

**KURAKLIK STRESİNE MARUZ BIRAKILAN DOMATES  
BİTKİLERİNDE BAZI FİZYOLOJİK VE BÜYÜME  
PARAMETRELERİ ÜZERİNE ABSİSİK ASİT (ABA) VE  
KALSİYUM'UN (Ca<sup>2+</sup>) ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

**AYŞİN GÜZEL**

**Mersin Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü**

**Biyoloji  
Ana Bilim Dalı**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Tez Danışmanı  
Prof. Dr. Serpil ÜNYAYAR**

**MERSİN  
EYLÜL-2006**

## ÖZ

Bu çalışmada, absisik asit (ABA) ve/veya kalsiyum ( $\text{Ca}^{2+}$ ) uygulamalarının kuraklık stresi koşullarında bazı fizyolojik parametreler (kök uzunluğu, gövde uzunluğu, oransal su içeriği (OSİ), klorofil içeriği), antioksidant savunma sistemi (antioksidant enzimler, askorbat, pigment içerikleri) ve lipid peroksidasyonu üzerine etkileri *Lycopersicon esculentum* Mill. ve *Lycopersicon chilense*'de (LA1972, kuraklığa toleranslı) incelendi. Bitkilere stres uygulamasından önce 10 mM  $\text{CaCl}_2$  çözeltisi verildi. Ayrıca stresin ilk üç günü ABA ve ABA+  $\text{Ca}^{2+}$  uygulanacak grubun yapraklarına  $10^{-5}$  M ABA çözeltisi püskürtüldü. Uygulamanın birinci ve beşinci gününde bitkilerden analiz işlemleri için örnekler alındı. Çalışma sonunda elde edilen bulgulara göre; kuraklık stresinde kök ve gövde uzunluğu azalırken,  $\text{Ca}^{2+}$  uygulandığında bu inhibisyonun azaldığı belirlenmiştir. Çalışmamızda, her iki domates türünde de OSİ kuraklık stresinde azalırken, bu azalma kuraklığa nispi duyarlı *L.esculentum*'da daha belirgindir. Kuraklık stresinde ABA veya  $\text{Ca}^{2+}$  uygulaması OSİ'ndeki inhibisyonu azaltmıştır. Uygulamanın beşinci gününde hem stres altında hem de stressiz koşullarda kuraklığa toleranslı *L.chilense*'de klorofil içeriğinde belirgin bir artış gözlenmiş, buna karşılık, *L.esculentum*'da klorofil içeriğinde azalma tespit edilmiştir. *L.chilense*'de ABA ve/veya kuraklık uygulamaları  $\beta$ -karoten içeriğini yaklaşık iki kat arttırmıştır. ABA+  $\text{Ca}^{2+}$  ve kuraklık uygulamalarında kuraklığa toleranslı olan *L.chilense*'nin kuraklığa nispi duyarlı *L.esculentum*'a göre özellikle uygulamanın beşinci gününde süperoksit dismutaz (SOD) ve askorbat peroksidaz (AP) enzim aktivitelerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Malondialdehit (MDA) içeriğinin uygulamanın beşinci gününde kuraklığa nispi duyarlı olan türde  $\text{Ca}^{2+}$ , kurak+ $\text{Ca}^{2+}$  ve kurak+ABA+ $\text{Ca}^{2+}$  uygulamalarında daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Her iki domates türünde de ABA ve Kurak+ABA uygulamalarında askorbat içeriği azalırken,  $\text{Ca}^{2+}$  ve kuraklık uygulamalarında *L.chilense*'de uygulamanın birinci gününde ve *L.esculentum*'da uygulamanın beşinci gününde askorbat içeriği belirgin bir şekilde artmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Lycopersicon*, kuraklık stresi, ABA,  $\text{Ca}^{2+}$ , antioksidant savunma sistemi, lipid peroksidasyonu

## ABSTRACT

In this study, the effects of abscisic acid (ABA) and/or calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) treatments under drought stress conditions on some physiological parameters (root length, shoot length, relative water content (RWC), chlorophyll content), antioxidant defence system (antioxidant enzymes, ascorbate, pigments contents) and lipid peroxidation were investigated in *Lycopersicon esculentum* Mill. and *Lycopersicon chilense* (LA1972, drought tolerant). 10 mM  $\text{CaCl}_2$  solution were treated to the plants before the stress treatments. Also, on the first three days of the stress  $10^{-5}$  M ABA was sprayed to the leaves of the group to which ABA and ABA+ $\text{Ca}^{2+}$  will be treated. Sample plant parts for analysis were taken on the first and the fifth day of treatments. According to the results of this study; while root and shoot length decreased under drought stress,  $\text{Ca}^{2+}$  treatment resulted in lower growth inhibition. In this study, while RWC decreased under drought stress in both tomato species, it significantly decreased in *L.esculentum*. It determined that ABA or  $\text{Ca}^{2+}$  treatment decreased the effect of drought stress. It was observed that drought tolerant *L.chilense* significantly increased chlorophyll contents under both stress and non stress conditions on the fifth day of treatment, however, it decreased in *L.esculentum*. ABA and/or drought treatments increased the  $\beta$ -carotene content approximately two times in *L.chilense*, compared with its control. Superoxide dismutase (SOD) and ascorbate peroxidase (AP) activities in *L.chilense* were higher than *L.esculentum* under ABA+ $\text{Ca}^{2+}$  treatment and drought stress, especially on the fifth day of the treatments. It was seen that  $\text{Ca}^{2+}$ , drought+ $\text{Ca}^{2+}$  and drought +ABA+ $\text{Ca}^{2+}$  treatments significantly increased MDA contents in *L.esculentum* on the fifth day of the treatments. While ascorbate content decreased under ABA and drought+ABA treatments in both species, it significantly increased on the first day of the treatments  $\text{Ca}^{2+}$  and drought in *L.chilense* and on the fifth day of the treatments  $\text{Ca}^{2+}$  and drought in *L.esculentum*.

Key Words : *Lycopersicon*, drought stress, ABA,  $\text{Ca}^{2+}$ , antioxidant defence system, lipid peroxidation.

## TEŞEKKÜR

Çalışmalarımın her aşamasında yanımda olup yol gösteren, her konuda destek olan, bilgi, görüş ve önerilerini esirgemeyen değerli danışman hocam Prof.Dr. Serpil ÜNYAYAR'a (Mersin Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü) teşekkür ederim. Çalışmalarım süresince görüş ve önerilerini esirgemeyen ve her zaman yardımcı olan Doç.Dr. Yüksel KELEŞ'e (Mersin Üniversitesi, Eğitim Fakültesi), sonuçlarımın istatistiksel olarak değerlendirilmesinde emeği olan Doç.Dr. Arzu KANIK ve Arş.Gör. Mehmet Ali SUNGUR' a (Mersin Üniversitesi, Tıp Fakültesi) teşekkür ederim. Yüksek Lisans Tez çalışmama maddi destek sağlayan Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Birimine teşekkür ederim. Bu çalışmalar süresince desteklerini esirgemeyen bölümdeki hocalarıma ve araştırma görevlisi arkadaşlarıma teşekkür ederim. Çalışmalarım süresince her zaman yanımda olan maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme sonsuz teşekkürlerimi borç bilirim.

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
<b>ÖZ</b> .....	i
<b>ABSTRACT</b> .....	ii
<b>ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR</b> .....	iii
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	iv
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	viii
<b>EKLER DİZİNİ</b> .....	ix
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	xi
<b>SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	xiii
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. KAYNAK ARAŞTIRMASI</b> .....	5
2.1. STRES KOŞULLARINA KARŞI BİTKİLERİN YANITI.....	5
2.2. KURAKLIK STRESİ.....	6
2.2.1. Bitkilerde Kuraklığın Neden Olduğu Oksidatif Stres.....	7
2.3. OKSİDANT VE ANTİOKSİDANT ARABULUCU SİNYALLER .....	9
2.4. BİTKİLERDE SU STRESİNDE ABA’NIN İŞLEVİ .....	13
2.5. BİTKİLERDE ABSİSİK ASİTİN UYARDIĞI ANTİOKSİDANT SAVUNMA SİSTEMİNDE NADPH oksidaz ARACILIĞIYLA ROT’NİN ÜRETİMİ VE KALSİYUM ARASINDAKİ İLİŞKİ.....	16
2.5.1. Kalsiyum ve Bitki Hormon Aktivitesi .....	16

2.5.2. Kalmodulin .....	18
2.5.3. İnositol Fosfataz ( IP <sub>3</sub> ).....	18
<b>3. MATERYAL VE METOT.....</b>	<b>22</b>
3.1. BİTKİ YETİŞTİRME KOŞULLARI.....	22
3.2. ORANSAL SU İÇERİĞİNİN (OSİ) ÖLÇÜLMESİ.....	24
3.3. PİGMENTLERİN EKSTRAKSİYONU VE ANALİZİ.....	24
3.4. ÇÖZÜNÜR PROTEİN MİKTARININ ÖLÇÜLMESİ.....	25
3.5. ENZİM AKTİVİTELERİNİN ÖLÇÜLMESİ.....	26
3.5.1. Superoksit Dismutaz (SOD, EC.1.15.11) Aktivite Tayini.....	26
3.5.2. Askorbat Peroksidaz (AP, EC.1.11.1.11) Aktivite Tayini.....	26
3.5.3. Glutatyon Redüktaz (GR, E.C.1.6.4.2) Aktivite Tayini.....	27
3.5.4. Katalaz (KAT, E.C.1.11.1.6) Aktivite Tayini.....	27
3.6. LİPİD PEROKSİDASYONU.....	27
3.7. ASKORBAT ANALİZİ.....	28
3.8. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME.....	28
<b>4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....</b>	<b>29</b>
4.1. BULGULAR.....	29
4.1.1. Kök Büyümesi.....	29
4.1.2. Gövde Büyümesi.....	29

4.1.3.	Oransal Su İçeriği (OSİ).....	30
4.1.4.	Pigment İçerikleri .....	32
4.1.4.1.	Klorofil içeriği.....	32
4.1.4.1.1.	Klorofil a içeriği.....	32
4.1.4.1.2.	Klorofil b içeriği.....	32
4.1.4.1.3.	Klorofil a/b oranı.....	33
4.1.4.1.4.	Toplam klorofil içeriği .....	36
4.1.4.2.	$\beta$ -karoten içeriği.....	36
4.1.4.3.	$\beta$ -karoten / klorofil oranı.....	37
4.1.5.	Antioksidant Enzim Aktiviteleri.....	37
4.1.5.1.	SOD aktivitesi.....	37
4.1.5.2.	AP aktivitesi.....	41
4.1.5.3.	GR aktivitesi.....	42
4.1.5.4.	KAT aktivitesi.....	44
4.1.6.	Lipid Peroksidasyonu.....	46
4.1.7.	Askorbat İçeriği.....	48
4.2.	TARTIŞMA.....	50
4.2.1.	Kök ve Gövde Büyümesi.....	50
4.2.2.	Oransal Su İçeriği.....	51
4.2.3.	Pigment İçerikleri.....	52
4.2.3.1.	Klorofil içerikleri.....	52
4.2.3.2.	$\beta$ -karoten içeriği.....	53
4.2.4.	Antioksidant Enzimler.....	54
4.2.4.1.	SOD aktivitesi.....	54
4.2.4.2.	AP aktivitesi.....	55
4.2.4.3.	GR aktivitesi.....	56
4.2.4.4.	KAT aktivitesi.....	57
4.2.5.	Lipid Peroksidasyonu.....	58
4.2.6.	Askorbat İçeriği.....	58

<b>5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....</b>	<b>60</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>62</b>
<b>EKLER.....</b>	<b>72</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>90</b>



## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge		Sayfa
Çizelge 3.1.	Normal Hoagland Kültür Çözeltilisinin Bileşimi.....	23
Çizelge 3.2.	<i>L.esculentum</i> Mill veya <i>L.chilense</i> İçin Hazırlanan Uygulama Metodu.....	24
Çizelge 4.1.	<i>L.esculentum</i> ve <i>L.chilense</i> 'nin Kök Uzunluğu,Gövde Uzunluğu ve OSİ.....	31
Çizelge 4.2.	<i>L.esculentum</i> ve <i>L.chilense</i> 'de Uygulamanın Birinci Günü Klorofil a, Klorofil b, Klorofil a/b, Toplam Klorofil, $\beta$ -karoten, $\beta$ -karoten/klorofil İçerikleri.....	34
Çizelge 4.3.	<i>L.esculentum</i> ve <i>L.chilense</i> 'de Uygulamanın Beşinci Günü Klorofil a, Klorofil b, Klorofil a/b, Toplam Klorofil, $\beta$ -karoten, $\beta$ -karoten /klorofil İçerikleri.....	35

## EKLER DİZİNİ

<b>Ekler</b>		<b>Sayfa</b>
Ek 1.	<i>L.esculentum</i> ve <i>L.chilense</i> 'de Kök ve Gövde Uzunluğunun Varyans Analizi Sonuçları.....	73
Ek 2.	<i>L.esculentum</i> ve <i>L.chilense</i> 'de Uygulamanın Birinci Günü ve Uygulamanın Beşinci Günü OSİ'nin Varyans Analizi Sonuçları.....	74
Ek 3.	<i>L.esculentum</i> ve <i>L.chilense</i> 'de Uygulamanın Birinci Günü ve Uygulamanın Beşinci Günü Klorofil a İçeriğinin Varyans Analizi Sonuçları.....	75
Ek 4.	<i>L.esculentum</i> ve <i>L.chilense</i> 'de Uygulamanın Birinci Günü ve Uygulamanın Beşinci Günü Klorofil b İçeriğinin Varyans Analizi Sonuçları.....	76
Ek 5.	<i>L.esculentum</i> ve <i>L.chilense</i> 'de Uygulamanın Birinci Günü ve Uygulamanın Beşinci Günü Klorofil a/b İçeriğinin Varyans Analizi Sonuçları.....	77
Ek 6.	<i>L.esculentum</i> ve <i>L.chilense</i> 'de Uygulamanın Birinci Günü ve Uygulamanın Beşinci Günü Toplam Klorofil İçeriğinin Varyans Analizi Sonuçları.....	78
Ek 7.	<i>L.esculentum</i> ve <i>L.chilense</i> 'de Uygulamanın Birinci Günü ve Uygulamanın Beşinci günü $\beta$ -karoten İçeriğinin Varyans Analizi Sonuçları.....	79
Ek 8.	<i>L.esculentum</i> ve <i>L.chilense</i> 'de Uygulamanın Birinci Günü ve Uygulamanın Beşinci günü $\beta$ -karoten / klorofil İçeriğinin Varyans Analizi Sonuçları.....	80
Ek 9.	<i>L.esculentum</i> ve <i>L.chilense</i> 'de Uygulamanın Birinci Günü ve Uygulamanın Beşinci Günü Toplam SOD Aktivitesinin Varyans Analizi Sonuçları.....	81

Ek 10.	<i>L.esculentum</i> ve <i>L.chilense</i> 'de Uygulamanın Birinci Günü ve Uygulamanın Beşinci Günü Cu/Zn-SOD Aktivitesinin Varyans Analizi Sonuçları.....	82
Ek 11.	<i>L.esculentum</i> ve <i>L.chilense</i> 'de Uygulamanın Birinci Günü ve Uygulamanın Beşinci Günü Fe/Mn-SOD Aktivitesinin Varyans Analizi Sonuçları.....	83
Ek 12.	<i>L.esculentum</i> ve <i>L.chilense</i> 'de Uygulamanın Birinci Günü ve Uygulamanın Beşinci Günü AP Aktivitesinin Varyans Analizi Sonuçları.....	84
Ek 13.	<i>L.esculentum</i> ve <i>L.chilense</i> 'de Uygulamanın Birinci Günü ve Uygulamanın Beşinci Günü GR Aktivitesinin Varyans Analizi Sonuçları.....	85
Ek 14.	<i>L.esculentum</i> ve <i>L.chilense</i> 'de Uygulamanın Birinci Günü ve Uygulamanın Beşinci Günü KAT Aktivitesinin Varyans Analizi Sonuçları.....	86
Ek 15.	<i>L.esculentum</i> ve <i>L.chilense</i> 'de Uygulamanın Birinci Günü ve Uygulamanın Beşinci Günü MDA İçeriğinin Varyans Analizi Sonuçları.....	87
Ek 16.	<i>L.esculentum</i> ve <i>L.chilense</i> 'de Uygulamanın Birinci Günü ve Uygulamanın Beşinci Günü Askorbat İçeriğinin Varyans Analizi Sonuçları.....	88
Ek 17.	Askorbat analizi için HPLC kromatogram örnekleri.....	89
Ek 18.	$\beta$ -karoten analizi için HPLC kromatogram örnekleri.....	89

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil		Sayfa
Şekil 2.1.	Yüksek bitkilerde kuraklık stresine fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler yanıtlar.....	8
Şekil 2.2	Bitki hücresinde H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /antioksidant mekanizması.....	10
Şekil 2.3.	Bitkilerde ROT'nin süpürülme yolları.....	12
Şekil 2.4.	Absisik asidin kimyasal yapısı.....	14
Şekil 2.5.	ABA biyosentezinin düzenlenmesi.....	15
Şekil 2.6.	Bitki hücrelerinde çeşitli uyarılara yanıt olarak Ca <sup>2+</sup> iyonunun sistematik diyagramı.....	17
Şekil 2.7.	Bir sinyal molekülü olarak ABA'in Ca <sup>2+</sup> kanallarına etkisi.....	19
Şekil 2.8.	Abiyotik stres koşullarında antioksidant enzim aktivitesinin uyarılmasında ABA, Ca <sup>2+</sup> ve H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 'in rolü.....	21
Şekil 4.1.	Uygulamanın birinci günü <i>L. esculentum</i> 'un toplam-SOD, Cu/Zn-SOD, Mn-SOD, Fe-SOD aktivitesi.....	38
Şekil 4.2.	Uygulamanın birinci günü <i>L.chilense</i> 'nin toplam-SOD, Cu/Zn-SOD, Mn-SOD, Fe-SOD aktivitesi.....	39
Şekil 4.3.	Uygulamanın beşinci günü <i>L. esculentum</i> 'un toplam-SOD, Cu/Zn-SOD, Mn-SOD, Fe-SOD aktivitesi.....	40
Şekil 4.4.	Uygulamanın beşinci günü <i>L.chilense</i> 'nin toplam-SOD, Cu/Zn-SOD, Mn-SOD, Fe-SOD aktivitesi.....	40
Şekil 4.5.	Uygulamanın birinci gününde <i>L.esculentum</i> ve <i>L.chilense</i> 'de AP aktivitesi.....	41
Şekil 4.6.	Uygulamanın beşinci gününde <i>L.esculentum</i> ve <i>L.chilense</i> 'de AP aktivitesi.....	42
Şekil 4.7.	Uygulamanın birinci gününde <i>L.esculentum</i> ve <i>L.chilense</i> 'de GR aktivitesi.....	43
Şekil 4.8.	Uygulamanın beşinci gününde <i>L.esculentum</i> ve <i>L.chilense</i> 'de GR aktivitesi.....	43

Şekil 4.9.	Uygulamanın birinci gününde <i>L.esculentum</i> ve <i>L.chilense</i> 'de KAT aktivitesi.....	45
Şekil 4.10.	Uygulamanın beşinci gününde <i>L.esculentum</i> ve <i>L.chilense</i> 'de KAT aktivitesi.....	45
Şekil 4.11.	Uygulamanın birinci gününde <i>L.esculentum</i> ve <i>L.chilense</i> 'de MDA içeriği.....	46
Şekil 4.12.	Uygulamanın beşinci gününde <i>L.esculentum</i> ve <i>L.chilense</i> 'de MDA içeriği.....	47
Şekil.4.13.	Uygulamanın birinci gününde <i>L.esculentum</i> ve <i>L.chilense</i> 'de askorbat içeriği.....	48
Şekil.4.14.	Uygulamanın beşinci gününde <i>L.esculentum</i> ve <i>L.chilense</i> 'de askorbat içeriği.....	49

## SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

$O_2^1$	: Singlet oksijen
$O_2^{\cdot -}$	: Süperoksit radikali
$OH^{\cdot}$	: Hidroksil radikali
SOD	: Süperoksit dismutaz
GR	: Glutasyon redüktaz
DHAR	: Dehidroaskorbat redüktaz
MDHA	: Monodehidroaskorbat
MDHAR	: Monodehidroaskorbat redüktaz
GSH	: Okside glutasyon
GSSG	: Redükte glutasyon
ROT	: Reaktif oksijen türleri
ABA	: Absisik asit
KAT	: Katalaz
AP	: Askorbat peroksidaz
CaM	: Kalmodulin
$IP_3$	: Inositol fosfataz
OSİ	: Oransal su içeriği
PVP	: Polivinil polipirrolidon
Klo-a	: Klorofil a
Klo-b	: Klorofil b
$Ca^{2+}$	: Kalsiyum

## 1. GİRİŞ

Kuraklık, yüksek tuzluluk ve sıcaklık artışları toprak erozyonuna ve bitki örtüsünün bozulmasına neden olmaktadır. Dünyanın kullanılabilir tarım alanlarının sadece %10'undan daha az bir kısmının bu stres koşullarına uğramadığı tahmin edilmektedir [1]. En yaygın olarak görülen stres tipleri kuraklık ve tuzluluktur [2]. Dünyadaki tarım alanlarının %45'i kuraktır ve bu alanların %30'u insan Populasyonlarının yaşadığı alanlardır [3]. Ülkemizde, bugün hızlı nüfus artışına paralel olarak, tarım ürünlerine olan ihtiyaç giderek artmaktadır. Buna karşılık, tarım alanları azalmakta, aşırı gübreleme toprakların çoraklaşmasına, kireçlenmesine ve tuzlanmasına neden olmaktadır.

Domates, yılda 70 milyon tona yaklaşan bir üretimi olup, Akdeniz bölgesinde en fazla yetiştirilen sebzelerden birisidir [4]. Dünya domates üretiminin %30'u Akdeniz ülkelerinde yapılır [5]. Domates bitkisi değişik iklim koşullarında yetiştirilir ve ticari olarak büyük öneme sahiptir. Genellikle Akdeniz ülkelerinin yarı kurak bölgelerinde yüksek verim elde edilmektedir. Domatesin oldukça geniş bir kullanım alanı bulunmaktadır [6]. *Lycopersicon* cinsi içinde genetik çeşitliliğin yüksek olması ve bu cins içerisinde bulunan bazı yakın akraba türler ile kültür domatesinin uyuşması sayesinde yeni karakterlerin ıslahçılar tarafından kullanılması, ayrıca adaptasyon yeteneğinin yüksek olması; domatesin dünya üzerinde yetiştiriciliğinin yaygınlaşmasını sağlamıştır [7].

Bitki türlerinin dağılımını düzenleyen en önemli faktörlerden ve bitki verimliliğini etkileyen en önemli kısıtlayıcılardan biri kullanılabilir sudur [8]. Kuraklığa maruz kalan tarım alanlarında %50 veya daha fazla ürün kaybı meydana gelir [9]. Yaşamın anahtar kelimelerinden biri sudur [10]. Bütün karasal bitkiler normal büyüme ve gelişme için serbest suya ihtiyaç duyarlar [11]. Eğer ulaşılabilir uygun termodinamik su çok az ise bitki kuraklık stresine maruz kalır. Kuraklık stresi; radyasyon, yüksek sıcaklık, yüksek buharlaşma, donmuş toprak, toprak kuruluğu veya tuzlu topraklarda suyun bağlı olması durumlarında gerçekleşir [12]. Bitkiler çevresel su sıkıntısında hayatta kalmak için çeşitli stratejiler geliştirirler.

Bunlardan biri kuraklıktan sakınım (kaçma), diğeri de kuraklığa toleranstır. Kuraklık stresi diğere stres olaylarından farklıdır, stresin şiddetine, süresine ve bitkinin türüne bağlı olarak bitki metabolizmasını değıştirir [13].

Akdeniz bölgesi bitkileri özellikle yaz aylarında ulaşılabilir düşük su potansiyeli, yüksek ışık şiddeti ve yüksek sıcaklık gibi birçok çevresel stres koşullarının kombinasyonuna maruz kalırlar [14]. Kuraklık stresi olarak bilinen bu stres kombinasyonları oksidatif hasara neden olur ve bu durumda zararlı oksijen türleri meydana gelir [15]. Aerobik metabolizma sırasında elektron transport zincirinden ayrılan elektronlar  $O_2$  ile reaksiyona girerek süperoksit radikali ( $O_2^-$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve hidroksil radikali ( $OH^\bullet$ ) gibi reaktif oksijen türleri (ROT) meydana getirirler. ROT'leri rastgele reaksiyonlarla lipid peroksidasyonuna, DNA zararına, protein denatürasyonuna ve programlı hücre ölümüne (apoptosis) neden olur. Bitkiler oksijenin zararlı etkilerini ortadan kaldırmak için antioksidant savunma sistemi geliştirmişlerdir [16,17]. Kuraklık toleransının kazanılmasında enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidantlar toksik oksijen türlerini ortadan kaldırmada önemli rol oynarlar [18]. Bu savunmada süperoksit dismutaz (SOD, E.C.1.15.1.1) enzimi merkezi bir role sahiptir. Süperoksit radikalleri sitoplazma, mitokondri ve kloroplastlara yerleşmiş olan farklı SOD tiplerinin aktivitesi ile hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ )'e dönüştürülür. SOD aktivitesinin bu toksik ürünü askorbat peroksidaz (AP, E.C.1.11.1.11) ve glutatyon reduktaz (GR, EC 1.6.4.2) tarafından ortadan kaldırılır. Katalaz (KAT, EC. 1.11.1.6.) enzimi ise oluşan  $H_2O_2$  'i suya, ve moleküler  $O_2$ 'e dönüştürür [19]. Bu reaktiflerin zararsızlaştırılmasında enzimatik olmayan antioksidantlar da rol oynar. Bunlardan askorbik asit hidrofilik antioksidant, karoten pigmentler lipofilik antioksidanttır ve bunlar fotosentetik sistemlerin temel bileşenleridir [20].

Absisik asit (ABA) bitki büyüme ve gelişmesinin düzenlenmesinde rol alan bir hormondur [21]. Bitkiler çevresel strese maruz kaldığı zaman stomaların kapanmasına ve stresle ilgili bir çok genin ifadesinin uyarılmasına neden olur [22]. Vejetatif dokularda özellikle kuraklık stresine yanıt olarak ABA sentezlenir. Bu nedenle ABA stres hormonu olarak adlandırılır [23]. Strese yanıt olarak özellikle



köklerde ABA seviyesi artar [24]. Son yıllarda, antioksidant savunmanın uyarılmasında ABA'nın rolü olduğuna ilişkin çalışmalar yapılmıştır [25,26]. Bitkilerin metabolizmalarının düzenlenmesinde özellikle hücrenin hayatta kalması ve metabolik durgunluğun olduğu durumlarda ABA'in etkisi olmaktadır. Bitkilerin abiyotik strese yanıtında en önemli düzenleyici ABA'dır [27]. ABA kuraklık, düşük sıcaklık, yüksek sıcaklık ve tuzluluk gibi abiyotik streste yer alır ve bu stres şartlarına bitkilerin yanıtının düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. ABA  $O_2^-$  ve  $H_2O_2$  gibi reaktif oksijen türlerinin (ROT) artmasına neden olur [28]. Ayrıca ABA enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidant savunma sisteminin kapasitesini artırır ve antioksidant genlerin ifadesini uyarır [29].

Kompleks bir sistem olan sinyal-iletim yolları ve gelen uyarının ortaya çıkardığı yanıt arasında bir ilişki söz konusudur. Bitkilerde hormon uyarısı hücrenel yanıtı dönüştürülür.  $Ca^{2+}$  ikincil haberci olarak ilk uyarı-iletim basamaklarında merkezi bir role sahiptir. Bitki hücrelerinde ABA uyarı iletiminde  $Ca^{2+}$ 'un rolü olduğu bildirilmiştir [26]. ABA sitoplazmik serbest  $Ca^{2+}$  miktarını artırır. Hücreler arası boşluklardan  $Ca^{2+}$ 'un hücre içine akışını veya hücre içi depolardan sitoplazmaya  $Ca^{2+}$  salınımını gerçekleştirir. ABA'nın uyardığı  $H_2O_2$  üretimi ve  $H_2O_2$ 'in aktive ettiği  $Ca^{2+}$  kanalları, ABA uyarı iletiminin önemli bir bileşenidir [26].

Sıcaklık stresi altında sitoplazmik serbest  $Ca^{2+}$  miktarının artışı sıcaklık zararını azaltabilir ve lipid peroksidasyonunu düşürerek hücrelerin hayatta kalmasını sağlayabilir [30]. Ayrıca farklı konsantrasyonlarda  $Ca^{2+}$ 'un farklı etki gösterdiği de gözlenmiştir. Bununla birlikte, sitoplazma içinde aşırı  $Ca^{2+}$  salınımı ve sitoplazmik serbest  $Ca^{2+}$  konsantrasyonunun sürdürülmesi sitotoksik olabilir.  $Ca^{2+}$ 'un düzenlediği antioksidant savunma mekanizmasıyla ilgili veriler ise hala eksiktir [30].

Bu çalışmanın amacı, kuraklık stresi koşullarında yetiştirilen kuraklığa toleranslı ve nispi duyarlı iki domates türünde kalsiyum ve absisik asitin bazı enzimatik ve enzimatik olmayan metabolik değişimler ve büyüme parametreleri üzerine karşılıklı etkilerini ortaya koymaktır. Bu amaçla çalışmamızda, kuraklık

stresine maruz bırakılan domates fidelerinde büyüme, oransal su içeriği, pigment içerikleri, antioksidant enzim aktiviteleri, askorbat içeriği ve lipid peroksidasyonu üzerine absisik asit ve/veya kalsiyum kombinasyonlarının etkileri uygulamaların birinci ve beşinci gününde ayrı ayrı incelenmiştir.

