

**T.C.
ISPARTA UYGULAMALI BİLİMLER ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ÜÇ TURUNÇGİL ANACININ KURAKLIK STRESİ SIRASINDA
ANTIÖKSİDAN AKTİVİTELERİNDE MEYDANA GELEN
DEĞİŞİMLERİN BELİRLENMESİ**

Büşra ARSLAN

**Danışman
Doç. Dr. Mehtap ŞAHİN ÇEVİK**

ISPARTA - 2019

© 2019 [Büşra ARSLAN]

TEZ ONAYI

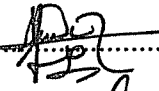
ÜÇ TURUNÇGİL ANACININ KURAKLIK STRESİ
ANTIÖKSİDAN AKTİVİTELERİNDE MEYDANA GELEN
DEĞİŞİMLERİN BELİRLENMESİ

Büşra ARSLAN tarafından hazırlanan bu tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

İmza

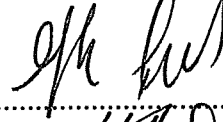
Başkan

Doç. Dr. Ayşe Gül İNCE
Akdeniz Üniversitesi

.....


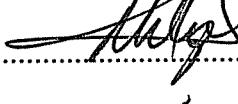
Üye

Doç. Dr. Ufuk ÇELİKKOL AKÇAY
Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi

.....


Üye

Doç. Dr. Mehtap ŞAHİN ÇEVİK
Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi

.....


Yukarıdaki Jüri kararı Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun / /
tarih ve / sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Yusuf UÇAR
Enstitü Müdürü


ETİK BEYANI

Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak ve bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yol ve yardıma başvurmaksızın hazırladığım bu tez çalışmada;

Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, tezime ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara katlanacağımı bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

09/07/2019

Büşra ARSLAN



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER	i
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	4
2.1. Turunçgiller.....	4
2.2. Stres ve Stres Faktörleri	7
2.3. Kuraklık Stresi	9
2.3.1. Kuraklık stresinin bitkiler üzerinde olan etkileri	9
2.3.2. Bitkilerde kuraklık stresine karşı geliştirilen dayanım mekanizmaları.....	10
2.4. Reaktif Oksijen Türleri (ROT).....	14
2.4.1. Süperoksit radikali (O ₂ ⁻).....	15
2.4.3. Hidrojen peroksit radikali (H ₂ O ₂)	17
2.4.4. Hidroksil radikali (OH ⁻)	18
2.5. Bitki Bünyesinde Reaktif Oksijen Türlerinin Üretim Yerleri.....	19
2.5.1. Mitokondri	20
2.5.2. Kloroplast.....	21
2.5.3. Peroksizom.....	22
2.5.4. Apoplast	23
2.5.5. Plazma membranı.....	24
2.5.6. Hücre duvarı.....	25
2.6. Bitki Bünyesinde Reaktif Oksijen Türlerinin Hedefleri	25
2.6.1. Lipidler üzerine etkileri.....	26
2.6.2. Proteinler üzerine etkileri.....	28
2.6.3. DNA üzerine etkileri	28
2.7. Bitkilerde Antioksidan Savunma Sistemleri	29
2.7.1. Enzimatik antioksidan savunma sistemleri	30
2.7.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD-EC; 1.15.1.1.).....	31
2.7.1.2. Katalaz (KAT-EC; 1.11.1.6.).....	32
2.7.1.3. Glutasyon peroksidaz (GPX-EC; 1.11.1.9).....	32
2.7.1.4. Askorbat peroksidaz (APX-EC; 1.11.1.11.).....	33
2.7.1.5. Monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR-EC; 1.6.5.4.).....	34
2.7.1.7. Glutasyon redüktaz (GR- EC. 1.6.4.2)	35
2.7.2. Enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri	36
2.7.2.1. Askorbik asit (AA).....	37
2.7.2.2. İndirgenmiş glutasyon (GSH).....	37
2.7.2.3. Tokoferol.....	38
2.7.2.4. Karotenoid.....	39
2.7.2.5. Flavonoid	39
2.8. Bitkilerde Çevresel Stresler Sırasında ROT ve Detoksifikasyonları İle İlgili Yapılmış Çalışmalar.....	40
2.8.1. Abiyotik stresler sırasında yapılmış olan çalışmalar.....	40
2.8.1.1 Abiyotik stresler sırasında turunçgillerde yapılmış olan çalışmalar	43

3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	50
3.1. Materyal	50
3.2. Yöntem.....	50
3.2.1. Bitki yetiştirme koşulları ve kuraklık stresi uygulaması.....	50
3.2.2. Fizyolojik ölçümler	51
3.2.2.1. Toprak neminin belirlenmesi	51
3.2.2.2. Stoma iletkenliğinin belirlenmesi	51
3.2.3. Biyokimyasal analizler.....	52
3.2.3.1. Lipid peroksidasyonu miktarının belirlenmesi.....	52
3.2.3.2. Hidrojen peroksit miktarının belirlenmesi	52
3.2.3.3. Örneklerden ekstrakt çıkarımı.....	53
3.2.3.4. Protein miktarının belirlenmesi.....	53
3.2.3.5. Süperoksit dismutaz aktivitesinin belirlenmesi.....	54
3.2.3.6. Katalaz aktivitesinin belirlenmesi	54
3.2.3.7. Askorbat peroksidaz aktivitesinin belirlenmesi	54
3.2.3.8. Glutasyon redüktaz aktivitesinin belirlenmesi	55
3.2.3.9. Askorbik asit miktarının belirlenmesi.....	55
3.2.3.10. Fenolik miktarının belirlenmesi	55
3.2.4. İstatistiksel Analizler.....	56
4. BULGULAR	57
4.1. Fizyolojik Ölçümler	57
4.1.1. Kuraklığın toprak nemine etkisi.....	57
4.1.2. Kuraklığın stoma iletkenliğine etkisi	60
4.2. Biyokimyasal Analizler.....	61
4.2.1. Kuraklığın lipit peroksidasyonu miktarına etkisi.....	61
4.2.2. Kuraklığın hidrojen peroksit miktarına etkisi	64
4.2.3. Kuraklığın protein miktarına etkisi	66
4.2.4. Kuraklığın süperoksit dismutaz aktivitesine etkisi	69
4.2.5. Kuraklığın katalaz aktivitesine etkisi	71
4.2.6. Kuraklığın askorbat peroksidaz aktivitesine etkisi	73
4.2.7. Kuraklığın glutasyon redüktaz aktivitesine etkisi	77
4.2.8. Kuraklığın askorbik asit miktarına etkisi	80
4.2.9. Kuraklığın fenolik miktarına etkisi	82
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	85
KAYNAKLAR	97
ÖZGEÇMİŞ	115

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ÜÇ TURUNÇGİL ANACININ KURAKLIK STRESİ SIRASINDA ANTIOKSİDAN AKTİVİTELERİNDE MEYDANA GELEN DEĞİŞİMLERİN BELİRLENMESİ

Büşra ARSLAN

Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Mehtap ŞAHİN ÇEVİK

Kuraklık stresi dünyada tarımsal üretimde her yıl yaklaşık olarak %35 oranında verim ve kalite kayıplarına yol açarak milyarlarca dolar zarara sebep olmaktadır. Ekonomik açıdan önemli bir meyve grubunu oluşturan turunçgiller de kuraklık stresinden olumsuz olarak etkilenmektedir. Tarımsal üretimde turunçgillerin de dahil olduğu birçok ürün grubunda yetiştiricilikte çevresel streslere karşı dayanıklılık için anaç kullanma zorunluluğu bulunmaktadır. Yapılan bu çalışma kapsamında da turunçgil yetiştiriciliğinde yaygın olarak kullanılan turunç (*Citrus aurantium*) ve Troyer ve Carrizo sitranjlarının (*Poncirus trifoliata* x *Citrus sinensis*) kuraklık stresi sırasında antioksidan seviyelerinde meydana gelen değişimler incelenmiştir. Çalışmada öncelikle kullanılan her bir anaç için ayrı ayrı olmak üzere ve her bir grupta 10 bitki olacak şekilde kontrol ve stres grubu bitkileri aynı koşullarda yetiştirilmiştir. Daha sonra kontrol gruplarında bulunan bitkilere düzenli olarak su verilirken stres grubunu oluşturan bitkilere ise 14 gün boyunca su verilmeyerek kuraklık stresi uygulanmıştır. Kuraklık stresi boyunca, stres uygulamasının 0., 7., 8., 9., 12. ve 14. günlerinde kontrol ve stres gruplarını oluşturan bitkilerden ayrı ayrı yaprak örnekleri toplanarak -80 °C'de saklanmıştır. Yaprak örnekleri daha sonra sıvı azot yardımı ile ezilerek uygun yöntemlerle ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Bitkilerde stres göstergesi olarak toprak nemi, stoma iletkenliği, hidrojen peroksit (H₂O₂), lipid peroksidasyonu (MDA) ve protein miktarlarında meydana gelen değişimler incelenmiştir. Aynı zamanda strese bağlı enzimatik antioksidanlarda meydana gelen değişimleri belirlemek için süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT), askorbat peroksidaz (APX), glutatyon redüktaz (GR) enzimlerinin aktiviteleri, enzimatik olmayan antioksidanlarda meydana gelen değişimi belirlemek için ise askorbik asit ve fenolik miktarlarında meydana gelen değişimler incelenmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda, stres uygulanmış bitkilerin tümünün hidrojen peroksit (H₂O₂) ve malondialdehit (MDA), askorbik asit, fenolik miktarlarının ve KAT, APX enzim aktivitelerinin kontrollere göre arttığı belirlenmiştir. SOD enzim aktivitesi tüm çeşitlerde azalma gösterirken, GR enzim aktivitesi ve protein miktarı ise turunç anacında kontrole kıyasla azalırken diğer anaçlarda artmıştır. Sonuç olarak Troyer ve Carrizo sitranjlarının kuraklık stresine dayanım düzeylerinin turunç anacına göre daha fazla olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle kurak koşullarda turunçgil yetiştiriciliğinde anaç olarak Troyer ve Carrizo

sitrajlarının kullanımının turunç anacına göre daha uygun olabileceği düşünölmekte ve önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, Carrizo, Kuraklık stresi, Troyer, Turunç

2019, 115 sayfa



ABSTRACT

M.Sc. Thesis

THE DETERMINATION OF CHANGES IN ANTIOXIDANT ACTIVITIES DURING THE DROUGHT STRESS OF THREE CITRUS

Büşra ARSLAN

Isparta University of Applied Sciences
The Institute of Graduate Education
Department of Agricultural Biotechnology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Mehtap ŞAHİN ÇEVİK

Drought stress annually causes billions of dollars loss by approximately 35% decreases in the yield and quality of agricultural crops around the world. Citrus, which constitute an economically important fruit group, is also adversely affected by drought stress. Use of rootstock is necessary for resistance to environmental stresses in agricultural production of many crops including citrus fruits. In this study, changes in the antioxidant levels during the drought stress were investigated in sour orange (*Citrus aurantium*) and Troyer and Carrizo citranges (*Poncirus trifoliata* x *Citrus sinensis*) which are commonly used as rootstocks in citrus cultivation. Seedlings were grown for each rootstock used in the study; then, control and stress groups containing 10 seedlings were formed for each rootstock. The seedlings in the control groups were regularly watered, but seedlings in the stress groups were not watered for 14 days to apply drought stress. Leaf samples were collected separately from the control and stress groups of each rootstock at 0, 7, 8, 9, 12 and 14 days of the drought stress and leaf samples were stored at -80 °C. The leaf samples were ground in liquid nitrogen and then extracted by appropriate methods. Then, soil moisture, stomatal conductivity, lipid peroxidation (MDA) and hydrogen peroxide (H₂O₂), changes in protein content were investigated in samples from control and stressed plants as stress indicators. Moreover, superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX), and glutathione reductase (GR) enzyme activities were determined as enzymatic antioxidants and ascorbic acid and phenolic levels were determined as non-enzymatic antioxidants to determine antioxidative changes during drought stress. As a result of the statistical analysis, hydrogen peroxide (H₂O₂), malondialdehyde (MDA), ascorbic acid, phenolic amounts, CAT activity and APX activities increased in all stressed plants compared to the controls. While GR enzyme activity and protein amount decreased in stressed sour orange rootstock, it increased in other rootstocks compared to control after drought stress. On the other hand, SOD enzyme activity decreased in all stressed treated rootstocks compared to the controls. As a result, it was determined that the stress indicators of Troyer and Carrizo rootstocks were higher than that of sour orange rootstocks. Therefore, these citrus rootstocks were more resistant to drought stress than sour orange rootstock. These results indicated that the use of Troyer and Carrizo citrange rootstocks can be more suitable than sour orange in citrus cultivation during drought condition.

