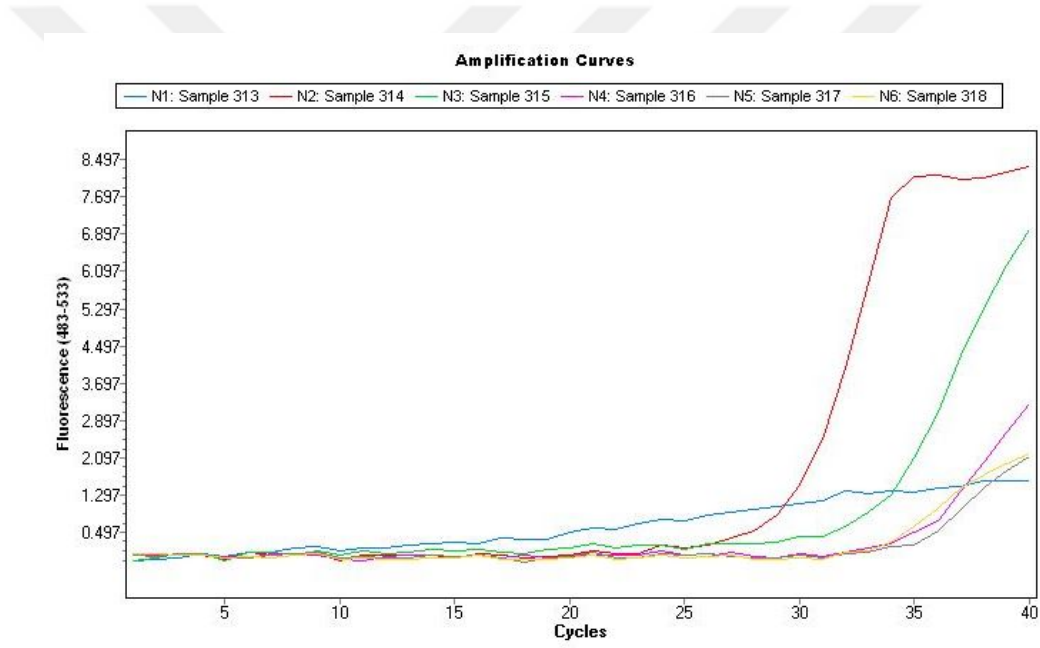


(b)

Şekil 3.12 Miyozin 2 primeri (a) Standart ve (b) Amplifikasyon Eğrileri



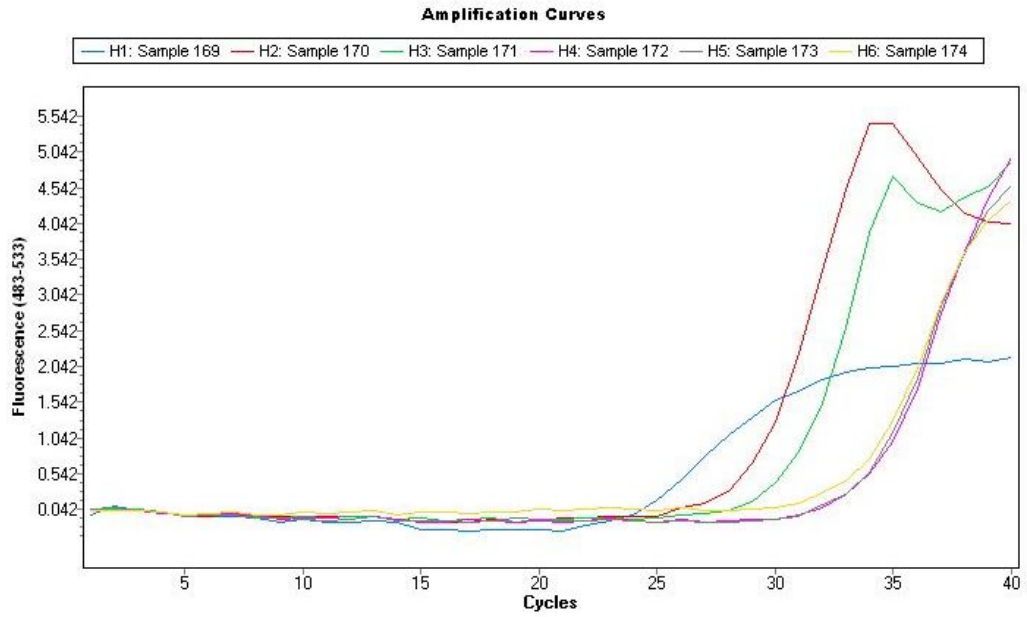
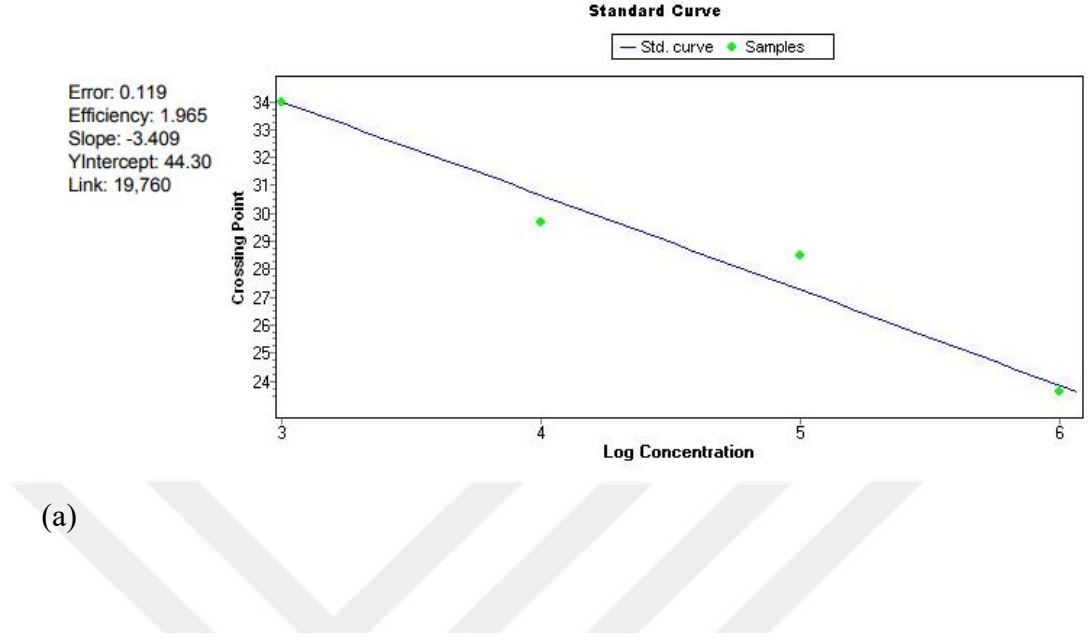
(a)



(b)

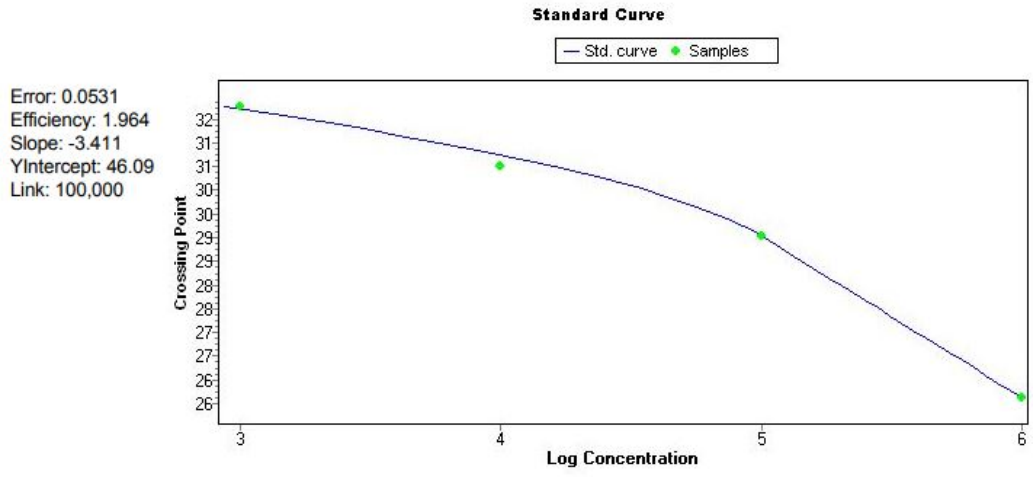
Şekil 3.13 Miyozin 4 primeri (a) Standart ve (b) Amplifikasyon Eğrileri