## 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Bitkiler tundralardan yağmur ormanlarına; sulak alanlardan çöllere ve alçak alanlardan alpin bölgelere kadar çok geniş yayılış gösterirler [31]. Bitkiler doğal yaşam alanlarında yaşamları üzerinde kısıtlayıcı olan büyüme, gelişme ve ürün verimini etkileyen pek çok stres faktörlerine maruz kalırlar [32,33].

Organizmaların strese verdikleri yanıtlar genetik yapılarına bağlı olarak değişmektedir. Bitkiler stresin algılanmasıyla başlayan ve hedef genlerin ifadesiyle sonlanan olaylar ağı ve art arda tetikleyiciler tarafından strese alışırlar. Bunlar stres uyarıları, taşıyıcılar, transkripsiyon düzenleyicileri, hedef genler ve stres tepkileridir. Bunların etkisiyle bitkide fizyolojik, biyokimyasal ve morfolojik değişimler olur. Bitkiler strese benzer yollarla yanıt verebilirler. Çapraz tolerans olarak bilinen bu olay spesifik bir strese maruz bırakıldıktan sonra bitkilerin farklı streslere alışmasına / toleransa yol açar [34]. Bitkilerin belirli bir stres faktörüne olan tepkileri; yaşa, adaptasyon derecesine, mevsime ve günlük aktiviteye bağlı olarak değişiklik gösterir [35].

### 2.1. STRES KOŞULLARINA KARŞI BİTKİLERİN YANITI

Bitkilerde stres faktörleri biyotik veya abiyotik kökenli olabilir. Biyotik stres faktörleri patojen saldırıları; virüs, böcek, bakteri ve fungus gibi başka canlılardan kaynaklanır. Abiyotik stres faktörleri ise fiziksel veya kimyasal kökenli olabilir. Bunlar, kuraklık, tuz, soğuk, sıcaklık, ağır metaller, UV radyasyonu, hava kirliliği (ozon, SO<sub>2</sub>), mekanik stres, yüksek ve düşük ışık şiddetini içerir [36]. Bu stres faktörleri arasında kuraklık stresi bitki büyümesi, gelişmesi ve bitki verimliliğini kısıtlayan en önemli abiyotik stres faktörlerinden biridir [37,38,39].

Bitkilerde stres faktörlerine karşı iki farklı tepki gözlenir. Bunlar stres faktörlerinden kaçınma veya bu faktörlere toleranstır [35].

- ❖ Kaçınma: Stres faktörlerinin bitki dokusuna girişinin önlenmesini veya azaltılmasını ifade eder.
- ❖ Tolerans: Stres faktörlerinin etkisini ortadan kaldırma, azaltma veya tamir etme mekanizmalarını kapsar.

## 2.2. KURAKLIK STRESİ

Yaşamın hücresel temeli tartışmalı olmasına rağmen su kesinlikle gereklidir. Yaşamın anahtar bileşenlerinden biri sudur. Bu nedenle Dünya dışındaki Mars ve benzeri yerlerde yaşam için su araştırılmaya başlanmıştır [40]. Kramer ve Boyer [9] bitkilerde suyun fonksiyonunu 4 grupta özetlemiştir.

- ❖ Su otsu bitkilerin taze ağırlığının %90'ından fazlasını içerir,
- ❖ Ayrıca su yüksek yüzey gerilimi, yalıtkan özelliği, yüksek ısıda buharlaşma gibi biyofiziksel özellikleriyle iyi bir çözücüdür.
- ❖ Su önemli bir tepkendir, yani fotosentezde elektron vericisi olarak birçok önemli biyokimyasal reaksiyonda kritik rol oynar.
- ❖ Fizyolojik özelliğinden dolayı hücre turgorunun sürdürülmesindeki anahtar bileşen sudur.

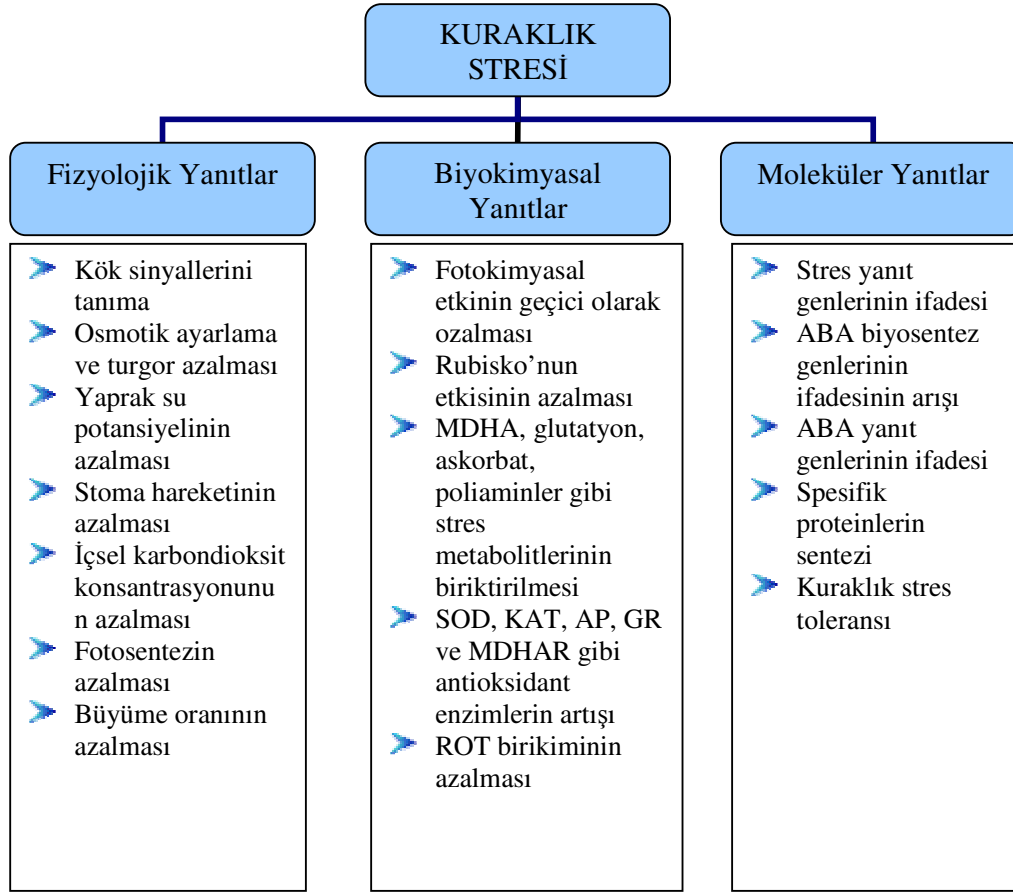
Bitki türlerinin dağılımını düzenleyen ve bitki verimliliğini kısıtlayan en önemli faktörlerden biri kullanılabilir sudur [8]. Eğer ulaşılabilir uygun termodinamik su çok az ise bitkide kuraklık stresi meydana gelir. Yağışın azalması tek başına kuraklık stresi için yeterli değildir. Kuraklık stresi; radyasyon, yüksek sıcaklık, yüksek buharlaşma, donmuş toprak, toprak kuruluğu veya tuzlu topraklarda suyun bağlı olması durumlarında gerçekleşir. Dünyanın 3'te 1'i karasal alanlardır [12]. Dünyadaki bu kara parçalarının %35'inin üzerindeki kısmı ise kurak veya yarı kurak alanlardır ve bu alanlar tarım için elverişsizdir. Kuraklığa maruz kalan tarımsal alanlar %50 veya daha fazla ürün kaybına uğrarlar [9].

Bitkiler çevresel su sıkıntısında hayatta kalmak için çeşitli stratejiler geliştirmişlerdir [9]. Bu stratejilerden biri kuraklıktan kaçınma (sakınma) diğeri ise kuraklığa toleranstır [9,41].

- ❖ Kuraklıktan kaçınma; su sıkıntısında hayatta kalmak için çok önemli bir adaptasyondur. Bitkinin çevreyle temasta olan yüzeylerindeki morfolojik ve kimyasal yapıdaki değişiklikler: Kütikulanın gelişmesi, fiziksel ve kimyasal destek elemanlarının gelişmesi, stomaların büyüklüğünün, dağılımının ve yerleşiminin değişimi, oransal su içeriğinin artışı, kuraklığa vejetatif dokuların adaptasyonu, kuraklığa vaskular dokuların adaptasyonu, kurak ortamda üreme ve döllenme stratejilerinin gelişmesi, üretken hücrelerin korunması, su ileten ksilemin trakeidlerinin ligninleşmesi ve benzeri değişiklikler ile bitki yaşamı ve üretkenliği korunur [9].
- ❖ Kuraklık toleransı; biyolojinin en ilginç fenomenlerinden biridir ve 21. yüzyılın en önemli araştırmalarından biri kuraklık toleranslı bitkilerin üretilmesidir. Bitkilerin kuraklık toleransında en önemli unsurlardan biri şeker ve diğer çözünen maddelerin kullanılmasını gerektiren osmotik düzenleme ile su potansiyelinin korunmasıdır. Kuraklık toleransının kazanılmasında enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidantlar toksik oksijen türlerini ortadan kaldırmada önemli bir işleve sahiptirler [16]. Biyokimyasal olaylarda onarım mekanizmaları stresin yol açtığı zararı azaltabilir [9]. Moleküler ve fotosentetik seviyedeki değişiklikler kuraklığın neden olduğu zararı baskılayabilir [35,42] (Şekil 2.1).

### 2.2.1. Bitkilerde Kuraklığın Neden Olduğu Oksidatif Stres

Yaşamın devamı için gerekli olan, kuraklık stresi gibi çevresel koşulların değişmesine, bitkilerin uyumudur. Kuraklık stresine bitkilerin yanıtında özellikle kloroplast mekanizması referans olarak gösterilir ve bu da oldukça kompleksdir. Kuraklık stresinde dokularda fotosentetik inhibisyon olduğu bilinmektedir[43].



Şekil 2.1. Yüksek bitkilerde kuraklık stresine fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler yanıtlar [32].

Bitkilerde kuraklık stresi süresince yapraklarda kloroplastların fotokimyasal değişimi anten sisteminde ve fotosistem II (PSII) merkezinde eksitasyon enerjisinin dağıtılması, elektron üretimi ve akışının sınırlanması ile sonuçlanır [20]. Böylece kuraklık stresi altında reaktif oksijen türleri oluşur ve bunlar hücre için oldukça tehlikelidir [44]. Ayrıca kuraklık stresi altında fotosentetik elektron taşınmasının değişmesi süperoksit radikalının oluşmasına neden olur. Fotosentetik elektron taşınması kuraklık stresini tolere etmesine rağmen, bitkilerin yaklaşık %20-30'u bunu yapamaz. Kuraklık belirgin bir şekilde pigment kaybına neden olmaz fakat tilakoid membranların organizasyonunu bozar [45]. Stres koşullarında PSI ve PSII arasında çevre koşullarından etkilenme bakımından farklılıklar olduğu bilinmektedir.

PSII ile ilgili fotokimyasal reaksiyonlar kuraklığa daha duyarlıdır. PSII'nin baskılanması ve termodinamik kısıtlamalar kuraklık stresine maruz kalan yapraklarda elektron akşını engellemeye çalışır ve biyolojik sistemlerde oksidatif zararın çoğundan sorumlu olan serbest radikalleri meydana getirir [32].

Biyolojik sistemlerde serbest radikaller rastgele reaksiyonlarla lipid peroksidasyonuna, DNA zararına, protein denatürasyonuna ve programlı hücre ölümüne (apoptosis) neden olur [15]. Bitki dokularında kuraklık stresinde :

- ❖ ROT'nin üretiminin artışı ve hedef moleküllerin okside olması,
- ❖ Antioksidant fonksiyon için genlerin ifadesinin artışı,
- ❖ Antioksidantlar ve antioksidatif sistemlerin düzeyinin artışı,
- ❖ ROT'nin süpürücü kapasitesinin artışı,

kuraklığa karşı tolerans meydana getirir [46]. Bitki hücrelerinde stres sırasında üretilen ikincil ürünler lipid peroksitler ve tiol radikalleridir.

Bütün bitkilerde ROT'nin zararlı etkisi enzimatik (SOD, KAT, GR, AP) ve enzimatik olamayan (karotenoidler, askorbik asit, glutatyon, flavonlar ve tokoferol) mekanizmalar tarafından ortadan kaldırılır [32].

### 2.3. OKSİDANT VE ANTİOKSİDANT ARABULUCU SİNYALLER

Bitki metabolizmasını, morfolojisini ve gelişmesini düzenleyicilerin anahtarı redoks sinyalleri olarak kabul edilmektedir. Bunlardan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kritik bir bileşendir, özellikle çevresel uyartılar ile meydana gelmektedir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ayrıca, stres sırasında hayatta kalmak için anahtar bir bileşendir ve çapraz toleransta merkezi bir rol oynar [34].

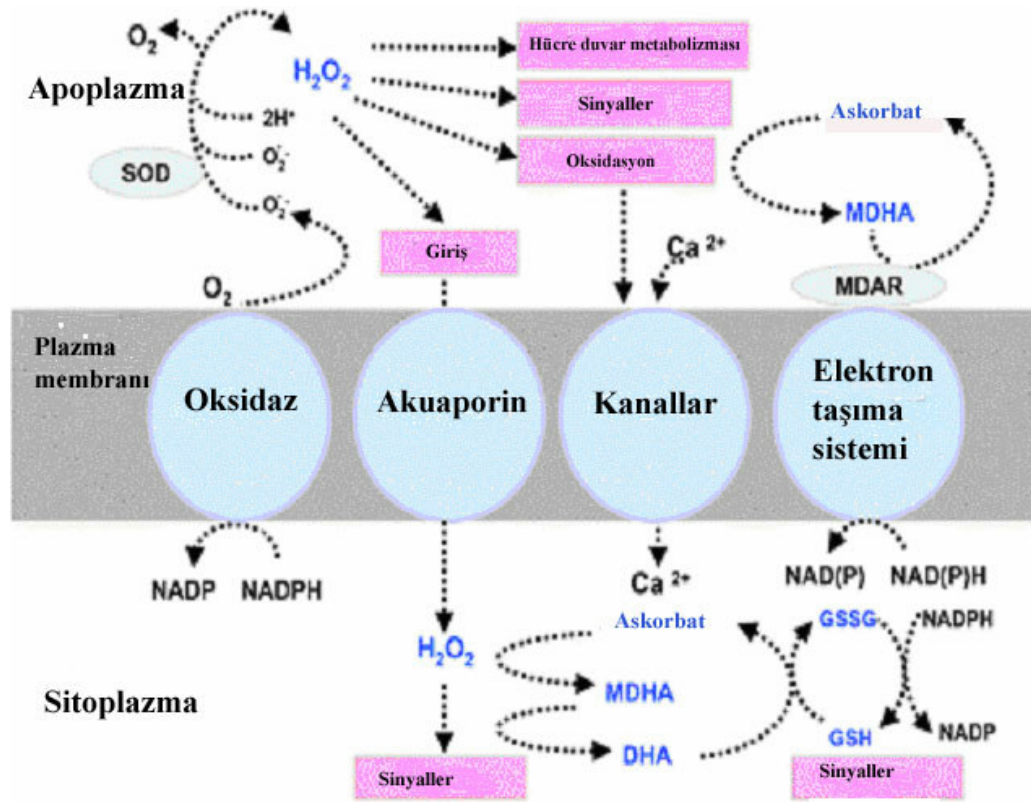
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in artışı bitki savunma yanıtını kuvvetlendiren bir yol olarak gen ifadesini değiştirir ve sadece uyarı ağının bir kısmını etkiler. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> özellikle hormonlarla ilişkilidir. Ayrıca nitrik oksit ve Ca<sup>2+</sup> gibi diğer ikincil habercilerin etkilerini değiştirmektedir [15,34].

$H_2O_2$ 'in ömrü hücre içindeki askorbat-glutatyon miktarı ile belirlenir; bu antioksidantlar, antioksidant enzimlerle birlikte fonksiyon gösterir. Burada sitoplazmaya oranla apoplast daha az antioksidant savunmaya sahiptir. Bu nedenle plazma membranı veya hücre duvarı  $H_2O_2$  sentezlediğinde  $H_2O_2$  birikimi artmaktadır [15,34].

Şekil 2.2'de görüldüğü gibi apoplastta  $H_2O_2$ ; SOD ve NADPH oksidazın kombine aktivasyonu ile üretilir. Apoplastta  $H_2O_2$  doğrudan hücre-duvar metabolizmasını kullanabilir ve askorbat ile okside edilir. Sistemik veya lokal bir uyarı halinde doğrudan etkiyebilir. En önemlisi eş zamanlı uyarı iletiminde en az 3 farklı yolda tetikleyici olabilir.

A) Doğrudan aquaporinlerle sitoplazma içine girebilir.

B)  $H_2O_2$  hücre içine  $Ca^{2+}$  akışını modifiye eder, bundan dolayı  $Ca^{2+}$ 'un uyardığı sinyal yollarını değiştirir.



Şekil 2.2. Bitki hücresinde  $H_2O_2$ /antioksidant mekanizması [ 34].



C) Rejenerasyon için askorbatın okside formları plazma membranı ile ilişkidir veya sitoplazmaya geri döner. Askorbatın okside formları kendi kendine uyarı taşıyan molekül olarak etki gösterir. DHA hücrede büyüme düzenleyicisi olmasına karşın, MDHA hücre döngü düzenleyicisidir ve hücrede glutasyon havuzu ile ilişkidir. DHA diğer uyarılarda tetikleyici olabilir çünkü GSH indirgenir ve GSSG okside olur. MDAR plazma membranı elektron taşıma sistemi ile uyarı iletimine katılabilir.  $O_2^-$  kendisi uyarının bağımsız bir tetikleyicisi olabilir fakat çoğunlukla apoplastik SOD'ın aktivitesiyle  $H_2O_2$ 'e çevrilir [ 34 ].

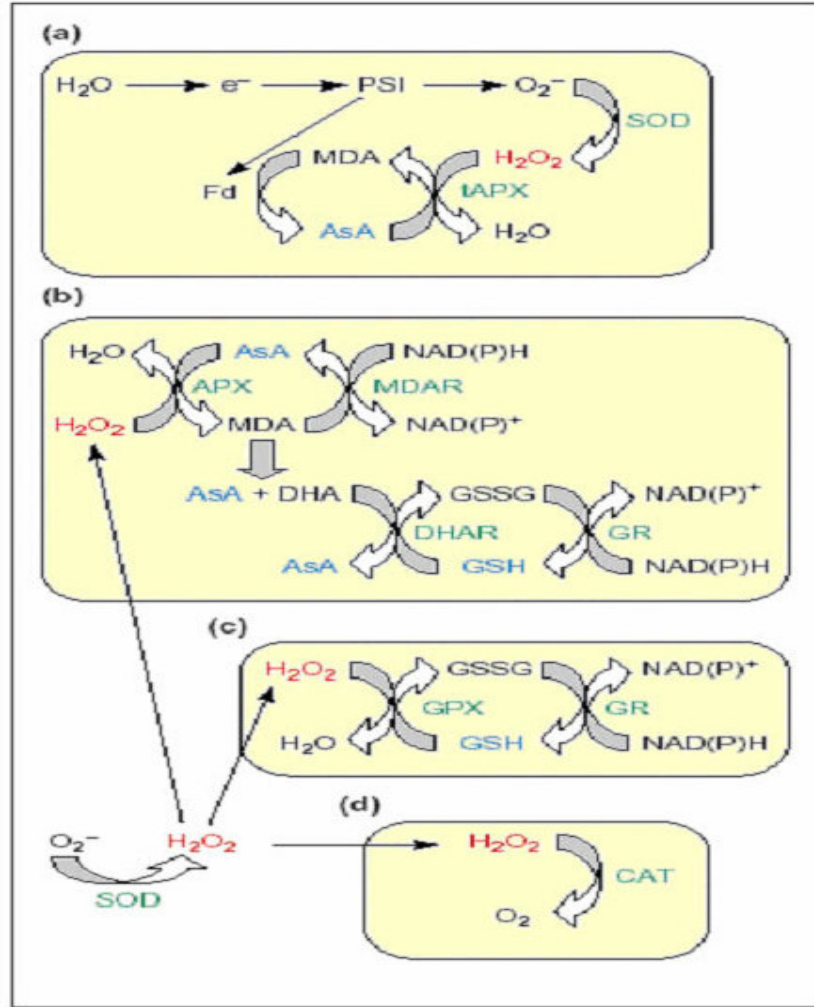
Bitkilerde ROT'nin uyarı iletim yolundaki anahtar basamakları bilinmektedir. Bunlar, hücrelerin farklı kısımlarında ROT'nin üretilmesi uyarıları, oluşturdukları stres ve bunun ortadan kaldırılması (süpürülmesi ) arasındaki ilişkileri içeren bilgilerdir ve araştırmalar devam etmektedir [15,47].

Stres boyunca ROT'nin üretiminin artması hücrelerde bir tehdit olabilir, fakat ROT'inden korunma yolları ve stres-yanıtının aktifleşmesinde bir uyarı olarak etki gösterebilir. Böylece ROT stres-yanıt iletim yolunda ikincil haberci olarak ve stresin hücreselel indikatörü olarak görülebilir [ 15,47].

Bitkilerin en önemli ROT süpürücü mekanizmaları SOD, askorbat peroksidaz (AP) ve katalazı (KAT) içerir. Hücrelerde SOD, AP ve KAT arasındaki düzenleme süperoksit radikali ve  $H_2O_2$ 'in denge-durum düzeyini belirlemede önemlidir. Bu düzenleme Haber-Weiss veya Fenton reaksiyonlarıyla üretilen  $OH^\bullet$  radikalinin oluşmasını engellemek için önemlidir [20]. KAT stres sırasında fazla ROT'nin kaldırılmasından sorumlu olmasına karşın, AP ROT'nin iyi bir şekilde modülasyonundan sorumludur [48].

Bitkilerin en önemli ROT süpürücü yolları SOD'ı içermektedir. SOD enzimleri metal kofaktörüne bağımlıdır. SOD'ın üç izoenzimi vardır: Fe-SOD kloroplastta, Mn-SOD mitokondri ve peroksizomlarda, Cu/Zn-SOD kloroplast, sitozol ve muhtemelen hücre dışında bulunur. Fe-SOD  $H_2O_2$  ile inaktive olur, KCN'ye dirençlidir. Cu/Zn-SOD KCN, ile inaktive olur. Mn-SOD her iki inhibitöre

de dirençlidir [49]. Kloroplastlarda su-su döngüsü (şekil 2.3-a), kloroplast, mitokondri, sitoplazma, apoplast ve peroksizomlarda askorbat -glutatyon döngüsü (Şekil 2.3-b ), glutatyon–peroksidaz (şekil 2.3-c) ve peroksizomlarda KAT döngüsü (Şekil 2.3-d ) ile ROT süpürülmektedir.



Şekil 2.3. Bitkilerde ROT'nin süpürülme yolları [15]. Semboller: PSI, fotosistem I; SOD, süperoksid dismutaz; MDA, monodehidroaskorbat; AsA, askorbat; Fd, ferrodoksin; APX, askorbat peroksidaz; MDAR, monodehidroaskorbat reduktaz; DHA, dehidroaskorbat; DHAR, DHA reduktaz; GSSG, okside glutatyon; GSH, glutatyon; GR, glutatyon reduktaz; CAT, katalaz.

Yüksek bitkilerde bulunan antioksidant savunma mekanizmasının enzim sistemi dışında aktif oksijen türlerinden korunmak için başka bir mekanizma daha gelişmiştir. Askorbik asit, glutasyon, ve  $\alpha$ -tokoferol aerobik hücrelerde antioksidant olarak görev yaparlar. Ayrıca, fotosentetik sistemlerde karotenoidler ( $\beta$ -karoten ve ksantofiller) önemli antioksidant etkiye sahiptirler [50,51]. Askorbik asit önemli bir antioksidanttır ve sadece  $H_2O_2$  değil  $O_2^{\cdot-}$ ne,  $OH^{\cdot}$  ve lipid hidroperoksitlerine karşı tepki verir. Ayrıca askorbik asitin insan hastalıklarının birçoğunda koruyucu özelliği vardır. Bitkilerde bir çok biyolojik aktivitede askorbik asit belirlenmiştir, bu aktiviteler, enzim kofaktörü olarak, antioksidant olarak ve oksidatif strese direnç gelişmesinde kloroplastlarda veya plazma membranında elektron taşınmasında alıcı veya verici olarak görev yapar [50].

Karotenoidlerin fotosentezdeki rolü iyi bilinmektedir. Karotenoidler, fotosentetik sistemi iki yoldan korurlar:

1.  $\beta$ -karoten doğrudan triplet klorofili ( $^3Klo$ ) ve singlet oksijeni ortadan kaldırır.
2. Ksantofil döngüsü, singlet klorofili ( $^1Klo$ ) ortadan kaldırır.

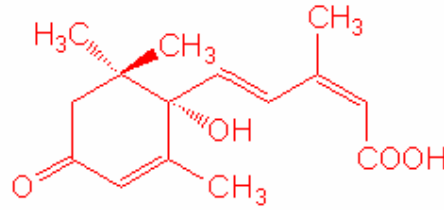
Karotenoidler ışığı toplayıcı pigmentlerdir ve stres koşullarında fotosentetik aygıtları koruyucu işlevleri vardır [52].

#### 2.4. BİTKİLERDE SU STRESİNDE ABA'NIN İŞLEVİ

Çok hücreli organizmalarda dokular içinde organizasyon ve farklılaşmanın düzenlenmesi için hücreler arasında iletişim gereklidir. Çok hücreli organizmalarda bu iletişim hormonal sistemler ve sinir sistemleriyle sağlanmaktadır. Bitkilerde sinir sistemi yoktur. Bitki stresin varlığını algılamak ve buna bağlı olarak hücresel cevap oluşturmak için sinyal molekülleri üretir. Hayvanlarda sinir sistemi ve hormonlar aracılığıyla iletişim sağlanırken bitkilerde de sinyal molekülünü hormonlar ve çeşitli proteinler oluşturur [53].

Bitkiler kendi hücrel metabolizmasını değiştirerek ve çeşitli savunma mekanizmalarına başvurarak çevresel strese uyum sağlar. Abiyotik strese bitkinin yanıtının en önemli düzenleyicisi absisik asit (ABA)'tir.

1950 ve 1960'lı yıllarda tomurcuk ve tohumlarda yapılan absisyon ve dormansi çalışmalarını bir hormonal bitki büyüme inhibitörünün varlığını ortaya koymuştur. 1963 yılında bu inhibitörün kimyasal yapısı incelenmiş ve seskiterpen yapısındaki bu maddeye absisik asit adı verilmiştir. Absisik asit molekülü asimetrik karbon atomu içerir ve bu nedenle optik ve geometrik izomerizm gösterir [53].

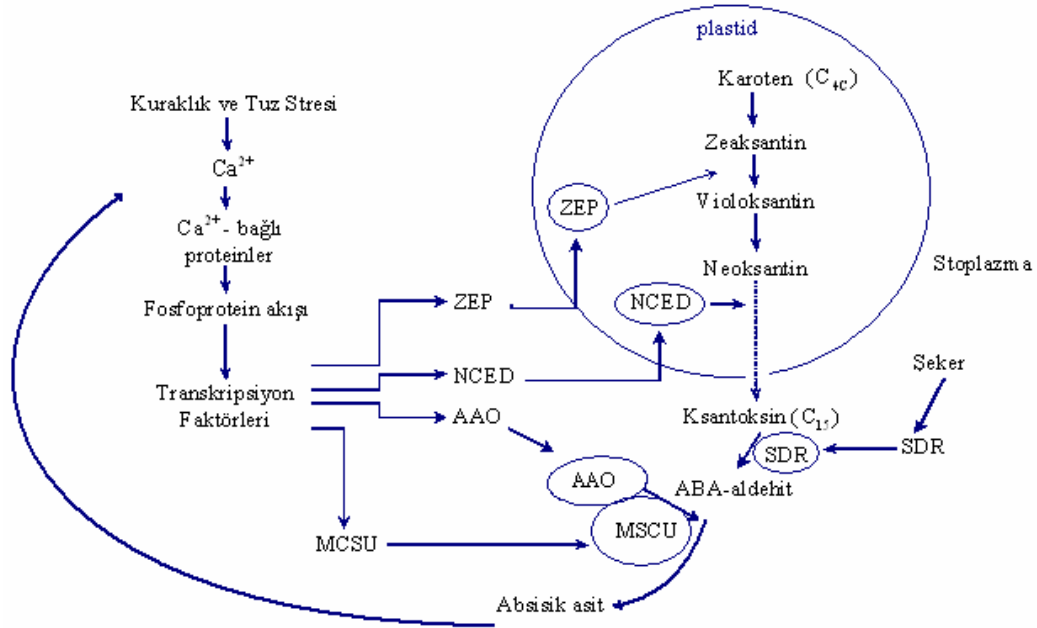


Şekil 2.4. Absisik asidin kimyasal yapısı [53].

ABA; bir bitki büyüme inhibitörü, tomurcuk dormansisi, tohum dormansisi, absisyon, senesens, çiçeklenme, embriyo gelişimi ve tohum çimlenmesi, meyve büyümesi, prolin birikimi, su stresi gibi bazı fizyolojik etkilere sahiptir. ABA yüksek sıcaklık, tuzluluk, kuraklık ve düşük sıcaklık gibi stres şartlarında bitki yanıtının düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. ABA'nın biyosentez yolu biyokimyasal ve genetik çalışmalar ışığında büyük bir şekilde anlaşıldı [54]. Son zamanlarda enzimlerin bütün önemli genlerin biyosentez yolu da belirlendi [54]. Bu nedenle bütün bu biyosentetik yolların ve biyosentez genlerinin bunları nasıl düzenlediği üzerinde çalışılmaktadır.