Key Words: Antioxidant, Carrizo, Citrus, Drought stress, Troyer,
2019, 115 pages



TEŞEKKÜR

Bu araştırma için beni yönlendiren, araştırmalarımnda bana her zaman yardımcı olan tez danışmanım sayın Doç. Dr. Mehtap ŞAHİN ÇEVİK'e teőekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam sırasında bana her zaman yol gösteren sayın hocam Prof. Dr. Bayram ÇEVİK'e teőekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın istatistik analizlerinde yardımcı olan Doç. Dr. Özgür KOŐKAN'a ve Emre ASLAN'a teőekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen çalışma arkadaşlarım Deniz ERKAN ve Tuğçe KOCAMANA'a teşekkür ederim.

Çalışmalarım süresince görüş ve önerilerinden yararlandığım, Sultan ARSLAN TONTUL ve eői İsmail TONTUL'a teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca beni yalnız bırakmayan ve tezimin her aşamasında destekleriyle her zaman yanımda olan anneme, babama ve kardeşime sonsuz sevgi ve saygılarımı sunarım.

Büşra ARSLAN
ISPARTA, 2019

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Dünya turunçgil üretim miktarı ve ülkelere göre dağılımı	4
Şekil 2.2. Dünya turunçgil üretim miktarı ve türlere göre dağılımı.....	5
Şekil 2.3. Türkiye turunçgil üretim miktarı ve türlere göre dağılımı.....	6
Şekil 2.4. Biyotik ve abiyotik stres faktörleri	8
Şekil 2.5. Bitkilerde ROT üretim yerleri Mitokondri (A), Kloroplast (B), Peroksizom (C) ve Plazma membranı (D).....	20
Şekil 2.6. Reaktif oksijen türleri ve hücrelerdeki hedefleri	26
Şekil 2.7. Askorbat-glutasyon (AsA-GSH) döngüsü.....	34
Şekil 3.1. Kuraklık uygulamasının ilk gününde (solda) ve 14. gününde (sağda) anaçların görünüşleri [Carrizo (üstte), turunç (ortada), Troyer (altta)]....	51



ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.1. Antioksidanlar, katalizledikleri reaksiyonlar ve hücre içi üretim yerleri	30
Çizelge 2.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar, katalizledikleri reaksiyonlar ve hücre içi üretim yerleri.....	36
Çizelge 4.1. Turunçgil anaçlarının toprak nemine ait kovaryans alınmamış (çeşit x zaman x uygulama) üçlü interaksyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	59
Çizelge 4.2. Turunçgil anaçlarının toprak nemine ait kovaryans alınmış (çeşit x zaman x uygulama) üçlü interaksyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	59
Çizelge 4.3. Turunçgil anaçlarının toprak nemine ait kovaryans alınmış (zaman x uygulama) ikili interaksyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	59
Çizelge 4.4. Turunçgil anaçlarının stoma iletkenliğine ait kovaryans alınmamış (çeşit x zaman x uygulama) üçlü interaksyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	60
Çizelge 4.5. Turunçgil anaçlarının stoma iletkenliğine ait kovaryans alınmış (çeşit x zaman x uygulama) üçlü interaksyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	60
Çizelge 4.6. Turunçgil anaçlarının MDA miktarına ait kovaryans alınmamış (çeşit x zaman x uygulama) üçlü interaksyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	63
Çizelge 4.7. Turunçgil anaçlarının MDA miktarına ait kovaryans alınmış (çeşit x zaman x uygulama) üçlü interaksyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	63
Çizelge 4.8. Turunçgil anaçlarının H ₂ O ₂ miktarına ait kovaryans alınmamış (çeşit x zaman x uygulama) üçlü interaksyonuna ait analizi	65
Çizelge 4.9. Turunçgil anaçlarının H ₂ O ₂ miktarına ait kovaryans alınmış (çeşit x zaman x uygulama) üçlü interaksyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	65
Çizelge 4.10. Turunçgil anaçlarının protein miktarına ait kovaryans alınmamış (çeşit x zaman x uygulama) üçlü interaksyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	68
Çizelge 4.11. Turunçgil anaçlarının protein miktarına ait kovaryans alınmış (çeşit x zaman x uygulama) üçlü interaksyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	68
Çizelge 4.12. Turunçgil anaçlarının SOD aktivitesine ait kovaryans alınmamış (çeşit x zaman x uygulama) üçlü interaksyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	70

Çizelge 4.13. Turunçgil anaçlarının SOD aktivitesine ait kovaryans alınmış (çeşit x zaman x uygulama) üçlü interaksyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	70
Çizelge 4.14. Turunçgil anaçlarının SOD aktivitesine ait kovaryans alınmış (zaman x uygulama) ikili interaksyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	70
Çizelge 4.15. Turunçgil anaçlarının KAT aktivitesine ait kovaryans alınmamış (çeşit x zaman x uygulama) üçlü interaksyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	72
Çizelge 4.16. Turunçgil anaçlarının KAT aktivitesine ait kovaryans alınmış (çeşit x zaman x uygulama) üçlü interaksyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	72
Çizelge 4.17. Turunçgil anaçlarının KAT aktivitesine ait kovaryans alınmış (zaman x çeşit) ikili interaksyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	72
Çizelge 4.18. Turunçgil anaçlarının APX aktivitesine ait kovaryans alınmamış (çeşit x zaman x uygulama) üçlü interaksyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	75
Çizelge 4.19. Turunçgil anaçlarının APX aktivitesine ait kovaryans alınmış (çeşit x zaman x uygulama) üçlü interaksyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	75
Çizelge 4.20. Turunçgil anaçlarının APX aktivitesine ait kovaryans alınmış (zaman x uygulama) ikili interaksyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	75
Çizelge 4.21. Turunçgil anaçlarının APX aktivitesine ait kovaryans alınmış (zaman x çeşit) ikili interaksyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	76
Çizelge 4.22. Turunçgil anaçlarının GR aktivitesine ait kovaryans alınmamış (çeşit x zaman x uygulama) üçlü interaksyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	79
Çizelge 4.23. Turunçgil anaçlarının GR aktivitesine ait kovaryans alınmış (çeşit x zaman x uygulama) üçlü interaksyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	79
Çizelge 4.24. Turunçgil anaçlarının AA miktarına ait kovaryans alınmamış (çeşit x zaman x uygulama) üçlü interaksyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	81
Çizelge 4.25. Turunçgil anaçlarının AA miktarına ait kovaryans alınmış (çeşit x zaman x uygulama) üçlü interaksyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları	81
Çizelge 4.26. Turunçgil anaçlarının AA miktarına ait kovaryans alınmış (zaman x uygulama) ikili interaksyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	81

Çizelge 4.27. Turunçgil anaçlarının fenolik miktarına ait kovaryans alınmamış (çeşit x zaman x uygulama) üçlü interaksyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	84
Çizelge 4.28. Turunçgil anaçlarının fenolik miktarına ait kovaryans alınmış (çeşit x zaman x uygulama) üçlü interaksyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları.....	84



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

%	Yüzde
μ	Mikro
$^{\circ}\text{C}$	Santigrad derece
α	Alfa
W	Watt

Kısaltmalar

AA	Askorbik Asit
ABA	Absisik Asit
APX	Askorbat Peroksidaz
AsA	Askorbat
Asa-GSH	Askorbat- Glutasyon
BSA	Bovine Serum Albumin
Ca	Kalsiyum
CBB	Coomassie Brilliant Blue
cm	Santimetre
CO ₂	Karbondioksit
Cu	Bakır
DHA	Dehidroaskorbat
DHAR	Dehidroaskorbat Redüktaz
dak	Dakika
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
E. coli	<i>Escherichia coli</i>
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetikasit
Et	Etilen
ETS	Elektron Taşıma Sistemi
Fe	Demir
FSI	Fotosistem I
FSII	Fotosistem II
g	Gram
GPX	Glutasyon Peroksidaz
GR	Glutasyon Redüktaz
GSH	Glutasyon
GSSG	Okside Glutasyon
H ₂ O	Su
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
JA	Jasmonik Asit
K	Potasyum
KAT	Katalaz
kDa	Kilodalton
kg	Kilogram
l	Litre
M	Molar
MAPK	Mitogen activated protein kinase

MDA	Malondialdehit
MDHAR	Mono Dehidro Askorbat Redüktaz
Mg	Miligram
ml	Mililitre
mM	Milimolar
Mn	Mangan
O ₂	Moleküler Oksijen
NADH	Nikotinamid Adenin Dinükleotit
NADP	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NBT	Nitrotetrazolium Blue chloride
O ₂ ⁻	Süperoksit Radikali
OH ⁻	Hidroksil Radikali
PUFA	Çoklu Doymamış Yağ Asidi
R [•]	Radikal
RNA	Ribonükleik Asit
ROO [•]	Peroksi Radikali
ROOH [•]	Hidroperoksit Radikali
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
Rpm	Dakikada devir
SA	Salisilik Asit
SOD	Süperoksit Dismutaz
TBA	Tiyobarbitürik Asit
TCA	Tricloroasetik Asit
U	Ünite
Zn	Çinko
¹ O ₂	Singlet Oksijen
³ Chl	Üçlü Klorofil
³ O ₂	Üçlü Oksijen

1. GİRİŞ

Bitkiler yaşamları boyunca, birçok olumsuz faktörle karşı karşıya kalarak strese girmektedirler. Stres kavramı çok uzun yıllar önce literatüre girmiş ve bitkilerin normal yaşam döngülerini olumsuz olarak etkileyen olayların bütünü olarak tanımlanmıştır. Stres kavramı soğuk, tuzluluk ve kuraklık gibi kendiliğinden ortaya çıkan abiyotik stresler ve virüsler, patojenler gibi canlı faktörler aracılığıyla oluşan biyotik stresler olarak ikiye ayrılmaktadır. Dünya üzerindeki ekilebilir alanlar stres çeşitlerine göre sınıflandırıldığında ilk sırayı abiyotik stresler arasında yer alan kuraklık stresi almaktadır. Bu nedenle de kuraklık stresi büyümeyi ve verimi olumsuz yönde etkileyen en önemli çevresel stres faktörü olarak kabul edilmektedir.

Kuraklık stresi bitkilerin yaşamı için gerekli su ihtiyacının, toprakta bulunan su miktarından daha fazla olduğu ve bitkilerin bu ihtiyaçlarını karşılayamadıkları durumlarda ortaya çıkmaktadır. Kuraklık ile karşı karşıya kalan bitkilerde ozmotik strese bağlı olarak fizyolojik, morfolojik ve biyokimyasal düzeyde oldukça fazla değişim gerçekleşmektedir. Stres sırasında reaktif oksijen türlerinin (ROT) miktarında artış meydana gelmektedir. ROT miktarına bağlı olarak büyüme-gelişimde yavaşlamalar, verimde azalmalar meydana gelmektedir. Hatta üretilen ROT'ların detoksifikasyonunun sağlanamadığı durumlarda, bitkiler için hayati tehlike yaratan birçok sorun ortaya çıkmaktadır. ROT'lar metabolizmanın yan ürünü olarak bilinen ve son orbitallerinde en az bir tane eşlenmemiş elektronu bulunan oldukça kararsız moleküller olarak tanımlanmaktadır. ROT üretiminin temelini, dünya üzerinde ki varlığı çok uzun yıllardan beri bilinen moleküler oksijen (O_2) oluşturmaktadır. Aynı çekim gücüne sahip eşlenmemiş iki elektronu bulunan moleküler oksijen (O_2) kuraklık stresi gibi stres şartları sırasında meydana gelen redoks tepkimeler sonucunda metabolik faaliyetlerin kısıtlanması ile birlikte ROT miktarlarındaki artışların temelini oluşturmaktadır. Süperoksit (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil (OH^-) ve singlet oksijen (1O_2) radikallerini içeren ROT'ların üretimleri genellikle yoğun elektron akışına maruz kalan mitokondri, kloroplast ve peroksisom gibi bitki organellerinde gerçekleşmektedir (Gill ve Tuteja, 2010; Awasthi vd. 2015). Aslında bu serbest radikallerin üretimi bitki bünyesinde sürekli olarak gerçekleşmektedir. Ancak üretimleri ve detoksifikasyonları bitki bünyesinde yer alan antioksidanlar tarafından denge içerisinde bulundurulmaktadır.