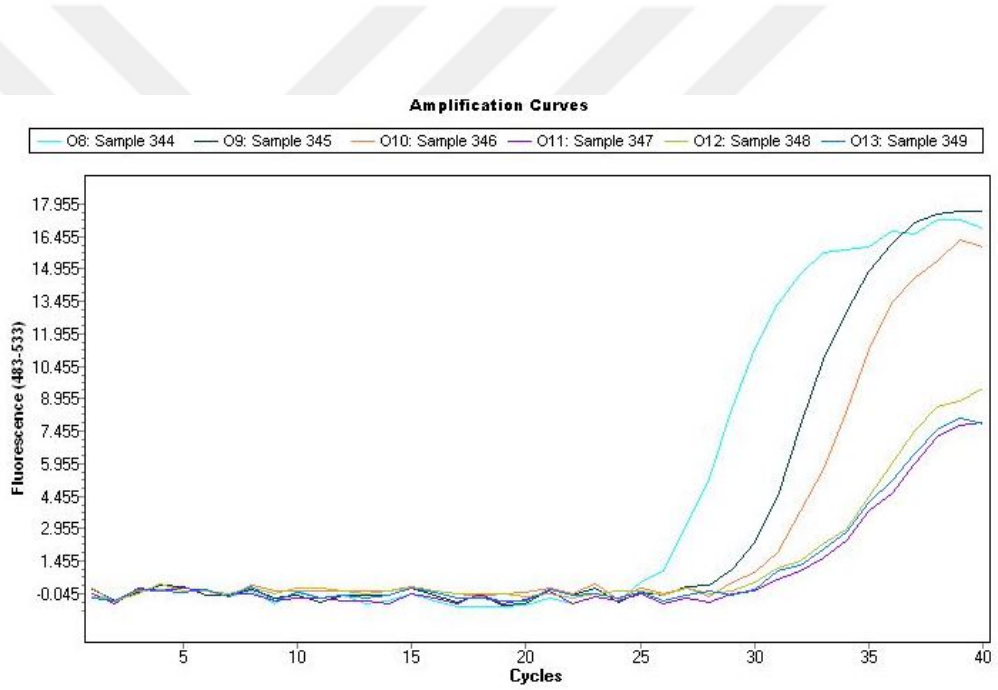


(b)

Şekil 3.14 Miyozin 6 primeri (a) Standart ve (b) Amplifikasyon Eğrileri

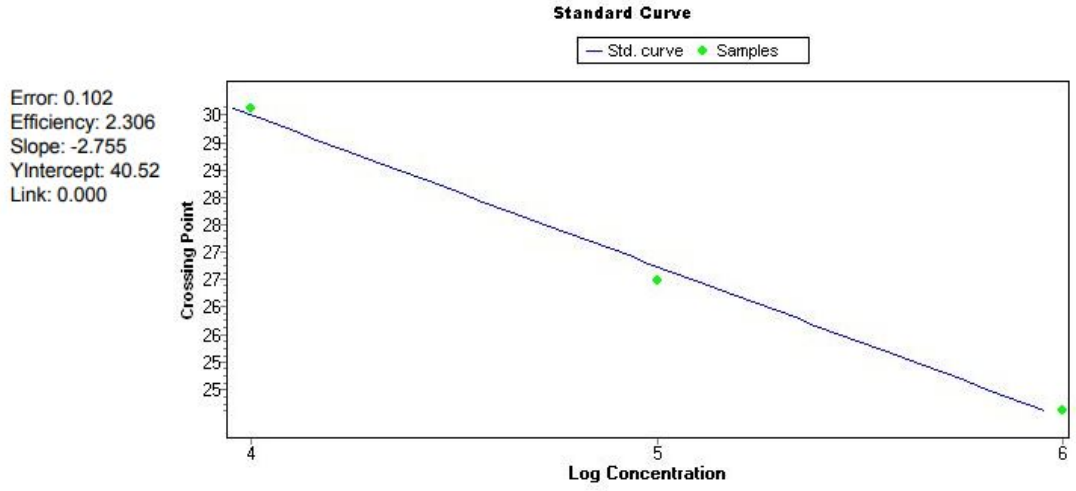


(a)

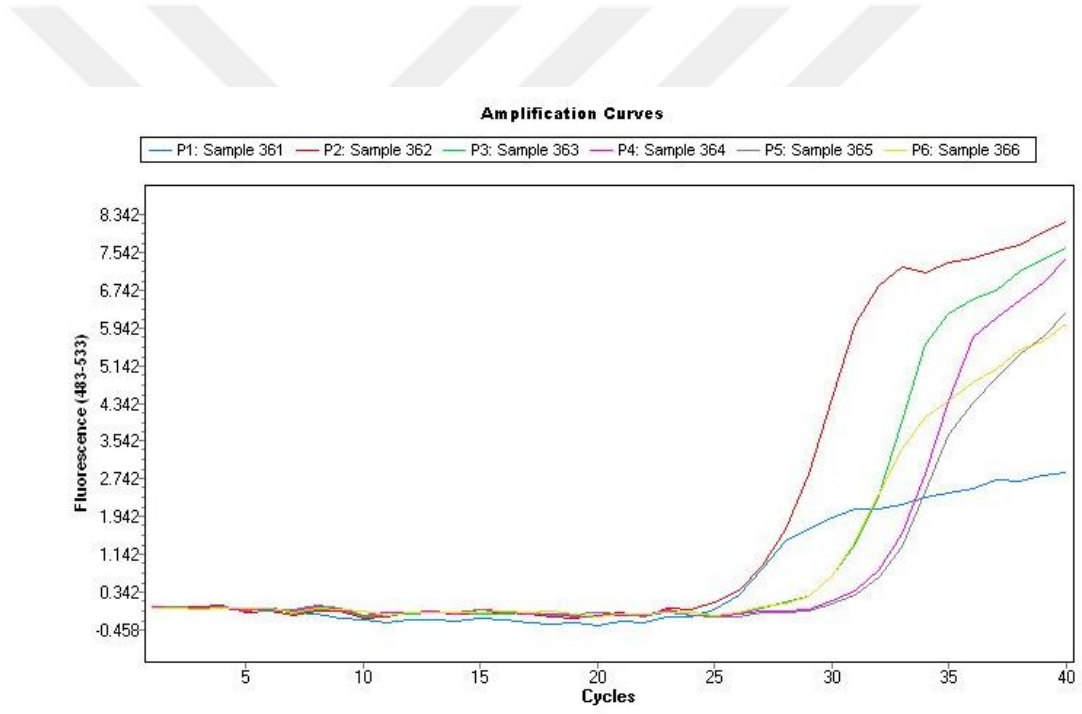


(b)