Stressiz koşullarda bitki hücrelerinde ABA en düşük düzeylerde korunur. Bitkinin normal gelişimi için bu düzey yeterlidir [55]. Vejetatif dokularda düşük sıcaklık, tuzluluk ve kuraklık gibi çevresel strese yanıt olarak ABA seviyesi artar. Stressiz koşullarda bitkiye dışarıdan ABA uygulanması bitki büyümesini inhibe eder fakat stres koşullarında artan ABA içeriği çevresel strese bitkinin yanıtı için yararlı

olur. ABA özellikle kuraklık stresinde su kaybını azaltmak için stomaların kapanmasına neden olur. Ayrıca birçok stres yanıt genlerini, proteinlerin ve enzimlerin aktivasyonunu kodlayan genleri uyarır [56]. Özellikle *Arabidopsis*'in ABA-eksik mutantlarıyla yapılan çalışmalarda ABA biyosentez yolu belirlenmiştir. ABA plastidlerde oksidatif bölünme reaksiyonlarında C<sub>40</sub> epoksikarotenoid'den elde edilir ve ksantoksin aracılığıyla iki basamakta sitoplazmada ABA'ya dönüştürülür. Şekilde de görüldüğü gibi, kuraklık veya tuz stresi gibi abiyotik stres faktörleri ABA biyosentez genlerini aktive eder. ABA Ca<sup>2+</sup>'a bağlı proteinler aracılığıyla fosfoprotein akışı ile ve biyosentetik genlerin ifadesi ile uyarılabilir [57].



Şekil 2.5. ABA Biyosentezinin düzenlenmesi [57]. Semboller: ZEP; zeaksantin epoksidaz; NCED, 9-*cis*-epoksikarotenoid dioksijenaz; AAO, ABA-aldehid oksidaz; MCSU, MoCo sulfuraz; SDR, kısa-zincirli alkol dehidrojenaz/reduktaz.

Yapılan çalışmalarda sinyal iletim yollarında stresin yol açtığı ABA biyosentezi için redoks sinyalleri, Ca<sup>2+</sup> sinyali ve protein fosforilasyonu olayları önerilmektedir [57].

## 2.5. BİTKİLERDE ABSİSİK ASİTİN UYARDIĞI ANTİOKSİDANT SAVUNMA SİSTEMİNDE NADPHoksidaz ARACILIĞIYLA ROT'NİN ÜRETİMİ VE KALSİYUM ARASINDAKİ İLİŞKİ

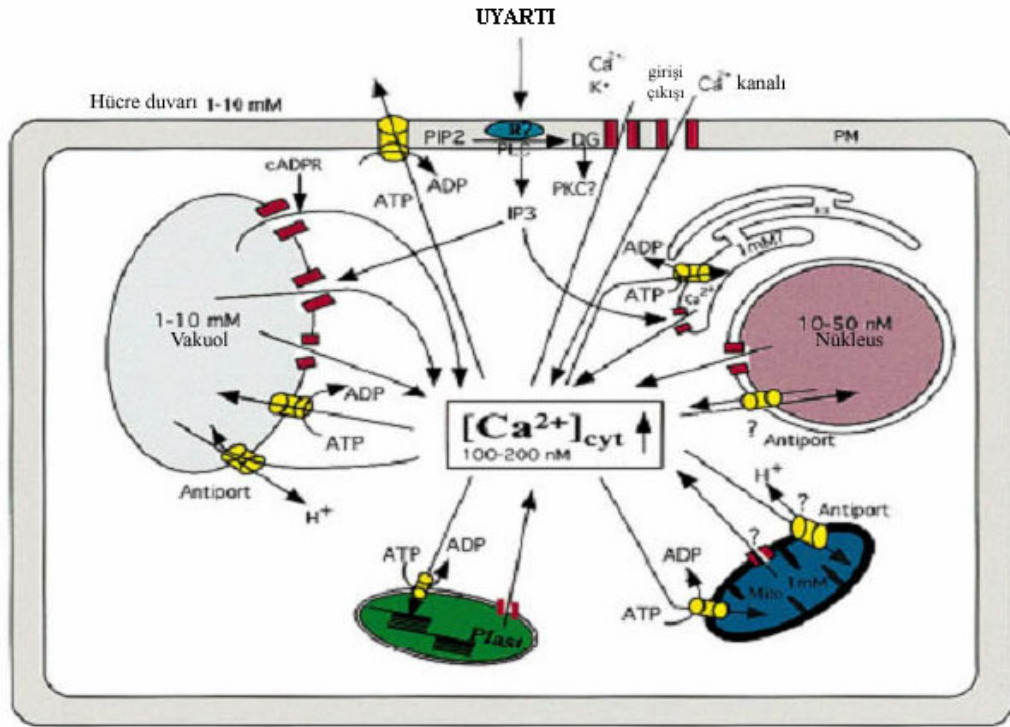
Bitki hücrelerinde oksidatif stresle ABA aktivitesinin ilişkisini gösteren üç kanıt bulunmuştur. Bunlardan birincisi; ABA  $O_2^-$  ve  $H_2O_2$  gibi ROT'nin oluşmasına neden olur. İkincisi; ABA antioksidant genlerin ifade edilmesine, enzimatik veya enzimatik olmayan antioksidant savunma sisteminin kapasitesinin artmasına neden olur. Üçüncüsü; yüksek konsantrasyonda ABA uygulanması hücrelerde oksidatif zarara neden olabilir. ROT antioksidant savunma sisteminin uyarılmasının yol açan ABA-uyartı iletim yolunda önemli bir rol oynar [57,58].

Plazma membranına bağlı NADPH oksidaz sitoplazmik NADPH'tan  $O_2$ 'e elektron transfer eder ve  $O_2^-$  oluşur, bunu  $O_2^-$ 'nin  $H_2O_2$ 'e dismütasyonu izler. Bu olayda ABA-uyartı iletiminde yer alır. ABA'nın uyardığı *Arabidopsis*'in bekçi hücrelerinin stomaların kapanmasında sitoplazmik NADPH'a gereksinim vardır ve yine ABA'nın uyardığı ROT üretimi gibi NADPH oksidaz erken ABA-uyartısının iletilmesinde rol oynar. NADPH oksidaza ilave olarak kloroplastlardaki ışık reaksiyonları da ABA'nın uyardığı ROT üretimine katkıda bulunur [26].

### 2.5.1. Kalsiyum ve Bitki Hormon Aktivitesi

Kompleks bir sistem olan uyarı-iletim yolları ile gelen uyarının ortaya çıkardığı yanıt arasında bir ilişki söz konusudur. Bitkilerde gelen hormon uyarısı hücrel bir yanıtı dönüştürülür.  $Ca^{2+}$  ikincil haberci olarak ilk uyarı-iletim basamaklarında merkezi bir role sahiptir. Uyarı yollarının birbiriyle bağlantılı olması bitki büyüme hormonlarının çok az miktarının bile nasıl hücrel tepkiler meydana getireceği hakkında bilgi verebilir. Bir reseptör ile etkileşimden sonra hormonal uyarı alternatif yollardan biriyle hücreye iletilir ve hücrede bu uyarıya yanıt verir [ 53].

$\text{Ca}^{2+}$  ökaryotik uyarı-iletiminde önemli bir role sahiptir.  $\text{Ca}^{2+}$  iyonunun fiziko-kimyasal özellikleri diğer moleküllerle oldukça spesifik bağlar kurmasına izin verir. Normal metabolizmada sitoplazmik serbest  $\text{Ca}^{2+}$  iyonu konsantrasyonu düşüktür (100 nM) ve kolaylıkla kontrol edilebilir. Örneğin kalmodulin gibi  $\text{Ca}^{2+}$  bağlayan düzenleyici proteinler ile  $\text{Ca}^{2+}$  harekete geçebilir. Bu kalsiyum bağlayıcı proteinler sitoplazmik serbest kalsiyum konsantrasyonunun değişmesinden sorumludur [ 53].



Şekil 2.6. Bitki hücrelerinde çeşitli uyarılara yanıt olarak  $\text{Ca}^{2+}$  iyonunun sistematik diyagramı [ 59]

$\text{Ca}^{2+}$  sitoplazmik konsantrasyonunun değişmesi ile aktif bir uyarı molekülüdür. Buna karşılık, bir etki molekülü olarak uygun değildir. Sitoplazmik serbest  $\text{Ca}^{2+}$  konsantrasyonunun değişmesi bitkinin bütün bölümlerinde olmaktadır. Sitoplazmik serbest  $\text{Ca}^{2+}$  iyonunun değişmesi hormonlarla meydana gelen kompleks bir olaydır. Ayrıca sitoplazmik serbest  $\text{Ca}^{2+}$  un akışı etki moleküllerine de bağlıdır. Bu etki molekülleri aktive edilebilen, şekil değiştirebilen ve  $\text{Ca}^{2+}$  iyonlarıyla bağlanabilen proteinlerdir [53].

### 2.5.2. Kalmodulin

En önemli  $Ca^{2+}$  bağlayıcı proteinin kalmodulin (CaM) olduğu bilinmektedir. CaM 4  $Ca^{2+}$  bağlayıcı cep içeren küçük bir polipeptittir. Evrimsel süreçte kalmodulin molekülü büyük oranda korunmuştur. Bitki ve hayvanlarda kalmodulinin aminoasit düzeyleri %90 oranında benzerdir. CaM kendi aktivasyonundan dolayı diğer proteinlerin bir çoğuna bağlanır. CaM biyokimyasal proseslerin kontrolü, koordinasyonu ve uyarılması için gerekli bir moleküldür.

Kalmodulinin aktivitesi en az iki seviyede düzenleyici olabilir. Bunlardan birincisi  $Ca^{2+}$  konsantrasyonunun ayarlaması, ikincisi ise protein seviyesini düzenlemesidir. Ayrıca  $Ca^{2+}$  pompalarının aktiviteleri de bitki hücrelerinde CaM tarafından düzenlenir.

Bitkilerde birçok uyarı sistemleri ikincil haberci olarak sitoplazmik serbest  $Ca^{2+}$ 'u kullanmakla birlikte,  $IP_3$  ve PH gibi diğer ikincil habercilerde uyarı sistemlerinde rol oynamaktadır [ 53].

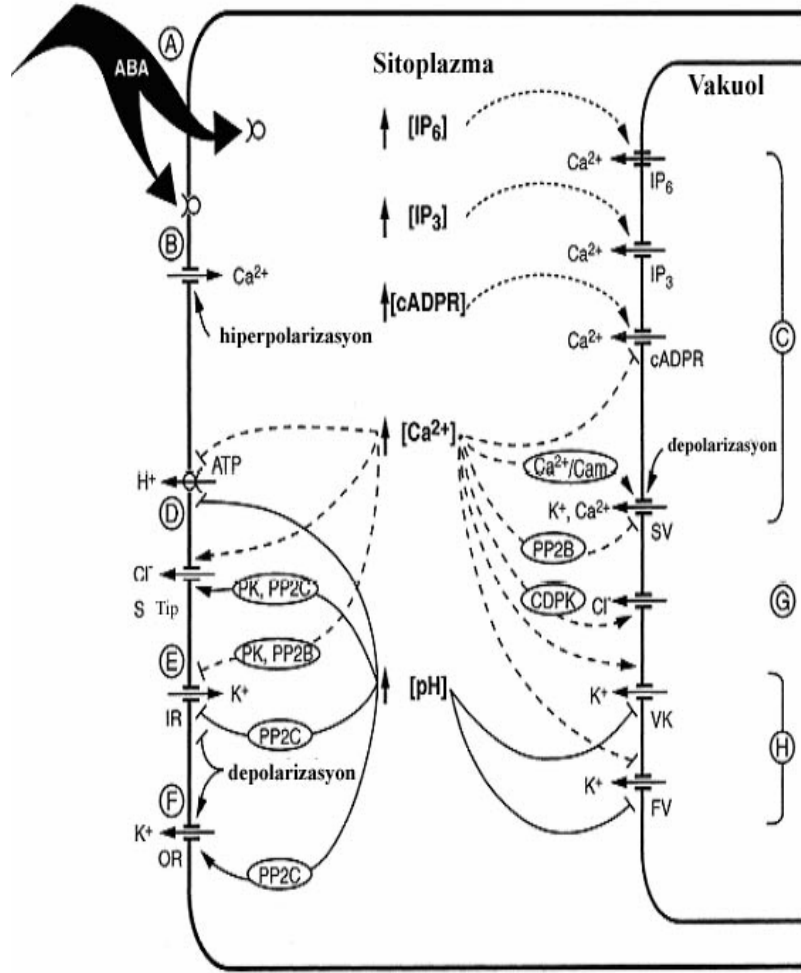
### 2.5.3. İnositol Fosfataz ( $IP_3$ )

$IP_3$  ve  $Ca^{2+}$  arasındaki ilişki çok önemlidir. Çeşitli çalışmalar  $IP_3$ 'ün bitkilerde bir sinyal role sahip olduğunu ve sitoplazmik serbest  $Ca^{2+}$  miktarını düzenleyici rol oynadığı gösterilmiştir.  $IP_3$  uyarıtı vakuolden sitoplazma içine depo  $Ca^{2+}$ 'u serbest bırakır ve böylece bir çok fizyolojik olayı etkiler etkiler [53].

Stoma hücrelerinde  $Ca^{2+}$ 'a bağlı ABA uyarı iletim yolunda ABA'in plazma membranındaki reseptörüne bağlanmasıyla uyarı alım mekanizması başlar ve plazma membranında  $K^+$  girişi inhibe edilir. ABA sitoplazmik serbest  $Ca^{2+}$ 'un artışını uyarır. Hücreler arası boşluklardan  $Ca^{2+}$ 'un hücre içine akışını veya hücre içi depolardan  $Ca^{2+}$  salınmasını gerçekleştirir. *Arabidopsis*'te stomaların kapanması ABA'ya bağlıdır. ABA etkisi ile  $H_2O_2$  üretimi ve  $H_2O_2$ 'nin  $Ca^{2+}$  kanallarını aktive etmesi ABA-uyarım iletim bileşenlerinden en önemlisidir. Bununla birlikte,  $Ca^{2+}$ 'un



NADPH oksidaz aktivitesinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı önerilmektedir.  $Ca^{2+}$  fosforilasyon ile doğrudan veya dolaylı olarak NADPH oksidazın gp91 phox alt birimini aktive ederek NADPH oksidaz aktivitesini düzenler. Bunu kalmodulin tarafından düzenlenen NADkinaz yolu ile NADPH'ın üretimi veya spesifik  $Ca^{2+}$ 'a bağlı protein kinazın aktivasyonunda  $Ca^{2+}$ 'un arabuluculuğu izler [26].



Şekil 2.7. Bir sinyal molekülü olarak ABA'nın  $Ca^{2+}$  kanallarına etkisi [60].

Bitkilerde bu konuyla ilgili ayrıntılı çalışmalar yapılmıştır fakat hala açıklanmayı bekleyen noktalar bulunmaktadır.

Mısır bitkisi ile yapılan çalışmalar sonucunda plazma membran NADPH oksidazın aktivitesinde,  $O_2^-$ 'nin üretim oranında ve antioksidant enzimlerin aktivitesinde bir artış gözlenmiştir [29,55].

ABA'in uyardığı antioksidant enzimlerin aktivitesi ve ROS üretimi ve NADPH oksidaz aktivitesinin artması  $Ca^{2+}$ 'un aktivasyonu ile ilgilidir. Ayrıca farklı konsantrasyonlarda  $Ca^{2+}$ 'un farklı etki gösterdiği de gözlenmiştir [30].

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, mısır bitkisi yapraklarında antioksidant enzimlerin aktivitesinde ABA'in uyardığı ROT'nin artışı ve  $Ca^{2+}$  arasındaki karşılıklı etkileşimi içeren 3 kanıt bulunmaktadır:

1)  $Ca^{2+}$  kanalı inhibitörleri uygulandığında ROT üretimi azalır, ABA uygulanınca hem ROT hem de antioksidant enzim aktiviteleri artar.

2)  $Ca^{2+}$  konsantrasyonuna bağlı olarak antioksidant enzimlerin aktivitesi ve ROT üretimi artar.

3)  $Ca^{2+}$  kanalı inhibitörleri ve  $Ca^{2+}$  kelatörleri ile ön muamele sonucunda antioksidant enzimlerin aktiviteleri tamamıyla engellendiği ve oksidatif streste bir artış olduğu gözlemlenmiştir.

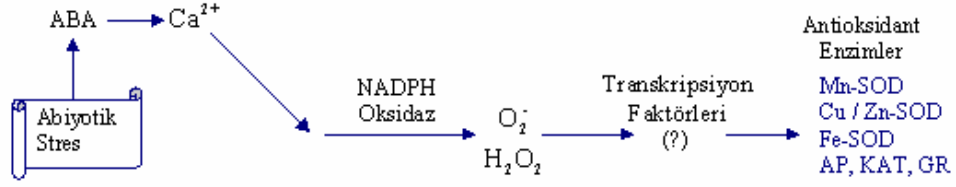
Bu da  $Ca^{2+}$ 'un antioksidant savunma ile ilişkisini gösterir.

$Ca^{2+}$  düzenleyici antioksidant savunma mekanizması ile ilgili çalışmalar devam etmektedir. Kalmodulin gibi kalsiyum bağlayıcı proteinler her yerde bulunabilir ve  $Ca^{2+}/CaM$  kompleksi antioksidant enzimlerin aktivitelerini uyarır. Öte yandan, aşırı miktarda  $Ca^{2+}$  ROT üretiminin toksik düzeye ulaşmasına neden olur ve hücrelerde oksidatif zarara yol açar. Ayrıca ortamda aşırı miktarda  $Ca^{2+}$  birikmesi sonucunda kalsiyum fosfat tuzları oluşur ve bu durum hücre için sitotoksik olabilir [30].

Ayrıca, sıcaklık stresine maruz kalan *Arabidopsis*'te ABA uygulaması lipid peroksidasyonunu azaltarak hayatta kalmasını sağlar. Sıcaklık stresi sırasında bitkide malondialdehit (MDA) içeriği artar. MDA lipid peroksidasyonunun bir

indikatörüdür. Sıcaklık stresi altında  $\text{Ca}^{2+}$  lipid peroksidasyonunu düşürmekte ve membran bütünlüğünü korumaktadır [30,61].

Bitki hücrelerinde ROT üretim mekanizmasıyla ilgili çok farklı olasılıklar vardır [37]. Bunlar mitokondri ve kloroplastlarda elektron transferi, membrana bağlı NAD(P)H oksidaz ve sitoplazmik ksantin oksidazlardır.



Şekil 2.8. Abiyotik stres koşullarında antioksidant enzim aktivitesinin uyarılmasında ABA,  $\text{Ca}^{2+}$  ve  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'in rolü [54].

Son yıllarda elde edilen genetik, biyokimyasal ve fizyolojik bulgular, kök büyümesinde ve bekçi hücrelerinde ABA-ROT uyarı iletiminde  $\text{Ca}^{2+}$  ve NAD(P)H oksidaza bağlı membran fonksiyonları arasında şekildeki gibi bir ilişki önermektedir [54,61].

### 3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada *Lycopersicon esculentum* Mill. ve *Lycopersicon chilense* Dunal (LA1972, kuraklığa toleranslı) kullanıldı.

#### 3.1. BİTKİ YETİŞTİRME KOŞULLARI

Tohumlar % 2,7 sodyum hipoklorit içerisinde 15 dakika bekletildi, daha sonra distile su ile çalkalanarak yıkandı. Yıkanan tohumlar süzüldü ve 24 saat süreyle havalandırılan suda bekletildi. Şişirilmiş tohumlar volkanik tuf ve torf (1/1, V/V) içeren küçük kaplara (viyol) konularak 26/20°C gündüz / gece sıcaklığı, %65 ± 5 nem ve 480 µmol.m<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup> ışık şiddeti koşulları içeren iklim odasında yetiştirildi. Bitkiler ilk günden itibaren ½ oranında sulandırılmış Hoagland kültür çözeltisi ile sulandı. Hoagland kültür çözeltisi Bozcuk'a göre hazırlandı [62] (Çizelge 3.1).

Fideler uygun büyüklüğe gelince eşit miktarda volkanik tuf ve torf içeren (1/1, V/V) (3000g) daha geniş saksılara aktarıldı. Bitkiler 8 hafta süreyle yetiştirildi. 8 haftanın sonunda, kalsiyum (Ca<sup>2+</sup>) uygulaması yapılacak bitkiler 10 mM CaCl içeren 1:1 oranında sulandırılmış Hoagland kültür çözeltisi ile sulandı. Bu uygulamadan sonra kuraklık stresi uygulamasına başlandı. Stres uygulanacak bitkiler son sulamadan sonra hasat işlemine kadar sulanmadı. Ayrıca stresin ilk üç günü absisik asit (ABA) ve ABA + Ca<sup>2+</sup> uygulanacak gruba ait bitkilerin yapraklarına 10<sup>-5</sup> M ABA (Sigma, (±)-cis,trans-ABSCISIC ACID) çözeltisi, kontrol gruplarının yapraklarına ultra saf su püskürtüldü. Uygulama gruplarının yapraklarından uygulamanın birinci günü ve uygulamanın beşinci gününde örnekler alındı. Uygulama grupları çizelgede belirtilmiştir (Çizelge 3.2). Uygulamanın beşinci gününde bitkiler saksılardan dikkatlice çıkarılarak kökleri yıkandı ve havlu kağıt ile fazla suları alındıktan sonra kök ve gövde uzunlukları ölçüldü. Uygulamanın birinci ve beşinci gününde alınan yaprak örneklerinden ABA uygulaması yapılanlar distile suda yıkandıktan sonra kurutuldu. Yaprakların oransal su içeriği (OSİ) ölçüldü. Yapraklar hasattan sonra analizlerde kullanılacak miktarlarda tartılıp, sıvı azotta donduruldu ve analiz işlemlerine kadar -80°C 'de saklandı.

Çizelge 3.1. Normal Hoagland Kültür Çözeltisinin Bileşimi

<b><u>Makro – elementler</u></b>	<b><u>g / L</u></b>	<b><u>Firma</u></b>
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	0,821	Merck
KNO <sub>3</sub>	0,506	Merck
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,136	Sigma
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,120	Sigma
<b><u>Mikro – elementler</u></b>	<b><u>mg / L</u></b>	<b><u>Firma</u></b>
C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> FeO <sub>7</sub> ·5H <sub>2</sub> O	50,00	Fluka
MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	1,80	Merck
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2,90	Merck
ZnCl <sub>2</sub>	0,2	Merck
CuCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0,05	Merck

Not: 1/1 oranında sulandırılmış Hoagland kültür çözeltisi hazırlamak için, çizelge 3.1’de belirtilen miktardaki makro ve mikro-elementler 2 L distile suda eritildi. Çözeltinin PH’sı 0,05 M KOH ile 5,7-5,8’e ayarlandı.

Yaprakların klorofil, β-karoten, askorbat içeriği, lipid peroksidasyonu, toplam protein miktarı, süperoksit dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (AP), glutatyon reduktaz (GR) ve katalaz (KAT) enzimlerinin aktiviteleri ölçüldü.

Çizelge 3.2 . *L.esculentum* Mill veya *L.chilense* İçin Hazırlanan Uygulama Metodu.

<i>L.esculentum</i>	Kontrol	Kurak
	ABA	Kurak+ABA
	Ca <sup>2+</sup>	Kurak+ Ca <sup>2+</sup>
	ABA+ Ca <sup>2+</sup>	Kurak+ABA+ Ca <sup>2+</sup>
<i>L.chilense</i>	Kontrol	Kurak
	ABA	Kurak+ABA
	Ca <sup>2+</sup>	Kurak+ Ca <sup>2+</sup>
	ABA+ Ca <sup>2+</sup>	Kurak+ABA+ Ca <sup>2+</sup>

### 3.2. ORANSAL SU İÇERİĞİ'NİN (OSİ) ÖLÇÜLMESİ

Bitkilerin oransal su içeriklerini ölçmek için; hasat işleminden hemen sonra her bir yapraktan 4 disk kesilip yaş ağırlıkları (YA) tartıldı. Yaprak diskleri, 2 saat boyunca, 25°C'de ultra saf suda bekletildikten sonra turgorlu ağırlıkları (TA) tartıldı. Daha sonra örnekler 110°C'de 24 saat boyunca kurutuldu. Kurutma işleminden sonra kuru ağırlıkları (KA) tartıldı. OSİ, Sairam ve Srivastava [63]'a göre aşağıdaki formül ile hesaplandı:

$$OSİ = (YA-KA)/(TA-KA) \times 100$$

### 3.3. PİGMENTLERİN EKSTRAKSİYONU VE ANALİZİ

Klorofillerin ekstraksiyonu Porra vd. [64] ve Keleş [65]' e göre yapıldı. 0,5 g tartılan taze yapraklar %80'lik asetonda homojenizatörde (Heidolph DIAX 900, paslanmaz çelik) homojenize edildi. Klorofil a, klorofil b miktarları 647 ve 664 nm'de spektrofotometrede (Perkin Elmer Lambda EZ 200) ölçüldü ve daha sonra klorofil a/b oranı, toplam klorofil içeriği belirlendi.

Karoten analizi Krinsky ve Welankiwar [66]'a göre yapıldı. 0,5 g tartılan taze yapraklar %80'lik soğuk asetonda homojenizatörde homojenize edildi. Homojenat 4°C'de, 5 dk, 5 000 g'de iki defa santrifüj (Hettich 32R) edildi. Süpernatant ve petrol eterinden eşit miktarlarda alınarak tüplere aktarıldı ve karıştırıldı. Daha sonra petrol eteri fazı ve %80'lik asetondan eşit miktarda alınarak tüplere aktarıldı ve karıştırıldı. Petrol eteri fazı alınarak sellüloz asetat (Selüloz asetat membran filtre, 0,45 µm) filtreden süzüldü. Supernatant β-karoten analizi için kullanıldı. β-karoten'in kromatografik ayırımı HPLC (Agilent 1100) ile C18 kolon (25cm ×4.6mm ), 450 nm'de, 1,5 mL dk<sup>-1</sup> akış hızında ve gradiyent yapılarak, mobil faz olarak asetonitril-metanol (85:15, V/V) ve hekzan-metanol (25:75,V/V) karışımı kullanılarak gerçekleştirildi. β-karoten/klorofil oranı belirlendi.

#### 3.4. ÇÖZÜNÜR PROTEİN MİKTARININ ÖLÇÜLMESİ

Çözünür protein miktarı, modifiye Lowry metodu ile ölçüldü [67]. 1 g taze yaprak dokusu 5 mL fosfat tamponu ile homojenize edildi. Saf ekstrakt 4 °C'de, 5 dk, 16 000 g'de santrifüj edildi ve süpernatant ölçümler için kullanıldı. 1 mL örnek 50°C'de su banyosuna alındı ve 10 dk. bekletildi. Üzerine 0,9 mL A solüsyonu (100 mL distile suda 0,2 g sodyum-potasyum tartarat ile 10 g NaCO<sub>3</sub> çözülmüştür) eklendi ve 50°C'de su banyosunda 10 dk bekletildi. Bu sürenin sonunda tüpler su banyosundan çıkarıldı ve oda sıcaklığına kadar karanlıkta soğutuldu. Üzerine 0,1 mL B Solüsyonu (100 mL distile suda 0,2 g sodyum-potasyum tartarat ile 1 g CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O çözülmüştür) eklendi ve karıştırıldı. Daha sonra 10 dk oda sıcaklığında bekletildi. Üzerine 3 mL C Solüsyonu (Folin-Ciocolteu'nun 1 mL'si 15 mL distile su ile seyreltilmiştir) eklenip karıştırıldı ve 50°C'de su banyosunda 10 dk inkübe edildi. Tüpler su banyosundan çıkarılıp oda sıcaklığına kadar soğutuldu. Ultra saf su ile hazırlanmış köre karşı spektrofotometrik olarak 650 nm'de spektrofotometrede ölçüm yapıldı. Örneklerdeki protein miktarları Bovine Serum Albumine (BSA) ile hazırlanmış standart eğriden hesaplandı. Protein tayinlerinin yapılmasının amacı ortamlarda sentezlenen enzimlerin birim protein başına düşen miktarının yani spesifik aktivitelerinin saptanmasıdır [68].

### 3.5. ENZİM AKTİVİTELERİNİN ÖLÇÜLMESİ

#### 3.5.1. Superoksit Dismutaz (SOD, EC.1.15.11) Aktivite Tayini

SOD aktivitesi, Beyer ve Fridovich [69]'e göre ölçüldü. 1 g taze yaprak dokusu 5 mL fosfat tamponu ile homojenize edildi. Tampon, 0,1 mM EDTA ve 100 mg PVP içermektedir. Saf ekstrakt 4°C'de, 5 dk, 16 000 g'de santrifüj edildi ve süpernatant ölçümler için kullanıldı. 2,4 mL fosfat tamponu, 1 mL sodyum karbonat, 200 µL L-Methionin, 200 µL nitro blue tetrazolium (NBT), 150 µL enzim kaynağı ve 150 µL riboflavin eklenerek reaksiyon başlatıldı. Örnekler 10 dakika süre ile 25 °C ışık altında tutuldu. Spesifik enzim aktivitesi U/mg protein olarak belirlendi. Bir birim SOD aktivitesi 560 nm'de spektrofotometrede ölçülen NBT redüksiyon hızının %50 inhibisyonuna neden olan enzim miktarı olarak belirlendi. Unite, 25 °C' de 1 dakikada 1 µmol substratı ürüne dönüştüren enzim (SOD) miktarını göstermektedir. SOD'ın izoenzimleri (Cu/Zn-SOD, Fe-SOD ve Mn-SOD) inhibitörler kullanılarak 560 nm'de spektrofotometrede ölçüldü. Bunun için 100 mM potasyum fosfat tamponu (PH:7,8) içinde hazırlanmış olan 2 mM KCN ( Cu/Zn-SOD inhibitörü) ve 5 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Fe-SOD ve Cu/Zn-SOD inhibitörü ) kullanıldı [70].