Normal koşullarda bitki bünyesinde dengede bulunan bu radikaller çiçeklenmenin düzenlenmesi, büyüme ve gelişme, senesens gibi süreçlerde sinyallemeden sorumlu moleküller olarak bu süreçlerin düzenlenmesinde görev almaktadırlar. Çevresel stresler sırasında ise bitki bünyesinde yer alan bu serbest radikallerin dengesi fotosentez ve solunum mekanizmalarında meydana gelen aksamaların sonucunda bozulmakta ve radikallerin üretimleri artarak hücre içerisinde oksidatif stresin oluşmasına neden olmaktadır. Oluşan stres nedeni ile lipidlerde peroksidasyon, proteinlerde oksidasyon ve DNA üzerinde parçalanmalar meydana gelerek bitkilerde yaralanmalar ortaya çıkmaktadır (Das ve Roychoudhury, 2014). Bu durum ilerleyen aşamalarda ise bitkilerin ölümü ile sonuçlanmaktadır. Bitkiler ROT'ların olumsuz etkilerinden korunmak ve streslere karşı dayanım sağlayıp yaşamlarını devam ettirebilmek amacıyla antioksidan savunma sistemleri geliştirmişlerdir. Bu sistemler, ROT'ların daha zararsız bileşenlere yani su ve oksijen gibi moleküllere parçalanmasına veya buldukları yerde radikalleri çevreleyip yayılmalarını sınırlandırmaktadırlar. Böylece ROT miktarının bitkiye zarar verebilecek düzeye ulaşmasını engelleyerek yeni üretilebilecek serbest radikallerin üretimini kontrol altına almaktadırlar. Antioksidan savunma sistemleri süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT), askorbat peroksidaz (APX), glutatyon redüktaz (GR), glutatyon peroksidaz (GPX) dehidroaskorbat redüktaz (DHAR), monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR) gibi enzimatik antioksidanlar ve askorbik asit (AA), karotenoid, flavonoid, α -tokoferol gibi enzimatik olmayan antioksidanlar olarak iki grupta yer almaktadırlar (Mitra, 2001; Mahajan ve Tuteja, 2005; Gill ve Tuteja, 2010).

Günümüzde küresel ısınmaya bağlı olarak iklimlerde meydana gelen değişimler, yer altı ve yerüstü su kaynaklarında ve yıllık m²'ye düşen yağış miktarında azalmalara neden olmaktadır. Bu olumsuz çevre şartları bitkilerin optimum yaşam koşullarından farklı bir ortam oluşmasına neden olarak tarımsal üretimde kalite ve kantite açısından azalmaların yaşanmasına veya bazı durumlarda bitkilerin bu koşullara hiç adapte olmaması nedeniyle de bitkilerin ölümleri ile sonuçlanmaktadır.

Tropik ve subtropik iklim şartlarına uyum sağlamaları ile bilinen turunçgiller gerek sağlık gerekse endüstri gibi pek çok alanda kullanım alanlarının bulunması nedeniyle tarımsal üretimde en önemli meyve gruplarından birisini oluşturmaktadır. Dünya üzerinde kullanım alanı oldukça geniş olan turunçgil bitkileri, fizyolojik özelliklerine

bağlı olarak suyu oldukça seven bir meyve grubudur ve bu nedenle çevresel stresler arasında bulunan kuraklık stresinden oldukça fazla etkilenmektedirler. Turunçgillerin çoğaltımları sırasında tohum, çelik ve diğer vejetatif yöntemlerle başarılı bir şekilde çoğaltım imkanı bulunsa da değişik iklim ve toprak şartlarına karşı adapte olmaları ve çevresel streslere karşı dayanım göstermeleri açısından genellikle anaç üzerine aşılansarak çoğaltılmaları tercih edilmektedir. Ülkemizde turunçgil yetiştiriciliği sırasında turunç (*Citrus aurantium*) anacı, kireçli topraklara dayanım sağlaması, kolay çoğaltılması ve %85-90 oranında poliembriyoni göstermesi nedeniyle en yaygın olarak kullanılan anaçtır. Turunç anacından sonra özellikle son yıllarda farklı koşullara turunç anacına göre daha fazla uyum sağlaması ve birçok türle uyuşma özelliklerinin yüksek olması nedeniyle *Poncirus* ve *Citrus* melezleri olan Carrizo ve Troyer sitranjları (*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.) x *Citrus sinensis*) tercih edilmektedir (Nagy ve Attaway, 1980; Wilhite ve Glantz, 1985; Salisbury ve Ross, 2009; Narang ve Jiraungkoorskul, 2016).

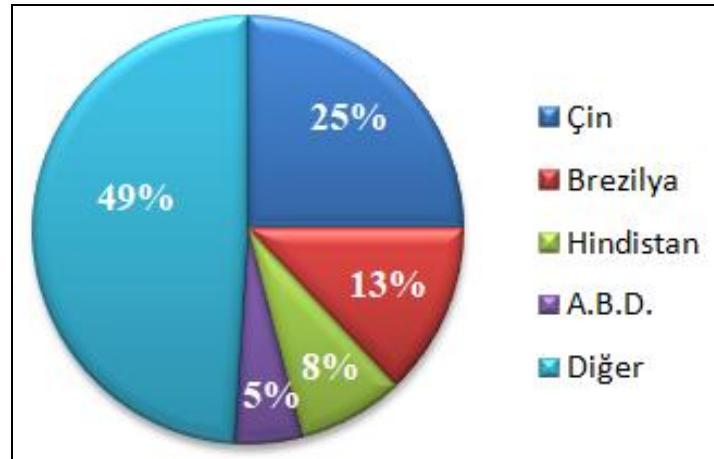
Yapılan bu tez çalışması kapsamında da, ülkemizde turunçgil yetiştiriciliği sırasında yaygın olarak kullanılan turunç, Carrizo ve Troyer anaçlarına 14 gün boyunca kuraklık stresi uygulanmış ve uygulamanın belirli günlerinde yaprak örnekleri toplanmıştır. Toplanan örnekler kullanılarak, öncelikle fizyolojik stres göstergesi olarak toprak nemi ve stoma iletkenliğinde meydana gelen değişimler incelenmiştir. Ardından biyokimyasal açıdan stres ve hücrede ROT üretiminin göstergesi olarak ise H₂O₂ ve MDA miktarlarındaki değişimler incelenmiştir. Ayrıca turunçgil anaçlarının kuraklık stresine nasıl bir yanıt verdiklerini ve anaçlar arasında kuraklık stresine dayanım yönünden bir farklılık olup olmadığını belirlemek amacıyla da stres savunmasının göstergesi olarak bazı enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan aktivitelerinde meydana gelen değişimler analiz edilmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Turunçgiller

Turunçgiller *Rutaceae* familyasının *Aurantioideae* alt familyasına bağlı olup *Citrus* cinsine girmektedirler. Orijinleri, Arabistan'ın doğusundan Filipinler'e ve Himalayalar'ın güneyinden Endonezya-Avustralya'ya kadar yayılan bölgeyi kapsayan Güney Doğu Asya olarak bilinmektedir (Davies ve Albrigo, 1994). Diğer adıyla narenciye olarak bilinen turunçgiller içerisinde, portakal (*Citrus sinensis* L. Osbeck), mandarin (*Citrus reticulata* Blanco), limon (*Citrus limon* Burm.) ve greyfurt (*Citrus paradisi*) dünyada yetiştiricilik açısından en çok rastlanan turunçgil türlerini oluşturmaktadırlar.

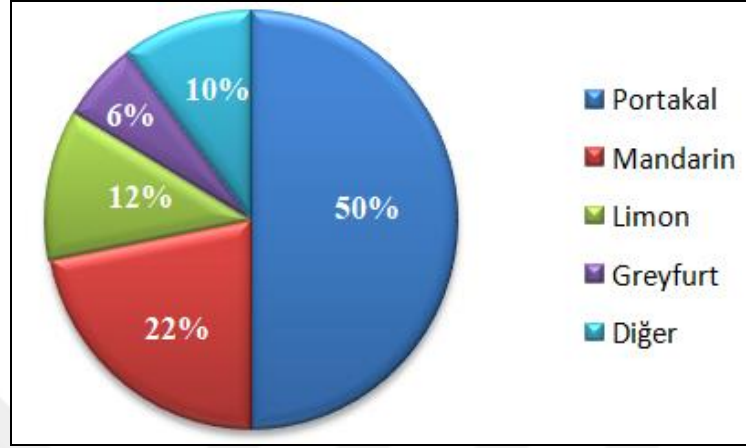
Tropik ve subtropik iklim şartlarında yetiştiriciliği yapılan turunçgillerin üretiminde 2017 yılı verilerine göre 4 milyon hektar alanda 146.429.017 ton turunçgil üretimi gerçekleştirilmektedir. Çin yıllık olarak toplam 37.923.819 ton üretimi ile en büyük turunçgil üreticisi ülke konumunda iken, Çin'i 19.591.623 ton payı ile Brezilya, 12.043.000 ton miktarı ile Hindistan ve 7.514.334 ton üretim miktarı ile de Amerika Birleşik Devletleri takip etmektedir (Şekil 2.1.) (FAO, 2019).



Şekil 2.1. Dünya turunçgil üretim miktarının ülkelere göre dağılımı (FAO, 2019)

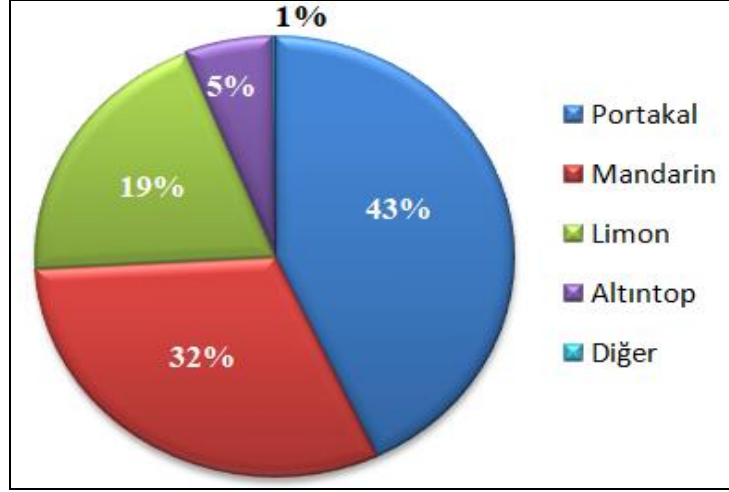
Dünya üzerindeki toplam turunçgil üretim miktarı türler bazında incelendiğinde ise Dünya çapında 73.187.570 ton üretim miktarı ile portakal ilk sırada yer almaktadır. Portakal üretimini 32.792.530 ton üretim miktarı ile mandarin, 17.347.153 ton üretim

miktarı ile limon, 9.074.176 ton miktarı ile de greyfurt takip etmektedir. Diğer turunçgil türlerinin yer aldığı ve diğer turunçgil meyvelerinin üretimi ise yıllık olarak 14.027.588 ton olarak gerçekleşmektedir (Şekil 2.2.).



Şekil 2.2. Dünya turunçgil üretim miktarının türlere göre dağılımı (FAO, 2019)

Ülkemizde ise toplam 135.643 hektar alanda 4.293.007 ton turunçgil üretimi gerçekleştirilmektedir ve bu üretim payı ile Türkiye Dünya toplam turunçgil üretiminin %2.93'ünü karşılayarak Akdeniz ülkeleri arasında 2. sırada Dünyada ise 9. sırada yer almaktadır. Ülkemizde gerçekleştirilen toplam turunçgil üretiminin %87'sini Akdeniz Bölgesinden, %12'si Ege Bölgesinden ve %1'i ise mikroklima özelliği taşımasından dolayı Doğu Karadeniz Bölgesinden karşılanmaktadır (Aygören, 2016). Ülkemizde 2017 yılı verilerine göre üretimi yapılan turunçgiller türler bazında incelendiğinde ise 1.850.000 ton üretim miktarı ile portakal ilk sırada yer almaktadır. Portakal üretimini sırasıyla, 1.337.037 ton ile mandarin, 850.600 ton ile limon, 253.120 ton ile altıntop ve 2.250 ton ile diğer turunçgil meyvelerinin üretimi oluşturmaktadır (Şekil 2.3.) (FAO, 2019).



Şekil 2.3. Ülkemizde turunçgil üretim miktarının türlere göre dağılımı (FAO, 2019)

İç ve dış ticarete ekonomik değeri yüksek olan turunçgillerin başta meyveleri olmak üzere, çiçekleri ve yapraklarından sağlık, kozmetik, gıda, peyzaj gibi pek çok alanda yararlanılmaktadır. Turunçgil meyveleri, başta C vitamini olmak üzere çeşitli vitaminler bakımından, folik asit, potasyum, kalsiyum, flavanoid, karotenoid, organik asitler, aminoasitler, mineraller bakımından da oldukça zengin olmaları nedeniyle geniş bir kullanım alanına sahiptirler (Nagy ve Attaway, 1980; Narang ve Jiraungkoorskul, 2016). Aynı zamanda turunçgiller reçel ve marmelat yapımında, gıdalara hoş koku, renk ve aroma vermesi amacıyla, konserve gıdalarda ise doğal ekşitme maddesi elde etmek amacıyla kullanılmaktadır.