Şekil 3.15 Miyozin 9 primeri (a) Standart ve (b) Amplifikasyon Eğrileri

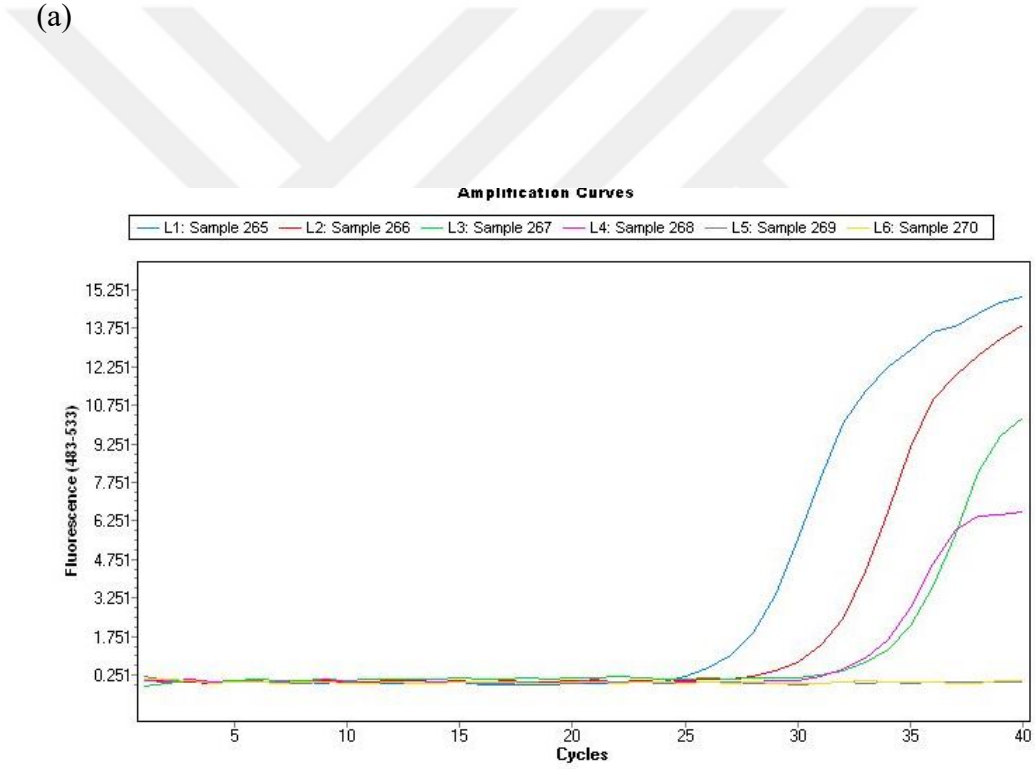
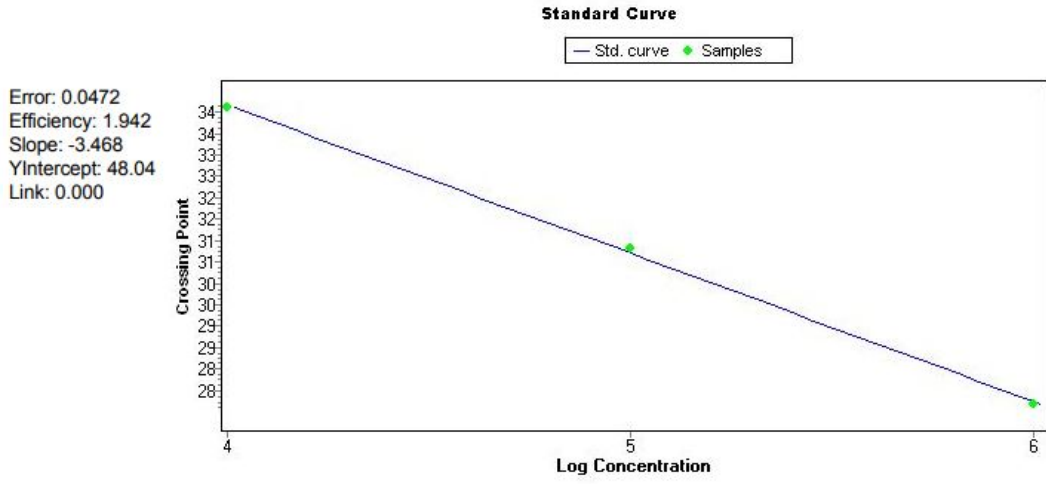


(a)



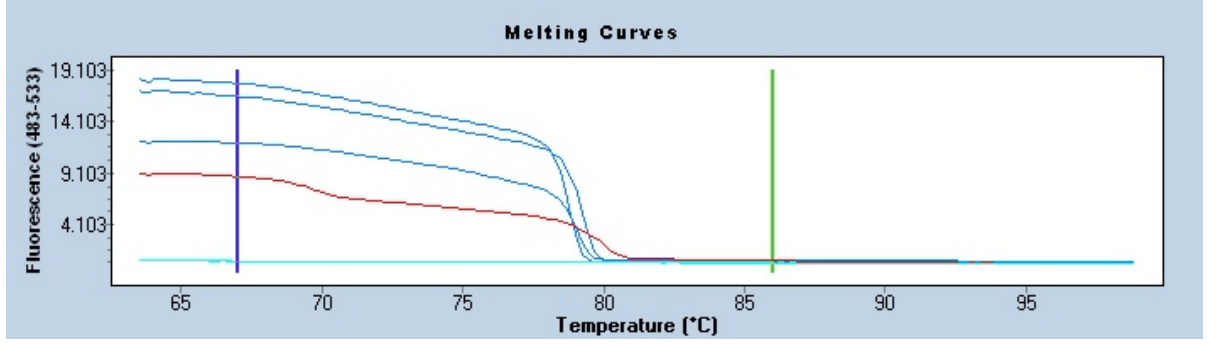
(b)

Şekil 3.16 Miyozin 11 primeri (a) Standart ve (b) Amplifikasyon Eğrileri

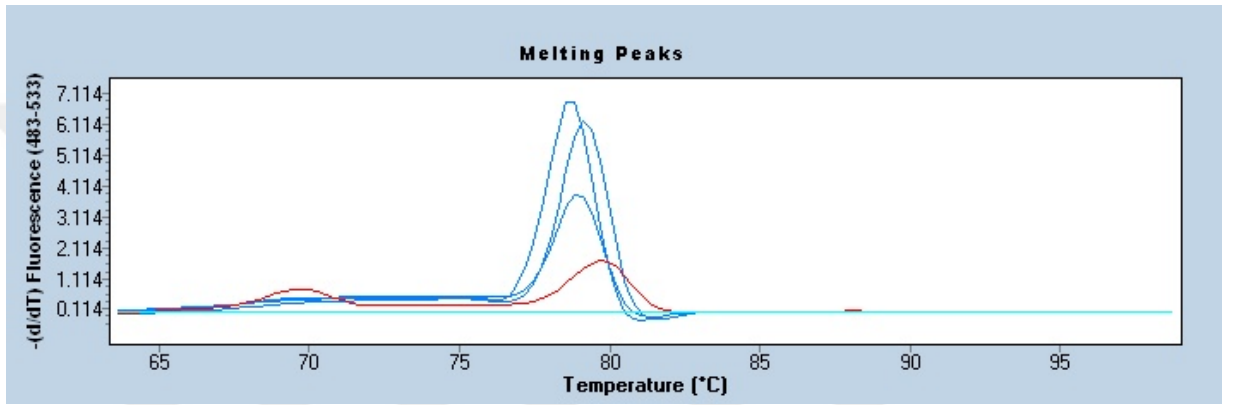


(b)

Şekil 3.17 Aktin (Housekeeping) primeri (a) Standart ve (b) Amplifikasyon Eğrileri



(a)



(b)

Şekil 3.18 Aktin (Housekeeping) primeri a) Melting eğrisi ve b) Melting pik görüntüsü

### 3.2.7 İstatistik analizler

Denemeler, 3 tekrarlı ve her tekrarda 3 bitki örneği olacak şekilde, tesadüf parselleri deneme desenine göre gerçekleştirilmiştir.

Tez çalışmasında morfolojik veriler, 2 örnekleme t-testi ile Minitab programı (Minitab INC.) kullanılarak ( $P \leq 0.05$ ) anlamlılık düzeyinde yapılmıştır.

Gen ifade analizlerinde ise  $2^{-\Delta\Delta C T}$  yöntemi (Livak & Schmittgen 2001) Aktin housekeeping geninin ekspresyon değeri kullanılarak,  $p < 0.05$  anlamlılık düzeyinde t testi kullanılarak kontrol değeri ile karşılaştırılmıştır.