#### 3.5.2. Askorbat Peroksidaz (AP, EC.1.11.1.11) Aktivite Tayini

AP aktivitesi, Bonnet vd. [71]'e göre yapıldı. 150 mg taze yaprak dokusu 200mM (PH:7,8) HEPES, 2 mM EDTA, 5 mM MgCl<sub>2</sub>, ve 4 mM sodyum askorbat içeren 1,5 mL ekstraksiyon ortamında homojenize edildi. Saf ekstrat 4 °C'de, 5 dk, 16 000 g' de santrifüj edildi ve süpernatant ölçümler için kullanıldı. Reaksiyon karışımı 50 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (PH:7), 500 µM askorbat, 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve ekstrakt içermektedir. 290 nm'de absorbanstaki azalmaya bağlı olarak okside olan askorbat ölçüldü. AP spesifik aktivitesi (nmol dk<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup>protein) 290 nm'de askorbat için 2,8 µM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> tükenme katsayısı kullanılarak hesaplandı.



### 3.5.3. Glutasyon Redüktaz ( GR, E.C.1.6.4.2. ) Aktivite Tayini

GR aktivitesi, Calberg ve Mannervik [72]'e göre yapıldı. 1 g taze yaprak dokusu 5 mL potasyum fosfat tamponu (PH:7 ve 0,1 mM EDTA ) ve 100 mg PVP eklenerek homojenize edildi. Saf ekstrakt 4 °C'de, 5 dk, 16 000 g'de santrifüj edildi ve supernatant ölçümler için kullanıldı. 3 mL'lik UV küvet içerisinde 1,5 mL fosfat tamponu, 150 µL NADPH<sub>2</sub>, 150 µL okside glutasyon (GSSG), 1 mL H<sub>2</sub>O ve 200 µL ekstraktın eklenmesi ile reaksiyon başlatıldı. 340 nm'de 1 dk süreyle absorban azalması ölçüldü. Sonuçlar 1 dakikada oksitlenen NADPH<sub>2</sub>'nin µmol dk<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> protein değeri olarak hesaplandı.

### 3.5.4. Katalaz ( KAT, E.C.1.11.1.6. ) Aktivite Tayini

Katalaz aktivitesi, Aebi [73]'e göre yapıldı. 1 g taze yaprak dokusu 5 mL potasyum fosfat tamponu (PH:7 ve 0,1 mM EDTA) ve 100 mg PVP eklenerek homojenizatör ile homojenize edildi. Reaksiyon 2,8 mL potasyum fosfat tamponu (PH:7 EDTA içermez), 80 µL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0,5 M) ve 120 µL enzim ekstraktının karıştırılması ile başlatıldı. Katalaz aktivitesi 240 nm' de 30 sn içindeki absorban azalması ile tespit edildi ve sonuçlar H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dk<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> protein olarak hesaplandı.

## 3.6. LİPİD PEROKSİDASYONU

Lipid peroksidasyonu Karabal ve ark. [74]'e göre, malondialdehit (MDA) miktarının ölçülmesi ile belirlendi. 0,2 g taze yaprak dokusu 1 mL (%5) trikloroasetik asit (TCA) solüsyonunda homojenize edildi. Homojenat 16 000 g' de 15 dakika oda sıcaklığında santrifüj edildi.

Süpernatant, %0,5 thiobarbiturik asit (TBA) ve %20 TCA solüsyonlarından eşit hacimler alınarak tüplere aktarıldı. Tüpler 96°C 'de 25 dakika inkübe edildi. İnkübasyondan sonra tüpler buz banyosuna aktarılıp 12 000 g'de, 5 dk, santrifüj edildi. Süpernatantın absorbanı 532 nm'de ve 600 nm'de spektrofotometrede

ölçüldü. %20 TCA solüsyonu içinde %0,5 TBA kör olarak kullanıldı. MDA içeriği,  $155 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$  tükenme katsayısı kullanılarak hesaplandı.

### 3.7. ASKORBAT ANALİZİ

0,5 g taze yaprak dokusu, 0,1 M 6 mL soğuk sodyum asetat tamponu (PH:3) içinde homojenizatör ile homojenize edildi. Homojenat  $4^{\circ}\text{C}$ 'de, 10 dk, 6 000 g'de santrifüjlendi. Daha sonra süpernatant  $4^{\circ}\text{C}$ 'de, 5 dk, 16 000 g'de santrifüj edildi. Süpernatant askorbat analizi için toplandı. Toplam askorbatın kromatografik ayrımı HPLC ile C18 kolon ( $25\text{cm} \times 4.6\text{mm}$ ),  $264 \text{ nm}^{\prime}\text{de}$ ,  $1,2 \text{ mL dk}^{-1}$  akış hızında ve mobil faz olarak 0,1 M asetat tamponu (PH:5) kullanılarak gerçekleştirildi. Askorbat analizi Schmieden ve Wild [75]'e göre yapıldı.

### 3.8. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Kök, gövde uzunluğu, OSİ, klorofil a, klorofil b, klorofil a/b, toplam klorofil,  $\beta$ -karoten,  $\beta$ -karoten/klorofil, toplam-SOD, Cu/Zn-SOD, Mn-SOD, Fe-SOD, AP, GR, KAT, MDA ve askorbat değerlerinin normal dağılım gösterip göstermedikleri, uygulamanın birinci ve beşinci günü için Kolmogorov-Simirnov testi ile incelenmiştir. Uygulamanın birinci ve beşinci günü için ayrı ayrı değerlerin bitki türleri, kuraklık, ABA ve/veya  $\text{Ca}^{2+}$  bakımından karşılaştırılması amacıyla Üç Yönlü Varyans Analizi testi kullanılmıştır. Analizlerde  $P < 0,05$  ise sonuçlar anlamlı kabul edilmiştir. Farklı grupların belirlenmesinde ise çoklu karşılaştırma testlerinden Tukey HSD yöntemi kullanılmıştır. İstatistiksel analizler SPSS 11.5 ve STATISTICA 6.0 paket programlarında yapılmıştır.

## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1. BULGULAR

#### 4.1.1. Kök Büyümesi

Kök uzunluğu bakımından *L.esculentum* ve *L.chilense*'de kurak uygulaması ( $P<0,001$ ) ve kurak+ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  uygulamaları bakımından farklar ( $P<0,001$ ) istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Bitki türleri arasında, kurak ve ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  uygulamalarının kök uzunluğu üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (Ek 1.).

Her iki bitki türünde de kuraklık uygulaması kök uzunluğunu azaltmıştır ( $P<0,001$ , Çizelge 4.1.). *L.esculentum* kontrol bitkileriyle karşılaştırıldığında ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  uygulamaları kök uzunluğunu azaltırken, özellikle *L.chilense*'de kuraklığın etkisini belirgin bir şekilde azaltmıştır ( $P<0,001$ , Çizelge 4.1.).

#### 4.1.2. Gövde Büyümesi

Gövde uzunluğu bakımından bitki türleri arasında, kurak ve ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  uygulamalarının etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0,01$ , Ek 1.). Gövde uzunluğu bakımından *L.esculentum* ve *L.chilense*'de kurak uygulaması ( $P<0,01$ ), ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  uygulamaları ( $P<0,01$ ) ve kurak x ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  ( $P<0,001$ ) uygulamaları bakımından farklar Ek 1. de görüldüğü gibi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

Her iki bitki türünde de kuraklık uygulaması gövde uzunluğunu azaltmıştır fakat en fazla azalma *L.chilense*'de gerçekleşmiştir ( $P<0,001$ , Çizelge 4.1.). *L.esculentum* kontrol bitkileriyle karşılaştırıldığında ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  uygulamaları gövde uzunluğunu değiştirmezken, özellikle *L.chilense*'de kuraklığın etkisini belirgin bir şekilde azaltarak kontrollere yakın bir büyüme görülmüştür ( $P<0,05$ ).

#### 4.1.3. Oransal Su İçeriği (OSİ)

Uygulamanın birinci günü OSİ değerleri bakımından bitki türleri arasında, istatistiksel olarak önemli farklılıklar bulunmamıştır. Bununla birlikte, kurak, ABA ve/veya  $Ca^{2+}$ , tür x ABA ve/veya  $Ca^{2+}$ , kurak x ABA ve/veya  $Ca^{2+}$ , tür x kurak x ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  uygulamaları bakımından istatistiksel olarak belirgin farklılıklar bulunmuştur ( $P<0,001$ , Ek 2). Uygulamanın beşinci gününde ise OSİ değerleri bakımından bitki türleri arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0,01$ ). Kuraklık, ABA ve/veya  $Ca^{2+}$ , tür x kurak, kurak x ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  ( $P<0,001$ ), tür x ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  ( $P<0,01$ ), tür x kurak x ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  ( $P<0,01$ ) uygulamalarının OSİ zerine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Ek 2).

Uygulamanın birinci ve beşinci gününde bütün uygulama grupları kontrollerine göre her iki bitki türünde de OSİ'ni azaltmıştır. Uygulamanın beşinci gününde *L.esculentum*'da *L.chilense*'ye göre bütün uygulama gruplarında OSİ daha belirgin bir şekilde azalma göstermiştir. ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  uygulamalarının özellikle *L.chilense*'de kuraklık stresinin etkisini azalttığı görülmüştür (izelge 4.1).

Çizelge 4.1. *L. esculentum* ve *L. chilense*'nin Kök Uzunluğu, Gövde Uzunluğu ve OSİ.

		Kök Uzunluğu (cm)	Gövde Uzunluğu (cm)	OSİ (%) Uygulamanın Birinci Günü	OSİ (%) Uygulamanın Beşinci Günü
<i>L. esculentum</i>	Kontrol	23,66±1,1	99,16±2,4	75,84±1,8	84,97±0,8
	ABA	19,33±5,5	86,83±7,7	61,58±2,1	62,94±3,1
	Ca <sup>2+</sup>	18,83±5,6	98,33±8,1	65,06±2,6	61,07±0,8
	ABA+ Ca <sup>2+</sup>	18,16±2,4	97,33±2,1	55,73±1,9	53,98±2,7
	Kurak	16,73±2,4	86,5±1,5	50,54±0,2	47,62±0,9
	Kurak+ABA	18,3±0,6	92,83±3,7	61,50±2,5	57,31±3,2
	Kurak+Ca <sup>2+</sup>	18,16±0,7	89,33±0,5	63,35±0,1	59,16±2,1
	Kurak+ABA+Ca <sup>2+</sup>	20,63±1,8	80,66±3,7	53,37±2,8	50,51±1,3
<i>L. chilense</i>	Kontrol	17,00±1	117±7	71,84±0,6	77,33±2,1
	ABA	16,33±1,1	98,83±4,1	62,04±1,6	65,36±3,8
	Ca <sup>2+</sup>	15,00±1	105,33±7,6	61,15±1,5	62,23±3,2
	ABA+Ca <sup>2+</sup>	16,33±1,7	95,00±5,2	59,34±1,9	60,35±0,3
	Kurak	8,00±1	85,33±3,5	59,61±4,4	51,92±3,2
	Kurak+ABA	11,00±1	111,33±9,8	50,45±3,8	59,11±3,2
	Kurak+Ca <sup>2+</sup>	14,33±2,4	115,66±11,2	63,01±2,2	60,17±2,1
	Kurak+ABA+Ca <sup>2+</sup>	15,33±1,5	97,50±2,7	59,92±1,1	58,09±3,2

#### 4.1.4. Pigment İçerikleri

##### 4.1.4.1. Klorofil içeriği

###### 4.1.4.1.1. Klorofil a içeriği

Uygulamanın birinci gününde klorofil a içeriği bakımından bitki türleri arasında, kurak ve ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  uygulamalarının etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0,001$ , Ek 3). Klorofil a içeriği bakımından *L.esculentum* veya *L.chilense*'de kurak uygulaması ( $P<0,01$ ), ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  uygulamaları ( $P<0,01$ ) ve kurak x ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  ( $P<0,001$ ) uygulamaları bakımından farklar Ek 3'de görüldüğü gibi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Uygulamanın beşinci günü bitki türleri ve bütün uygulama gruplarının klorofil a içeriği üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0,001$ ).

Uygulamanın birinci gününde *L.esculentum*'da klorofil a içeriği ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  uygulamalarında kontrole göre önemli bir şekilde değişiklik göstermezken, kurak, kurak+ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  uygulamalarında belirgin bir şekilde artmıştır. Bununla birlikte, *L.chilense*'de hem kuraklık uygulaması hem de ABA uygulaması klorofil a içeriğini belirgin bir şekilde arttırmıştır (Çizelge 4.2). Uygulamanın beşinci gününde *L.esculentum*'un klorofil a içeriği bütün stres uygulamalarında azalma gösterirken (Çizelge 4.3), *L.chilense*'nin klorofil a içeriği bütün uygulama gruplarında belirgin bir şekilde artmıştır.

###### 4.1.4.1.2. Klorofil b içeriği

Uygulamaların hem birinci hem de beşinci gününde bütün uygulama gruplarının klorofil b içeriği üzerine etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0,001$ , Ek 4).

Uygulamaların birinci gününde *L.esculentum*'da ve *L.chilense*'de hem kuraklık hem de ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  uygulamaları kontrol gruplarına göre klorofil b

içeriğinde artışa neden olmuştur (Çizelge 4.2). ABA uygulamasının *L.chilense*'de klorofil b içeriğini *L. esculentum*'a göre daha belirgin arttırmıştır. Uygulamanın beşinci gününde ise kurak ve kurak+ABA uygulamaları *L.esculentum*' da klorofil b içeriğini azaltırken, bu gruplara Ca<sup>2+</sup> uygulaması ile kontrollere yakın bir değer elde edilmiştir (Çizelge 4.3). *L.chilense*'de ise Kurak+Ca<sup>2+</sup> uygulaması hariç, diğer bütün uygulama grupları klorofil b içeriğini arttırırken, ABA, kurak ve kurak+ABA uygulamaları klorofil b içeriğini belirgin bir şekilde arttırmıştır.

#### 4.1.4.1.3. Klorofil a/b oranı

Uygulamaların hem birinci hem de beşinci gününde bütün uygulama gruplarının klorofil a/b oranı üzerine etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0,001, Ek 5).

*L.esculentum*'da, uygulamanın birinci gününde ABA ve/veya Ca<sup>2+</sup> klorofil a/b oranını kontrol grubuna göre azaltırken, diğer bütün stres uygulamalarında klorofil a/b oranını arttırmıştır. Uygulamanın beşinci gününde ise kurak+ABA uygulamalarında bu oran artarken, diğer uygulama gruplarında azalma göstermiştir. *L.chilense*'de ise uygulamanın birinci gününde bütün uygulama grupları klorofil a/b oranını arttırırken, bu artış ABA uygulamalarında daha belirgindir. Uygulamanın beşinci gününde *L.chilense*'de ABA ve Ca<sup>2+</sup> klorofil a/b oranını arttırmış, ABA+Ca<sup>2+</sup> kombinasyonu klorofil a/b oranını kontrole göre değiştirmemiştir. Bununla birlikte, kurak+ABA klorofil a/b oranını azaltırken, kuraklık stresinin beşinci gününde Ca<sup>2+</sup> ve ABA+Ca<sup>2+</sup> bu oranı arttırmıştır (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.2. *L. esculentum* ve *L. chilense*'de stresin beşinci günü Klorofil a, Klorofil b, Klorofil a/b, Toplam Klorofil,  $\beta$ -karoten,  $\beta$ -karoten/Klorofil içerikleri.

Stresin Birinci Gün		Klorofil a ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )	Klorofil b ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )	Klorofil a/b	Toplam klorofil	$\beta$ -karoten ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )	$\beta$ -karoten/ klorofil
<i>L. esculentum</i>	Kontrol	1738 $\pm$ 2,1	592 $\pm$ 6,8	2,93 $\pm$ 0,03	2330 $\pm$ 5,8	32,73 $\pm$ 2,4	0,014 $\pm$ 0,0009
	ABA	1723 $\pm$ 1,6	680 $\pm$ 1,6	2,53 $\pm$ 0,01	2404 $\pm$ 1,6	69,14 $\pm$ 7,4	0,028 $\pm$ 0,003
	Ca <sup>2+</sup>	1720 $\pm$ 1,8	707 $\pm$ 1,7	2,43 $\pm$ 0,01	2427 $\pm$ 1,6	40,68 $\pm$ 5,1	0,016 $\pm$ 0,002
	ABA+Ca <sup>2+</sup>	1714 $\pm$ 7,2	735 $\pm$ 1,4	2,33 $\pm$ 0,01	2449 $\pm$ 5,8	29,01 $\pm$ 6,2	0,011 $\pm$ 0,002
	Kurak	2498 $\pm$ 4,3	816 $\pm$ 3,4	3,06 $\pm$ 0,01	3315 $\pm$ 3,1	66,86 $\pm$ 3,2	0,020 $\pm$ 0,0009
	Kurak+ABA	2645 $\pm$ 6,8	787 $\pm$ 9,5	3,36 $\pm$ 0,04	3432 $\pm$ 7,4	56,55 $\pm$ 3,8	0,016 $\pm$ 0,0011
	Kurak+Ca <sup>2+</sup>	2642 $\pm$ 2,8	790 $\pm$ 7,7	3,34 $\pm$ 0,02	3432 $\pm$ 10,6	40,54 $\pm$ 4,2	0,011 $\pm$ 0,0011
	Kurak+ABA+Ca <sup>2+</sup>	2542 $\pm$ 17,8	844 $\pm$ 20,4	3,01 $\pm$ 0,09	3387 $\pm$ 4,5	47,73 $\pm$ 6,9	0,014 $\pm$ 0,002
<i>L. chilense</i>	Kontrol	668 $\pm$ 1,6	293 $\pm$ 1,6	2,27 $\pm$ 0,01	961 $\pm$ 1,6	34,94 $\pm$ 2,2	0,036 $\pm$ 0,00
	ABA	1021 $\pm$ 5,7	347 $\pm$ 5,3	2,93 $\pm$ 0,09	1368 $\pm$ 4,9	64,94 $\pm$ 6,1	0,047 $\pm$ 0,004
	Ca <sup>2+</sup>	696 $\pm$ 11,8	287 $\pm$ 5,5	2,42 $\pm$ 0,11	984 $\pm$ 5,4	24,47 $\pm$ 4,9	0,024 $\pm$ 0,005
	ABA+Ca <sup>2+</sup>	689 $\pm$ 15,8	273 $\pm$ 12,3	2,53 $\pm$ 0,12	963 $\pm$ 26,1	58,67 $\pm$ 1,6	0,060 $\pm$ 0,001
	Kurak	880 $\pm$ 3,3	294 $\pm$ 6,7	2,99 $\pm$ 0,12	1174 $\pm$ 9,2	65,43 $\pm$ 6,1	0,055 $\pm$ 0,005
	Kurak+ABA	1034 $\pm$ 1,8	311 $\pm$ 4,1	3,32 $\pm$ 0,07	1346 $\pm$ 7,8	72,27 $\pm$ 3,2	0,053 $\pm$ 0,001
	Kurak+Ca <sup>2+</sup>	745 $\pm$ 11,5	291 $\pm$ 4,4	2,55 $\pm$ 0,07	1037 $\pm$ 14,2	60,58 $\pm$ 4,1	0,058 $\pm$ 0,002
	Kurak+ABA+Ca <sup>2+</sup>	859 $\pm$ 7,9	353 $\pm$ 1,7	2,42 $\pm$ 0,04	1213 $\pm$ 14,2	58,51 $\pm$ 3,1	0,048 $\pm$ 0,003



Çizelge 4.3. *Lesculentum* ve *L.chilense* ' de stresin beşinci günü Klorofil a, Klorofil b, Klorofil a/b, Toplam Klorofil,  $\beta$ -karoten,  $\beta$ -karoten/Klorofil içerikleri.

Stresin Beşinci Günü		Klorofil a ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )	Klorofil b ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )	Klorofil a/b	Toplam klorofil	$\beta$ - karoten ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )	$\beta$ -karoten/ klorofil
<i>Lesculentum</i>	Kontrol	1750 $\pm$ 1,2	591 $\pm$ 4,6	2,95 $\pm$ 0,02	2341 $\pm$ 4,1	22,07 $\pm$ 1,5	0,009 $\pm$ 0,0006
	ABA	1927 $\pm$ 9,6	714 $\pm$ 6,2	2,69 $\pm$ 0,03	2641 $\pm$ 3,7	53,85 $\pm$ 4,5	0,02 $\pm$ 0,001
	Ca <sup>2+</sup>	1873 $\pm$ 16,0	736 $\pm$ 5,6	2,54 $\pm$ 0,04	2609 $\pm$ 11,0	34,93 $\pm$ 5,5	0,013 $\pm$ 0,002
	ABA+Ca <sup>2+</sup>	1797 $\pm$ 7,8	657 $\pm$ 2,9	2,73 $\pm$ 0,13	2454 $\pm$ 9,3	24,39 $\pm$ 3,5	0,01 $\pm$ 0,001
	Kurak	1555 $\pm$ 4,01	512 $\pm$ 6,6	3,03 $\pm$ 0,04	2067 $\pm$ 2,8	31,52 $\pm$ 4,8	0,015 $\pm$ 0,002
	Kurak+ABA	1652 $\pm$ 4,07	496 $\pm$ 8,3	3,32 $\pm$ 0,06	2149 $\pm$ 3,9	18,85 $\pm$ 0,7	0,009 $\pm$ 0,0003
	Kurak+Ca <sup>2+</sup>	1634 $\pm$ 6,01	607 $\pm$ 9,7	2,69 $\pm$ 0,05	2242 $\pm$ 5,0	24,13 $\pm$ 2,3	0,0107 $\pm$ 0,001
	Kurak+ABA+Ca <sup>2+</sup>	1685 $\pm$ 6,3	586 $\pm$ 9,7	2,87 $\pm$ 0,05	2271 $\pm$ 5,8	24,82 $\pm$ 4,7	0,0109 $\pm$ 0,002
<i>L.chilense</i>	Kontrol	686 $\pm$ 1,9	291 $\pm$ 2,0	2,35 $\pm$ 0,02	977 $\pm$ 1,2	28,61 $\pm$ 0,1	0,029 $\pm$ 0,0001
	ABA	1103 $\pm$ 1,8	379 $\pm$ 4,7	2,91 $\pm$ 0,03	1482 $\pm$ 6,2	36,28 $\pm$ 1,9	0,024 $\pm$ 0,0001
	Ca <sup>2+</sup>	709 $\pm$ 7,9	293 $\pm$ 2,3	2,41 $\pm$ 0,02	1003 $\pm$ 9,9	26,08 $\pm$ 0,8	0,026 $\pm$ 0,0006
	ABA+Ca <sup>2+</sup>	721 $\pm$ 3,6	306 $\pm$ 3,7	2,35 $\pm$ 0,01	1028 $\pm$ 7,1	32,8 $\pm$ 3,6	0,032 $\pm$ 0,0035
	Kurak	752 $\pm$ 2,2	337 $\pm$ 2,1	2,22 $\pm$ 0,014	1089 $\pm$ 3,4	60,70 $\pm$ 2,0	0,056 $\pm$ 0,0038
	Kurak+ABA	736 $\pm$ 9,5	332 $\pm$ 5,9	2,21 $\pm$ 0,06	1068 $\pm$ 4,8	37,95 $\pm$ 3,4	0,035 $\pm$ 0,003
	Kurak+Ca <sup>2+</sup>	762 $\pm$ 3,07	239 $\pm$ 2,3	3,18 $\pm$ 0,03	1001 $\pm$ 3,4	29,63 $\pm$ 1,7	0,029 $\pm$ 0,0015
	Kurak+AABA+Ca <sup>2+</sup>	899 $\pm$ 1,7	309 $\pm$ 6,2	2,90 $\pm$ 0,06	1209 $\pm$ 5,7	29,61 $\pm$ 1,0	0,024 $\pm$ 0,0008

#### 4.1.4.1.4. Toplam Klorofil içeriği

Toplam klorofil içeriği bakımından bitki türleri ve uygulama grupları arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0,001$ , Ek 6). Uygulamanın birinci gününde *L.esculentum*'da ve *L.chilense*'de toplam klorofil içeriği bütün uygulama gruplarında belirgin bir artış göstermiştir. Bununla birlikte, uygulamanın beşinci gününde *L.esculentum*'da toplam klorofil içeriği ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  uygulamalarında belirgin bir artış gösterirken, kuraklık koşulları altında bütün uygulama gruplarında azalma göstermiştir. *L.chilense*'de ise uygulamanın beşinci gününde bütün uygulama gruplarında toplam klorofil içeriği belirgin bir şekilde artmıştır. Bu artış ABA uygulamasında kontrole göre daha belirgindir (Çizelge 4.3).

#### 4.1.4.2. $\beta$ -karoten içeriği

Uygulamanın birinci gününde  $\beta$ -karoten içeriği bakımından bitki türleri arasında, kurak ve ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  uygulamalarının etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0,001$ , Ek 7).  $\beta$ -karoten içeriği bakımından *L.esculentum* ve *L.chilense*'de kurak uygulaması ( $P<0,001$ ), ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  uygulamaları ( $P<0,001$ ) ve kurak x ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  ( $P<0,001$ ) uygulamaları bakımından farklar Ek 7'de görüldüğü gibi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

*L.esculentum*'da uygulamaların birinci gününde ABA+ $Ca^{2+}$   $\beta$ -karoten içeriğini azaltırken, diğer bütün uygulamalarda arttırmıştır. *L.chilense*'de ise  $Ca^{2+}$  uygulaması  $\beta$ -karoten içeriğini azaltırken, diğer bütün uygulamalarda  $\beta$ -karoten yaklaşık olarak 2 kat artış göstermiştir (Çizelge 4.2). Uygulamaların beşinci gününde kurak, ABA ve  $Ca^{2+}$   $\beta$ -karoten içeriğinde artışa neden olmuştur. *L.esculentum*'da kuraklık stresi altında ABA uygulaması ise  $\beta$ -karoten içeriğini azaltırken, diğer uygulama gruplarında kontrollere yakın değerlerde bulunmuştur. *L.chilense*'de uygulamanın beşinci gününde  $\beta$ -karoten içeriği  $Ca^{2+}$  uygulaması hariç, artış göstermiştir ve bu artış kuraklık stresi altında yaklaşık 2 kat gerçekleşmiştir (Çizelge 4.3).

#### 4.1.4.3. $\beta$ -karoten/klorofil oranı

Uygulamanın birinci ve beşinci gününde hem bitki türleri hem de uygulama grupları arasında  $\beta$ -karoten/klorofil oranı bakımından farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0,001$ , Ek 8).

Uygulamanın birinci gününde *L.esculentum*'da ABA,  $Ca^{2+}$ , kurak ve kurak+ABA uygulamaları  $\beta$ -karoten/klorofil oranını kontrole göre arttırırken, ABA+ $Ca^{2+}$  kombinasyonu ve kurak+ABA  $\beta$ -karoten/klorofil oranını azaltmıştır. *L.chilense*'de uygulamanın birinci gününde  $Ca^{2+}$  uygulaması  $\beta$ -karoten/klorofil oranını azaltmış, diğer bütün uygulamalar bu oranı belirgin bir şekilde arttırmıştır (Çizelge 4.2). Uygulamaların beşinci gününde *L.esculentum*'da kuraklık stresi altında ABA uygulaması  $\beta$ -karoten/klorofil oranını kontrole göre değiştirmezken, diğer bütün uygulamalar bu oranı arttırmıştır. *L.chilense*'de ise uygulamanın beşinci gününde kuraklık stresi  $\beta$ -karoten/klorofil oranını 2 kat arttırmıştır. ABA+ $Ca^{2+}$  ve kurak+ABA uygulamaları bu oranda biraz artışa neden olmuştur (Çizelge 4.3).

#### 4.1.5. Antioksidant Enzim Aktiviteleri

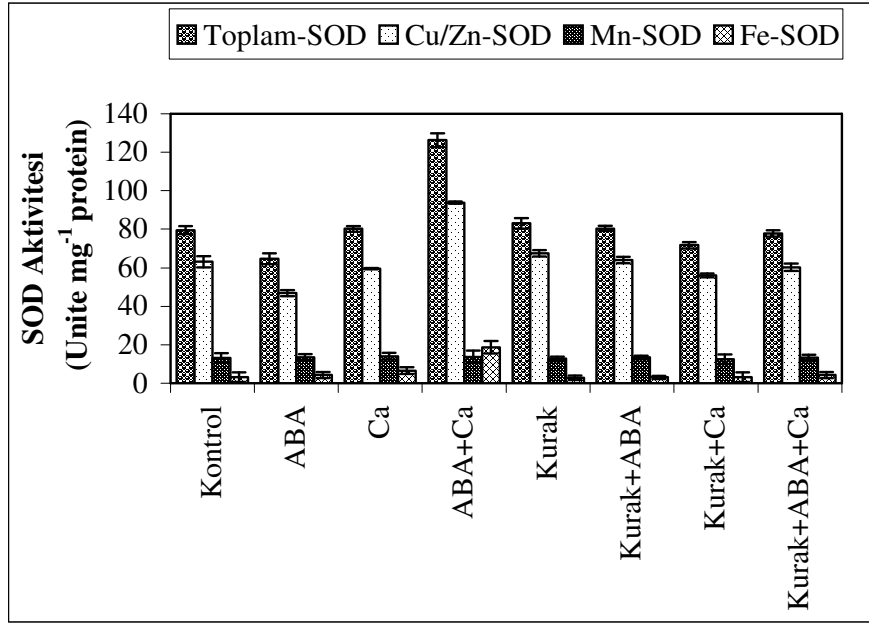
##### 4.1.5.1. SOD aktivitesi

Uygulamanın birinci gününde hem bitki türleri hem de uygulama grupları arasındaki farklar bitki türleri x kurak uygulaması hariç, diğer bütün uygulamalarda toplam-SOD aktiviteleri bakımından istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0,001$ , Ek 9). Uygulamanın beşinci gününde hem bitki türleri hem de uygulama grupları arasındaki toplam-SOD aktivitesi bakımından farklar önemli bulunmuştur ( $P<0,001$ , Ek 9).