Tohum ve çelik kullanılarak çoğaltımları yapılabilen turunçgillerin uygun olmayan toprak ve iklim şartları, çeşitli hastalıklar ve zararlılara dayanım açısından aşı ile çoğaltımları bir zorunluluk haline gelmiştir. Bu nedenle de turunçgillerde yetiştiriciliği yapılan hemen hemen her çeşit, anaç üzerine aşılama yöntemi ile çoğaltılmaktadır. Bitkisel üretimde hastalık ve çevre şartlarına uyum yanında ağacı erken meyveye yatırmak, ağaç ömrünü uzatmak, verimi arttırmak, meyve kalitesini yükseltmek gibi amaçlarla anaç kullanılmaktadır. Yeni bahçelerin kurulması sırasında anaçların doğru bir şekilde seçilmesi abiyotik ve biyotik stres kaynaklı olabilecek olan kayıpların azaltılması, anaç-çeşit kombinasyonundan elde edilecek ürünün kalitesi ve elde edilecek bitkinin erkencilik yapısı gibi birçok faktörden dolayı oldukça önemlidir (Seday, 2012).

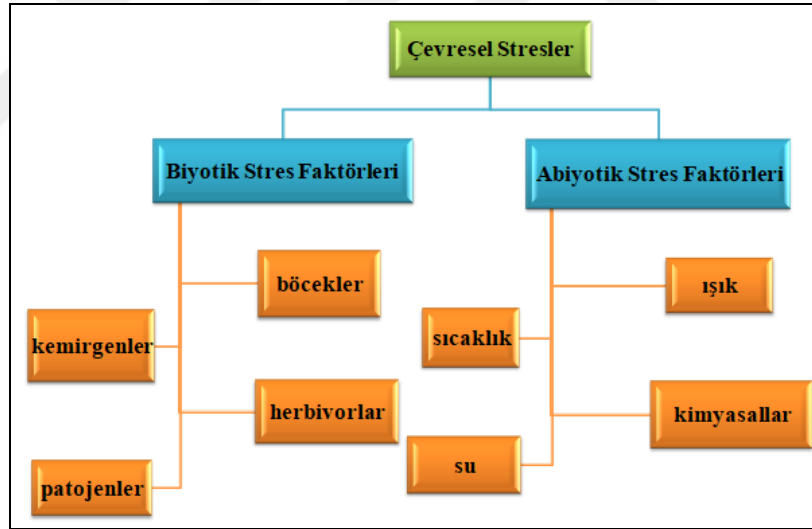
Ülkemizde, toprak ve iklim şartları göz önünde bulundurulduğunda genellikle anaç olarak turunç (*Citrus aurantium* L.), Troyer-Carrizo sitranjları (*Citrus sinensis* (L.) Osb. x *Poncirus trifoliata* (L.) Raf.) ve üç yapraklı portakal (*Poncirus trifoliata*) anaçları turunçgil yetiştiriciliğinde tercih edilmektedir. Ülkemizde ki yıllık üretimin büyük bir kısmını karşılayan Akdeniz Bölgesinde, toprakların kireçli olması ve turunç anacının kireçli topraklara iyi uyum sağlaması nedeni ile yetiştiricilik sırasında yaygın olarak turunç anacı kullanılmaktadır. Turunç anacının tipik özellikleri arasında çoğaltımının kolay olması, göçüren (*Citrus Tristeza Virus*) ve uçkurutan hastalığına (*Phoma tracheiphila*), kök boğazı çürüklüğüne (*Phytophthora capsici*) karşı dayanıklı olması, kazık kök eğiliminin yüksek olması gibi özellikler sayılabilir. Bu özelliklerinin yanında turunç anacı kuraklık stresine ise oldukça hassas olması ile bilinmektedir. Troyer ve Carrizo sitranjları ise genellikle ülkemizin Ege Bölgesinde tercih edilmektedir. Kireçli topraklara turunç anacına oranla daha zayıf uyum göstermeleri ile bilinen bu anaçlar göçüren (*Citrus Tristeza Virus*), gözenek (*Citrus Xyloporosis Viroid*), kavlama (*Citrus Psorosis Virus*) hastalıklarına, kuraklık ve don streslerine karşı toleranslı olmaları ile bilinmektedirler. Türkiye'de turunçgil üretiminde kullanılan son anaç ise üç yapraklı portakal anacıdır ve bu anacın en önemli özelliği ise çok düşük sıcaklıklara karşı dayanıklı olmasıdır. Bu nedenle de Doğu Karadeniz Bölgesinde ve Ege Bölgesinin soğuk kısımlarında anaç olarak tercih edilmektedir. Üç yapraklı portakal, anacı erken verim alınmasını sağlayan kireçli ve tuzlu topraklara karşı hassas fakat kök boğazı çürüklüğüne (*Phytophthora capsici*) ve cüceleşme hastalığı dışındaki tüm virüs hastalıklarına karşı dayanıklı bir anaç olarak bilinmektedir (Seday, 2012; Roose, 2014).

2.2. Stres ve Stres Faktörleri

Bitkilerin herhangi bir döneminde ortaya çıkarak farklı etkileşimlere sebep olan ve metabolizmanın normal işleyişini bozan tüm çevresel etmenler bütünü stres faktörü olarak tanımlanmaktadır (Mahajan ve Tuteja, 2005). Bitkilerin stres faktörlerinden etkilenmeleri buldukları koşullara, türe, çeşide, yaşa ve çevreye karşı gösterdikleri genetik dayanıklılık derecesine bağlı olarak değişmektedir (Pastori ve Fuaye, 2002; Alexieva vd. 2003). Bazı stres faktörleri bitkiler üzerinde tek başlarına etki gösterebilirken bazı stres faktörleri ise diğer faktörler ile birleşerek etki gösterebilmektedir. Stres sonucunda bitkilerde birtakım, fizyolojik ve metabolik

değişimler meydana gelmekte ve bitkilerin büyüme ve gelişmeleri olumsuz olarak etkilenmektedir. Aynı zamanda stres faktörleri üründe kalitenin düşmesine ve alınan ürün miktarının azalmasına yol açarak her yıl yüzlerce milyon dolar para kaybına neden olmaktadır (Lichtenthaler, 1996; Mahajan ve Tuteja, 2005).

Temel olarak stres faktörleri biyotik ve abiyotik faktörler olarak ikiye ayrılmaktadırlar (Şekil 2.4.) (Alexieva vd. 2003). Biyotik strese neden olan faktörler içerisinde; böcekler, kemirgenler, herbivorlar, bakteriler, funguslar ve virüsler yer almaktadır (Mahajan ve Tuteja, 2005). Abiyotik stres faktörleri ise ikinci bir stres faktörü grubunu oluşturmaktadır ve bu grubun içerisinde; düşük sıcaklık (donma ve üşüme), yüksek sıcaklık, tuz, su (su eksikliği veya su fazlalığı), besin elementleri (azlığı veya çokluğu) ve ağır metal stresleri ile radyasyon (ultraviyole veya iyonize ışık) ve çeşitli kimyasalların yol açtığı stres faktörleri yer almaktadır (Lichtenthaler, 1996; Mahajan ve Tuteja, 2005).



Şekil 2.4. Biyotik ve abiyotik stres faktörleri

Yapılan bir araştırmaya göre dünya üzerinde ki ekilebilir alanların %90'nının abiyotik stres faktörlerinden en az birisine maruz kaldığı belirlenmiştir. Bu abiyotik stres faktörleri arasında kuraklık stresi %26 ile ana sınırlayıcı faktördür ve bunu %20 ile mineral stresi, %15 ile don stresi takip etmektedir (Blum, 1996).

2.3. Kuraklık Stresi

Su, tüm canlıların yaşamlarının devamı için gerekli bir elementtir. Küresel ısınmaya ve artan dünya nüfusuna bağlı olarak su kaynakları giderek sınırlı hale gelmektedir ve buna bağlı olarak dünya ilerleyen yıllarda kuraklık tehlikesi ile karşı karşıya kalacaktır. Tarımsal açıdan kuraklık, toprakta bulunan mevcut su miktarında ve bitki gelişiminde gözle görülebilir seviyede azalmalara neden olan yağışsız geçen dönem olarak tanımlanmaktadır. Kuraklık stresi ise bitkinin terleme ile kaybettiği suyu topraktaki su yetersizliğinden dolayı bünyesine alamaması sonucu büyüme, gelişme, verim ve kalite kayıplarına hatta ilerleyen safhalarda bitkilerin ölümlerine yol açan bir abiyotik stres faktörü olarak tanımlanmaktadır (Wilhite ve Glantz, 1985). Bitkilerin kuraklık stresine maruz kalmaları durumunda yaşamsal faaliyetlerinde birtakım kısıtlamalar ve hasarlar meydana gelmektedir. Bitkiler bu hasarlardan kendilerini korumak ve streslere karşı mücadele etmek amacıyla çeşitli dayanım mekanizmaları geliştirmişlerdir (Arora vd., 2002; Gong vd., 2005).

2.3.1. Kuraklık stresinin bitkiler üzerinde olan etkileri

Kuraklık stresi, abiyotik stresler arasında birinci sırada yer alması nedeniyle en önemli stres faktörü olarak kabul edilmektedir. Tipik olarak kuraklık stresinin bitkiler üzerindeki genel belirtileri turgor basıncında ve su içeriğinde azalma, stomaların kapanması, yapraklarda solgunluk, bitki büyüme ve gelişiminin yavaşlayarak azalması şeklinde karakterize edilmiştir. Kuraklığın çok şiddetli olduğu durumlarda ise fotosentez ve solunumun aşırı yavaşlaması, hücresel zararlanmalar ve buna bağlı olarak bitki ölümleri gözlemlenebilmektedir.

Strese maruz kalan bitkilerde, kuraklık nedeniyle topraktan su alımının kısıtlı duruma gelmesi sonucunda bir süre sonra bitkinin su potansiyelinde azalmalar gerçekleşmektedir. Gerçekleşen bu olaya bağlı olarak bitki bünyesinde turgor basıncı azalmakta ve membran yapısında değişimler meydana gelmektedir. Bu değişimlerin yanı sıra stres altındaki bitkilerin hücre hacminde azalmalar ve bu azalmalara bağlı olarak dolaylı yollardan plazmoliz gerçekleşmektedir. Son olarak ise plazma membranında meydana gelen değişimlere bağlı olarak hidrolitik enzimlerin zarlar üzerinde serbest kalması sonucunda hücresel metabolizmanın kalıcı olarak

bozulmasına yol açan sitoplazmanın otolizi gerçekleşebilmektedir (Levitt, 1980; McKersie ve Leshem, 1994; Salisbury ve Ross, 2009).

Kuraklık stresinin bitkiler üzerinde ki bir diğer etkisi ise biyomoleküller üzerinde olmaktadır. Su, hücrenin büyük bir çoğunluğunu oluşturmaktadır ve bu nedenden dolayı bitkilerin yaşamsal faaliyetlerinde önemli bir rol oynayarak metabolik faaliyetlerin düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Bu nedenle de bitki bünyesinde suyun yetersiz olduğu durumlarda metabolizmada bozulmalar meydana gelmektedir. Kuraklık stresine bağlı olarak hücreler arası zararlı moleküllerin taşınımının düzenli bir şekilde gerçekleşmemesi sonucunda hücrelerde bazı iyonların birikimlerinde artışlar gözlemlenmektedir. Biriken bu iyonlar membran bütünlüğünü bozmakta ve proteinlerin üç boyutlu yapılarının bozulmasına ve aynı zamanda protein sentezinde azalmalara ve enzimlerde inhibisyona neden olmaktadır (Guy vd., 1985; Bray, 1997). Suyun kısıtlı olduğu durumlarda ışık ve klorofil etkileşiminde bozulmalar meydana gelerek bitkilerde oksidatif stres belirtileri gözlemlenmektedir. Oksidatif strese bağlı olarak, normal şartlarda bitki bünyesinde yer alan ve serbest radikal olarak bilinen ROT'ların üretiminde artış meydana gelmektedir (Hoekstra vd., 2001). Bu serbest radikallerin antioksidan savunma mekanizmaları ile dengelenemediği durumlarda ise serbest radikaller kaynaklı deoksiribonükleik asit (DNA), ribonükleik asitlerde (RNA) ve protein üzerinde hasarlar ortaya çıkmaktadır (Mahajan ve Tuteja, 2005). Bunun yanı sıra kuraklık stresi sırasında ribonükleaz (RNaz) ve deoksiribonükleaz (DNaz) enzimleri serbest hale gelmesi sonucunda DNA ve RNA'da hasarlar ortaya çıkmaktadır (Ramos vd., 1999).