#### 4. SONUÇLAR

Biberde kök gelişimiyle ilgili miyozin genlerinin tuz stresi koşullarında gen ifade değişimlerinin incelendiği araştırmada 100 mM tuz uygulamasından 3 saat ve 24 saat sonra alınan kök örneklerinde 5 adet miyozin geninin (*Capsicum annuum* myosin-2-like), (*Capsicum annuum* myosin-4-like), miyozin 6 (*Capsicum annuum* myosin -6-like), miyozin 9 (*Capsicum annuum* myosin-9) ve miyozin 11 (*Capsicum annuum* myosin-11) ifadesi incelenmiştir. Gen ifade analizleri için alınan kök örneklerinde kök taze ağırlığı, kuru ağırlığı ve kök boyu belirlenmiştir.

##### 4.1 Köklerde Yapılan Morfolojik İncelemeler

Biber fideleri 2-3 gerçek yapraklı döneme ulaştığında su kültürüne aktarılmıştır (Şekil 4.1 (a,b)). Fideler 4-5 yapraklı dönemdeyken yapılan tuz uygulaması sonrasında (3.saat ve 24.saat) tuz uygulanan ve uygulanmayan (kontrol) biber fidelerinin kök kısımlarında kök taze ağırlığı, kök kuru ağırlığı ve kök boyu belirlenmiş, RNA izolasyonu için örnek alınmıştır (Şekil 4.1 a-d). Tuz uygulanan ve uygulanmayan fidelerde kök gelişimi Şekil 4.2'de gösterilmiştir. Köklerde yapılan tartım ve ölçümler Çizelge 4.1 ve 4.2'de verilmiştir.



(a)



(b)



(c)



(d)

Şekil 4.1 (a) Biber fideleri 2-3 gerçek yapraklı dönem (b) Su kültürüne alınan genç biber fideleri (c ve d) RNA izolasyonu için kök örneklerinin alındığı dönem





(a)



(b)



(c)



(d)

Şekil 4.2 Fidelerin kök gelişimi (a) 100 mM tuz uygulaması 3. Saat (b) 100 mM tuz uygulaması 24. Saat (c) Kontrol 3. Saat (d) Kontrol 24. Saat

Çizelge 4.1 Örnekleme zamanına göre 3. saatte kontrol ve tuz uygulanan bitkilerin ortalama kök taze ağırlığı (gr), kök kuru ağırlığı (gr) ve kök boyu

\*Harfler İncelenen parametreler bakımından tuz uygulaması ve kontrol bitkileri arasındaki farkın istatistik olarak ( $P<0.05$ ) önem düzeyini göstermektedir.

Örnekleme zamanı (3. Saat)	Kök taze ağırlık (gr) $\pm$ Standart hata	Kök kuru ağırlık (gr) $\pm$ Standart hata	Kök boyu (cm) $\pm$ Standart hata
Kontrol	0.38 $\pm$ 0.026 b	0.003 $\pm$ 0.003	7.27 $\pm$ 0.12
Tuz Uygulaması	0.52 $\pm$ 0.04 a	0.005 $\pm$ 0.007	7.17 $\pm$ 0.49

Çizelge 4.2 Örnekleme zamanına göre 24. saatte kontrol ve tuz uygulanan bitkilerin ortalama kök taze ağırlığı (gr), kök kuru ağırlığı (gr) ve kök boyu

\*Harfler İncelenen parametreler bakımından tuz uygulaması ve kontrol bitkileri arasındaki farkın istatistik olarak ( $P<0.05$ ) önem düzeyini göstermektedir.

Örnekleme zamanı (24. Saat)	Kök taze ağırlığı (gr)	Kök kuru ağırlığı (gr)	Kök boyu (cm)
Kontrol	0.37 $\pm$ 0.06 b	0.037 $\pm$ 0.01 b	7.20 $\pm$ 0.30
Tuz Uygulaması	0.75 $\pm$ 0.064 a	0.066 $\pm$ 0.07 a	7.40 $\pm$ 0.87

Buna göre köklerin tuz uygulamasından 3 saat sonra alınan kontrol örneklerinde kök taze ağırlığı  $0.38\pm 0.026$  g, kök kuru ağırlığı  $0.003\pm 0.003$  g, kök boyu ise  $7.27\pm 0.12$  cm olarak ölçülmüştür. Tuz uygulamasında ise, kök taze ağırlığı  $0.52\pm 0.04$  g, kök kuru ağırlığı  $0.005\pm 0.007$  g ve kök boyu  $7.17\pm 0.49$  cm olarak belirlenmiştir. Kök taze ağırlığı bakımından kontrol ve tuz uygulaması arasında gözlemlenen fark, istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ).

Tuz uygulamasından 24 saat sonra alınan örneklerde ise kontrol bitkilerinde kök taze ağırlığı  $0.37\pm 0.06$  g, kök kuru ağırlığı  $0.037\pm 0.01$  g, kök boyu  $7.20\pm 0.30$  cm ölçülmüştür. Tuz uygulanan bitkilerde ise kök taze ağırlığı  $0.75\pm 0.064$  g, kuru ağırlığı  $0.066\pm 0.07$  g, kök boyu  $7.40\pm 0.87$  cm olarak ölçülmüştür. Kök taze ve kuru ağırlığı kıyaslandığında kontrol ve tuz uygulaması arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ).

#### **4.2 Biber Kök Örneklerinde Gen İfade Analiz Sonuçları**

Çalışmada tuz stresi altında biber kök örneklerinin gen ifadesindeki değişimler kontrol örneklerine göre karşılaştırılarak incelenmiştir.

Miyozin 2 geninin ifadesi 100 mM tuz uygulamasından 3 saat sonra alınan örneklerde -1.67 kat azalmıştır. Fakat bu azalma istatistiksel verilere göre önemli düzeyde bulunmamıştır ( $P>0.05$ ). Tuz uygulamasından 24 saat sonra alınan örneklerde ise Miyozin 2 gen ifadesi önemli düzeyde (8.95 kat) artmıştır ( $P<0.05$ ) (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.3).

Miyozin 4 geninin ifadesi, 100 mM tuz uygulamasından 3 saat sonra -1.57 kat, 24 saat sonra alınan örneklerde ise -1.17 kat azalmıştır. Ancak bu azalış istatistiki olarak önemli bulunmamıştır ( $P>0.05$ ) (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.3).

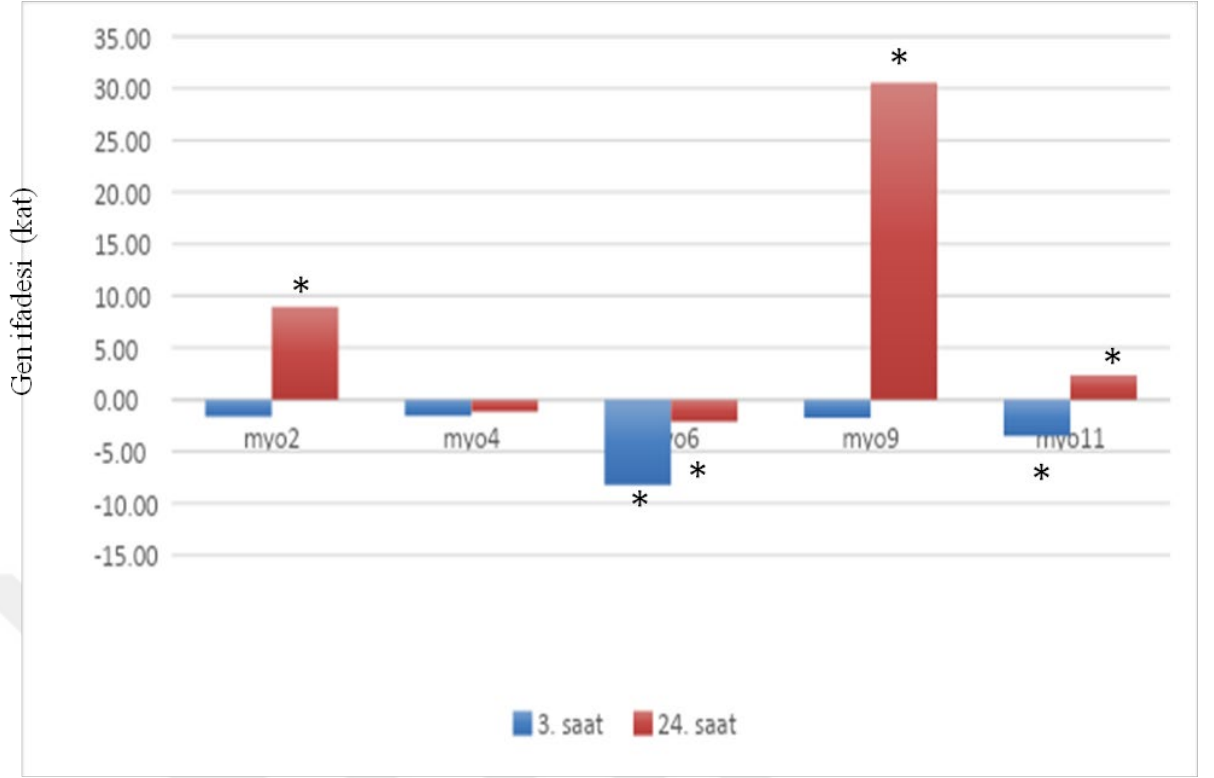
Miyozin 6 gen ifadesi, 100 mM tuz uygulamasından 3 saat sonra -8.22 kat azalırken, 24 saat sonra alınan örneklerde ise -2.16 kat azalmıştır ( $P<0.05$ ) (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.3).