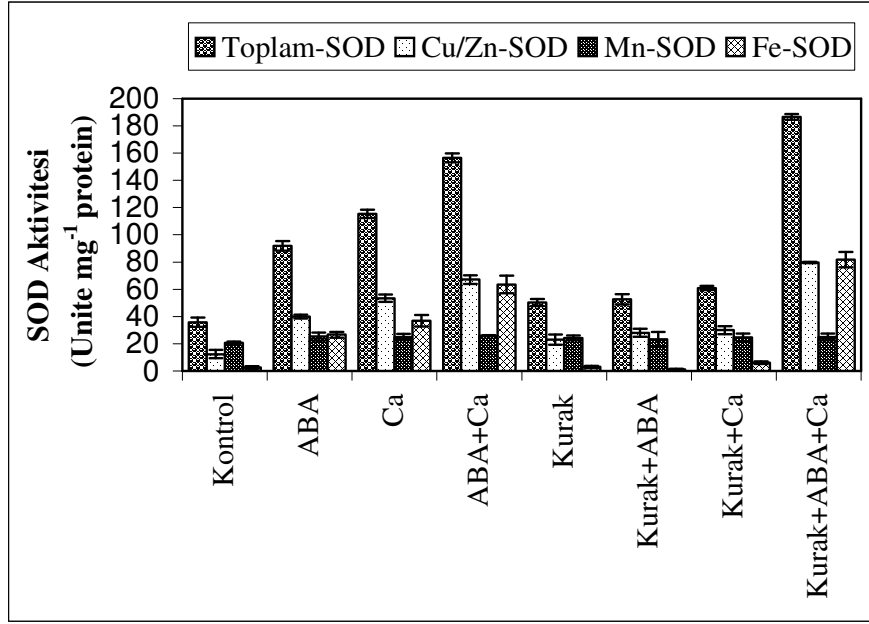
Uygulamanın birinci gününde Cu/Zn-SOD değerleri bakımından bitki türleri arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0,001$ , Ek 10.). Ayrıca, kurak ( $P<0,01$ ), ABA ve/veya  $Ca^{2+}$ , tür x ABA ve/veya  $Ca^{2+}$ , kurak x ABA ve/veya  $Ca^{2+}$ , tür x kurak x ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  uygulamaları bakımından istatistiksel olarak belirgin farklılıklar bulunmuştur ( $P<0,001$ ). Uygulamanın beşinci gününde Cu/Zn-

SOD değerleri bakımından bitki turleri ve uygulama grupları arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0,001$ , Ek 10).

Uygulamanın birinci gününde hem bitki turleri hem de uygulama grupları arasındaki farklar bitki turleri x kurak uygulaması hariç, diğer bütün uygulamalarda Fe ve Mn-SOD aktiviteleri üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0,001$ ). Uygulamanın beşinci gününde hem bitki turleri hem de uygulama grupları arasındaki farklar Fe ve Mn-SOD aktivitesi bakımından önemli bulunmuştur ( $P<0,001$ , Ek 11).



Şekil 4.1. Uygulamanın birinci günü *L. esculentum*'un toplam-SOD, Cu/Zn-SOD, Mn-SOD, Fe-SOD aktivitesi.

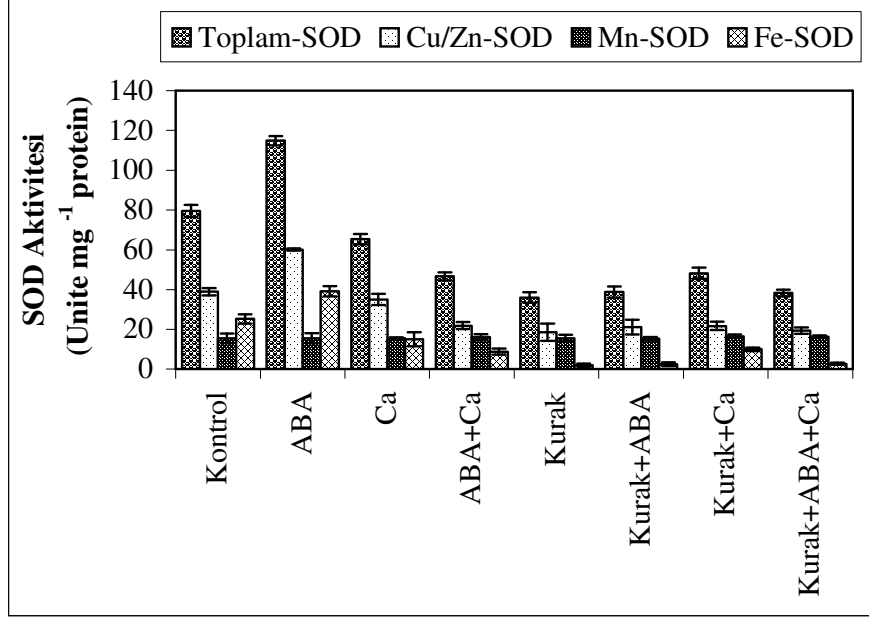


Şekil 4.2. Uygulamanın birinci günü *L.chilense*'nin toplam-SOD, Cu/Zn- SOD, Mn-SOD, Fe-SOD aktivitesi.

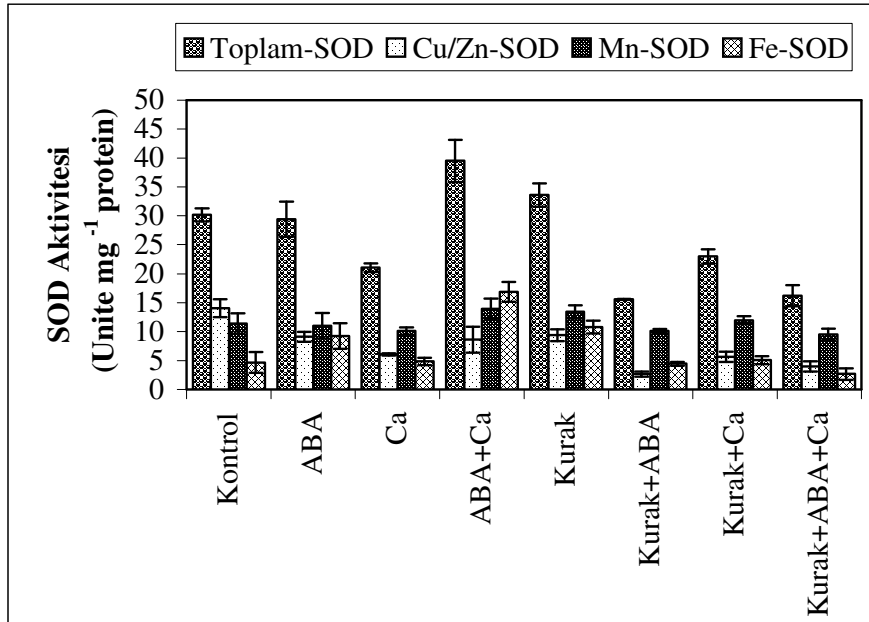
Uygulamanın birinci gününde *L.esculentum* ve *L.chilense*'de ABA+ Ca<sup>2+</sup> toplam-SOD, Cu/Zn-SOD, ve Fe-SOD aktivitesini kontrollere göre belirgin bir şekilde arttırmıştır (Şekil 4.1. ve Şekil 4.2). *L.esculentum*'da ABA uygulamasında toplam-SOD ve Cu/Zn-SOD aktivitesinde kontrollere göre azalma olurken, Mn-SOD ve Fe-SOD aktivitesi kontrollere yakın değerlerde bulunmuştur. *L.esculentum*'da Ca<sup>2+</sup>, kurak, kurak+ABA ve Kurak+ABA+Ca<sup>2+</sup> uygulamalarının toplam-SOD aktiviteleri üzerine etkisi kontrollere benzer değişimler göstermektedir (Şekil 4.1). *L.chilense*'de ABA, Ca<sup>2+</sup> ve kurak+ABA+Ca<sup>2+</sup> uygulamaları stresin birinci gününde toplam-SOD, Cu/Zn-SOD, Mn-SOD ve Fe-SOD aktivitelerini kontrollere göre belirgin bir şekilde arttırmıştır. Kontrollere göre en yüksek artış kurak koşulları altında ABA+Ca<sup>2+</sup> uygulamalarında Fe-SOD aktivitesinde görülmüştür (Şekil 4.2).

Uygulamanın beşinci gününde *L.esculentum*'da ABA toplam-SOD, Cu/Zn-SOD, Mn-SOD ve Fe-SOD aktivitesini kontrollere göre belirgin bir şekilde arttırırken, diğer bütün uygulamalar SOD aktivitelerini azaltmıştır (Şekil 4.3). *L.chilense*'de ise ABA+Ca<sup>2+</sup> ve kurak uygulamaları toplam-SOD, Cu/Zn-SOD ve Mn-SOD ve Fe-SOD aktivitesini belirgin bir şekilde arttırmıştır (Şekil 4.4). Bununla

birlikte,  $Ca^{2+}$ , kurak+ABA, kurak+ $Ca^{2+}$  ve kurak+ABA+ $Ca^{2+}$  uygulamaları toplam-SOD ve SOD izoenzimlerinin aktivitelerini kontrollere göre belirgin bir şekilde azaltmıştır.



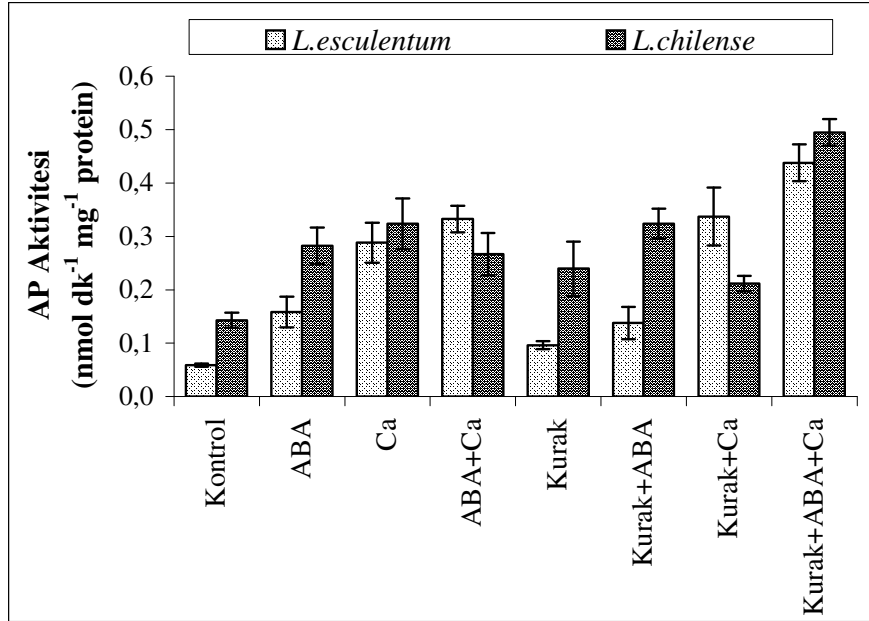
Şekil 4.3. Uygulamanın beşinci günü *L.esculentum*'un toplam-SOD, Cu/Zn-SOD, Mn-SOD, Fe-SOD aktivitesi.



Şekil 4.4. Uygulamanın beşinci günü *Lchilense*'nin toplam-SOD, Cu/Zn-SOD, Mn-SOD, Fe-SOD aktivitesi.

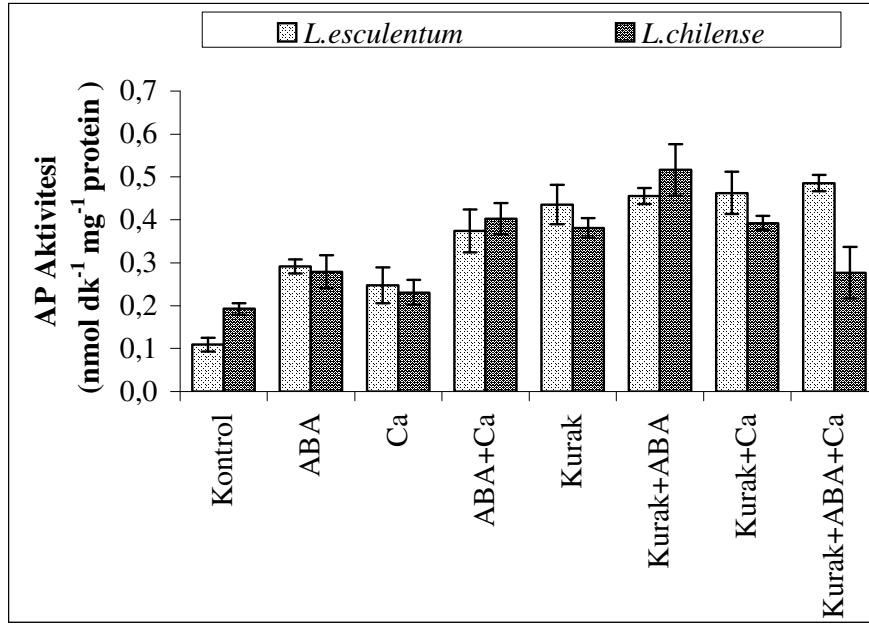
#### 4.1.5.2. AP aktivitesi

Uygulamanın birinci gününde AP aktivitesi bakımından bitki türleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar bulunmuştur ( $P<0,01$ , Ek 10). Ayrıca, AP aktivitesi bakımından, kurak, kurak x ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  ( $P<0,01$ ), ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  ve kurak x ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  ( $P<0,001$ ) ve tür x kurak x ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  ( $P<0,05$ ) uygulamaları arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Uygulamanın beşinci gününde AP aktivitesi bakımından bitki türleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Bununla birlikte, AP aktivitesi üzerine kurak, kurak x ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  ( $P<0,001$ ), ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  ( $P<0,01$ ) ve tür x kurak, tür x kurak x ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  ( $P<0,05$ ) uygulamalarının etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Ek 12).



Şekil 4.5. Uygulamanın birinci gününde *L.esculentum* ve *L.chilense*'de AP aktivitesi.

Uygulamanın birinci gününde *L.esculentum* ve *L.chilense*'de bütün uygulama grupları AP aktivitesini belirgin bir şekilde arttırırken, bu artış her iki domates türünde de en fazla kurak+ABA+Ca<sup>2+</sup> uygulamalarında yaklaşık 4 kat gerçekleşmiştir (Şekil 4.5). Uygulamanın beşinci gününde *L.esculentum* ve *L.chilense*'de bütün uygulama grupları AP aktivitesini belirgin bir şekilde arttırmıştır (Şekil 4.6). *L.chilense*'de ve *L.esculentum*'da ABA ve kurak+ABA uygulamalarındaki AP aktivitesi kontrollere göre daha yüksektir.

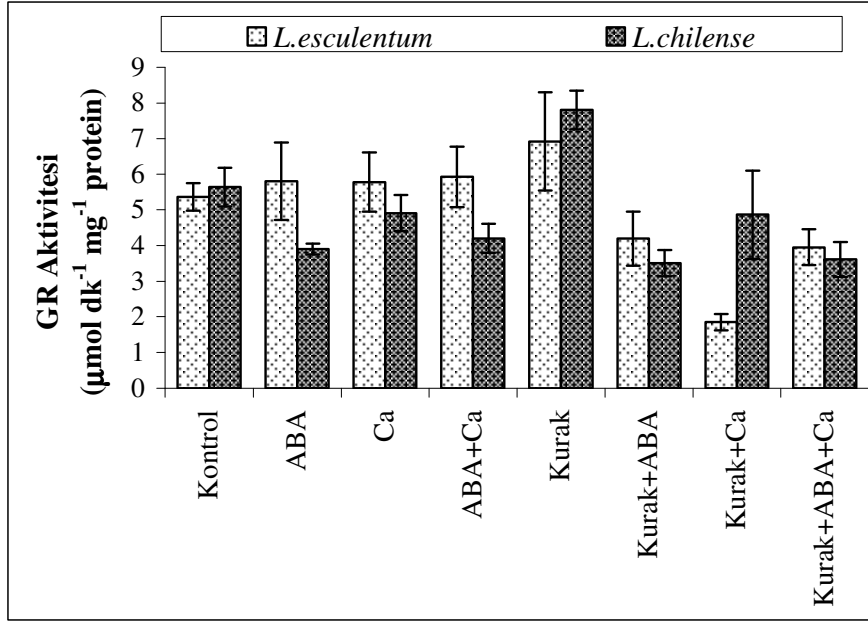


Şekil 4.6. Uygulamanın beşinci gününde *L.esculentum* ve *L.chilense*'de AP aktivitesi.

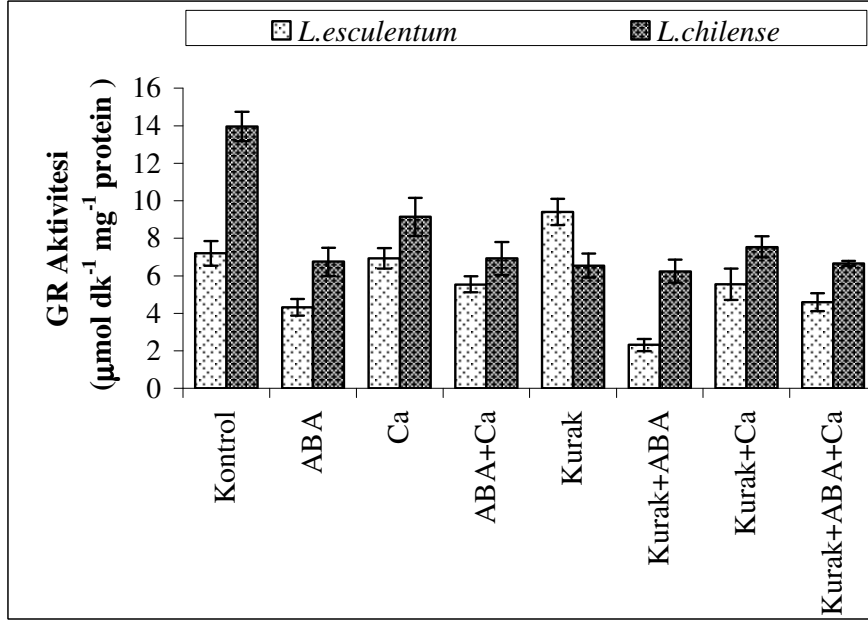
#### 4.1.5.3. GR aktivitesi

Uygulamanın birinci gününde GR aktivitesi bakımından bitki türleri, kuraklık uygulaması, tür x ABA ve /veya Ca<sup>2+</sup>, tür x kurak x ABA ve /veya Ca<sup>2+</sup> arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (Ek.13.). Bununla birlikte GR aktivitesi bakımından, ABA ve /veya Ca<sup>2+</sup> (P<0,001), tür x kurak (P<0,05), kurak x ABA ve/veya Ca<sup>2+</sup> (P<0,01) uygulamaları arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.





Şekil 4.7. Uygulamanın birinci gününde *L.esculentum* ve *L.chilense*'de GR aktivitesi.



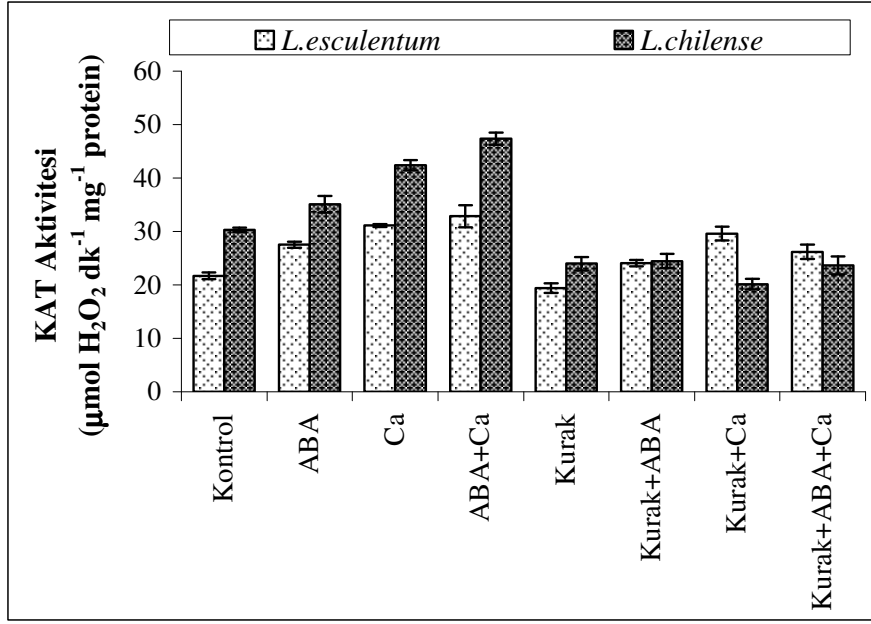
Şekil 4.8. Uygulamanın beşinci gününde *L.esculentum* ve *L.chilense*'de GR aktivitesi.

Uygulamanın beşinci gününde GR aktivitesi bakımından bitki türleri arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0,001$ ). Ayrıca, GR aktivitesi bakımından, kurak, ABA ve /veya  $Ca^{2+}$ , tür x kurak x ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  ( $P<0,001$ ), tür x kurak ( $P<0,01$ ), uygulamaları arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Ek 13).

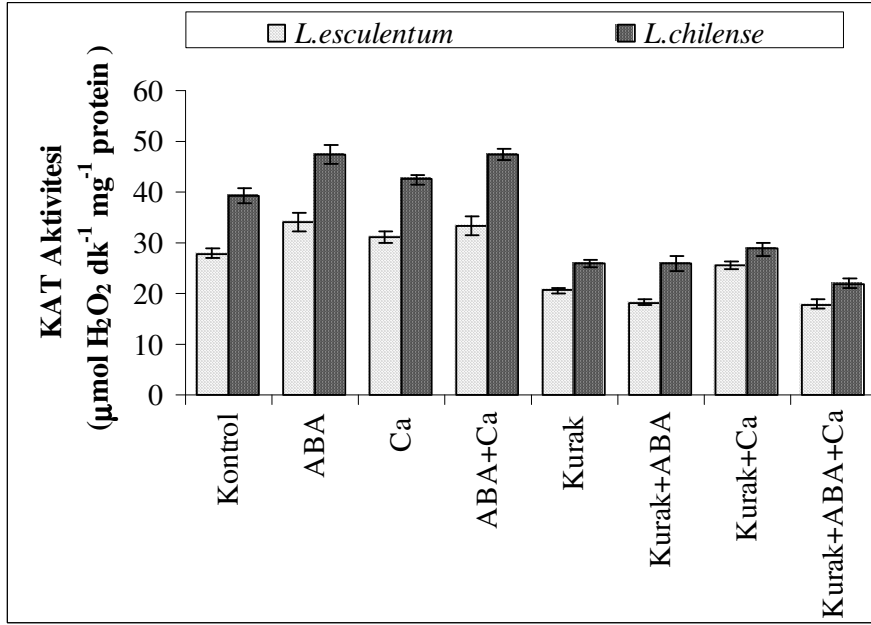
Uygulamanın birinci gününde GR aktivitesi *L.esculentum*'da ABA ve /veya  $Ca^{2+}$  uygulamalarında kontrol gruplarına yakın değerlerde bulunmuştur (Şekil 4.7.). Uygulamanın birinci gününde hem *L.esculentum* ve hem de *L.chilense*'de kuraklık stresi altında GR aktivitesi kontrol gruplarına göre belirgin bir şekilde artmıştır. Her iki bitki türünde de uygulamanın birinci gününde kuraklık+ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  kuraklık stresi altında GR aktivitesini belirgin bir şekilde azaltmıştır. Uygulamanın beşinci gününde *L.esculentum* ve *L.chilense*'de ABA ve /veya  $Ca^{2+}$  uygulamaları GR aktivitesini kontrol grubuna göre azaltmıştır. Bu *L.chilense*'de daha belirgindir (Şekil 4.8.). Kuraklık stresinin beşinci gününde GR aktivitesi *L.esculentum*'da kontrol grubuna göre artarken, *L.chilense*'de %50 oranında azalmıştır. Kuraklık stresinin beşinci gününde *L.esculentum*'da kurak+ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  GR aktivitesini kurak uygulamasına göre belirgin bir şekilde azaltmıştır.

#### 4.1.5.4. KAT aktivitesi

Uygulamanın birinci günü ve uygulamanın beşinci günü KAT aktivitesi bakımından bitki türleri arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0,001$ , Ek 14). Uygulamanın birinci günü kurak, ABA ve/veya  $Ca^{2+}$ , tür x kurak, kurak x ABA ve/veya  $Ca^{2+}$ , tür x kurak x ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  ( $P<0,001$ ), tür x ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  ( $P<0,01$ ) uygulamalarının KAT aktivitesi üzerine etkisi bakımından farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Uygulamanın beşinci gününde tür x kurak x ABA ve/veya  $Ca^{2+}$ 'un üçlü etkisi arasındaki farklar istatistiksel olarak önemsiz bulunurken, kurak, tür x kurak, kurak x ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  ( $P<0,001$ ), ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  ( $P<0,01$ ), arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Ek 14).



Şekil 4.9. Uygulamanın birinci gününde *L.esculentum* ve *L.chilense*'de KAT aktivitesi.

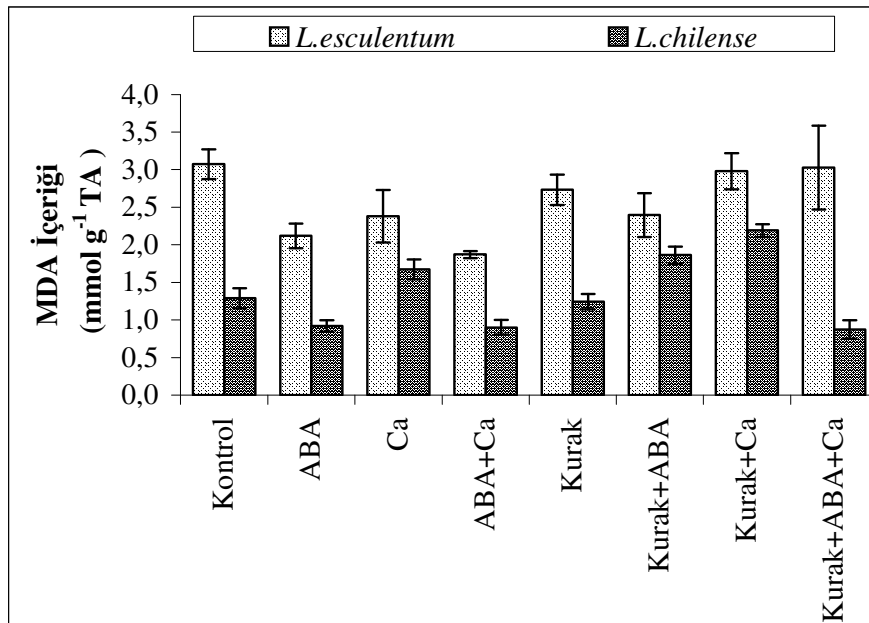


Şekil 4.10. Uygulamanın beşinci gününde *L.esculentum* ve *L.chilense*'de KAT aktivitesi.

Uygulamanın hem birinci ve hem de beşinci gününde *L.chilense*'de ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  KAT aktivitesini kontrollere göre belirgin bir şekilde arttırmıştır. Benzer durum *L.esculentum*'da uygulamanın birinci gününde belirlenmiştir. Uygulamanın birinci ve beşinci gününde kuraklık stresi *L.esculentum* ve *L.chilense*'de KAT aktivitesini kontrollere göre azaltmıştır (Şekil 4.9 ve Şekil 4.10). Uygulamanın birinci gününde *L.esculentum*'da kuraklık stresi altında ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  KAT aktivitesini arttırmıştır. *L.chilense*'de ise uygulamanın birinci gününde kuraklık stresi altında ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  KAT aktivitesini azaltmıştır (Şekil 4.9). Uygulamanın beşinci gününde kuraklık stresi her iki türde de KAT aktivitesini bütün uygulama gruplarında azaltmıştır (Şekil 4.10).

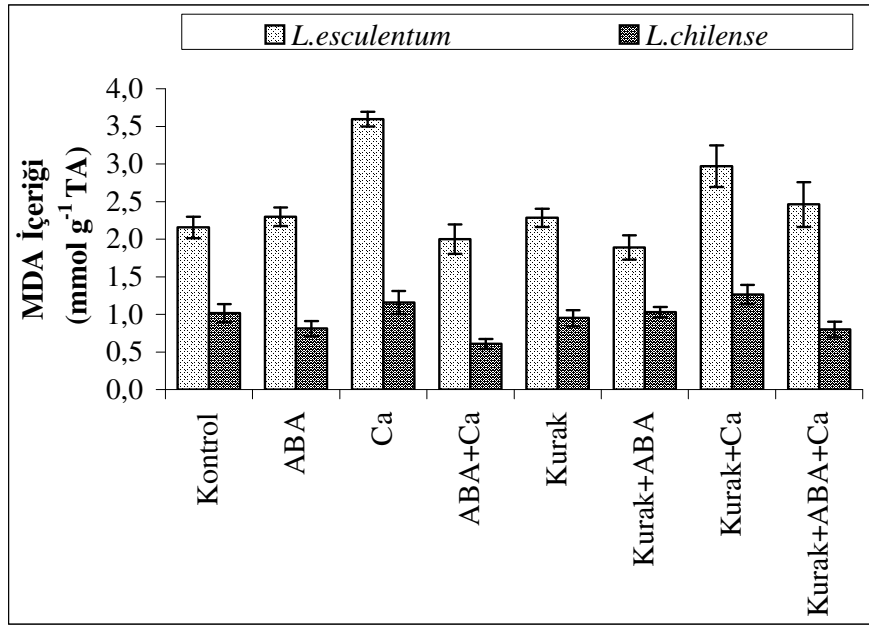
#### 4.1.6. Lipid Peroksidasyonu

Uygulamanın birinci günü ve uygulamanın beşinci günü MDA içeriği bakımından bitki türleri arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0,001$ , Ek 15).