2.3.2. Bitkilerde kuraklık stresine karşı geliştirilen dayanım mekanizmaları

Bitkiler orta şiddetli ve şiddetli kuraklık şartları altında meydana gelebilecek olumsuzluklar ile mücadele edip stres kaynaklı olabilecek zararları en aza indirmek ve yaşamlarını sürdürebilmek için bünyelerinde çeşitli morfolojik, biyokimyasal ve fizyolojik düzeyde bazı değişiklikler gerçekleştirerek streslere karşı dayanıklılık mekanizmaları geliştirmişlerdir.

İlk dayanım mekanizması olan morfolojik mekanizma, su miktarı kısıtlı hale gelmeden bitkinin yaşamsal faaliyetlerini düzenlemesi ya da kısıtlı su şartları altında, su kullanımını en aza indirmek veya toprakta bulunan suyu en iyi şekilde kullanabilmek için bünyesinde birtakım değişimlerin gerçekleştiği mekanizma olarak tanımlanmaktadır. Levitt'e göre bu mekanizma; kuraklıktan kaçış, kaçınma ve kuraklığa tolerans olmak üzere üç farklı grupta değerlendirilmektedir (Mitra, 2001).

Kuraklıktan kaçış, bitkilerin gelişimlerini yağmurlu yani suyun bol olduğu dönemde tamamlayabilmeleri olarak tanımlanmaktadır. Bu stratejiye göre bitkiler çiçeklenme ve olgunlaşma dönemlerini daha erken dönemde gerçekleştirmektedirler veya büyüme periyodunu topraktaki su varlığına göre düzenlemektedirler (Mitra, 2001; Arous vd., 2002).

Kuraklıktan kaçınma, stres faktörlerinin bitki bünyesine etki etmesinin engellenmesi veya etkinin azaltılması olarak tanımlanmaktadır. Stres faktörlerinden kaçınan bitkiler, kuraklık stresi sırasında bünyelerinde bulunan suyu korumak veya toprakta bulunan suyu daha iyi bir şekilde bünyelerine alabilmek için bir takım morfolojik değişimler gerçekleştirmektedirler (Courtois vd., 2000; Farooq vd., 2009). Bitkilerde meydana gelen bu değişiklikler arasında yaprakların kıvrılması, yaprak sayısının veya alanının azalması, kütikula tabakasının kalınlaşması veya yapraklar üzerinde balmumu biriktirme sayılabilir (Campbell vd., 1999; Liu vd., 2004). Ayrıca kuraklık stresinden kaçınan bitkilerde, stresin şiddetine bağlı olarak gövde ve kök uzunluğu arasındaki oran kök uzunluğu lehine değişmektedir. Bu düzenleme sonucunda bitkiler köklerini toprak altında daha derinlere doğru uzatarak yeraltında bulunan suyu bünyelerine alıp da turgorun devamlılığını sağlamaktadırlar (Kavar vd., 2007).

Son olarak kuraklığa karşı tolerans ise şiddetli ve uzun süreli gerçekleşen kuraklık stresine bağlı olarak bitkinin bünyesinde meydana gelecek hasarların engellenmesi ve oluşan hasarların onarılarak yaşamın devamlılığının sağlanması yeteneği olarak tanımlanmaktadır (Courtois vd., 2000). Kuraklığa karşı toleranslı bitkilerde stres anında morfolojik değişimlerin yanı sıra birtakım fizyolojik değişimler de meydana gelmektedir. Bu nedenle kuraklıktan kaçınan bitkiler kısa süreli kuraklık şartları altında yaşamlarını sürdürebilirken toleranslı olarak bilinen bitkiler ise uzun süreli stresler altında hayatta kalabilmektedirler (Mundre vd., 2002).

Kuraklık stresine karşı bitkide gerçekleştirilen ikinci dayanım mekanizması ise fizyolojik dayanım mekanizmasıdır. Bu mekanizma bitkilerin stresle mücadele anlamında gerçekleştirdikleri, ozmotik ayarlamayı ve koruyucu moleküllerin sentezlenmesini, stres anında ROT zararını engellemek amacıyla sentezleri artan antioksidan savunma sistemlerini ve stresler sırasında aktif olarak rol oynayan bitkisel hormonların düzeylerinde meydana gelen değişiklikleri kapsamaktadır (Farooq vd., 2009).

Bitkilerde stresler sırasında rastlanan ve en yaygın olarak gerçekleştirilen faaliyetler arasında su kaybının önüne geçmek amacıyla koruyucu moleküllerin sentezinin artırılması bulunmaktadır (Serraj ve Sinclair, 2002). Sentezlenen bu moleküller, yüksek konsantrasyonlar da dahi genellikle toksik olmayan düşük moleküler ağırlıklı, yüksek ölçüde çözünür bileşikler olarak bilinmektedir (Subbarao vd. 2000). Bu moleküller arasında çözünebilir şekerler, prolin, glisinbetain, sitrülün, trehaloz ve organik asitler ile kalsiyum, potasyum ve klorür gibi iyonlar sayılabilmektedir. Bu moleküller ve/veya iyonlar stresler sırasında ozmotik koruyucular olarak aktif bir şekilde görev alarak streslere karşı tolerans sağlamasına yardımcı olmaktadır (Ludlow ve Muchow, 1990; Courtois vd. 2000). Bu ozmotik ayarlama sayesinde kuraklık sırasında meydana gelecek dehidrasyonlar engellenmekte ve bitkinin fizyolojik aktivitelerinin normal hızında devam etmesi mümkün olabilmektedir (Morgan vd., 1990). Ayrıca bitkilerde streslere bağlı oluşan hücresel hasarların stabilize edilmesi ve stoma hareketlerinin düzenlenmesiyle de streslere karşı tolerans geliştirilmektedir.

Yapılan araştırmalar sonucunda kuraklık stresi sırasında absisik asit (ABA) ve etilen hormonlarının içeriğinde artış olduğu ve bu artışa bağlı olarak da bitkinin streslere karşı bir dayanım kazandığı sonucuna ulaşılmıştır (Taiz ve Zeiger, 2006). ABA'nın bir büyüme inhibitörü olması ve stresler sırasında birikiminin artması ile stresin iletilmesindeki veya sinyallenmesindeki ilk aşama gerçekleşmektedir. Bu sinyallemeyle ilgili olarak, stomalar kapanmakta ve hücredeki su kaybı azaltılmaktadır. Kuraklık stresi sırasında stomaların kapanmasının ardından hücreyi kuraklık stresinin yaratmış olduğu olumsuz etkilerden korumak amacıyla bir dizi karmaşık olayın oluşumu tetiklenmektedir. Bu nedenle de stresler sırasında bitkiler streslere ilk yanıt olarak ABA birikimi gerçekleştirmektedirler. Ayrıca ABA stresler

sırasında, kök-sürgün kuru ağırlık oranının arttırılması, yaprak alanı gelişiminin engellenmesi ve daha derin köklerin üretilmesi gibi çeşitli bitki kısımlarının nispi büyüme oranlarını değiştirerek stres anında bitkilerin streslerle mücadelesinde önemli bir rol oynamaktadır (Sharp vd., 1994; Kumar vd., 2001). Büyüme engelleyici hormon olarak bilinen etilen hormonu ise kuraklık stresi sırasında yaprak performansını düzenlemenin yanı sıra kuraklığa bağlı yaşlanmaya aracılık ederek fazla yaprakların dökülmesi gibi işlemlerde görev almaktadır (Young vd., 2004).

Çevresel stresler sırasında bitkiler, antioksidan savunma sistemleri olarak bilinen enzimatik olan ve olmayan savunma sistemlerini de harekete geçirmektedirler. SOD, KAT, APX gibi enzimatik antioksidanları ve AA, GSH, tokoferol gibi enzimatik olmayan antioksidanları kapsayan bu sistemler stresler sırasında üretilen ve bitki için son derece zarar verici etkileri bulunan ROT'ların etkin bir şekilde detoksifikasyona edilmesini sağlayarak bitkilerin kuraklık stresinin olumsuz etkilerinden korunmasını sağlamaktadırlar (Gill ve Tuteja, 2010).

Kuraklık stesine karşı geliştirilen son mekanizma ise moleküler mekanizmadır. Bu mekanizmada, morfolojik ve fizyolojik mekanizmalarda gerçekleşen değişimlere bağlı olarak açığa çıkan sinyaller doğrultusunda moleküler düzeyde cevaplar verilmektedir. Verilen bu cevaplar sayesinde ise bitkinin kuraklık stesine karşı tolerans göstermesi sağlanmaktadır (Kvar vd. 2007).

Genellikle stresin algılanması ile başlayıp stres ile ilgili savunmada rol oynayan genlerin aktivasyonu ile sonuçlanan bir mekanizmadır. Bu mekanizma temel olarak iki aşamadan oluşmaktadır. İlk aşama, absisik asit (ABA) ve ROT sentezinin artması gibi stres belirtisi olarak kabul edilen bileşenlerde değişimlerin meydana gelmesidir. Bu aşamada bitki bünyesinde meydana gelen değişimler hücre zarında bulunan ilgili reseptörler tarafından algılanmakta ve ikincil mesajcıları olarak bilinen kalsiyum kaskadları uyarılarak hücresel kalsiyum seviyesinde ve ROT'ların sentezinde bir artış meydana gelmektedir. Hücresel seviyede gerçekleşen bu artışın ardından, mitojenler tarafından aktive edilmiş protein kinazlar (MAPK), olarak bilinen fosfat kaskadları aktif hale gelmekte ve dış uyaranların algılanmasını ve sinyallenmesini devam ettirmektedirler. Sinyalleme son aşamasında ise stres ile ilgili transkripsiyon

faktörleri uyarılarak savunmada yer alan genlerin aktivasyonu gerçekleştirilmektedirler (Jalmi ve Sinha, 2015).

Moleküler mekanizmanın ikinci aşamasında ise stresler sırasında hücrenin korunmasında rol oynayan fonksiyonel proteinlerin üretilmesidir. Bu aşamada transkripsiyon faktörleri aktif hale gelerek streslere dayanıklılıkta rol oynayan genlerin promotör bölgelerinde bulunan cis-etkili spesifik elementlere bağlanarak fonksiyonel proteinlerin üretimlerini gerçekleştirmektedirler. Bu proteinlerden biri, akuaporin olarak bilinen ve suyun hücre duvarından içeriye taşınmasını kolaylaştıran zar proteinlerdir. Bu proteinler, membranlarda suyun hidrolitik iletkenliğini düzenleyerek suyun geçirgenliğini arttırmaktadırlar (Maurel ve Chrispeels, 2001). Aynı zamanda kısıtlı su şartları altında topraktan suyun alınmasına aracılık etmeleri nedeniyle de kuraklık stresi sırasında bitkinin stresi tolere edebilmesi için büyük bir öneme sahiptirler (Javot ve Maurel, 2002). İkinci protein grubu olan şaperonlar ise, kuraklık stresine bağlı olarak denatürasyona uğramış proteinlerin renatürasyonunu gerçekleştirmektedirler (Iba, 2002). Bir başka fonksiyel protein olan proteazlar ise yapısı bozulmuş olan proteinlerin degradasyonlarını sağlarlar. Aynı zamanda yeni proteinlerin üretimine aracılık ederek protein devamlılığını sağlamaktadırlar. Fonksiyonel proteinler grubu içerisinde yer alan ve stresler sırasında önemli rolleri olan bir başka protein grubunu da geç embriyogenez (Geç embriyogenez proteinleri, late embriyogenesis abundant, LEA) proteinleri ise, suyun bağlanma kapasitesini arttırmak, membran stabilitesini korumak gibi görevler üstlenerek kuraklık stresine karşı tolerans geliştirmeye katkı sağlamaktadırlar (Gorantla vd., 2006).

2.4. Reaktif Oksijen Türleri (ROT)

Atomik veya moleküler yapılarında bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron bulduran moleküller serbest radikaller olarak tanımlanılmaktadırlar (El-Beltagi ve Mohamed, 2013). Serbest radikaller, eşlenmemiş elektronları nedeniyle genellikle radikal olmayanlara göre daha reaktiftir ve daha kararsız bir yapıya sahiplerdir. Bu kararsız durumu ortadan kaldırmak amacıyla da moleküler oksijen atomunun son yörüngesindeki eşlenmemiş iki elektronu ortaklaşa kullanarak reaktif oksijen türlerini (ROT) oluşturmaktadırlar (Racchi, 2013).