Miyozin 9 gen ifadesi, 100 mM tuz uygulamasından 3.saat sonra -1.80 kat azalırken ( $P>0.05$ ), 24. saat sonra alınan örneklerde 30.57 kat artmıştır ( $P<0.05$ ). Çalışmada 3. saat örneğinde gözlemlenen gen ifadesindeki düşüş istatiki olarak önemsiz bulunurken 24. saat örneğinde gözlemlenen 30.57 kat artış istatistik analizler ışığında önemli bulunmuştur (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.3).

Miyozin 11 gen ifadesi, 100 mM tuz uygulamasından 3 saat sonra -3,53 kat azalmıştır ( $P<0.05$ ). Gen ifadesinin 24. saat örneğinde ise 2.35 kat arttığı belirlenmiştir ( $P<0.05$ ) (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.3) .

Çizelge 4.3 Çalışılan miyozin genlerinin 100 mM tuz uygulamasından 3 saat ve 24 saat sonra ifade düzeyleri

Miyozin Genleri	3. Saat	24. Saat
Miyozin 2	-1.67	8.95
Miyozin 4	-1.57	-1.17
Miyozin 6	-8.22	-2.16
Miyozin 9	-1.80	30.57
Miyozin 11	-3.53	2.35



Şekil 4.3 Çalışılan miyozin genlerinin 100 mM tuz uygulamasından 3 saat ve 24 saat sonra ifade değişimleri

\* İstatistiksel verilere göre önemli düzeyde farklılık gösterenler ( $P < 0.05$ )

## 5.TARTIŞMA VE SONUÇ

Biber (*Capsicum annuum* L.), ülkemizde ve dünyada yaygın olarak üretilen ve tüketilen önemli bir türdür. Bitkisel üretimde bitki büyüme ve gelişimini sınırlayan faktörler arasında abiyotik stres faktörlerinden olan toprak tuzluluğu önemli bir yer tutmaktadır. Tuzluluk günümüzde ve gelecekte tarımsal üretimi sınırlayan en önemli sorunlardan bir tanesidir. Toprakta tuz yoğunluğunun artışı, bitkinin su ve suda çözünür besin maddelerini almasını engellemekte, ileri düzeylerde hücrelerde toksik etki yaratmaktadır. Tuzluluğa bağlı olarak bitkilerde sararmalar, kurumalar meydana gelmektedir.

Tarımsal üretimin sürdürülebilirliği için toprak tuzluluğuna yönelik farklı disiplinlerde çeşitli araştırmalar ve yaklaşımlar sunulmaktadır. Fizyolojik ve moleküler düzeyde yürütülen çalışmalar ile tuza toleransın mekanizması araştırılırken, ıslah çalışmaları ile bitkilerde tuza toleransın artırılmasına yönelik yaklaşımlardan yararlanılmaktadır.

Günümüzde moleküler biyoloji alanındaki gelişmeler sayesinde pek çok bitki türünde çeşitli özelliklere yönelik bilgiler veri bankalarında toplanmaktadır. Bu bilgiler ışığında tez çalışmasında, bitkilerde su ve besin maddesi alınımını sağlayan, kök emici tüyleri ve kök gelişimiyle ilgili bulunan miyozin genlerinin tuz stresi koşullarında ifade düzeylerindeki değişimin incelenmesi ve böylece söz konusu genlerin tuzlu koşullarda nasıl ifade olduğunun belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmamızda biber (*C. annuum* L.) türünde belirlenmiş olan miyozin genleri (Çizelge 3.2) kullanılmıştır.

Çalışmada 100 mM tuz stresine maruz bırakılan biber fidelerinin köklerinde gen ifade analizleri öncesinde köklerle ilgili temel morfolojik parametreler olan kök taze ve kuru ağırlığı ve kök boyundaki değişimler her iki örnekleme zamanında (3. saat ve 24. saat) uygulama yapılmayan kontrol bitkileri ile karşılaştırılmıştır. Buna göre 3. Saat örnekleme yapılan bitkilerde kök taze ağırlığı kontrol bitkilerine göre daha yüksek bulunurken; kök kuru ağırlığı ve kök boyu bakımından kontrol bitkileri ile fark belirlenmemiştir. Denemede 24. Saat sonra alınan örneklerde ise 100 mM NaCl uygulanan bitkilerde hem taze hem de kuru ağırlıkta artış belirlenmiştir ( $P<0.05$ ).

İncelenen 5 adet miyozin geninin (*C. Annuum* miyozin 2, 4, 6, 9, 11) tuz stresi koşullarında köklerde ifadesinin farklılık gösterdiği, örnekleme zamanları olan 3. ve 24. saatte ifadelerinin değişiklik gösterdiği belirlenmiştir.

Çalışmada incelenen miyozin genleri içerisinde en fazla ifade artışının (30.57 kat) miyozin 9 geninde, tuz uygulamasında 100 mM düzeye ulaştıktan 24 saat sonra alınan örneklerde olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.3, Şekil 4.4). Tuz uygulamasını takiben 3 saat sonra alınan örneklerde ise aynı genin ifadesinin -1.80 olduğu ancak bu azalışın istatistiki olarak önemli olmadığı belirlenmiştir. Miyozin 9 geninin (*C. annuum* XM\_016712689.1, LOC107866737) (*Arabidopsis* At5g25070) hücrede sitozolde lokalize olduğu belirtilmektedir (Uniprot, 2020g).

Buğdayda tuz stresi ile ilgili yapılan bir araştırmada, Na<sup>+</sup> iyonlarının plazma membranını geçtikten sonra sitozole ulaştığını, Na<sup>+</sup> iyonlarının sitozolde aşırı birikiminin Na<sup>+</sup> toksisitesine neden olduğu belirtilmektedir. Araştırmacılar, köklerle alınan Na<sup>+</sup> iyonlarının hücre membranları aracılığıyla rizosfere geri gönderilebildiğini, Na<sup>+</sup> iyonlarını hücreden çıkarabilme yeteneğinin genotipe göre farklılık gösterdiğini belirtmişlerdir. Bu mekanizma sayesinde köklerle alınan Na<sup>+</sup> iyonlarının ~%95'nin rizosfere geri gönderildiğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar, çalışmalarında kök meristemlerinde sitozolik Na<sup>+</sup> birikiminin tuza daha tolerant olan ekmeklik buğdayda daha yüksek olduğunu, bu bölgenin büyük olasılıkla tuz sensörü gibi görev yapan bir bölgeye yakın olduğunu belirtmişlerdir. Bu hipotezlerini desteklemek için Na<sup>+</sup> taşınımı ile ilgili genlerin ifadesini köklü ve kök meristemleri uzaklaştırılmış bitkilerin yapraklarında test etmişlerdir (Wu vd. 2018)

Tuza tolerans yönünden farklılık gösteren buğday genotiplerinin kök meristemlerinde yapılan bir başka araştırmada tuza tolerant genotiplerde sitozolde daha yüksek floresan Na<sup>+</sup> sinyali belirlediklerini bu bilgi ışığında kök meristem bölgesinin tuzu algılamada yer aldığını bildirmişlerdir (Wu vd. 2015)

Bu bilgiler ışığında, bizim çalışmamızda incelenen ve sitozolde lokalize olan miyozin 9 geninin 100 mM tuz düzeyine ulaştıktan 3 saat sonra ifadesinde önemli düzeyde bir değişim yokken 24 saat sonrasında 30.57 kat bir ifade artışının Na<sup>+</sup> iyonlarının birikimine bağlı olabileceğini düşündürmüştür.