Şekil 4.11. Uygulamanın birinci gününde *L.esculentum* ve *L.chilense*'de MDA içeriği.

Uygulamanın birinci günü kurak, ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  ( $P<0,01$ ), tür x kurak x ABA ve/veya  $Ca^{2+}$ , tür x ABA ve/veya  $Ca^{2+}$ , kurak x ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  ( $P<0,05$ ), uygulamalarının MDA içeriği üzerine etkisi bakımından farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Uygulamanın beşinci gününde kurak, tür x kurak, kurak x ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  uygulamalarının MDA içeriğine etkisi bakımından farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmazken, ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  ( $P<0,001$ ), tür x ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  ( $P<0,01$ ), tür x kurak x ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  ( $P<0,05$ ), arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Ek 15).



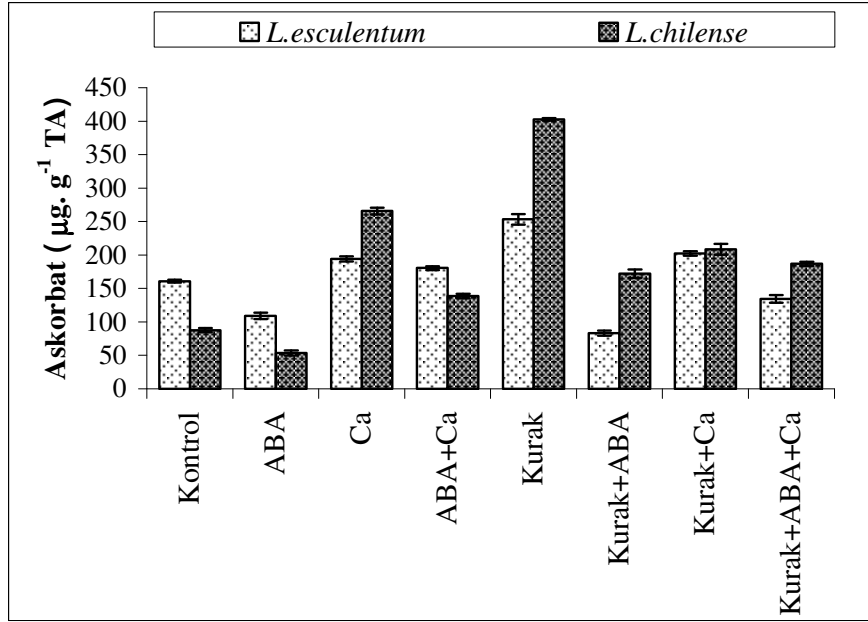
Şekil 4.12. Uygulamanın beşinci gününde *L.esculentum* ve *L.chilense*'de MDA içeriği.

Uygulamanın birinci günü *L.esculentum*'da ABA ve ABA+  $Ca^{2+}$  uygulaması MDA içeriğini azaltmıştır. Buna karşılık, diğer uygulama gruplarında MDA içeriğinde kontrollere göre belirgin değişiklikler olmamıştır. *L.chilense*'de ise ABA ve ABA+  $Ca^{2+}$  uygulamaları MDA içeriğini azaltırken, kurak, kurak+ABA veya  $Ca^{2+}$  uygulamaları MDA içeriğini az da olsa arttırmıştır (Şekil 4.11). Kuraklık stresinin birinci gününde her iki bitki türünde de MDA içeriğinde belirgin bir değişiklik olmamıştır. Uygulamanın beşinci gününde *L.esculentum*'da  $Ca^{2+}$  ve kurak+ $Ca^{2+}$  uygulamalarında MDA içeriği kontrollere göre belirgin bir şekilde arttırmıştır (Şekil

4.13). Kuraklık stresinde ABA+Ca<sup>2+</sup> uygulamaları MDA içeriğini *L.esculentum*'da kontrollere göre artırırken, *L.chilense*'de bütün uygulama gruplarında MDA içeriğinde dikkate değer değişiklikler gözlenmemiştir.

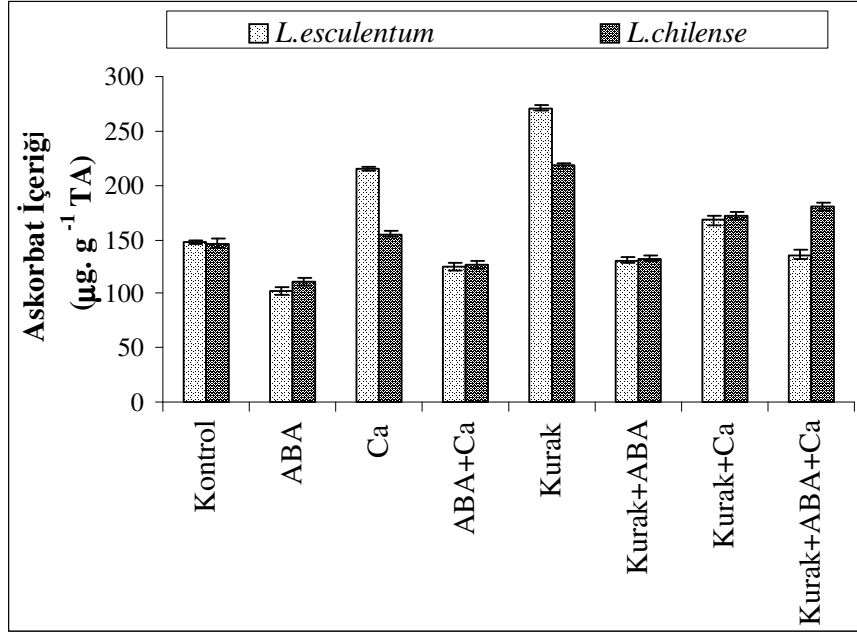
#### 4.1.7. Askorbat İçeriği

Uygulamanın birinci gününde hem bitki türleri hem de uygulama grupları arasında askorbat içeriği bakımından farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0,001, Ek 16). Uygulamanın beşinci gününde bitki grupları arasında askorbat içeriği bakımından farklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (P<0,001).



Şekil.4.13. Uygulamanın birinci gününde *L.esculentum* ve *L.chilense*'de askorbat içeriği.

Uygulamanın beşinci gününde askorbat içeriği bakımından kurak, ABA ve/veya Ca<sup>2+</sup>, tür x ABA ve/veya Ca<sup>2+</sup>, kurak x ABA ve/veya Ca<sup>2+</sup>, tür x kurak x ABA ve/veya Ca<sup>2+</sup> (P<0,001), tür x kurak (P<0,001) arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Ek 16).



Şekil.4.14. Uygulamanın beşinci gününde *L.esculentum* ve *L.chilense*'de askorbat içeriği.

Uygulamanın hem birinci hem de beşinci gününde her iki bitki türünde de ABA askorbat içeriğini kontrollere göre azaltırken, Ca<sup>2+</sup> ve kuraklık stresi belirgin bir artışa yol açmıştır (Şekil 4.13 ve Şekil 4.14). Bu artış *L.chilense*'de daha belirgin gerçekleşmiştir. Uygulamanın birinci gününde Ca<sup>2+</sup> ve kuraklık stresi askorbat içeriğini kontrollere göre yaklaşık sırasıyla 3 ve 4 kat arttırmıştır.

## 4.2. TARTIŞMA

### 4.2.1. Kök ve Gövde Büyümesi

Literatür bilgilerine göre, kuraklık stresi kök büyümesinde, morfolojisinde ve fizyolojisinde değişiklikler meydana getirmektedir [32]. Kök ve gövde büyümesinin su stresine farklı şekilde duyarlılık gösterdiği bilinmektedir [76]. Kuraklıktan kaynaklanan büyüme azalmasının ABA ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir [76,77].

Çalışmamızda hem kök hem de gövde büyümesi bütün uygulama gruplarında her iki domates türünde de kontrollere göre azalmıştır. Bulgularımıza göre kuraklık stresi koşullarında  $Ca^{2+}$  uygulaması her iki bitki türünde de kök ve gövde uzunluğunu arttırmıştır. Bulgularımıza göre özellikle kuraklık stresinde kök ve gövde uzunluğunda belirgin bir azalma olduğu belirlenmiştir. (Çizelge 4.1). Sanchez-Blanco ve ark.[78], Keleş ve Ünyayar[25] kuraklık stresinin gövde büyümesini azalttığını bildirmişlerdir. Bu araştırmacılar, kuraklığın hücre gelişmesini yavaşlatarak büyümeyi inhibe edebileceğini rapor etmişlerdir. Rajasekaran ve Blake *Pinus banksiana* fidelerinde 12 günlük kuraklık uygulanmasından sonra gövde uzamasının %42 oranında azaldığını bulmuşlardır. Younis ve ark. [79] *Sorghum bicolor* L. bitkisinin üç genotipini kuraklık stresine maruz bırakmışlardır. Kuraklık stresinde kuraklılığa toleranslılık dereceleri birbirinden farklı olan 3 genotipin gövde uzunlukları incelendiğinde kuraklık stresinin gövde uzunluğunu azalttığını belirtmişlerdir.

Literatür bilgilerine göre ABA gövde büyüme inhibitörü olarak düşünülmektedir [80,81,53]. Buna karşılık, Rajasekaran ve Blake [106] gövde uzunluğunun ABA uygulamasıyla arttığını göstermiştir. Sharp [76] ise ABA uygulama süresindenin uzamasının kök ve gövde büyümesinde artışa neden olabileceğini bildirmiştir. Zamana bağlı bu farklılık ABA alımının gövde büyümesinin oranındaki farklı gelişme evresinden kaynaklanmış olabileceği ileri sürülmüştür [76].



Kuraklık stresi bitkilerde minerallerin alınımını önemli bir şekilde azaltır [82]. Gunes ve ark.'nın [82] nohut bitkisinde yaptıkları çalışmada kuraklık toleransı yüksek bitkilerin dokularında kuraklık stresi uygulamalarında N, K, P, Ca<sup>2+</sup> minerallerinin daha fazla biriktiğini ve böylece büyüme inhibisyonunun azaldığını önermişlerdir. Hossain ve ark.[83]'nin yaptıkları çalışmalarda Ca<sup>2+</sup> uygulaması kök uzunluğunu arttırmıştır. Ayrıca, bu araştırmacılar Ca<sup>2+</sup>'un Alüminyumun toksik etkisini azaltarak kök uzamasını arttırdığını rapor etmişlerdir.

Literatür bilgilerine göre ikili stres olarak genellikle tuz veya kuraklık stresi çalışılmıştır [65]. Yüksek kuraklık ve tuzluluktan kaynaklanan şiddetli su stresi koşullarında bitki büyümesi tamamen durur [84]. Farklı bitkilerle yapılan çalışmalarda Ca<sup>2+</sup> uygulamasının tuz stresinin zararlı etkisini iyileştirmiş olabileceği, ve bu iyileşmenin de muhtemelen K ve Na seçiciliğini kolaylaştırmasından kaynaklandığı ileri sürülmektedir [85]. Bu araştırmacılar 5 mM CaSO<sub>4</sub> uygulamasının tuz stresi koşullarında kök ve gövde uzamasını arttırdığını rapor etmişlerdir. Çalışmamızda kuraklık stresi altında 10 mM CaCl<sub>2</sub> uygulamasının kök ve gövde uzunluğunu arttırması bu araştırmacıların sonuçlarıyla uygunluk göstermektedir.

#### 4.2.2. Oransal Su İçeriği (OSİ)

Literatür bilgilerine göre, kuraklık ve diğer birçok stres uygulamaları yaprakların su içeriğini önemli ölçüde etkilemektedir. Çeşitli araştırmacılar kuraklık stresinin şiddetli su sıkıntısına neden olarak OSİ'ni yaklaşık %50 oranında azalttığını göstermişlerdir [86,87,25]. Çalışmamızda da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Buna göre OSİ'de en belirgin azalma *L.esculentum*'da ve kuraklık uygulamasında gözlenmiştir. Kuraklık stresi altında ABA uygulaması ise OSİ içeriğindeki inhibisyonu azaltmıştır. Kuraklık ve tuz stresi altında ABA biyosentez genlerinin düzenlenirliği bildirilmiştir [57].

Moran ve ark.'nın [88] bezelye bitkisinde yaptıkları çalışmalarda, kuraklığa bağlı olarak su içeriği düşmüş ve bu durum önemli metabolik değişikliklere neden

olmuştur. Araştırmacılara göre bezelyede su içeriğinin %80'e inmesi ile fotosentez ve transpirasyon %80 azalmakta, stoma direnci ise %10 artmaktadır. Stres sırasında su potansiyelinin korunması önemli ölçüde bitkinin türüne ve özelliklerine bağlıdır [65].

Bulgularımız,  $Ca^{2+}$  ve ABA uygulamalarının yaprakların su içeriğinin korunmasında etkili olduğunu göstermiştir. Bulgularımız  $Ca^{2+}$  ve ABA uygulamalarının köklerde su akışını düzenlediği ve  $Ca^{2+}$ 'un köklerin ABA'ya duyarlılığını arttırdığını bildiren çalışmalarını desteklemektedir. Badem bitkisi ile yapılan çalışmalarda tuz stresi koşullarında  $Ca^{2+}$  uygulamalarının OSİ'ni arttırdığı bulunmuştur [85]. Grijia ve ark. [89] tuz stresinde  $Ca^{2+}$ 'un büyüme sırasında su miktarının ayarlanmasını düzenlediğini ileri sürmüşlerdir.

#### 4.2.3. Pigment İçerikleri

##### 4.2.3.1. Klorofil içerikleri

Bitkilerde klorofil içeriği fotosentez kapasitesini belirlemenin önemli bir göstergesidir. Çalışmamızda uygulamaların birinci gününde hem stresli ve hem de stressiz koşullarda her iki bitki türünde de klorofil-a, klorofil-b, ve toplam klorofil içerikleri artış gösterirken, uygulamanın beşinci gününde *L.esculentum*'da klorofil içerikleri azalmıştır. *L.chilense*'de ise bunun tersine klorofil içerikleri artmaya devam etmiştir. Kuraklık stresi sırasında klorofil içeriğinin azaldığını veya değişmediğini gösteren farklı bitki türleriyle yapılan çalışmalar da bulunmaktadır ve bu çalışmalarda, kuraklığın süresine ve şiddetine bağlı olarak değişiklik gösterdiği bildirilmiştir [86,87,90]. Bu araştırmacıların çalışmalarında klorofil içeriği stresin başlangıcında geçici bir artış göstermiş, stres süresinin uzamasıyla klorofil içeriği belirgin bir şekilde azalmıştır. Bu sonuçlar *L.esculentum*'un klorofil içeriğindeki değişimlere uygunluk göstermektedir.

Çalışmamızda klorofil a/b oranı kurak ve kurak+ABA uygulamalarında kontrole göre artış gösterirken, diğer bütün uygulamalarda bu oran azalmıştır.

Benzer sonuçlar *Helianthus annuus* bitkisinde yapılan çalışmada elde edilmiş ve klorofil a/b oranının kuraklık stresi koşullarında arttığı bildirilmiştir [25].

Bolat ve ark.'nın [85] yaptıkları çalışmada, tuz stresi klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil içeriklerini azaltırken, stres şartları altında  $Ca^{2+}$  uygulaması klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil içeriklerini attırdığı rapor edilmiştir. Yapılan çalışmalarda klorofil a/b oranındaki değişimlerin fotosistem I ve fotosistem II arasında koşullardan etkilenme bakımından farklılıklar olduğu rapor edilmiştir [65].

#### 4.2.3.2. $\beta$ -karoten içeriği

Karotenler ışığı toplayıcı pigmentlerdir ve stres koşullarında fotosentetik organları koruyucu işlevleri vardır [91]. Ayrıca, fotosentetik sistemlerde  $\beta$ -karoten ve ksantofil önemli antioksidant etkiye sahiptirler [50,51]. Yağda çözünebilen antioksidant olan  $\beta$ -karoten içeriği uygulamanın birinci gününde *L.esculentum*'da ABA+ $Ca^{2+}$  uygulaması ve *L.chilense*'de  $Ca^{2+}$  uygulaması hariç, diğer bütün uygulama gruplarında artış göstermiştir. Uygulamanın beşinci gününde ise ABA ve/veya kuraklık uygulamaları özellikle *L.chilense*'de  $\beta$ -karoten içeriğini yaklaşık 2 kat arttırmıştır. Bu antioksidant içeriğindeki artış hidroperoksit ve lipid radikal içeriğinin artışıyla sınırlanarak, membran seviyesinde oksidasyonu kontrol eden anahtar bir faktör olarak düşünülebilir [92]. Kuraklığa toleranslı olan *L.chilense*'de uygulamanın birinci gününde gözlenen karotenoid içeriğinin belirgin artışı bununla açıklanabilir. Bartoloni ve ark. [92], Keleş ve Ünyayar [25]  $\beta$ -karoten içeriğinin kuraklık stresinde arttığını göstermişlerdir. Ayrıca *Triticum aestivum* bitkisine 1 gün boyunca kuraklık stresi uygulandığında  $\beta$ -karoten miktarı kontrol gruplarına göre 2 kat artmıştır [92]. Buna karşılık, *L.esculentum*'da stresin beşinci günü Kurak+ABA uygulamasında gözlenen  $\beta$ -karoten içeriğindeki belirgin azalma;  $\beta$ -karotenin parçalanmasına neden olan tilakoidlerde singlet oksijen miktarının artışıyla ilişkili olabileceğini göstermektedir.  $\beta$ -karoten içeriğinin azaldığını gösteren ve farklı türlerde yapılan çalışmalar buna uygunluk göstermektedir [14,90]. Ayrıca, literatür bilgilerine göre, karotenoidlerin fotosentetik membran devamlılığı ve korunması için önemli olduğu bildirilmiştir [14]. Ayrıca, çalışmamızda  $\beta$ -karoten/klorofil oranı

uygulamanın birinci gününde kuraklık stresi ve kurak+ABA uygulamalarında artmıştır, bu artış Keleş ve Ünyayar'ın [25] sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir.

#### 4.2.4. Antioksidant Enzimler

##### 4.2.4.1. SOD aktivitesi

Çalışmamızda, uygulamanın birinci gününde *L.chilense*'de ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  uygulamaları ve kuraklık stresi uygulamalarında SOD izoenzimleri belirgin bir şekilde artmıştır. Uygulamanın beşinci gününde ABA+ $Ca^{2+}$  uygulamasında ve kuraklık stresinde belirgin bir artış gözlenmiştir. Benzer sonuçlar başka araştırmacılar tarafından ABA+ $Ca^{2+}$  [54],  $Ca^{2+}$  [26], kuraklık [25] ve ABA uygulamalarında rapor edilmiştir.

Kuraklık stresinin birinci gününde *L.esculentum*'da SOD aktiviteleri belirgin bir şekilde değişmezken, kuraklık stresinin beşinci gününde belirgin bir azalma göstermiştir. *L.chilense*'de ise kuraklık stresinin beşinci gününde Cu/Zn-SOD aktivitesi kontrollere göre azalma göstermiştir. Kuraklık stresinde görülen sonuçlara benzer olarak buğdayda yapılan çalışmalarda Toplam-SOD aktivitesinde belirgin bir değişiklik olmadığı bildirilmiştir. Bu enzimatik aktivitenin serbest radikale bağlı hasarın kontrolünden sorumlu olabileceği ileri sürülmüştür [92]. Bununla birlikte, çalışmamızda *L.chilense*'de uygulamanın birinci gününde ve *L.esculentum*'da uygulamanın beşinci gününde ABA'nın SOD aktivitelerini belirgin bir şekilde arttırdığı gözlenmiştir. Bueno ve ark.[93] ve Sakamoto ve ark. [94]'da ABA uygulamasının sonuçlarımıza benzer şekilde, özellikle Cu/Zn-SOD aktivitesinde daha belirgin olmak üzere bütün SOD izoenzimlerinin aktivitelerini arttırdığını rapor etmişlerdir. Sakamoto ve ark.[94], pirinç bitkisinde ABA'nın ve Agarwal ve ark.[54] buğday fidelerinde ABA+ $Ca^{2+}$ 'un özellikle Cu/Zn-SOD'u kodlayan genin ifadesini belirgin bir şekilde arttırdığını göstermiştir.

SOD izoenzimlerinin incelenmesinde Cu/Zn-SOD aktivitesinde toplam-SOD aktivitesine benzer değişiklikler görülmüştür [94,93,54]. SOD aktivitesinde

uygulamanın hem birinci hem de beşinci gününde özellikle *L.esculentum*'da meydana gelen değişikliklerin Cu/Zn-SOD izoenzimlerinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Ayrıca, hücrelerde meydana gelecek olan aktif oksijen türlerinin sebep olduğu hasarın diğer enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidatif sistemlerle de kaldırıldığı bilinmektedir. Bulgularımızda diğer antioksidant enzimler olan AP ve GR aktivitelerinde görülen artış bu fikri destekler niteliktedir.

#### 4.2.4.2. AP aktivitesi

Çalışmamızda AP aktivitesi uygulamanın hem birinci hem de beşinci gününde her iki domates türünde de artış göstermiştir. Bu artışın özellikle kuraklık stresinin beşinci gününde ABA ve /veya  $Ca^{2+}$  uygulamalarında daha belirgin olduğu görülmüştür. ABA ve  $Ca^{2+}$  kombinasyonu uygulanan buğday fidelerinde AP aktivitesinin kontrollere göre yaklaşık 3 kat artış gösterdiğini bildiren çalışmalar da bulgularımız ile uygunluk göstermektedir [54]. Ayrıca, ABA uygulanan tütün bitkilerinde [93],  $Ca^{2+}$  uygulanan mısır fidelerinde [26,29], kuraklık uygulanan buğdayda [92] da benzer sonuçlar gözlenmiştir. Reddy ve ark. [32], ve Bueno ve ark. [93], kuraklık stresi sırasında sitoplazmik AP aktivitesinin devamlı bir şekilde arttığını bildirmiştir ve bu araştırmacılar kuraklık stresine yanıt olarak AP enzimini kodlayan *API* geninin transkripsiyon oranının arttığını rapor etmişlerdir.

AP'ın kloroplastta, sitoplazmada, mitokondri ve peroksizom membranlarında  $H_2O_2$ 'in ortadan kaldırılmasında rol oynadığı bilinmektedir [95,96] AP'in aynı zamanda organel mebranlarında bulunduğunu ve buradaki  $H_2O_2$ 'i membranlarda parçalayarak sitoplazmik  $H_2O_2$  düzeyinin artmasını önleyerek gerek membranların gerekse hücrelerin bozulmasını önlediği bilinmektedir [95]. Çalışmamızda AP'ın uygulamanın hem birinci ve hem de beşinci gününde her iki bitki türünde de artış göstermesi literatür bilgilerimizi desteklemektedir.

Diğer stres uygulamalarının da bitkilerde AP aktivitesinin artmasına yol açtığı bilinmektedir. Örneğin *L.esculentum* bitkisinde farklı konsantrasyonlarda tuz ve  $Cd^{+2}$  uygulamalarının AP aktivitesinin kontrol grubuna göre arttırdığı rapor edilmiştir [97]. Sato ve ark. [98]'nin yaptığı çalışmada, *Oryza sativa* L. bitkisinin tohumlarında sıcaklık uygulamasının AP aktivitesini kontrol grubuna göre belirgin bir şekilde arttığı bulunmuştur [99].

#### 4.2.4.3. GR aktivitesi

Çalışmamızda *L.chilense*'de kuraklık stresinin birinci gününde GR aktivitesi artarken, *L.esculentum*'da uygulamanın hem birinci ve hem de beşinci gününde kuraklık stresinde GR aktivitesi artış göstermiştir. Kuraklık ve sonrasında uygulanan su uygulaması [92], diğer stres faktörlerinden aşırı su stresinde GR aktivitesinin azaldığını [99] belirten çalışmalar da bulunmaktadır. Reddy ve ark. [32], *Morus alba* kültüründe ve Bartoli ve ark. [92] *Triticum eastivum* yapaklarında kuraklık stresinin GR aktivitesini arttırdığını bildirmişlerdir.

$Ca^{2+}$  uygulamaları *L.esculentum*'da uygulamanın hem birinci ve hem de beşinci gününde GR aktivitesini değiştirmezken, *L.chilense*'de uygulamanın beşinci gününde  $Ca^{2+}$  GR aktivitesini belirgin bir şekilde azaltmıştır. Uygulamanın beşinci gününde *L.chilense*'de de GR aktivitesi bütün uygulama gruplarında yaklaşık %50 oranında azalma göstermiştir. GR aktivitesindeki bu azalma NAD(P)H miktarının azalmasıyla açıklanabileceği ve NAD(P)H'in azalmasına yol açan pentoz fosfat döngüsünün aktivitesindeki olası bir azalmayla ilişkilendirilebileceği ileri sürülmektedir [93].

ABA uygulaması her iki domates türünde de GR aktivitesini ya değiştirmemiş veya azaltmıştır. Bueno ve ark. [93] tütün hücre kültürüyle yaptığı çalışmada ABA uygulamasının GR aktivitesini azalttığını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda, kuraklık stresinde GR aktivitesi KAT aktivitesiyle karşılaştırıldığında birbirine zıt sonuçlar görülmektedir. Keleş'in buğday fidelerinde

yaptığı çalışmalar da GR aktivitesi düşük ve yüksek sıcaklıkta az miktarda yükselirken, su stresinin varlığı GR aktivitesini arttırmıştır. Normal sıcaklık koşullarında kuraklık GR aktivitesini yükseltmiştir [65], bu sonuçlar bulgularımıza benzerlik göstermektedir.

#### 4.2.4.4. KAT aktivitesi

Çalışmamızda, her iki domates türünde de uygulamanın hem birinci ve hem de beşinci gününde KAT aktivitesindeki en yüksek artış ABA+Ca<sup>2+</sup> kombinasyonunda gözlenmiştir. Çalışmamızdaki sonuçlara benzer şekilde Agarwal ve ark. [54] KAT aktivitesindeki en yüksek artışı ABA+Ca<sup>2+</sup> kombinasyonunda gözlemiştir. Çalışmamızda her iki domates türünde de ABA ve Ca<sup>2+</sup> ayrı ayrı uygulandığında da KAT aktivitesi kontrollere göre artmıştır. Bulgularımız Ca<sup>2+</sup> [26,54] ve ABA'nın [105] KAT aktivitesini arttırdığını gösteren bulgulara uygunluk göstermektedir. Guan ve Scandalios [105] ABA'nın KAT aktivitesiyle ilgili genlerin ifadesini arttırdığını bildirmişlerdir.

Bortall ve ark. [92], kuraklık stresinde KAT aktivitesinde belirgin değişiklikler olmadığını bulmuşlardır. Çalışmamızda özellikle uygulamanın beşinci gününde KAT aktivitesi her iki domates türünde belirgin bir azalma göstermiştir. Keleş yaptığı çalışmada [65] kuraklık stresinin buğday çeşitlerinde KAT aktivitesini büyük ölçüde azalttığını rapor etmiştir; bu koşullarda ölçülen KAT değerleri tüm uygulamalar içinde en düşük değerlerdir.

Şiddetli kuraklık stresi KAT aktivitesini tamamen ortadan kaldırabilir. Bezelye bitkisinde su içeriği %88,5'ten %81,3'e düştüğünde KAT aktivitesi 9,0 dan 1,4'e düşmektedir . KAT'ın kuraklıkla aktivite kaybı bu çalışmada elde edilen bulgularla da gösterilmektedir. İleri derecede kurumanın olduğu yüksek sıcaklık – kuraklık etkileşimi altında KAT aktivitesi %80 oranında azalabilir [65 ].

KAT aktivitesinin kaybına neden olan ağır stres koşulları GR ve AP gibi Askorbat-Glutatyon döngüsünün enzimlerinin aktivitesini uyarmaktadır [100].

KAT'ın ağır stres koşulları ile inaktive olması durumunda kloroplastlardaki H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in Askorbat-Glutatyon yolu enzimleri ile ortadan kaldırılması fotosentetik sistemlerin korunmasında yaşamsal öneme sahip olabilir.

#### 4.2.5. Lipid Peroksidasyonu

Malondialdehit (MDA), stres koşullarında veya doğal koşullarda hücrelerin doymamış yağ asitlerinin enzimatik parçalanması ve oksidasyonu sonucu oluşmaktadır [101]. Membran lipidlerinin peroksidasyonunun son ürünü olarak bilinmektedir. Bitkiler oksidatif strese maruz kaldıklarında MDA birikimi olur. Bu nedenle MDA içeriği lipid peroksidasyonunun belirleyicisi olarak kabul edilmektedir [102].

Kuraklık stresinin çeşitli bitkilerde MDA içeriğini arttırdığını gösteren çalışmalar vardır [55]. Ayrıca, ABA [87] ve Ca<sup>2+</sup> uygulamalarının [86] MDA içeriğini arttırdığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır. Benzer şekilde, çalışmamızda *L. esculentum*'un Ca<sup>2+</sup> uygulanan gruplarında uygulamanın beşinci gününde MDA içeriğinin kontrole göre arttığı görülmüştür. *L. chilense*'de ise belirgin değişiklik görülmemiştir, hatta ABA+Ca<sup>2+</sup> uygulamalarında MDA içeriği kontrollere göre azalmıştır. Ca<sup>2+</sup> uygulamasında *L. esculentum*'da MDA içeriğinde görülen belirgin artış SOD izoenzimlerinin aktivitelerindeki azalmayla ilişkilendirebilir. Membran lipid peroksidasyonunun artması hücre bileşenlerinin zarar görmesine yol açabilir [56].