In vivo şartlarda ROT üretimi; kloroplastlardaki elektron dengesinin bozulması sırasında, moleküler oksijenin dört elektronu birden kabul edememesi sonucu meydana gelmektedir (Halliwell ve Gutteridge, 1990). Ayrıca özellikle patojen enfeksiyonu sırasında, peroksizomlarda glikolat oksidaz enzimi ve plazma membranına bağlı nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidazlar aracılığı ile mitokondrilerde nikotinamid adenin dinükleotit (NADH) dehidrogenaz, süksinat dehidrogenaz veya sitokrom enzimleri aracılığıyla da ROT üretimi gerçekleştirilmektedir (Sewelam vd., 2016). Normal şartlar altında bitkilerin çeşitli kısımlarında metabolizmanın kaçınılmaz bir sonucu olarak düşük miktarlarda sürekli ROT üretimi gerçekleşmektedir ve bu üretim antioksidan sistemler tarafından bir dengede tutulmaktadır (Mittler vd., 2004; Gill ve Tuteja, 2010; Bose vd., 2014). Aradaki bu dengenin korunduğu durumlarda ROT'lar büyüme ve gelişim süreçlerinde yer alan sinyal molekülleri, aşırı duyarlı reaksiyon (hypersensitive response, HR) ve sistemik kazanılmış direnç (systemic acquired resistance, SAR), stres hormonu üretimi, aklimasyon ve programlanmış hücre ölümü gibi patojenlere karşı bitkilerde geliştirilen farklı savunma mekanizmalarında da görev alarak bitkilerin hayatlarının devamlılığına katkıda bulunmaktadır (Tripathy ve Oelmüller, 2012). Ancak yüksek ışık, yüksek veya düşük sıcaklıklar, tuzluluk, kuraklık ve patojen saldırısı gibi farklı çevresel stresleri nedeniyle ROT'lar ve antioksidanlar arasındaki denge bozulduğunda denge üretim yönüne kaymakta ve süperoksit (O_2^-) radikali, hidrojen peroksit (H_2O_2) radikali ve hidroksil (OH^-) radikali gibi ROT türevlerinin aşırı birikimi meydana gelmektedir (Gill ve Tuteja, 2010). Bu ROT'ların aşırı birikimi proteinlerde, DNA ve RNA'da oksidasyon, lipitlerde peroksidasyon reaksiyonlarına temel oluşturarak biyomoleküller üzerinde hasara neden olmaktadır (Parvaiz vd., 2010).

2.4.1. Süperoksit radikali (O_2^-)

ROT'lar arasında süperoksit radikali (O_2^-), elektron taşıma sistemi (electron transfer system, ETS) gibi yoğun elektron akışının gerçekleştiği bitki kısımlarında ilk oluşan radikal türevi olarak bilinmektedir (Das ve Roychoudhury, 2014). Kloroplastların FSI merkezinden gelen elektronların, moleküler oksijene aktarılarak indirgenmesi sonucunda Mehler adı verilen bir reaksiyon ile oluşabildiği (Reaksiyon 2.1.), gibi

mitokondrilerin kompleks bölgelerinde meydana gelen elektron sızıntıları sonucunda da oluşabilmektedirler (Torres ve Dangl, 2005). Bu oluşum yollarına Ayrıca ferrodoksin ve flavin gibi biyomoleküllerin yükseltgenmesi reaksiyonları sırasında veya dehidrogenaz ve oksidaz enzimlerinin katıldığı tepkimeler aracılığıyla hücreler içerisinde süperoksit radikalinin üretiminin gerçekleştiği bilinmektedir (Sies, 1991; Nordberg ve Arner, 2001). Süperoksit radikali, 2-4 µs yarılanma ömrü ile orta derece reaktif olması ve lipid membranlarının geçirgenliğini azaltıp biyolojik membranlardan geçemeyerek, hücrede bulunduğu yerde çevrili şekilde kaldığı için tek başına büyük hasarlara yol açmamaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 1999; Nordberg ve 2001; Garg ve Manchanda, 2009). Ancak, indirgenme özelliğinden dolayı indirgenerek hücreler için oldukça zarar verici olan H₂O₂ üretiminde ve Haber-Weiss reaksiyonu sonucunda da H₂O₂'den OH⁻ oluşumunda rol oynadığı için zararlı bir radikal olarak kabul edilmektedir (Halliwell ve Gutteridge 1999; El-Beltagi ve Mohamed, 2013).



2.4.2. Singlet oksijen (¹O₂)

Moleküler oksijenin daha yüksek enerjili formu olarak bilinen singlet oksijen (¹O₂) ortaklanmamış elektronu bulunmaması nedeniyle atipik reaktif oksijen türü olarak kabul edilmektedir (El-Beltagi ve Mohamed, 2013; Das ve Roychoudhury, 2014). Kuraklık, tuzluluk ve yüksek ışık gibi çevresel streslere bağlı olarak CO₂ fiksasyonu sınırlandırılmaktadır (Hatz vd., 2007). Bu duruma bağlı olarak fotosistem mekanizmaları arasındaki elektron dağılımında dengesizlikler meydana gelmekte ve klorofile enerji aktarımı yapılarak klorofil üçlü hale dönüşmektedir. Oluşan üçlü klorofil (³Chl) üçlü oksijen (³O₂) ile reaksiyona girerek ¹O₂ oluşmasına yol açmaktadır (Reaksiyon 2.2.) (Gill ve Tuteja, 2010).



3 µs yarılanma ömrü ile oksitleyici bir ajan olarak görev yapmakta olup yüksek miktarlarda hücrelerde bulunduğu durumda, proteinler, nükleik asitler, lipitler pigmentler ve fotosistem I ile reaksiyona girerek hücrelerde zararlara yol açmaktadır (Maisch vd., 2007). Ayrıca FS II'nin onarılmasından sorumlu D1 proteini ile etkileşime girmesi nedeniyle FS II'nin aktivite kaybından sorumlu birinci dereceden sorumlu ROT olarak kabul edilmektedir (Gill ve Tuteja, 2010). Singlet oksijenin zararlı etkilerinin yanı sıra düşük miktarlarda bitkiler için faydalı etkileri de bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada, bitki-patojen etkileşiminde direnç mekanizması bileşeni olarak görev alan fitoaleksinin üretimini tetikleyerek bitkilerin patojen saldırılarına karşı direnç geliştirmesine yardımcı olduğu belirlenmiştir (Flors ve Nonell, 2006). Yapılan başka bir çalışmada ise ¹O₂ üretiminin artması ile beraber birçok streslerle ilgili cevap yolları aktive edilerek streslere karşı direnç geliştirilmektedir. Elde edilen bu sonuçlarda yola çıkılarak singlet oksijenin bir sinyal molekülü olarak görev alabileceği de düşünülmektedir (op den Camp vd. 2003). Çeşitli faktörlerin etkisi ile bitki bünyesinde toksik seviyeye ulaşan ¹O₂'lerin üretimleri, enzimatik olmayan antioksidanlar içerisinde yer alan karotenoidler ve tokoferoller tarafından kontrol altına alınıp, detoksifikasyonları sağlanarak bitkiler oluşabilecek zararlara karşı korunmaktadırlar (Das ve Roychoudhury, 2014).

2.4.3. Hidrojen peroksit radikali (H₂O₂)

Hidrojen peroksit radikali (H₂O₂), iki molekül O₂⁻ radikalinin SOD enzimi ile reaksiyona girmesi sonucunda (Reaksiyon 2.3.)



veya hafif asidik şartlarda kendiliğinden H₂O₂'ye dönüşümü sonucu üretilmektedir (Reaksiyon 2.4.) (Sharma vd., 2012).



Hücrelerde ise; kloroplast, peroksizom, ETS, mitokondri, endoplazmik retikulum, çekirdek, plazma membranı gibi organellerde metabolik işlemler sırasında üretilmektedir. Ayrıca yağ asidi oksidasyonu, NADPH oksidaz ve ksantin oksidaz ile

katalizlenen foto-oksidasyon tepkimeleri sırasında da oluşabilmektedir (Das ve Roychoudhury, 2014).

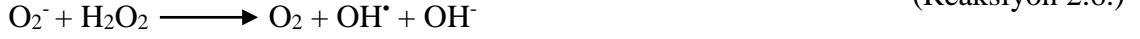
Oksidatif mekanizmanın bir parçası olan H₂O₂ radikali bitki hücrelerinde ikili davranış sergilemektedir (Peng vd., 2005). Hücreler içerisinde düşük konsantrasyonlarda saçak kök gelişimi, bitki hücre duvarı aktivitesi, bitki büyüme ve yaşlanması, fotorespirasyon, fotosentez ve stomatal hareket gibi fizyolojik süreçlerde düzenleyici sinyal molekülü olarak görev almaktadır (Gill ve Tuteja, 2010). Ayrıca, diğer ROT'lara göre de daha fazla yarılanma ömrüne sahip olması ve membranlar boyunca geçirgenlik düzeyinin yüksek olması nedenleriyle de abiyotik ve biyotik stresler sırasında ikincil mesajcı olarak kabul edilmektedir (Quan vd., 2008). Yüksek konsantrasyonlarda ise; proglamlanmış hücre ölümü, sistein, metionin kalıntılarını ve tiyol gruplarını oksitleme yolu ile Calvin döngüsü enzimlerini (Cu/Zn SOD ve Fe-SOD) inaktive etmesi gibi zarar verici etkilere neden olmaktadır (Gill ve Tuteja, 2010; Sharma vd., 2012). Ayrıca, yüksek konsantrasyonlarda protein kinaz fosfataz, tiyolat içeren transkripsiyon faktörlerini okside etmektedir. Geçiş metalleri ile reaksiyona girdiği durumlarda ise hücreler için oldukça zararlı kabul edilen hidroksil radikalının oluşumuna da yol açmaktadır (Dat vd., 2000). Hücreler içerisinde toksik seviyelerde bulunan H₂O₂ radikalleri, katalaz, glutatyon peroksidaz ve askorbat peroksidaz gibi antioksidan enzimler tarafından detoksifiye edilerek hücrelerin hasarlara karşı korunmasını sağlanmaktadır (Nordberg ve Arner, 2001).

2.4.4. Hidroksil radikali (OH⁻)

Hidroksil radikali (OH⁻) ROT'lar arasında en reaktif ve en toksik radikal çeşidi olarak bilinmektedir (Nordberg ve Arner, 2001; Sharma vd. 2012). Bu radikal Fenton veya Haber-Weiss reaksiyonu sonucunda H₂O₂ kaynaklı olarak üretilmektedir. Fenton reaksiyonunda H₂O₂'nin geçiş metalleri ile (Cu, Zn, Mn, Cr, Co, Ni, Mo) indirgenmesi sonucunda üretilirken (Reaksiyon 2.5.)



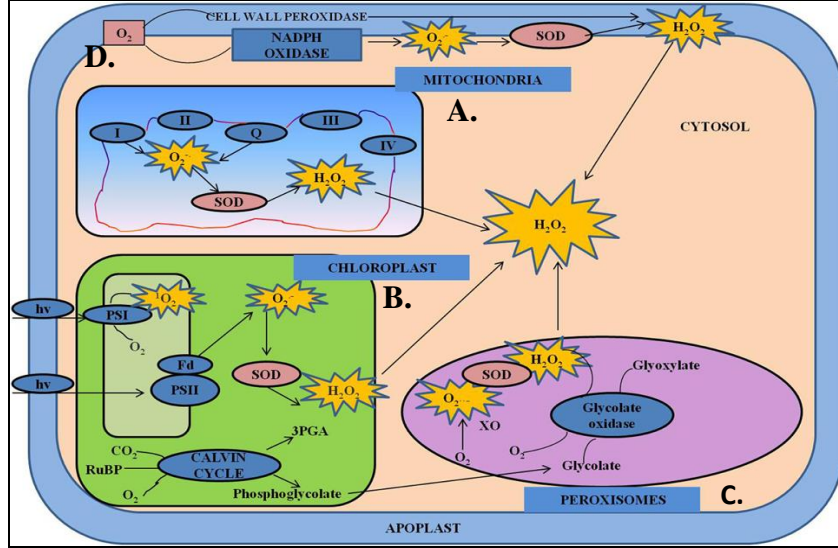
Haber-Weiss reaksiyonunda ise H_2O_2 'nin O_2^- ile reaksiyonu sonucunda üretimi gerçekleşmektedir (Reaksiyon 2.6.) (Sharma vd. 2012; El-Beltagi ve Mohamed, 2013).