İfade düzeyi farklı olmakla birlikte miyozin 9 genine benzer şekilde miyozin 2 geninin ifadesinde 100 mM tuz uygulaması tamamlandıktan 24 saat sonra 8.95 kat ifade artışı belirlenmiştir (P<0.05). Miyozin 2 geninin (MYA2), *Arabidopsis*'te kök tüylerinin gelişiminde, golgi aparatı, mitokondri ve serbest oksijen radikallerinin (ROS) giderilmesinde görev alan peroksizomların lokalizasyonu, aktin filamente bağlı hareket gibi fonksiyonlarda görev aldığı bildirilmiştir (Uniprot 2020c). *Capsicum annuum* türünde de aktin filament bağlanması, ATP bağlanması ve motor aktivite olarak bildirilmiş, sitoskeletonda lokalize olduğu gösterilmiştir (Uniprot 2020h).

Peremyslov ve ark. (2008) *Arabidopsis*'te miyozin 2 geninin kök emici tüylerinin gelişiminde ve kök tüylerinde hücre içi organellerin hızlı hareketi için gerekli olduklarını bildirmiştir. Miyozin 2 genin stresle bağlantılı olarak peroksizomların hareketinde görev aldıkları bildirilmiştir. Peroksizomlar, bitki hücrelerinde herhangi bir nedenle oluşan toksik maddelerin inaktive edilmesinde rol almaktadır. Çalışmamızda miyozin 2 geninin tuz stresi uygulamasından 24 saat sonra artış gösterdiği belirlenmiştir.

Çalışmada yer alan miyozin 11 geni ise *Arabidopsis*'te organel hareketliliğinde görev aldığı bildirilmiştir. Tez çalışmasında miyozin 11 geninin 100mM tuz stresi uygulandıktan 3 saat sonra alınan örneklerde 3.53 kat düştüğü 24 saat sonra ise 2.35 kat arttığı belirlenmiştir. Bu durumda tuz stresine maruz kalma süresi arttıkça miyozin 11 geninin ifadesi artışa geçmiştir.

Miyozin 6 geninin aktin filament bağlanmasında, ATP bağlanmasında, motor aktivitede görev aldığı belirtilmektedir (Uniprot 2020d). Tez çalışmasında Miyozin 6 geninin ifadesinin, 100mM tuz stresi uygulamasından 3 saat sonra -8.22 kat azalırken, uygulamadan 24 saat sonra -2.16 kat azaldığı belirlenmiştir. Bu durumda tuza maruz



kalma süresi arttıkça başlangıçta düşük olan gen ifadesinin giderek arttığı düşünülebilir. Gen ifadesindeki 3.saatten 24.saate kadar olan süre içerisindeki bu değişim köklerin tuz stresine moleküler düzeyde tepkisini göstermektedir.

Miyozin 4 geni, *Arabidopsis*'te aktin filament bağlanmasında, ATP bağlanmasında, motor aktivitede görev aldığı belirtilmektedir (Uniprot 2020c.). Çalışmada 100 mM tuz uygulamasının ardından 3. Saat ve 24. Saatte alınan örneklerde miyozin 4 geninin ifadesinde istatistiki olarak anlamlı bir değişim olmamıştır ( $P>0.05$ ).

Tez çalışmasında incelenen miyozin genlerinin tuz uygulamasından 3 saat ve 24 saat sonra alınan örneklerde yapılan incelemesinde 24 saat 100 mM tuza maruz kalan köklerde genel olarak artış gösterdiği belirlenmiştir. İncelenen miyozin genleri içerisinde sadece miyozin 4 geninin ifadesinde herhangi bir değişiklik olmamıştır.

Çalışmada yer alan miyozin genleri ile ilgili yaptığımız literatür taramalarında daha çok *Arabidopsis* bitkisi kaynaklı bilgiler ışığında, çalışılan çoğu miyozin geninin hücrenin sitoskeleton bölgesinde aktin filament bağlanması, ATP bağlanması, motor aktivitede görev aldığı bilgisine ulaşılmıştır.

Yine *Arabidopsis*'te miyozin 2 geninin kök emici tüylerinin gelişiminde ve kök tüylerinde hücre içi organellerin hızlı hareketi için gerekli oldukları bilgisine ulaşılmıştır. Tez çalışmasında en fazla gen ifade artışının belirlendiği miyozin 9 geninin ise sitozolde lokalize olduğu bilgisinden yola çıkarak buğdayda yapılan ve Na<sup>+</sup> iyonlarının sitozolde biriktiğine dair bilgiler ışığında tuz uygulamasından 24 saat sonra gen ifadesindeki artışın Na<sup>+</sup> iyonlarının birikimine bağlı olduğunu düşündürmüştür.

Tez çalışması sonucunda 100 mM NaCl uygulaması yapılmış biber fidelerinin köklerinde miyozin motor proteinlerinden sorumlu genlerin ifadelerindeki değişim belirlenmiştir.

## KAYNAKLAR

- Abu-Abied, M., Belausov, E., Hagay, S., Peremyslov, V., Dolja, V. ve Sadot, E. 2018. Myosin XI-K is involved in root organogenesis, polar auxin transport, and cell division. *Journal of Experimental Botany*, 69(12), 2869–2881.
- Ali, G., Ibrahim, A. A., Srivastava, P. S. ve Iqbal, M. 1999. Structural changes in root and shoot of *Bacopa monniera* in response to salt stress. *Journal of Plant Biology*, 42(3), 222–225.
- Arabidopsis.org.* 2020a. AT5G43900(MYA2) Miyosin2.  
<https://www.Arabidopsis.org/servlets/TairObject?name=AT5G43900&type=locus>  
Erişim tarihi:16.12.2020.
- Arabidopsis.org.* 2020b. AT4G27370(VIIIB) Miyosin4.  
<https://www.Arabidopsis.org/servlets/TairObject?accession=locus:2131769> Erişim  
tarihi:16.12.2020.
- Arabidopsis.org.* 2020c. AT1G08730(XIC) Miyosin9.  
<https://www.Arabidopsis.org/servlets/TairObject?accession=locus:2025535> Erişim  
tarihi:16.12.2020.
- Arabidopsis.org.* 2020d. AT1G54560(XIE) Miyosin11.  
<https://www.Arabidopsis.org/servlets/TairObject?name=AT1G54560&type=locus>  
Erişim tarihi:16.12.2020.
- Ayers, R.S. ve Westcot, D.W. 1976. *Water Quality For Agriculture*. Food and Agriculture Organization, 174, California.
- Baluřka, F., Cvrčková, F., Kendrick-Jones, J. ve Volkmann, D. 2001. Sink plasmodesmata as gateways for phloem unloading. Myosin VIII and calreticulin as molecular determinants of sink strength? In *Plant Physiology*. American Society of Plant Biologists, 126(1), 39–46.
- Baluşka, F., şamaj, J., Hlavacka, A., Kendrick-Jones, J. ve Volkmann, D. 2004. Actin-dependent fluid-phase endocytosis in inner cortex cells of maize root apices. *Journal of Experimental Botany*, 55(396), 463–473.
- Birnboim, H. C. 1988. Rapid extraction of high molecular weight RNA from cultured cells and granulocytes for Northern analysis. *Nucleic Acids Research*, 16(4), 1487–1497.
- Botella, M. A., Rosado, A., Bressan, R. A. ve Hasegawa, P. M. 2007. *Plant Adaptive*