#### 4.2.6. Askorbat İçeriği

Askorbat fotosentetik ve fotosentetik olmayan dokularda reaktif oksijen türleriyle reaksiyona giren en önemli antioksidantlardan birisidir [25]. Iturbe ormate ve ark. [90], Caretto ve ark. [103], askorbatın elverişsiz çevresel koşulların meydana getirdiği oksidatif strese toleransın artmasıyla ilişkili olduğunu bildirmişlerdir.



Çalışmamızda  $Ca^{2+}$  ve kuraklık uygulamaları uygulamanın hem birinci ve hem de beşinci gününde askorbat içeriğini belirgin bir şekilde arttırmıştır. Özellikle kuraklık stresinin birinci gününde *L.chilense*'de kontrollerin 4 katı artış göstermiştir. Benzer olarak ayçiçeği bitkisinde yapılan çalışmada kuraklık stresi askorbat içeriğinin artmasına neden olmuştur [25]. Bunun aksine, Bartoli ve ark.[92], kuraklık stresi altında buğday yapraklarındaki askorbat içeriğinin azaldığını tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda uygulamanın hem birinci hem de beşinci gününde ABA uygulaması askorbat içeriğini azaltmıştır. Bu bulgular Keleş ve Ünyayar'ın [25] sonuçları ile benzerdir. Bunun karşılık, Jiang ve Zhang [56] mısır fidelerinde yaptıkları çalışmalarda askorbat içeriğinin arttığını bildirilmiştir.

Apoplasttaki askorbat konsantrasyonu ABA'nın kontrolü altındadır ve hücre duvarı içindeki askorbat miktarını belirgin bir şekilde azalttığı bildirilmektedir [104].

## SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasından elde edilen bulgulara göre;

- ❖ ABA ve/veya  $Ca^{2+}$ , kurak, kurak+ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  uygulamalarında kök uzunluğu ve gövde uzunluğu her iki domates türünde de azaldığı tespit edilmiştir. Buna karşılık, kuraklık stresi koşullarında  $Ca^{2+}$  uygulaması her iki bitki türünde de kök ve gövde uzunluğunu arttırmıştır.
- ❖ Bitkilerin kuraklık stresine maruz kalması halinde özellikle kuraklığa nispi duyarlı *L.esculentum*'da oransal su içeriğinde belirgin azalma gözlenmiştir. Kuraklık stresi koşullarında ABA veya  $Ca^{2+}$  uygulaması OSİ'ndeki inhibisyonu azaltmıştır.
- ❖ Klorofil içeriği bitkilerde stres toleransının önemli parametrelerinden biri olarak gösterilmektedir. Uygulamanın beşinci gününde hem stresli hem de stressiz koşullar da kuraklığa toleranslı *L.chilense*'de klorofil içeriğinde belirgin bir artış gözlenmiştir. Buna karşılık, *L.esculentum*'da klorofil içeriğinde azalma tespit edilmiştir. Bu koşullarda *L.esculentum*'da klorofil kaybının olması fotosentez kapasitesinin azaldığını göstermektedir.
- ❖ Bitkilerde antioksidant özelliğe sahip olan ve fotosentetik organları koruyan en önemli ışık toplayıcı pigmentler karotenlerdir. Çalışmamızda özellikle *L.chilense*'de ABA ve/veya kuraklık uygulamaları  $\beta$ -karoten içeriğini yaklaşık 2 kat arttırmıştır.  $\beta$ -karoten içeriğindeki bu artışın hidroperoksit ve lipid radikal içeriğini azaltarak membran seviyesindeki oksidasyonu kontrol ettiği düşünülebilir.
- ❖ ABA+ $Ca^{2+}$  ve kuraklık uygulamalarında kuraklığa toleranslı olan *L.chilense*'nin kuraklığa nispi duyarlı *L.esculentum*'a göre özellikle uygulamanın beşinci gününde SOD ve AP enzim aktivitelerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

- ❖ Bitkilerde membran lipidlerinin peroksidasyonunun son ürünü olan MDA içeriğinin uygulamanın beşinci gününde  $Ca^{2+}$  ve kuraklık stresi altında ABA ve/veya  $Ca^{2+}$  uygulamalarında kuraklığa nispi duyarlı türde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. MDA içeriğinde görülen bu belirgin artış oluşan ROT'nin ortadan kaldırılmasından sorumlu olan antioksidant enzim aktivitesinin az olmasıyla ilişkili olabilir.
- ❖ Fotosentetik ve fotosentetik olmayan dokularda ROT'nin ortadan kaldırılmasında en önemli antioksidantlardan biri olan askorbat içeriği özellikle kuraklığa toleranslı olan *L.chilense*'de ABA hariç bütün uygulama gruplarında uygulamanın birinci gününde kontrollerin birkaç katı artış göstermiştir. Çalışmamızda ABA'nın askorbat içeriğini her iki türde de inhibe ettiği görülmüştür. Bu da apoplasttaki askorbat konsantrasyonunun ABA'nın kontrolünde olduğunu gösterebilir.
- ❖ Sonuç olarak; gerek ABA ve gerekse  $Ca^{2+}$  uygulamalarının bitkilerin stres koşullarında antioksidant savunma sistemini kontrol ettiği ve strese toleranslı türlerde stres koşullarında ortaya çıkacak zararların ortadan kaldırılmasında önemli bir etkiye sahip oldukları düşünülmektedir. Stres tolerans mekanizmalarının ayrıntılı olarak ortaya konulmasının bitki biyoteknolojisi çalışmalarına ışık tutacağı bir gerçektir.

## KAYNAKLAR

- [1] Ashraf, M., Foolad, M.R. “Pre-sowing seed treatment –A shotgun approach to improve germination, plant growth and crop yield under saline and non-saline conditions”, *Aduuncer in Agmnmmy*, **88**: 222-271, (2005).
- [2] Ashraf, M. “Breeding for salinity tolerance in plants” *Crit. Rev. Plant Sci.* **13**:17-42, (1994).
- [3] Ashraf, M., Oleary, J.W. “Effects of drought stress on growth, water relations, and gas exchange of two lines of sunflower differing in degree of salt tolerance”, *Int. J. Plant Sci.* **157** (6): 729-732, (1996).
- [4] Anonymous,. “FAO Production Year Book” FAO Publ. **45**,Rome ,(1992).
- [5] Cuartero, J. ve Fernandez-Munoz, R. “Tomato and Salinity”, *Scientia Horticulturae*, **78**:83-125, (1999).
- [6] Şeniz, V. “Domates, Biber ve Patlıcan Yetiştiriciliği ”, Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi TAV Yayınları, Yalova, 26.,174 s., (1992).
- [7] Çürük, S. “Değişik Kökenli Bazı Domates (Lycopersicon esculentum Mill ) Genotiplerinin Çukurova Koşullarında Nemli-Yüksek Sıcaklığa Uyumluluğu ve Çiçek Tozu Verimlilikleri”, Yüksek Lisans Tezi, Adana, (1993).
- [8] Boyer, J. S. “Plant productivity and the environment”. *Science*, **218** :443-448, (1982).
- [9] Jenks, M.A., Hasegawa, P.M. “Plant Abiotic Stress”, 1.Baskı, Blackwell, UK, 270s., (2005).
- [10] Steward, G.R., “Desiccation injury, anhydrobiosis and survival”, *Plant Under Stress*, ed. Jones, H.G., Flowers, T.J. and Jones, M.B. s, 115-30,(1993).
- [11] Schwanz, P., Polle A. “Differential Stress responses of antioxidative systems to drought in pendunculate oak (*Quercus robur*) and maritime pine (*Pinus pinaster*) grown under high CO<sub>2</sub> concentrations”, *Journal of Experimental Botany*, **52**, (354):133-143, (2001).
- [12] Larcher, W. “Physiological Plant Ecology”, 4. Baskı, Springer, 513 s., (2003)
- [13] Hsiao, TC. “Plant responses to water stress”, *Annu Rev Plant Physiol*, **24**: 519-570, (1973).

- [14] Munné-Bosch, S., Peñuelas, J. “Drought-induced oxidative stress in strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) growing in Mediterranean field conditions”, **166**:1105-1110, (2004).
- [15] Mittler R., “Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance”, Trends in Plant Science, **7**: 405-410, (2002).
- [16] Ingram, J., Bartels, D. “The molecular basis of dehydration tolerance in plants” Annu. Rev Plant Physiol. Plant Mol. Biol. **47**:377-403., (1996).
- [17] Baily, C., Audiger C., Ladonne F., Wanger H.M., Coste, F., Come, D., Corbineau, F. “Change in oligosaccharide content and antioxidant enzymes activities in developing bean seeds as related to acquisition of drying tolerance and seed quality” Journal of Experimental Botany, **52**, (357):701-708, (2000).
- [18] Smirnoff, N. “The role of active oxygen in the response of plant to water deficit and desiccation”, New Phytologist. **125**:25-58, (1993).
- [19] Dionisio-Sese, M.L., Tobita, S. “Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress” Plant Science, **135**:1-9, (1998).
- [20] Foyer, C.H., Lelandais, M., Kunert, K.J. “Photooxidative stress in plants”, Physiol. Plant. **92**: 696-717, (1974).
- [21] Neill, S-J., Burnett, E-C. “Regulation of gene expression during water deficit stress” Plant Growth Regulation. **29**:23-33, (1999).
- [22] Thompson, A-J., Jackson, A-C., Parker, R-A., Morpeth, D-R., Burbidge, A., Taylor, I-B. “Abscisic acid biosynthesis in tomato: regulation of zeaxanthin epoxidase and 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase mRNAs by light/dark cycles, water stress and abscisic acid”, Plant Molecular Biology. **42**:833-845, (2000).
- [23] Taylor, I-B, Burbidge, A., Thompson, A-J. “Control of abscisic acid synthesis. J. of Experimental Botany”, **51**:1563-1574, (2000).
- [24] Shashidhar, V-R., Prasad, T-G., Sudharshan, “L. Hormone signals from roots to shoots of sunflower (*Helianthus annuus* L.). Moderate soil drying increases delivery of abscisic acid and depresses delivery of cytokinins in xylem sap” Annals of Botany. **78**:151-155, (1996).

- [25] Keleş, Y., Ünyayar, S. “Responses of antioxidant defence system of *Helianthus annuus* to abscisic acid treatment under drought and waterlogging” *Acta Physiologia Plantarum*, **26** (2):149-156, ( 2004).
- [26] Jiang M.,Zhang J., “Cross-talk between calcium and reactive oxygen species originated from NADPH oxidase in abscisic acid-induced antioxidant defence in leaves of maize seedlings ”, *Plant, Cell and Environment*, **26**: 929-939, ( 2003 ).
- [27] Davies J.P. “Plant Hormones”, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht / Boston / London, 298-317, ( 1995).
- [28] Jiang M., Zhang J., “Abscisic acid and Antioxidant Defense in Plant Cells ”, *Acta Botanica Sinica*, **46**: 1-9 (2004 ).
- [29] Zhang J., Jiang M., “ Involvement of plasma-membrane NADPH oxidase in abscisic acid- and water stress-induced antioxidant defense in leaves of maize seedlings ”, *Planta*, **215**: 1022-1030, ( 2002).
- [30] Jiang Y., Huang B., “Effects of calcium on antioxidant activities and water relations associated with heath tolerance in two cool-season grasses ”, *Journal of ExPerimental Botany*, **52**: 341-349, (2001)
- [31] Lambers, H., Poorter, H. “Inherent variation in growth rate between higher Plants: A search for physiological causes and ecological consequences”, *Advances in Ecological Research*, **23**: 178-261, (1992).
- [32] Reddy, R.A., Chaitanya, K.V., Vivekanandan, M. “Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants”, *Journal of Plant Physiology*, **161**:1189-1202, (2004).
- [33] Xiong, L., Schumaker, S.K., Zhu, J.K. “Cell signaling during cold, drought, and salt stress”, *The Plant Cell*, 165-182, (2002).
- [34] Pastori, G.M., Foyer C.H. “ Common Components, Networks, and pathways of Cross-Tolerance to Stress. The Central Role of Redoks and Abscisic Acid-Mediated Controls ”, *Plant Physiology*, **129**: 460-468, (2002).
- [35] Özcan, S., Gürel, E., Babaoğlu, M. “Bitki Biyoteknolojisi II Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları”, 1.Baskı, S.Ü. Basımevi, Konya, 456 s., (2001).

- [36] Linchtenthaler HK. "The stress concept in plants", *Annals of New York Academy of sciences*, **851**: 187-198, (1998).
- [37] Chaves, M.M., Pereira J.S., Maroco, J., Rodrigues, M.L., Ricardo, C.P.P., Osorio, M.L., Carvalho, I., Faria, T., Pinheiro, C. "How plants cope with water stress in the field. photosynthesis and growth", *Ann. Bot.*, **89**: 907-916, (2002).
- [38] Chaves, M.M., Maroco, J.P., Periera, S., "Understanding plant responses to drought- from genes to the whole plant", *Func. Plant Biol.*, **30**: 239-264, (2003).
- [39] Zhang, J., Jiang, M. "Water stress-induced abscisic acid accumulation triggers the increased generation of reactive oxygen species and up-regulates the activities of antioxidant enzymes in maize leaves", *Journal of Experimental Botany*, **53**: (379) 2401-2410, (2002).
- [40] Ganti, T., Horvath, A., Berczi, S., Gesztesi, A., Szathmary, E. "Dark dune spots: possible biomarkers on Mars?", *Origins of Life and Evolution of the Biosphere*, **33**: 515-557, (2003).
- [41] Levitt, J. "Responses of plants to environmental stresses", *Academic Press Inc.*, **1**: 361, (1980).
- [42] Cornic, G. "Drought stress inhibits photosynthesis by decreasing stomatal aperture-not by affecting ATP synthesis", *Trands. Plants. Science*, **5**: 187-188, (2000).
- [43] Foyer, C.H., Noctor, G., "Oxygen processing in photosynthesis: regulation and signaling", *New Phytol.*, **146**: 359-388, (2000).
- [44] Peltzer, D., Dreyer, E., Polle, A. "Temperature dependencies of oxidative enzymes in two contrasting species", *Plant Physiol. Biochem.*, **40**: 141-150, (2002).
- [45] Ledjal, M., Epron, D., ducrey, M. "Effects of drought preconditioning on thermo tolerance of photosystem II and susceptibility of photosynthesis to heat stress in cedar seedlings", *Tree Physiol.*, **20**: 1235-1241, (2000).
- [46] Mano, J. "Early events in environmental stresses in plants- induction mechanisms of oxidative stress", *Oxidative stress in plants*, **1**: 217-245, (2002).

- [47] Dat, J. “Dual action of reactive oxygen species during plants stress responses”, *Cell. Mol. Life Sci.*, **57**: 779-795, (2000).
- [48] Bowler, C., Montago, M., Inze, D. “Superoxide dismutase and stress tolerance”, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **43**: 83-116, (1992).
- [49] Alsher, G., R., Erturk, N., Heath, L.S. “Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants”, *Journal of Experimental Botany*, **53** (372) 1331-1341, (2002).
- [50] Halliwell, B. “Oxidative damage, lipid peroxidation and antioxidant protection in chloroplast”, *Chemistry and Physics of Lipids*, **44**: 327-340, (1978).
- [51] Larson, R.A. “The antioxidants of higher plants” *Phytochemistry*, **27**: 969-978, (1988).
- [52] Jia, W., Wang, Y., Zhang, S., Zhang, J. “Salt-stress-induced ABA accumulation is more sensitively, triggered in roots than in shoots”, *Journal of Experimental Botany*, **53** (378):2201-2206, (2002).
- [53] Davies J.P. “Plant Hormones”, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht / Boston / London, 298-317, (1995).
- [54] Agarwall, S., Sairam, R.K., Srivastava, G.C., Tyagi, A., Meena, R.C. “Role of ABA, salicylic acid, calcium and hydrogen peroxide on antioxidant enzymes induction in wheat seedlings”, *Plant Science*, **169**:559-570, (2005).
- [55] Jiang, M.Y., Zhang, J.H. “Effect of abscisic acid on active oxygen species, antioxidative defence system and oxidative damage in leaves of maize seedlings”, *Plant Cell Physiol.*, **42**: 1265-1273, (2001).
- [56] Jiang, M.Y., Zhang, J.H. “Role of abscisic acid in water stress-induced antioxidant defense in leaves of maize seedlings”, *Free Radical Res.*, **36**: 1001-1015, (2002).
- [57] Xiong, L., Zhu, J.K. “Regulation of abscisic acid biosynthesis”, *Plant Physiology*, **133**: 29-36, (2003).
- [58] Jiang M., Zhang J., “Abscisic acid and Antioxidant Defense in Plant Cells”, *Acta Botanica Sinica*, **46**: 1-9 (2004).



- [59] Reddy A.S.N., “Calcium: silver bullet in signaling”, *Plant Science*, **160**: 381-404, ( 2003 ).
- [60] White P.J., “Calcium channels in higher plants”, *Biochimica et Biophysica Acta*, **1465**: 171-189,( 2000 ).
- [61] Mori, C.I., Schroeder, I.J. “Reactive oxygen species activation of plant Ca<sup>2+</sup> channels. a signaling mechanism in polar growth, hormone trasdution, stress signaling, and hypothetically mechanotrasducion”, *Plant Physiology*, **135**: 702-708, (2004).
- [62] Bozcuk S., “Domates (*Lycopersicum esculentum* Mill), Arpa (*Hordeum vulgare* L.) ve Pamuk (*Gossypium hirsutum* L.) Bitkilerinin Büyüme ve Gelişmesinde Tuz-Kinetin Etkileşimleri Üzerine Araştırmalar”, Doçentlik tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi, Ankara (1978).
- [63] Sairam, R.K., Srivastava, G.C., “Changes in antioxidant activity in sub-cellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress”, *Plant Science* **162**:897-904, (2002).
- [64] Porra,R.J., Thompson, R.A., Kriedemann, P.E. “Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlohylls a and b extracted with four different solvent verification of the concentration of chlorophyll standarts by atomic absorbtion spectroscopy”, *Biochem And Biophys. Acta*, **975**: 384-394, (1989).
- [65] Keleş Y., “Bazı Çevresel Streslerin Etkisinde Kalan Buğday (*Triticum aestivum* L. Ve *Triticum durum* Desf.) Fidelerinde Çeşitli Fizyolojik ve Biyokimyasal Değişimlerin İncelenmesi”, Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 91s., (2000).
- [66] Krinsky, N.I, Welankıwar, S.“Assay of Carotenoids”, *Methods in Enzymology*, **105**:155-162, (1994).
- [67] Hartree, E. F., “Determination of protein: A Modification of Lowry Method that Gives a Linear Photometric Response” *Analytical Biochemistry*, **48**: 422-427, (1972).
- [68] Erarslan, A., Kazan, D. ve Öztürk, D., “Enzimlerin Saflaştırılmasında Temel Yöntemler”, TÜBİTAK, Marmara Araştırma Merkezi, (2000).

- [69] Beyer W.F., Fridowich. I “Assaying for superoxide dismutase activity: Some large consequences of minor changes in conditions”, *Anal. Biochem*, **161**: 559 -566, (1987).
- [70] Vitoria, P.A., Lea, P.J., Azevedo, R.A., “Antioxidant enzymes responses to cadmium in radish tissues” *Phytochemistry*, **57**: 701-710, (2001).
- [71] Bonnet M., Camares O. And Veisserie P., “Effects of zinc and influence of *Acremonium lolii* on growth parameters, chlorophyll a fluorescence and antioxidant enzyme activities of ryegrass”, *Journal Experimental Botany*, **51**: 945-953, (2000).
- [72] Calberg I., Mannervik B., “Glutathion Reductase ”, *Methods in Enzymology*, **113**: 484-490,(1985).
- [73] Aebi H.E., Bergmeyer J., Grabl M., “Catalase In: Methods of enzymatic analysis ”, Eds. Verlag Chemie, Weinheim, **3**: 273-286, (1983).
- [74] Karabal E., Yücel M., Öktem H.A., “Antioxidant responses of tolerant and sensitive barley cultivars to boron toxicity”, *Plant Science*, **164**: 925-933, (2003).
- [75] Schmieden, U., Wild, A. “Changes in levels of  $\alpha$ -tocopherol and ascorbate in spruce needles at three low mountain sites exposed to  $Mg^{2+}$  deficiency and ozone.”, *Z. Naturforsch*, **49**: 171-180, (1994).
- [76] Sharp, R.E. “Interaction with ethylene: changing views on the role of abscisic acid in root growth responses to water stress”, *Plant, Cell and Environment* **25**: 211-222, (2002).
- [77] Growing, D.J.G., Davies, W.J., Jones, H.G. “A positive root-sourced signal as an indicator of soil drying in apple, *Malus x domestica* Borkh”, *Journal Experimental Botany*, **41**: 1535-1540, (1990).
- [78] Sanchez-Blanco, M.J, Rodriguez, M.A., Morales, M.A., Ortuna, M.F., Torrecillas, A. “Comparative growth and water relations of *Cistus albidus* and *Cistus monspeliensis* plants during water deficit conditions and recovery”, *Plant Sci.*, **162**: 107-113, (2002).
- [79] Younis, M.E., El-Shahabay, O.A., Abo-Hamed, S.A., Ibrahim, A.H. “Effects of water stress on growth, pigments and  $^{14}CO_2$  assimilation in three Sorghum Cultivars”, *J.Agronomy&Crop Science*, **185**: 73-82, (2000).

- [80] Trewavas, A.J., Jones, H.G. “An assessment of the role of ABA in plant development”, *Physiology and Biochemistry*, 169-188, (1991).
- [81] Munns, R., Cramer, .R, “Is coordination of leaf and root growth mediated by abscisic acid? Opinion”, *Plant and Soil*, **185**: 33-49, (1996).
- [82] Gunes, A., Cicek, N., Inal, A., Alpaslan, M., Eraslan, F., Guneri, E., Guzelordu, T. “Genotypic response of chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars to drought stress implemented at pre- and post- anthesis stages and its relations with nutrient uptake and efficiency”, *Plant Soil Environ.*, **52**: 368-376, (2006).
- [83] Hussain, A., Black, C.R., Taylor, I.B., Roberts, J.A. “Does antagonistic relationship between ABA and ethylene mediate shoot growth when tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plants encounter compacted soil?”, *Plant Cell and Environment*, **23**: 1217-1226, (2000).
- [84] Nonami, H. “Plant water relations and control of cell elongation at low water potentials”, *J. Plant Res.* **111**: 373-382, (1998).
- [85] Bolat, I., Kaya, C., Almaca, A., Timuçin, S. “Calcium sulfate improves salinity tolerance in rootstocks of plum”, *Journal of Plant Nutrition*, **29**: 553-564, (2006).
- [86] Fu, J., Huang, B. “Involment of antioxidants and lipid peroxidations in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress”, *Environmental and Experimental Botany*, **45**: 105-114, (2001).
- [87] Jiang, Y., Huang, B. “Drought and heat stress injury to two cool-season turfgrasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation”, *Crop. Sci.*, **41**: 436-442, (2001).
- [88] Moran, J.F., Becana, M., Iturbe-Ormaetxe, I., Frechilla, S., Klucas, R.V., Aparico-Tejo, P. “Drought induces oxidative stress in Pea plants”, *Planta*, **194**: 346-352, (1994).
- [89] Grija, C., Smith, B.N., Swamy, P.M. “Interactive effects of sodium chloride and calcium chloride on the accumulation of proline and glycine-betaine in peanut”, *Environmental and Experimental Botany*, **47**: 1-10, (2002).

- [90] Iturbe-Ormaetxe, I., Escuredo, P.R., Arres-Igor, C., Becana, M. “oxidative damage in pea plants exposed to water deficit or paraquat” *Plant Physiol.*, **116**: 173-181, (1998).
- [91] Sieferman-Harms, D. “The light-harvesting and protective functions of carotenoids in photosynthetic membranes”, *Physiol Plant*, **69**: 561-568, (1987).
- [92] Bartoli, C., G., Simontacchi, M., Tambussi, E., Beltrano, J., Montaldi, E., Puntarulo, S. “Drought and watering-dependent oxidative stress: effect on antioxidant content in *Triticum aestivum* L. leaves”, *Journal Experimental Botany*, **50** (332): 375-383, (1999).
- [93] Bueno, P., Piqueras A., Kurepa, J., Savoure, A., Verbruggen, N., Montagu, M.V., Inze, D. “Expression of antioxidant enzymes in response to abscisic acid and high osmotic in tobacco BY-2 cell cultures”, *Plant Science*, **138**: 27-34, (1998).
- [94] Sakamoto, A., Okumura, T., Kaminaka, H., Sumi, K., Tanaka, K. “Structure and differential response to abscisic acid of two promoters for the cytosolic copper/zinc-superoxide dismutase genes, *SodCc1* and *SodCc2* ,in rice protoplasts”, *FEBS Letters*, **358**: 62-66, (1995).
- [95] Shigeoka, S., Ishikawa, T., Tamoi, M., Miyagawa, Y., Takeda, T., Yabuta, Y., Yoshimura, K. “Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes”, *Journal Experimental Botany*, **53** (372): 1305-1319, (2002).
- [96] Del Rio, L.A., Corpas, F.J., Sandalio, L.M., Palma, J.M., Gomez, M., Barroso, “Reactive oxygen species, antioxidant systems and nitric oxide in peroxisomes”, *Journal Experimental Botany*, **53** (372): 1255-1272, (2002).
- [97] Çekiç, F.Ö. “Tuz (NaCl) ve ağır metal (kadmiyum) stresine maruz bırakılan domates bitkisinde bazı fizyolojik parametrelerin ve antioksidant savunma sisteminin incelenmesi”, Yüksek Lisans tezi, Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Mersin, 80s., (2004).
- [98] Sato, Y., Murakami, T., Funatsuki, H., Matsuba, S., Saruyama, H., Tanida, M. “Heath shock-mediated APX gene expression and protection against chilling injury in rice seedlings”, *Journal Experimental Botany*, **52**(354): 145-151, (2001).

- [99] Ahmed, S., Nawata, E., Hosokawa, M., Domae, Y., Sakuratani, T. “Alteration in photosynthesis and some antioxidant enzymatic activities of mungbean subjected to waterlogging”, *Plant Science*, **163**: 117-123, (2002).
- [100] Gosset, D.R., Millhollon, E.P., Lucas, M.C. “Antioxidant response to NaCl stress in salt-tolerant and salt sensitive cultivars of cotton”, *Crop. Sci.*, **34**: 706-714, (1994).
- [101] Behera, R.K., Mishra, P.C., Choudhury, N.K. “High irradiance and water stress induce alterations in pigment composition and chloroplast activities of primary wheat leaves”, *J. Plant Physiol.*, **159**: 967-973, (2002).
- [102] Guo, T., Zhang, G., Zhou, M., Wu, F., Chen, J. “Effects of aluminium and cadmium toxicity on growth and antioxidant enzyme activities of two barley genotypes with different Al resistance”, *Plant and Soil*, **258**: 241-248, (2004).
- [103] Caretto, S., Paradiso, A., D’Amico, L., De Gara, L. “Ascorbate and glutathione metabolism in two sunflower cell lines of differing  $\alpha$ -tocopherol biosynthetic capability”, *Plant Physiol. Biochem.*, **40**: 509-513, (2002).
- [104] Bacon, M.A. “The biochemical control of leaf expansion during drought”, *Plant Growth Regul.*, **29**: 101-112, (1999).
- [105] Guan, L., Scandaios, G.J. “Effects of the plant growth regulator abscisic acid and high osmoticum on the developmental expression of maize catalase genes”, *Physiologia Plantarum*, **104**: 413-422, (1998).
- [106] Rajasekaran, R., Blake, T.J., “New plant growth regulators protect photosynthesis and enhance growth under drought of jack pine seedlings”, *Journal of Plant Growth Regulation*, **18**: 175-181, (1999).

## **EKLER**

Bu çalışmanın varyans analizi sonuçları, Ek 1-16' da gösterilmiştir.

Ek 1. *L.esculentum* ve *L.chilense*'de Kök ve Gövde Uzunluğunun Varyans Analizi Sonuçları.

Varyasyon Kaynakları		Kareler Toplamı	S.D.	Kareler Ortalaması	F Değeri	Prob
Kök uzunluğu	Tür	307,547	1	307,547	51,137	0,000***
	Kurak	92,130	1	92,130	15,319	0,000***
	ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	14,237	3	4,746	0,789	0,509
	Tür x Kurak	18,130	1	18,130	3,015	0,092
	Tür x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	32,137	3	10,712	1,781	0,171
	Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	131,621	3	43,874	7,295	0,001**
	Tür x Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	7,954	3	2,651	0,441	0,725
	Hata	192,453	32	6,014		
	Genel	796,210	47			
Gövde uzunluğu	Tür	1692,188	1	1692,188	48,241	0,000***
	Kurak	280,333	1	280,333	7,992	0,008**
	ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	547,854	3	182,618	5,206	0,005**
	Tür x Kurak	126,750	1	126,750	3,613	0,066
	Tür x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	204,854	3	68,285	1,947	0,142
	Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	1602,292	3	534,097	15,226	0,000***
	Tür x Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	731,542	3	243,847	6,952	0,001**
	Hata	1122,500	32	35,078		
	Genel	6308,313	47			

\* : İstatistiksel olarak %5 düzeyinde önemli (P<0,05)

\*\* : İstatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli (P<0,01)

\*\*\* : İstatistiksel olarak % 0,1 düzeyinde önemli (P<0,001)

Ek 2. *L.esculentum* ve *L.chilense*'de Uygulamanın Birinci Günü ve Uygulamanın Beşinci Günü OSİ'nin Varyans Analizi Sonuçları.