OH^- radikali oldukça reaktif olması nedeniyle hemen hemen tüm hücrenel bileşenler ile reaksiyona girerek lipidlere, proteinlere, nükleik asitlere ve membranlara zarar vermektedir (Gill ve Tuteja, 2010). Bu radikalın bitki bünyesinden temizlenmesi konusunda etkili görev yapan bir enzim sistemi olmadığı için bünyesinde fazla birikmesi hücrelerin ölümüne sebep olabilmektedir (Pinto vd., 2003; Hansen vd, 2006). Fakat düşük miktarda da olsa enzimatik olmayan antioksidanlar arasında yer alan askorbik asit ve flavonoidlerin OH^- radikalının nötralize edilmesi konusunda rol oynadığı bilinmektedir (Noctor ve Foyer, 1998; Løvdal vd., 2010).

2.5. Bitki Bünyesinde Reaktif Oksijen Türlerinin Üretim Yerleri

Bitkilerde ROT üretimi; karanlık şartlarda mitokondride gerçekleşirken ışık varlığında peroksizom ve kloroplastlarda oluşmaktadır (Choudhury vd., 2013). Genel olarak kloroplast, mitokondri ve peroksizom gibi yerlerde üretilirken, bunların dışında apoplast, plazma membranı, hücre duvarı ve endoplazmik retikulum gibi kısımlardada ROT üretimi gerçekleştirilmektedir.



Şekil 2.5. Mitokondri (A), kloroplast (B) peroksizom (C) ve plazma membranında (D) ROT üretimi (Awasthi vd. 2015)

2.5.1. Mitokondri

Bitkilerin enerji fabrikaları olarak bilinen mitokondriler bol miktarda yüksek enerjili elektron barındırmaları nedeniyle H_2O_2 gibi ROT'ların önemli üretim kaynaklarından birisi olarak bilinmektedir (Rasmusson vd., 2004). Mitokondrilerde normal şartlar altında belirli seviyelerde sürekli ROT üretimi gerçekleşmektedir. Fakat bu üretim potansiyeli, çevresel stres şartları altında elektron taşıma sisteminde (ETS) meydana gelen kısıtlamalar ve solunumun hızlanması gibi nedenlerden dolayı önemli derecede artışlar göstererek hücrelerde oksidatif hasara yol açmaktadır (Blokhina ve Fagerstedt, 2010; Miller vd., 2010).

Yapılan araştırmalarda, mitokondriyal ETS'nin; kompleks I bölgesinde NADH dehidrogenaz, kompleks II bölgesinde süksinat dehidrogenaz, kompleks III bölgesinde sitokrom enzimleri, kompleks IV bölgesinde ise, kompleks I'e ters elektron akışı aracılığıyla (Şekil 2.5.A) ROT üretiminin gerçekleştiği sonucuna ulaşılmıştır (Camello-Almaraz vd., 2006). Bu bölgeler arasında kompleks I ve kompleks III daha aktif olmaları nedeni ile O_2^- üretiminin yoğun olarak gerçekleştiği bölgeler olarak bilinmektedir (Moller vd., 2007).

Mitokondrilerde iki farklı yolla O_2 harcanmaktadır. Bunlar; H_2O üretimi için sitokrom oksidaz yolu ile O_2 harcanması ve solunum zinciri içerisinde sitokrom

bölgesinde O_2 nin O_2^- 'ye indirgenmesi sırasında O_2 harcanması olarak bilinmektedir (Karuppanapandian vd. 2011). Harcanan bu O_2 'nin yaklaşık olarak %1-5'i H_2O_2 üretimine yol açmaktadır (Moller vd. 2001). Üretilen bu radikal ortamda geçiş metallere sahip durumlarda onlarla reaksiyona girerek son derece toksik OH^- radikalini oluşturmaktadır (Karuppanapandian vd. 2011). Ayrıca mitokondrilerin, matrikslerinde çeşitli enzimler aracılığı ile de ROT üretimi gerçekleşmektedir. Bu enzimler, doğrudan ROT üreten akonitaz enzimi gibi enzimler ve dolaylı olarak ROT üreten 1-Galactono- γ -lakton dehidrojenaz gibi enzimleri içermektedir (Rasmusson vd., 2008).

Çeşitli yollar ile oluşan bu radikaller bitkiler üzerinde oksidatif hasarlara yol açmaktadır. Mitokondrilerde kontrolsüz ROT üretimini kontrol altına alarak oksidatif strese bağlı hasarları en aza indirmek için mitokondriyal alternatif oksidaz ve Mn-SOD gibi koruyucu enzimler bulunmaktadır (Foyer ve Noctor, 2005).

2.5.2. Kloroplast

Yüksek bitkilerde ve alglerde fotosentez kloroplastlar içerisinde gerçekleşmektedir. Kloroplastlar fotosentetik işlemler için güneşten gelen ışığı yakalamakla görevli bitki organelleridir ve tilakoid membran sistemi içermektedirler (Pfannschmidt, 2003). Fotosistem I ve II (FSI ve FSII) olarak ikiye ayrılan fotosistemler yoğun olarak elektron akışına maruz kalmaları nedeniyle ROT üretiminin ana kaynakları olarak kabul edilmektedirler (Miller vd., 2010).

Yüksek ışık ve kuraklık gibi stres şartları altında bitkilerin kendilerini strese karşı korumak amacıyla stomalarını kapatmaları sonucunda fotosentetik mekanizmalarda elektron sızıntısı gibi birtakım kısıtlamalar meydana gelmektedir (Asada, 2006; Das ve Roychoudhury, 2014). Oluşan kısıtlamalar sonucunda antioksidan sistemler ve ROT arasındaki denge bozulmakta ve bitki hücrelerinde ROT üretiminde artışlar olmaktadır.

Normal şartlar altında FSII'den gelen uyarılmış elektronlar, ETS aracılığıyla FSI'e oradan da ferrodoksin üzerinden $NADP^+$ 'ye taşınmaktadır. $NADP^+$ 'ye gelen elektronlar, Calvin döngüsüne verilerek son elektron alıcısı olan CO_2 'ye

iletilmektedir. Fakat stres koşulları altında ETS'de fazla elektron hareketliliğinin olduğu durumlarda elektronlardan bazıları geri dönerek ferrodoksin üzerinden NADP^+ yerine O_2 molekülüne geçmekte ve Mehler reaksiyonu aracılığıyla O_2^- oluşumu gerçekleşmektedir (Şekil 2.5.B) (Karuppanapandian vd. 2011). Oluşan bu radikal FSI'de membrana bağlı Cu-Zn-SOD enzimi aracılığıyla H_2O_2 'ye dönüştürülmekte, H_2O_2 ise, zara bağlı tilakoid askorbat peroksidaz (tylAPX) tarafından suya dönüştürülerek detoksifikasyonu sağlanmaktadır (Miller vd., 2010). Bu zincir reaksiyonu ortamda antioksidan sistem bileşenlerinin bulunmadığı durumlarda ise daha zararlı ROT'ların üretimini tetiklemektedir (Karuppanapandian vd., 2011).

FSII'de O_2^- oluşum reaksiyonlarına ilaveten, düşük ışık koşulları altında $^1\text{O}_2$ üretimi de gerçekleşmektedir (Buchert ve Forreiter, 2010). Bu üretim iki farklı şekilde meydana gelmektedir. Bunlar; çevresel stresler nedeni ile meydana gelen kısıtlamalar sonucunda, üçlü klorofilin (3Chl^*) üçlü oksijen ($^3\text{O}_2$) ile reaksiyona girip O_2 'yi serbest bırakması sonucu $^1\text{O}_2$ üretimi (Zolla ve Rinalducci, 2002) ve ETS'de meydana gelen aksamalar sonucunda FSII'deki ışık toplayıcı kompleks tarafından $^1\text{O}_2$ üretimidir (Das ve Roychoudhury, 2014).

Kloroplastlarda biriken $^1\text{O}_2$, üretim merkezinin yakınında bulunan membran proteinlerinde ve lipidlerde peroksidasyon-oksidasyon reaksiyonlarının gerçekleşmesine neden olarak FSII'nin reaksiyon merkezi için bir risk oluşturmaktadır (Karuppanapandian vd., 2011). Doğrudan hücre ölümlerine yol açabildiği için bitkilerin bünyelerinde yüksek miktarda bulunmaları tehlikeli olarak kabul edilmektedir (Triantaphylidès vd., 2008).

2.5.3. Peroksizom

Peroksizomlar, tek membranlı küresel mikro kapsüller olup, oksidatif metabolizmaları gereği hücre içi H_2O_2 üretiminin ana bölgeleri olarak bilinmektedirler (Das ve Roychoudhury, 2014). Bitki peroksizomları, ayrıca dallanmış aminoasitlerin yıkımı, jasmonik asit, oksin gibi bitki hormonlarının biyosentezi ve stresler sırasında görev alması ile bilinen glisin betain üretimi gibi önemli metabolitlerin üretiminde görev almaktadır (Gill ve Tuteja, 2010).

Peroksizomlarda; glikolat oksidaz reaksiyonu, fotorespirasyon, yağ asitlerinin β -oksidasyonu, flavin oksidazların enzimatik reaksiyonları ve süperoksit radikallerinin dismutasyonu gibi metabolik işlemler sırasında yüksek oranda H_2O_2 üretimi gerçekleşmektedir (Das ve Roychoudhury, 2014).

Kuraklık stresi gibi çevresel stres şartları altında su kapasitesinin azalması ile birlikte stomalar kapanmakta buna bağlı olarak, CO_2 fiksasyonu kısıtlı hale gelirken ribuloz-1,5-bisfosfat karboksilaz/oksijenaz (RuBisCO) enziminin oksijenaz aktivitesi ve glikolat üretiminde artış görülmektedir. Üretilen glikolatın kloroplastlardan, peroksizomlara doğru hareket ettiği sırada glikolat oksidaz enzimi tarafından okside edilmesi sonucunda H_2O_2 açığa çıkmaktadır (Noctor vd., 2002; Awasthi vd., 2015). Üretilen H_2O_2 radikali genellikle, peroksizomlara lokalize KAT enzimi tarafından H_2O ve O_2 'ye dönüşümü sağlanarak zararsız hale getirilmektedir (Miller vd., 2010).

Peroksizomlar, H_2O_2 üretiminin yanı sıra mitokondri ve kloroplastlar gibi normal metabolizmaları sonucunda O_2^- radikallerini de üretmektedirler (del Río vd., 2002). O_2^- radikalleri, peroksizomlarda iki farklı bölgede üretilmektedir. Bu bölgelerden birincisi, ksantin ve hipoksantin oksidaz tarafından, ürik aside oksidasyonu mitokondrilerin matriksinde gerçekleşmektedir ve bu reaksiyon sırasında yan ürün olarak O_2^- radikali üretilmektedir (Şekil 2.5.C) (Awasthi vd., 2015). İkinci bölge ise, NADPH'a bağlı küçük bir elektron taşıma zinciridir. Elektron alıcısı olarak O_2 'yi kullanarak sitoplazmadan O_2^- salınımı gerçekleşmektedir (Das ve Roychoudhury, 2014). Üretilen O_2^- radikali, SOD tarafından H_2O_2 'ye dönüştürülmektedir ve bu durum dolaylı yoldan bitki hücrelerinde H_2O_2 artışına yol açmaktadır. Kuraklık gibi stresler şartları altında peroksizomlarda ki üretim miktarlarında artış gözlemlenen bu radikaller oksidatif hasarlara ve ileri evrelerde hücre ölümlerine yol açmaktadır (del Río vd., 2002).

2.5.4. Apoplast

Apoplastlar, fotosentez için gerekli CO_2 'yi sitozole girebilir forma dönüştüren, su ve çözülmüş maddelerin hareketine izin veren hücre duvarları ile hücreler arasındaki boşlukların tümünü oluşturmaktadır (Das ve Roychoudhury, 2014). Tuz, kuraklık ve ağır metal streslerinin yol açtığı olumsuz çevre şartları sırasında, ABA ile

birleştirilmiş stres sinyalleri, apoplastı H_2O_2 üretimi için belirgin bir alan haline getirmektedir (Karuppanapandian vd., 2011). Apoplastik ROT üretim enzimlerinden en bilineni *Arabidopsis* bekçi ve mezofil hücrelerinde bulunan *AtRbohD* ve *AtRbohF*,’lerdir. Bu enzimler, kodladıkları NADPH oksidaz aracılığıyla ABA kaynaklı stoma kapanmasını sağlayarak apoplastik ROT oluşumunda etkin rol oynamaktadırlar (Kwak vd., 2003). Diğer apoplastik ROT oluşumunda görev alan enzimler ise; hücre duvarı ile ilişkili oksidazlar, pH bağımlı hücre duvarı peroksidazları, germin benzeri oksalat oksidazlar ve poliamin oksidazlar olarak bilinmektedir (Mittler, 2002). Yapılan çalışmalar, apoplastlarda üretilen ve antioksidan bileşenler ile denge içerisinde bulunan H_2O_2 ’nin streslere karşı savunmada önemli bir yerinin olduğunu göstermektedir (Miller vd., 2010).