- Responses to Salinity Stress, In Plant Abiotic Stress. Blackwell Publishing Ltd. 37–70, Indiana.
- Buchnik, L., Abu-Abied, M. ve Sadot, E. 2015. Role of plant myosins in motile organelles: Is a direct interaction required? *Journal of Integrative Plant Biology*, 57(1), 23–30.
- Burssens, S., Himanen, K., Van De Cotte, B., Beeckman, T., Van Montagu, M., Inzé, D. ve Verbruggen, N. 2000. Expression of cell cycle regulatory genes and morphological alterations in response to salt stress in *Arabidopsis thaliana*. *Planta*, 211(5), 632–640.
- Chomzynski, P. ve Sacchi, N. 1987. Single-Step Method of RNA Isolation by Acid Guanidinium Thiocyanate–Phenol–Chloroform Extraction. *Analytical Biochemistry*, 162(1), 156–159.
- Collings, D. A., Harper, J. D. I. ve Vaughn, K. C. 2003. The association of peroxisomes with the developing cell plate in dividing onion root cells depends on actin microfilaments and myosin. *Planta*, 218(2), 204–216.
- Erel, R., T. Le, T., Eshel, A., Cohen, S., Offenbach, R., Strijker, T. ve Shtein, I. 2019. Root Development of Bell Pepper (*Capsicum annuum* L.) as Affected by Water Salinity and Sink Strength. *Plants*, 9(1), 35.
- Esseling-Ozdoba, A., Houtman, D., Van Lammeren, A. A. M., Eiser, E. ve Emons, A. M. C. 2008. Hydrodynamic flow in the cytoplasm of plant cells. *Journal of Microscopy*, 231(2), 274–283.
- FAOSTAT. 2019. Web Sitesi: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> Erişim Tarihi:23.10.2020.
- Giorio, P., Cirillo, V., Caramante, M., Oliva, M., Guida, G., Venezia, A., Grillo, S., Maggio, A. ve Albrizio, R. 2020. Physiological basis of salt stress tolerance in a landrace and a commercial variety of sweet pepper (*Capsicum annuum* l.). *Plants*, 9(6), 1–13.
- Güvenç, İ. 2020. Türkiye’de Biber Üretimi, Dış Ticareti ve Rekabet Gücü. *KSU J. Agric Nat*, 23(2), 441–445.
- Hamada, S., Ishiyama, K., Choi, S. B., Wang, C., Singh, S., Kawai, N., Franceschi, V. R. ve Okita, T. W. 2003. The Transport of Prolamine RNAs to Prolamine Protein Bodies in Living Rice Endosperm Cells. *Plant Cell*, 15(10), 2253–2264.
- Hausmann, B. I. G., Parzies, H. K., Presterl, T., Susić, Z., Miedaner, T. 2004. Plant genetic resources in crop improvement. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization*, 2(1), 3–21.

- He, Y., Wu, Z., Wang, W., Ye, B. 2019. Different Responses of *Capsicum annuum* L. Root and Shoot to Salt Stress with *Pseudomonas putida* Rs-198 Inoculation. *Journal of Plant Growth Regulation*, 38(3), 799–811.
- Hoagland, D. R. ve Arnon, D. I. 1950. The water-culture method for growing plants without soil. The Collage of Agriculture University of California - Berkeley, 32, California. <https://archive.org/details/watercultureme3450hoag/page/n7/mode/2up>
- Hong, C. Y., Chao, Y. Y., Yang, M. Y., Cho, S.C., Kao, C. H. 2009. Na<sup>+</sup> but not Cl<sup>-</sup> or osmotic stress is involved in NaCl-induced expression of Glutathione reductase in roots of rice seedlings. *Journal of Plant Physiology*, 166(15), 1598–1606. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2009.04.001>
- Hunter, G. J. 1996. PCR 2: A practical approach. *Biochemical Education*, 24(4), 243. [https://doi.org/10.1016/S0307-4412\(97\)80789-3](https://doi.org/10.1016/S0307-4412(97)80789-3)
- Navarro, J.M., Garrido, C., Flores, P., Martinez, V. 2010. The effect of salinity on yield and fruit quality of pepper grown in perlite. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 8(1), 142-150.
- Jedd, G. ve Chua, N. H. 2002. Visualization of peroxisomes in living plant cells reveals actomyosin-dependent cytoplasmic streaming and peroxisome budding. *Plant and Cell Physiology*, 43(4), 384–392. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcf045>
- Kadan, H. Y. ve Üzal, Ö. 2020. Changes in Pepper (*Capsicum annuum* L.) Plant Growth and Ion Uptake in Salt Stress and Recovery Process. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 10(3), 1476–1485. <https://doi.org/10.21597/jist.704289>
- Kaouther, Z., Fredj, M. B., Mani, F. ve Cherif, H. 2012. Impact of salt stress (NaCl) on growth, chlorophyll content and fluorescence of Tunisian cultivars of chili pepper (*Capsicum frutescens* L.). *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*, 8(4), 237-252.
- Livak, K. J. ve Schmittgen, T. D. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT method, 25(4), 402–408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
- Ma, C., Zhao, Z., Wang, N., Azhar, M.T., Du, X. 2020. Genome-Wide Identification and Comparative Analysis of Myosin Gene Family in Four Major Cotton Species, 11(7), 731. <https://doi.org/10.3390/genes11070731>
- Madison, S. L., Buchanan, M. L., Glass, J. McClain, T.F., Park, E., Nebenführ, A. 2015. Class XI Myosins Move Specific Organelles in Pollen Tubes and are Required for

- Normal Fertility and Pollen Tube Growth in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 169(3), 1946-1960. <https://doi.org/10.1104/pp.15.01161>
- Mahajan, S. ve Tuteja, N. 2005. Cold, salinity and drought stress: an overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 444, 139–158.
- Minitab. 2020. Statistical Analysis Software for Students | Minitab. Web Sitesi: <https://www.minitab.com/en-us/academic/> Erişim Tarihi:19.11.2020.
- Mohammad, M., Shibli, R., Ajlouni, M. ve Nimri, L. 1998. Tomato root and shoot responses to salt stress under different levels of phosphorus nutrition. *Journal of Plant Nutrition*, 21(8), 1667–1680. <https://doi.org/10.1080/01904169809365512>
- Molchan, T. M., Valster, A. H. ve Hepler, P. K. 2002. Actomyosin promotes cell plate alignment and late lateral expansion in *Tradescantia* stamen hair cells. *Planta*, 214(5), 683–693. <https://doi.org/10.1007/s004250100672>
- Munns, R. ve Tester, M. 2008. Mechanisms of Salinity Tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59(1), 651–681. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911>
- NCBI. 2020. Capsicum annuum myosin like - Gene - NCBI. Web Sitesi: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=Capsicum+annuum+myosin+like> Erişim Tarihi: 17.11.2020
- Nebenführ, A., Gallagher, L. A., Dunahay, T.G., Frohlick, J.A., Mazurkiewicz A.M., Meehl, J.B., Staehelin, L.A. 1999a. Stop-and-go movements of plant Golgi stacks are mediated by the acto-myosin system. *Plant Physiology*, 121(4), 1127–1141. <https://doi.org/10.1104/pp.121.4.1127>
- Odrionitz, F. ve Kollmar, M. 2007. Drawing the tree of eukaryotic life based on the analysis of 2,269 manually annotated myosins from 328 species. *Genome Biology*, 8(9), R196. <https://doi.org/10.1186/gb-2007-8-9-r196>
- Ojangu, E. L., Järve, K., Paves, H. ve Truve, E. 2007. *Arabidopsis thaliana* myosin XIK is involved in root hair as well as trichome morphogenesis on stems and leaves. *Protoplasma*, 230(3–4), 193–202. <https://doi.org/10.1007/s00709-006-0233-8>
- Özdemir, B., Tanyolaç, Z.Ö. Ulukapı, K. ve Onus, A.N. 2016. Evaluation of Salinity Tolerance Level of Some Pepper (*Capsicum annuum* L.) Cultivars. *International Journal of Agriculture Innovations and Research*. 5(2), 247-251.
- Park, E. ve Nebenführ, A. 2013. Myosin XIK of *Arabidopsis thaliana* Accumulates at the Root Hair Tip and Is Required for Fast Root Hair Growth. *PLoS ONE*, 8(10), 1-18. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076745>