Varyasyon Kaynakları		Kareler Toplamı	S.D.	Kareler Ortalaması	F Değeri	Prob
Uygulamanın Birinci Günü	Tür	0,026	1	0,026	0,005	0,944
	Kurak	484,377	1	484,377	93,075	0,000***
	ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	434,861	3	144,954	27,853	0,000***
	Tür x Kurak	12,252	1	12,252	2,354	0,135
	Tür x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	194,086	3	64,695	12,431	0,000***
	Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	676,904	3	225,635	43,356	0,000***
	Tür x Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	231,077	3	77,026	14,801	0,000***
	Hata	166,534	32	5,204		
	Genel	2200,117	47			
Uygulamanın Beşinci Günü	Tür	54,163	1	54,163	8,441	0,007**
	Kurak	1333,959	1	1333,959	207,894	0,000***
	ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	570,376	3	190,125	29,630	0,000***
	Tür x Kurak	28,734	1	28,734	4,478	,0042***
	Tür x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	117,088	3	39,029	6,083	0,002**
	Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	1763,026	3	587,675	91,587	0,000***
	Tür X Kurak X ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	79,634	3	26,545	4,137	0,014*
	Hata	205,330	32	6,417		
	Genel	4152,310	47			

- \* : İstatistiksel olarak %5 düzeyinde önemli (P<0,05)  
\*\* : İstatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli (P<0,01)  
\*\*\* : İstatistiksel olarak %0.1 düzeyinde önemli (P<0,01)



Ek 3. *L.esculentum* ve *L.chilense*'de Uygulamanın Birinci Günü ve Uygulamanın Beşinci Günü Klorofil a İçeriğinin Varyans Analizi Sonuçları.

	Varyasyon Kaynakları	Kareler Toplamı	S.D.	Kareler Ortalaması	F Değeri	Prob
Uygulamanın Birinci Günü	Tür	21190890,038	1	21190890,0	283855,534	0,000***
	Kurak	2820212,207	1	2820212,20	37777,217	0,000***
	ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	220795,412	3	73598,471	985,864	0,000***
	Tür x Kurak	1675075,280	1	1675075,28	22437,915	0,000***
	Tür x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	143305,726	3	47768,575	639,868	0,000***
	Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	1472,792	3	490,931	6,576	0,001**
	Tür x Kurak ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	67009,898	3	22336,633	299,203	0,000***
	Hata	2388,921	32	74,654		
	Genel	26121150,275	47			
Uygulamanın Beşinci Günü	Tür	10559910,463	1	10559910,4	236481,467	0,000***
	Kurak	148499,326	1	148499,326	3325,534	0,000***
	ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	178500,601	3	59500,200	1332,463	0,000***
	Tür x Kurak	104979,213	1	104979,213	2350,933	0,000***
	Tür x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	33362,232	3	11120,744	249,041	0,000***
	Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	201526,416	3	67175,472	1504,346	0,000***
	Tür x Kurak ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	78924,759	3	26308,253	589,154	0,000***
	Hata	1428,937	32	44,654		
	Genel	11307131,947	47			

- \* : İstatistiksel olarak %5 düzeyinde önemli (P<0,05)  
\*\* : İstatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli (P<0,01)  
\*\*\* : İstatistiksel olarak % 0,1 düzeyinde önemli (P <0,001)

Ek 4. *L.esculentum* ve *L.chilense*'de Uygulamanın Birinci Günü ve Uygulamanın Beşinci Günü Klorofil b İçeriğinin Varyans Analizi Sonuçları.

Varyasyon Kaynakları		Kareler Toplamı	S.D.	Kareler Ortalaması	F Değeri	Prob
Uygulamanın Birinci Günü	Tür	2295755,67	1	2295755,67	24148,647	0,000***
	Kurak	61407,324	1	61407,324	645,933	0,000***
	ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	17579,685	3	5859,895	61,639	0,000***
	Tür x Kurak	41801,267	1	41801,267	439,700	0,000***
	Tür x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	11445,494	3	3815,165	40,131	0,000***
	Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	13071,836	3	4357,279	45,833	0,000***
	Tür x Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	15812,049	3	5270,683	55,441	0,000***
	Hata	3042,166	32	95,068		
	Genel	2459915,50	47			
Uygulamanın Beşinci Günü	Tür	1092016,01	1	1092016,01	32962,780	0,000***
	Kurak	56302,339	1	56302,339	1699,500	0,000***
	ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	14838,805	3	4946,268	149,304	0,000***
	Tür x Kurak	37165,922	1	37165,922	1121,863	0,000***
	Tür x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	52945,694	3	17648,565	532,726	0,000***
	Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	25582,365	3	8527,455	257,403	0,000***
	Tür x Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	4876,213	3	1625,404	49,063	0,000***
	Hata	1060,120	32	33,129		
	Genel	1284787,47	47			

- \* : İstatistiksel olarak %5 düzeyinde önemli (P<0,05)  
\*\* : İstatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli (P<0,01)  
\*\*\* : İstatistiksel olarak % 0,1 düzeyinde önemli (P <0,001)

Ek 5. *L.esculentum* ve *L.chilense*'de Uygulamanın Birinci Günü ve Uygulamanın Beşinci Günü Klorofil a/b İçeriğinin Varyans Analizi Sonuçları.

Varyasyon Kaynakları	Kareler Toplamı	S.D.	Kareler Ortalaması	F Değeri	Prob	
Uygulamanın Birinci Günü	Tür	0,447	1	0,447	64,517	0,000***
	Kurak	2,528	1	2,528	365,104	0,000***
	ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	1,412	3	0,471	67,983	0,000***
	Tür x Kurak	0,382	1	0,382	55,212	0,000***
	Tür x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	0,638	3	0,213	30,703	0,000***
	Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	0,170	3	0,057	8,199	0,000***
	Tür x Kurak x ABA ve/Ca <sup>2+</sup>	0,947	3	0,316	45,599	0,000***
	Hata	0,222	32	0,007		
	Genel	6,746	47			
	Uygulamanın Beşinci Günü	Tür	0,983	1	0,983	569,017
Kurak		0,417	1	0,417	241,154	0,000***
ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>		0,125	3	0,042	24,033	0,000***
Tür x Kurak		0,047	1	0,047	27,376	0,000***
Tür x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>		1,299	3	0,433	250,491	0,000***
Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>		0,571	3	0,190	110,080	0,000***
Tür x Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>		1,715	3	0,572	330,743	0,000***
Hata		0,055	32	0,002		
Genel		5,212	47			

- \* : İstatistiksel olarak %5 düzeyinde önemli (P<0,05)  
\*\* : İstatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli (P<0,01)  
\*\*\* : İstatistiksel olarak % 0,1 düzeyinde önemli (P <0,001)

Ek 6. *L.esculentum* ve *L.chilense*'de Uygulamanın Birinci Günü ve Uygulamanın Beşinci Günü Toplam Klorofil İçeriğinin Varyans Analizi Sonuçları.

Varyasyon Kaynakları	Kareler Toplamı	S.D.	Kareler Ortalaması	F Değeri	Prob	
Uygulamanın Birinci Günü	Tür	37436427,95	1	37436427,95	383205,35	0,000***
	Kurak	3713921,60	1	3713921,60	38016,305	0,000***
	ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	265092,282	3	88364,094	904,509	0,000***
	Tür x Kurak	2246103,41	1	2246103,41	22991,479	0,000***
	Tür x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	209364,303	3	69788,10	714,362	0,000***
	Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	20406,940	3	6802,31	69,630	0,000***
	Tür x Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	61855,556	3	20618,51	211,055	0,000***
	Hata	3126,172	32	97,693		
	Genel	43956298,22	47			
Uygulamanın Beşinci Günü	Tür	18443565,862	1	18443565,862	500270,25	0,000***
	Kurak	387677,137	1	387677,137	10515,501	0,000***
	ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	285613,733	3	95204,578	2582,365	0,000***
	Tür x Kurak	267071,500	1	267071,500	7244,148	0,000***
	Tür x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	158442,832	3	52814,277	1432,554	0,000***
	Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	349687,426	3	116562,475	3161,685	0,000***
	Tür x Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	49048,019	3	16349,340	443,466	0,000***
	Hata	1179,751	32	36,867		
	Genel	19942286,259	47			

- \* : İstatistiksel olarak %5 düzeyinde önemli (P<0,05)  
\*\* : İstatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli (P<0,01)  
\*\*\* : İstatistiksel olarak % 0,1 düzeyinde önemli (P <0,001)

Ek 7. *L.esculentum* ve *L.chilense*'de Uygulamanın Birinci Günü ve Uygulamanın Beşinci günü  $\beta$ -karoten İçeriğinin Varyans Analizi Sonuçları.

Varyasyon Kaynakları		Kareler Toplamı	S.D.	Kareler Ortalaması	F Değeri	Prob
Uygulamanın Birinci Günü	Tür	600,348	1	600,348	26,479	0,000***
	Kurak	2431,455	1	2431,455	107,243	0,000***
	ABA ve/veya $Ca^{2+}$	3748,430	3	1249,477	55,110	0,000***
	Tür x Kurak	212,085	1	212,085	9,354	0,004*
	Tür x ABA ve/veya $Ca^{2+}$	737,571	3	245,857	10,844	0,000***
	Kurak x ABA ve/veya $Ca^{2+}$	1948,796	3	649,599	28,651	0,000***
	Tür x Kurak x ABA ve/veya $Ca^{2+}$	1347,929	3	449,310	19,817	0,000***
	Hata Genel	725,519 11752,134	32 47	22,672		
Uygulamanın Beşinci Günü	Tür	416,147	1	416,147	42,753	0,000***
	Kurak	0,607	1	0,607	0,062	0,804
	ABA ve/veya $Ca^{2+}$	764,876	3	254,959	26,193	0,000***
	Tür x Kurak	920,004	1	920,004	94,516	0,000***
	Tür x ABA ve/veya $Ca^{2+}$	681,688	3	227,229	23,344	0,000***
	Kurak x ABA ve/veya $Ca^{2+}$	2172,238	3	724,079	74,388	0,000***
	Tür x Kurak x ABA ve/veya $Ca^{2+}$	636,791	3	212,264	21,807	0,000***
	Hata Genel	311,483 5903,832	32 47	9,734		

- \* : İstatistiksel olarak %5 düzeyinde önemli (P<0,05)  
\*\* : İstatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli (P<0,01)  
\*\*\* : İstatistiksel olarak % 0,1 düzeyinde önemli (P <0,001)

Ek 8. *L.esculentum* ve *L.chilense*'de Uygulamanın Birinci Günü ve Uygulamanın Beşinci günü  $\beta$ -karoten/klorofil İçeriğinin Varyans Analizi Sonuçları.

Varyasyon Kaynakları		Kareler Toplamı	S.D.	Kareler Ortalaması	F Değeri	Prob
Uygulamanın Birinci Günü	Tür	0,012	1	0,012	1310,497	0,000***
	Kurak	0,000	1	0,000	29,176	0,000***
	ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	0,000	3	0,000	17,567	0,000***
	Tür x Kurak	0,001	1	0,001	63,185	0,000***
	Tür x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	0,000	3	0,000	15,316	0,000***
	Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	0,001	3	0,000	34,666	0,000***
	Tür x Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	0,001	3	0,000	40,163	0,000***
	Hata	0,000	32	9,064		
	Genel	0,016	47			
Uygulamanın Beşinci Günü	Tür	0,005	1	0,005	1415,763	0,000***
	Kurak	0,000	1	0,000	38,953	0,000***
	ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	0,000	3	0,000	49,136	0,000***
	Tür x Kurak	0,000	1	0,000	95,547	0,000***
	Tür x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	0,000	3	0,000	44,471	0,000***
	Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	0,001	3	0,000	68,752	0,000***
	Tür x Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	0,000	3	0,000	47,208	0,000***
	Hata	0,000	32	3,312		
	Genel	0,007	47			

- \* : İstatistiksel olarak %5 düzeyinde önemli (P<0,05)  
\*\* : İstatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli (P<0,01)  
\*\*\* : İstatistiksel olarak % 0,1 düzeyinde önemli (P <0,001)

Ek 9. *L.esculentum* ve *L.chilense*'de Uygulamanın Birinci Günü ve Uygulamanın Beşinci Günü Toplam SOD Aktivitesinin Varyans Analizi Sonuçları.

Varyasyon Kaynakları		Kareler Toplamı	S.D.	Kareler Ortalaması	F Değeri	Prob
Uygulamanın Birinci Günü	Tür	1397,884	1	1397,884	65,276	0,000***
	Kurak	1400,552	1	1400,552	65,400	0,000***
	ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	39860,140	3	13286,713	620,438	0,000***
	Tür x Kurak	24,506	1	24,506	1,144	0,293
	Tür x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	17920,682	3	5973,561	278,942	0,000***
	Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	2483,760	3	827,920	38,661	0,000***
	Tür x Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	8543,186	3	2847,729	132,978	0,000***
	Hata	685,282	32	21,415		
	Genel	72315,992	47			
Uygulamanın Beşinci Günü	Tür	12579,966	1	12579,966	791,078	0,000***
	Kurak	5870,457	1	5870,457	369,157	0,000***
	ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	1436,251	3	478,750	30,106	0,000***
	Tür x Kurak	2412,499	1	2412,499	151,707	0,000***
	Tür x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	2530,914	3	843,638	53,051	0,000***
	Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	2329,517	3	776,506	48,830	0,000***
	Tür x Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	2596,447	3	865,482	54,425	0,000***
	Hata	508,874	32	15,902		
	Genel	30264,926	47			

- \* : İstatistiksel olarak %5 düzeyinde önemli (P<0,05)  
\*\* : İstatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli (P<0,01)  
\*\*\* : İstatistiksel olarak % 0,1 düzeyinde önemli (P <0,001)

Ek 10. *L.esculentum* ve *L.chilense*'de Uygulamanın Birinci Günü ve Uygulamanın Beşinci Günü Cu/Zn-SOD Aktivitesinin Varyans Analizi Sonuçları.

Varyasyon Kaynakları		Kareler Toplamı	S.D.	Kareler Ortalaması	F Değeri	Prob
Uygulamanın Birinci Günü	Tür	5717,720	1	5717,720	383,575	0,000***
	Kurak	171,987	1	171,987	11,538	0,002**
	ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	8291,867	3	2763,956	185,421	0,000***
	Tür x Kurak	0,118	1	0,118	0,008	0,930
	Tür x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	2886,935	3	962,312	64,557	0,000***
	Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	834,322	3	278,107	18,657	0,000***
	Tür x Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	2549,801	3	849,934	57,018	0,000***
	Hata	477,005	32	14,906		
	Genel	20929,756	47			
Uygulamanın Beşinci Günü	Tür	5865,662	1	5865,662	486,124	0,000***
	Kurak	1570,119	1	1570,119	130,126	0,000***
	ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	635,989	3	211,996	17,569	0,000***
	Tür x Kurak	655,780	1	655,780	54,349	0,000***
	Tür x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	741,328	3	247,109	20,480	0,000***
	Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	635,854	3	211,951	17,566	0,000***
	Tür x Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	455,128	3	151,709	12,573	0,000***
	Hata	386,118	32	12,066		
	Genel	10945,977	47			

- \* : İstatistiksel olarak %5 düzeyinde önemli (P<0,05)  
\*\* : İstatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli (P<0,01)  
\*\*\* : İstatistiksel olarak % 0,1 düzeyinde önemli (P <0,001)



Ek 11. *L.esculentum* ve *L.chilense*'de Uygulamanın Birinci Günü ve Uygulamanın Beşinci Günü Fe/Mn-SOD Aktivitesinin Varyans Analizi Sonuçları.

Varyasyon Kaynakları		Kareler Toplamı	S.D.	Kareler Ortalaması	F Değeri	Prob
Uygulamanın Birinci Günü	Tür	12769,880	1	12769,880	717,252	0,000***
	Kurak	590,955	1	590,955	33,192	0,000***
	ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	11857,757	3	3952,586	222,007	0,000***
	Tür x Kurak	28,027	1	28,027	1,574	0,219
	Tür x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	7186,571	3	2395,524	134,551	0,000***
	Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	1027,225	3	342,408	19,232	0,000***
	Tür x Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	1803,028	3	601,009	33,757	0,000***
	Hata	569,724	32	17,804		
	Genel	35833,169	47			
Uygulamanın Beşinci Günü	Tür	1275,717	1	1275,717	199,464	0,000***
	Kurak	1379,270	1	1379,270	215,655	0,000***
	ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	170,632	3	56,877	8,893	0,000***
	Tür x Kurak	545,908	1	545,908	85,355	0,000***
	Tür x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	575,022	3	191,674	29,969	0,000***
	Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	721,695	3	240,565	37,613	0,000***
	Tür x Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	1001,275	3	333,758	52,185	0,000***
	Hata	204,663	32	6,396		
	Genel	5874,182	47			

- \* : İstatistiksel olarak %5 düzeyinde önemli (P<0,05)  
\*\* : İstatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli (P<0,01)  
\*\*\* : İstatistiksel olarak % 0,1 düzeyinde önemli (P <0,001)

Ek 12. *L.esculentum* ve *L.chilense*'de Uygulamanın Birinci Günü ve Uygulamanın Beşinci Günü AP Aktivitesinin Varyans Analizi Sonuçları.

Varyasyon Kaynakları		Kareler Toplamı	S.D.	Kareler Ortalaması	F Değeri	Prob
Uygulamanın Birinci Günü	Tür	0,036	1	0,036	11,045	0,002**
	Kurak	0,034	1	0,034	10,402	0,003**
	ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	0,396	3	0,132	40,515	0,000***
	Tür x Kurak	0,001	1	0,001	,401	0,531
	Tür x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	0,081	3	0,027	8,289	0,000***
	Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	0,066	3	0,022	6,781	0,001**
	Tür x Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	0,035	3	0,012	3,571	0,025*
	Hata	0,104	32	0,003		
	Genel	0,753	47			
Uygulamanın Beşinci Günü	Tür	0,007	1	0,007	1,624	0,212
	Kurak	0,307	1	0,307	74,830	0,000***
	ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	0,092	3	0,031	7,445	0,001**
	Tür x Kurak	0,024	1	0,024	5,743	0,023*
	Tür x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	0,026	3	0,009	2,078	0,123
	Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	0,119	3	0,040	9,710	0,000***
	Tür x Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	0,039	3	0,013	3,166	0,038*
	Hata	0,131	32	0,004		
	Genel	0,744	47			

- \* : İstatistiksel olarak %5 düzeyinde önemli (P<0,05)  
\*\* : İstatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli (P<0,01)  
\*\*\* : İstatistiksel olarak % 0,1 düzeyinde önemli (P <0,001)

Ek 13. *L.esculentum* ve *L.chilense*'de Uygulamanın Birinci Günü ve Uygulamanın Beşinci Günü GR Aktivitesinin Varyans Analizi Sonuçları.

Varyasyon Kaynakları		Kareler Toplamı	S.D.	Kareler Ortalaması	F Değeri	Prob
Uygulamanın Birinci Günü	Tür	0,344	1	0,344	0,216	0,645
	Kurak	4,353	1	4,353	2,739	0,108
	ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	38,126	3	12,709	7,998	0,000***
	Tür x Kurak	9,430	1	9,430	5,934	0,021*
	Tür x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	12,320	3	4,107	2,584	0,070
	Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	25,790	3	8,597	5,410	0,004**
	Tür x Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	4,696	3	1,565	0,985	0,412
	Hata Genel	50,849 145,908	32 47	1,589		
Uygulamanın Beşinci Günü	Tür	60,123	1	60,123	47,520	0,000***
	Kurak	26,643	1	26,643	21,058	0,000***
	ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	128,494	3	42,831	33,853	0,000***
	Tür x Kurak	11,050	1	11,050	8,734	0,006**
	Tür x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	3,740	3	1,247	0,985	0,412
	Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	6,219	3	2,073	1,638	0,200
	Tür x Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	60,576	3	20,192	15,959	0,000***
	Hata Genel	40,487 337,333	32 47	1,265		

- \* : İstatistiksel olarak %5 düzeyinde önemli (P<0,05)  
\*\* : İstatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli (P<0,01)  
\*\*\* : İstatistiksel olarak % 0,1 düzeyinde önemli (P <0,001)

Ek 14. *L.esculentum* ve *L.chilense*'de Uygulamanın Birinci Günü ve Uygulamanın Beşinci Günü KAT Aktivitesinin Varyans Analizi Sonuçları.

Varyasyon Kaynakları		Kareler Toplamı	S.D.	Kareler Ortalaması	F Değeri	Prob
Uygulamanın Birinci Günü	Tür	228,954	1	228,954	56,872	0,000***
	Kurak	1109,47	1	1109,477	275,59	0,000***
	ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	521,673	3	173,891	43,194	0,000***
	Tür x Kurak	450,209	1	450,209	111,83	0,000***
	Tür x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	59,418	3	19,806	4,920	0,006**
	Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	212,850	3	70,950	17,624	0,000***
	Tür x Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	141,906	3	47,302	11,750	0,000***
	Hata Genel	128,826 2853,31	32 47	4,026		
Uygulamanın Beşinci Günü	Tür	850,844	1	850,844	194,58	0,000***
	Kurak	2742,23	1	2742,236	627,13	0,000***
	ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	76,470	3	25,490	5,829	0,003**
	Tür x Kurak	205,712	1	205,712	47,045	0,000***
	Tür x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	5,330	3	1,777	0,406	0,749
	Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	323,950	3	107,983	24,695	0,000***
	Tür x Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	6,293	3	2,098	0,480	0,699
	Hata Genel	139,924 4350,75	32 47	4,373		

- \* : İstatistiksel olarak %5 düzeyinde önemli (P<0,05)  
\*\* : İstatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli (P<0,01)  
\*\*\* : İstatistiksel olarak % 0,1 düzeyinde önemli (P <0,001)

Ek 15. *L.esculentum* ve *L.chilense*'de Uygulamanın Birinci Günü ve Uygulamanın Beşinci Günü MDA İçeriğinin Varyans Analizi Sonuçları.

Varyasyon Kaynakları		Kareler Toplamı	S.D.	Kareler Ortalaması	F Değeri	Prob
Uygulamanın Birinci Günü	Tür	17,361	1	17,361	118,78	0,000***
	Kurak	1,772	1	1,772	12,126	0,001**
	ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	2,857	3	0,952	6,516	0,001**
	Tür x Kurak	0,018	1	0,018	0,120	0,731
	Tür x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	1,915	3	0,638	4,367	0,011*
	Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	1,350	3	0,450	3,079	0,041*
	Tür x Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	1,437	3	0,479	3,277	0,034*
	Hata	4,677	32	0,146		
	Genel	31,386	47			
Uygulamanın Beşinci Günü	Tür	27,102	1	27,102	374,52	0,000***
	Kurak	2,623	1	2,623	0,000	0,985
	ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	4,814	3	1,605	22,175	0,000***
	Tür x Kurak	0,153	1	0,153	2,109	0,156
	Tür x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	1,522	3	0,507	7,012	0,001**
	Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	0,553	3	0,184	2,547	0,073
	Tür x Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	0,633	3	0,211	2,917	0,049*
	Hata	2,316	32	0,072		
	Genel	37,092	47			

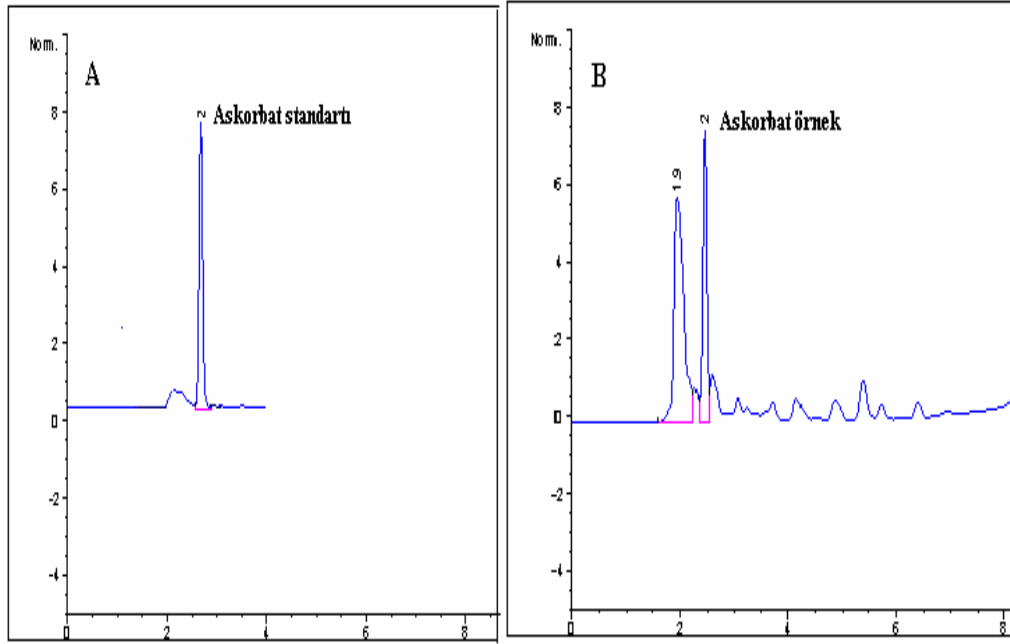
- \* : İstatistiksel olarak %5 düzeyinde önemli (P<0,05)  
\*\* : İstatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli (P<0,01)  
\*\*\* : İstatistiksel olarak % 0,1 düzeyinde önemli (P <0,001)

Ek 16. *L.esculentum* ve *L.chilense*'de Uygulamanın Birinci Günü ve Uygulamanın Beşinci Günü Askorbat İçeriğinin Varyans Analizi Sonuçları.

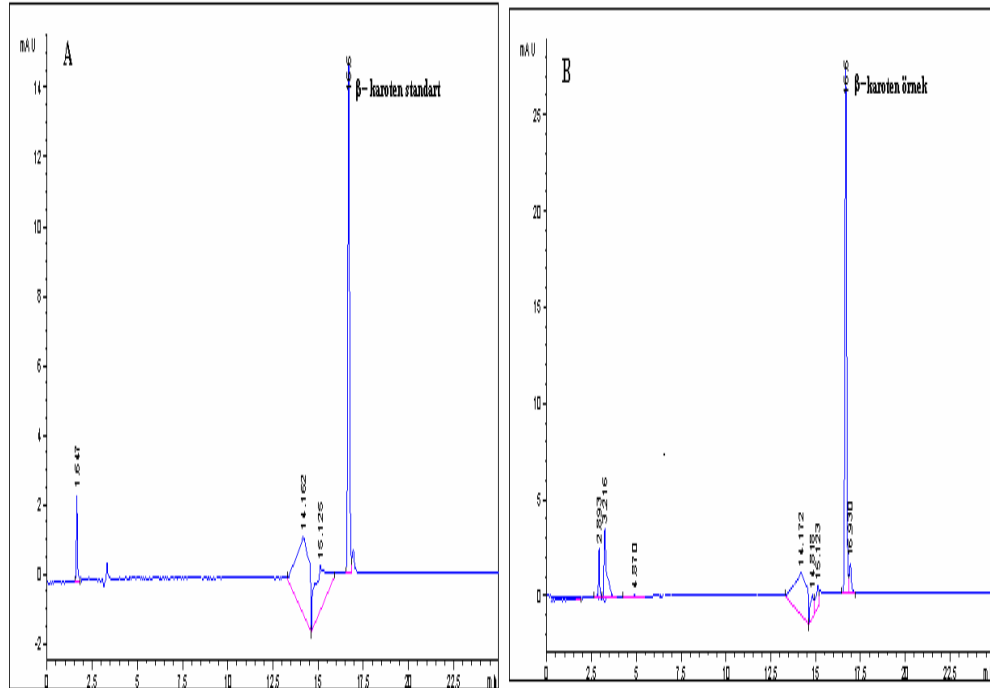
Varyasyon Kaynakları		Kareler Toplamı	S.D.	Kareler Ortalaması	F Değeri	Prob
Uygulamanın Birinci Günü	Tür	7332,94	1	7332,941	112,528	0,000***
	Kurak	38517,468	1	38517,468	591,071	0,000***
	ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	115182,82	3	38394,275	589,181	0,000***
	Tür x Kurak	29260,613	1	29260,613	449,020	0,000***
	Tür x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	2432,818	3	810,939	12,444	0,000***
	Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	94360,611	3	31453,537	482,671	0,000***
	Tür x Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	33221,801	3	11073,934	169,935	0,000***
	Hata	2085,298	32	65,166		
	Genel	322394,37	47			
Uygulamanın Beşinci Günü	Tür	530,670	1	530,670	17,017	0,000***
	Kurak	14658,030	1	14658,030	470,035	0,000***
	ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	42489,390	3	14163,130	454,165	0,000***
	Tür x Kurak	424,830	1	424,830	13,623	0,001**
	Tür x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	5783,790	3	1927,930	61,822	0,000***
	Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	19631,550	3	6543,850	209,840	0,000***
	Tür x Kurak x ABA ve/veya Ca <sup>2+</sup>	6082,830	3	2027,610	65,019	0,000***
	Hata	997,920	32	31,185		
	Genel	90599,010	47			

- \* : İstatistiksel olarak %5 düzeyinde önemli (P<0,05)  
\*\* : İstatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli (P<0,01)  
\*\*\* : İstatistiksel olarak % 0,1 düzeyinde önemli (P <0,001)

Ek 17. Askorbat analizi için HPLC kromatogram örnekleri.



Ek 18.  $\beta$ -karoten analizi için HPLC kromatogram örnekleri.



## ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında Kahramanmaraş'ta doğdu. 1996 yılında Mersin Hacı Sabancı Lisesi'nden mezun oldu. 1998 yılında Niğde Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazandı. 2000 yılında Mersin Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümüne yatay geçiş yaptı. 2002 yılında Mersin Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden mezun oldu. 31 Mart – 8 Ağustos 2003 tarihleri arasında İngiltere'de yabancı dil eğitimi aldı. 2003 yılında Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda Tezli Yüksek Lisans öğrenimine başladı. Aralık 2004 yılından bu yana Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak görev yapmaktadır.