- Peremyslov, V. V., Prokhnevsky, A. I., Avisar, D. ve Dolja, V. V. 2008. Two Class XI Myosins Function in Organelle Trafficking and Root Hair Development in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 146(3), 1109–1116. <https://doi.org/10.1104/pp.107.113654>
- Peremyslov, V. V., Prokhnevsky, A. I. ve Dolja, V. V. 2010. Class XI myosins are required for development, cell expansion, and F-Actin organization in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 22(6), 1883–1897. <https://doi.org/10.1105/tpc.110.076315>
- Peremyslov, V. V., Mockler, T. C., Filichkin, S. A., Fox, S. E., Jaiswal, P., Makarova, K. S., Koonin, E. V. ve Dolja, V. V. 2011. Expression, splicing, and evolution of the myosin gene family in plants. *Plant Physiology*, 155(3), 1191–1204. <https://doi.org/10.1104/pp.110.170720>
- Prokhnevsky, A. I., Peremyslov, V. V. ve Dolja, V. V. 2008. Overlapping functions of the four class XI myosins in *Arabidopsis* growth, root hair elongation, and organelle motility. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(50), 19744–19749. <https://doi.org/10.1073/pnas.0810730105>
- Reddy, P. ve Iyengar E. R. R. . 1999. *Handbook of Plant and Crops Stress, Crop Responses to Salt Stress: Seawater Application and Prospects*, Marcel Dekker Inc.1041-1068, Arizona.
- Šamaj, J., Read, N. D., Volkmann, D., Menzel, D. ve Baluška, F. 2005. The endocytic network in plants. In *Trends in Cell Biology*, 15(8), 425–433. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2005.06.006>
- Shimmen, T. ve Yokota, E. 1994. Physiological and Biochemical Aspects of Cytoplasmic Streaming. *International Review of Cytology*, 155(C), 97–139. [https://doi.org/10.1016/S0074-7696\(08\)62097-5](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(08)62097-5)
- Smith, P. T. ve Cobb, B. G. 1991. Accelerated Germination of Pepper Seed by Priming with Salt Solutions and Water. *HortScience*, 26(4), 417–419. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.26.4.417>
- Sparkes, I. 2011. Recent Advances in Understanding Plant Myosin Function: Life in the Fast Lane. *Molecular Plant*, 4(5), 805–812. <https://doi.org/10.1093/MP/SSR063>
- Sun, H., Furt, F.. ve Vidali, L. 2018. Myosin XI localizes at the mitotic spindle and along the cell plate during plant cell division in *Physcomitrella patens*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 506(2), 409–421. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.01.082>
- Tominaga, M. ve Nakano, A. 2012. Plant-Specific Myosin XI, a Molecular Perspective.

Frontiers in Plant Science, 3 (211), 1-11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2012.00211>

TÜİK. 2019. Türkiye İstatistik Kurumu Web Sitesi: [http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt\\_id=1001](http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001) Erişim Tarihi:25.11.2020.

Uniprot. 2020. myosin-4-like - *Capsicum annuum* (*Capsicum pepper*) - LOC107870649 gene & protein. Web Sitesi: <https://www.uniprot.org/uniprot/A0A1U8GN87> Erişim Tarihi: 15.09.2020

Uniprot. 2020a. ACT1 - Actin-1 - *Arabidopsis thaliana* (Mouse-ear cress) - ACT1 gene & protein. Web Sitesi: <https://www.uniprot.org/uniprot/P0CJ46> Erişim Tarihi: 15.09.2020

Uniprot. 2020b. MYA2 - Myosin 2 - *Arabidopsis thaliana* (Mouse-ear cress) - MYA2 gene & protein. Web Sitesi: <https://www.uniprot.org/uniprot/F4K7C5> Erişim Tarihi: 15.09.2020

Uniprot. 2020c. VIII-B - Myosin-4 - *Arabidopsis thaliana* (Mouse-ear cress) - VIII-B gene & protein. Web Sitesi: <https://www.uniprot.org/uniprot/F4JIU4> Erişim Tarihi: 15.09.2020

Uniprot. 2020d. XI-2 - Myosin-6 - *Arabidopsis thaliana* (Mouse-ear cress) - XI-2 gene & protein. Web Sitesi: <https://www.uniprot.org/uniprot/Q9LKB9> Erişim Tarihi: 15.09.2020

Uniprot. 2020e. XI-C - Myosin-9 - *Arabidopsis thaliana* (Mouse-ear cress) - XI-C gene & protein. Web Sitesi: <https://www.uniprot.org/uniprot/F4HXP9> Erişim Tarihi: 15.09.2020

Uniprot. 2020f. XI-E - Myosin-11 - *Arabidopsis thaliana* (Mouse-ear cress) - XI-E gene & protein. Web Sitesi: <https://www.uniprot.org/uniprot/F4HWY6> Erişim Tarihi: 15.09.2020

Uniprot. 2020g. Myosin-9 - *Capsicum annuum* (*Capsicum pepper*) - LOC107866737 gene & protein. Web Sitesi: <https://www.uniprot.org/uniprot/A0A2G2ZSZ6> Erişim Tarihi: 15.09.2020

Uniprot. 2020h. Myosin-2-like isoform X1 - *Capsicum annuum* (*Capsicum pepper*) - LOC107878707 gene & protein. Web Sitesi: <https://www.uniprot.org/uniprot/A0A1U8HD18> Erişim Tarihi: 15.09.2020

Volkman, D., Mori, T., Tirlapur, U. K., König, K., Fujiwara, T., Kendrick-Jones, J., Baluska, F. 2003. Unconventional myosins of the plant-specific class VIII: Endocytosis, cytokinesis, plasmodesmata/pit-fields, and cell-to-cell coupling. *Cell Biology International*, 27(3), 289–291. [https://doi.org/10.1016/S1065-6995\(02\)00330-X](https://doi.org/10.1016/S1065-6995(02)00330-X)

- Yurtseven, E., Öztürk, A., Kadayıfçı, A., Ayan, B. 1996. Sulama Suyu Tuzluluğunun Biberde (*Capsicum Annuum*) Farklı Gelişme Dönemlerinde Bazı Verim Parametrelerine Etkisi. *Tarım Bilimleri Dergisi* 2(2), 5–10. <http://dergiler.ankara.edu.tr/dergiler/15/1279/14777.pdf>
- Wu, H., Shabala, L., Azzarello, E., Huang, Y., Pandolfi, C., Su, N., Wu, Q., Cai, S., Bazihizina, N., Wang, L., Zhou, M., Mancuso S., Chen, Z., Shabala, S. 2018. Na<sup>+</sup> extrusion from the cytosol and tissue-specific Na<sup>+</sup> sequestration in roots confer differential salt stress tolerance between durum and bread wheat. *Journal of Experimental Botany*, 69(16), 3987–4001. <https://doi.org/10.1093/jxb/ery194>
- Wu, H., Shabala, L., Liu, X., Azzarello, E., Zhou, M., Pandolfi, C., Chen, Z., Bose, J., Mancuso, S., Shabala, S. 2015. Linking salinity stress tolerance with tissue-specific Na<sup>+</sup> sequestration in wheat roots. *Frontiers in Plant Science*, 6(71), 1-13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00071>
- Yıldırım, E., Güvenç, İ. 2006. Salt Tolerance of Pepper Cultivars during Germination and Seedling Growth. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 30(5). 347-353. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/tbtkaagriculture/138433>
- Zhang, X., Zhang, Z., Gu, X., Mao, S., Li, X., Chadœuf, J., Palloix, A., Wang, L., Zhang, B. 2016. Genetic diversity of pepper (*Capsicum* spp.) germplasm resources in China reflects selection for cultivar types and spatial distribution. *Journal of Integrative Agriculture*, 15(9), 1991–2001. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(16\)61364-3](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(16)61364-3)