Hücrelerin diğer kısımlarında üretilen ROT’lar bitkiler için ölümcül olabilirken, apoplastlarda üretilen H_2O_2 ’nin ise çevresel streslere karşı adaptasyon sağlama, büyüme ve hücre duvarının güçlendirilmesi gibi bitkiler için yararlı mekanizmalarda görev aldığı düşünülmektedir (Miller vd., 2010). Tuz stresi altında yapılan bir çalışmada mısır bitkisinde yaprak uzaması üzerine olumlu etki ettiği sonucuna varılmıştır, yine yapılan başka bir çalışmada bezelye çeşitlerinin apoplastlarında gerçekleşen H_2O_2 ’in sinyalleme aracı olarak görev aldığı ve ROT detoksifikasyonunu teşvik ederek pozitif bir etkide bulunduğu anlaşılmıştır (Karuppanapandian vd., 2011).

2.5.5. Plazma membranı

Bitki hücrelerini çevreleyerek hücreye yapısal ve mekanik bütünlük sağlayan plazma membranı, değişen çevresel koşulları tarafından verilen bazı sinyallerin algılanmasında görev alarak hücrenin sürekli hayatta kalmasını sağlamaktadır (Kwak vd., 2003; Das ve Roychoudhury, 2014). Farklı homologları bulunan ve plazma membranında lokalize olan NADPH bağımlı oksidazlar, farklı stres koşulları sırasında oluşturdukları gen ifadeleriyle dikkat çekmektedirler (Karuppanapandian vd. 2011). NADPH oksidaz enziminin, sitozolik NADPH’dan O_2 ’ye elektron aktarması sonucunda O_2^- üretimi gerçekleşmektedir. Oluşan O_2^- radikali daha sonra kendiliğinden veya SOD enzimi aracılığı ile H_2O_2 ’ye dönüşmektedir (Şekil 2.5.D). NADPH oksidaz ile ilgili yapılan çalışmalar sonucunda, NADPH oksidaz’ın Ca^{+2} ve

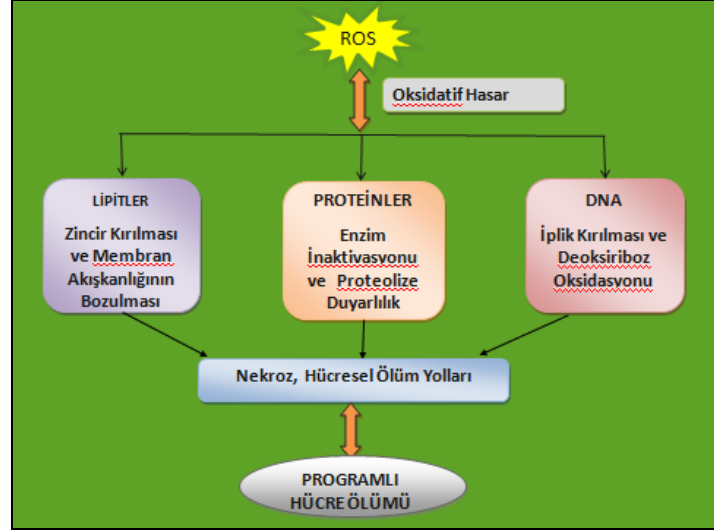
mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) sinyal yollarını tetiklediğine ve salisilik asit (SA), jasmonik asit (JA) ve etilen (ET) gibi hormon sinyal transfer yollarını baskıladığına dair sonuçlar bulunmaktadır (Evans vd., 2005). Elde edilen sonuçlar bitki bünyelerinde NADPH ifadesinin streslere tolerans sağlama konusunda gerekli olduğunu göstermektedir (Karuppanapandian vd., 2011).

2.5.6. Hücre duvarı

Hücre duvarları, hücreleri dış etkilerden koruyan onlara yapısal ve mekanik destek sağlayan çeşitli metabolik reaksiyonların gerçekleştiği bölgeler olarak bilinmektedir (Karuppanapandian vd., 2011). Bu bölgeler dışarıdan alınan kimyasalların parçalanmasının gerçekleştirildiği ve patojenlere karşı savunma mekanizmasının geliştirildiği yerlerdir (Spiteller, 2003). Hücre duvarında ROT oluşumu, birtakım enzimler aracılığıyla gerçekleşmektedir. Örneğin; hücre duvarına lokalize, lipoksigenaz enzimi çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) hidroperoksidasyona neden olarak ROT üretimine aracılık etmektedir (Das ve Roychoudhury, 2014). Hücre duvarına lokalize olmuş olan bir başka enzim ise diamin oksidazlardır. Diamin oksidazlar, diamin ve poliaminler ile reaksiyona girerek kinon molekülünün indirgenmesine yol açmaktadırlar. İndirgenen kinon molekülü ise peroksidasyon reaksiyonlarına katılarak ROT üretimini gerçekleştirmektedir (Spiteller, 2003; Higuchi, 2006). Ayrıca hücre duvarına lokalize peroksidazların, çevresel streslerde ve besin eksikliği durumunda hücre içi ROT üretimine katkıda bulunduğu düşünülmektedir (Kim vd., 2010).

2.6. Bitki Bünyesinde Reaktif Oksijen Türlerinin Hedefleri

Çevresel stresler gibi çeşitli olumsuz şartlar altında bitkilerin bünyelerinde reaktif oksijen türlerinin birikimi artmaktadır. Meydana gelen bu artış, metabolizmada aksamalara yol açan oksidatif streslerin birincil kaynağı olarak bilinmektedir. Oksidatif stresler nükleik asitler, proteinler ve lipidler gibi biyomoleküllere zarar vererek bitkilerin yaşamlarını tehlikeye atmaktadırlar (Das ve Roychoudhury, 2014). (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. Reaktif oksijen türlerinin hücrelerdeki hedefleri

2.6.1. Lipidler üzerine etkileri

Lipidler, bitkiler için hayati önem taşıyan plazma zarının büyük bir bölümünü oluşturmaktadırlar (Smirnoff, 2000). Stresli koşullar altında, ROS seviyesi hücrelerde bulunması gereken seviyenin üzerine çıktığı durumlarda hücre membranındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek lipid peroksidasyona neden olmaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 1999; Montillet vd., 2005). Diğer bir tanım ile lipid peroksidasyonu, zar fosfolipidlerinin yapısında bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) hidroksil radikali aracılığıyla yükseltgenmesi sonucu lipit yapılarının bozulması ve lipidlerin peroksit türevlerine dönüşmesi olarak ifade edilmektedir. Peroksidasyon, süperoksit veya hidroksil gibi radikallerin çoklu doymamış yağ asitlerinin yapısında bulunan metilen gruptan bir hidrojen atomunu çıkarması bunun sonucunda lipit radikali oluşumu ile başlamaktadır (Reaksiyon 2.7.) (Smirnoff, 2000).



İlerleyen aşamalarda, meydana gelen lipit radikaline moleküler oksijenin eklenmesi sonucunda lipit hidroperoksi radikali oluşmaktadır (Reaksiyon 2.8.). Oluşan bu radikal PUFA yan zincirlerinden bir hidrojen atomunu çıkararak peroksidasyon

zincir reaksiyonunu daha da ilerletip lipit hidroperoksitlerinin oluşturulmasıyla reaksiyon devam etmektedir (Reaksiyon 2.9.) (Garg ve Manchanda, 2009).



Sonlandırma aşamasında ise ortamda antioksidanların bulunmadığı durumlarda, oluşan lipit hidroperoksitler Fe^{+2} gibi indirgenmiş metallere reaksiyona girerek bölünebildikleri gibi (Reaksiyon 2.10.)



ayrışarak lipit alkoksil radikalleri ve aldehitler, alkanlar, lipit epoksitler gibi bitkiler için daha zarar verici ürünleri oluşturabilmektedirler (Reaksiyon 2.11.) (Gill ve Tuteja, 2010; Das ve Roychoudhury, 2014).



Oluşan peroksidasyon ürünleri, antioksidan sistemler tarafından temizlenmediği veya buldukları yerlerden yayılmalarının önlenmediği durumlarda membran bütünlüğü bozulmaktadır. Bu radikaller biyolojik membranlarda membran akışkanlığında bozulma, sızıntı artışı, membran potansiyelinde azalma, membranların H^+ ve diğer iyonlara karşı geçirgenliğinde artış gibi istenilmeyen durumlara yol açarak membranların parçalanması sonucu hücre hasarları veya hücre ölümlerine neden olmaktadır (Garg ve Manchanda, 2009). Stresler sırasında oksidatif hasarın ve lipitlerin zararlanma derecesini belirlemenin en iyi yolu malondialdehit (MDA) gibi lipit peroksidasyonunun son ürünlerin ölçülmesine dayalı testler en yaygın olarak kullanılan stratejidir (Ercan, 2008).

2.6.2. Proteinler üzerine etkileri

Stres şartları altında üretilen ROT'ların, proteinlerin peptit bağları veya yan zincirleri ile reaksiyona girmesi sonucu proteinlerde oksidasyon reaksiyonları meydana gelmektedir (Das ve Roychoudhury, 2014). Gerçekleşen oksidasyon reaksiyonları sonucunda proteinler üzerinde doğrudan veya dolaylı modifikasyonlar meydana gelmektedir. Doğrudan modifikasyonlar, protein aktivitesi, nitrosilasyon, karboksilasyon, disülfid bağ oluşumu ve glutatyonilasyon gibi farklı kimyasal yollar ile meydana gelirken, lipit peroksidasyonu sonucunda oluşan ürünlerin proteinlerle etkileşimi ile de dolaylı modifikasyonlar gerçekleşmektedir (Møller vd., 2007).

Oksidasyon, amino asitin α karbonundan bir H atomunun radikale bağlanarak ayrılması ve H₂O oluşturması ile başlamaktadır. Bu etkileşim sonucunda özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli organik radikaller meydana gelmektedir. Antioksidan sistemlerin ortamda bulunmadığı durumlarda proteinlerde çapraz bağlanma ve aminoasitlerde modifikasyonlar gerçekleşmektedir (Erenel vd., 1992; Das ve Roychoudhury, 2014). Oksidasyon kaynaklı oluşacak hasarlardan proteinlerin ne derece zarar göreceği proteinlerin aminoasit kompozisyonuna bağlı olarak değişim göstermektedir. Örneğin; triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metionin ve sistein gibi doymamış bağ ve sülfür içeren aminoasitlerin ROT'lara karşı aktivitelerinin daha yüksek olması nedeniyle reaktif oksijen türlerinden daha kolay etkilenmektedir (Netto vd., 2002). Ayrıca ROT kaynaklı oksidasyonlar, yan zincirlerde karbonil grupları bulunan arginin, lizin, prolin, triptofan aminoasitlerinin bölgeye özgü modifikasyonlarına yol açarak aktivitelerini inhibe etmekte ve onları proteolitik bozulmalara karşı daha duyarlı hale getirmektedir (Droge, 2002; Dunlop vd., 2002).

2.6.3. DNA üzerine etkileri

Canlılığın yapıtaşı olarak bilinen DNA molekülleri herhangi bir saldırıya karşı histonlar tarafından iyi bir şekilde korunmasına rağmen abiyotik ve biyotik streslere maruz kalma durumunda zarar görebilmektedir. Bunun nedeni ise, ROT üretiminin genellikle yoğun elektron akışının olduğu bölgelerde gerçekleşmesi ve hem mitokondriyal DNA'nın hem de kloroplastik DNA'nın ROT üretim bölgelerine yakın

olmasından kaynaklanmaktadır (Valko vd., 2006; Das ve Roychoudhury, 2014). Reaktif oksijen türleri arasında hidroksil radikali DNA üzerinde en fazla zarara yol açan radikal olarak bilinmektedir (Marnett, 2000). Hidroksil radikali, pürin-pirimidin bazlarının çift bağlarından hidrojen atomunu çıkararak veya hidrojen atomunu ekleyerek DNA üzerinde hasar oluşturmaktadır. Aynı zamanda, DNA veya DNA ile ilişkili proteinlerle reaksiyona girerek DNA-protein çapraz bağlarının oluşmasına yol açmaktadır (Halliwell, 2006). Oluşan bu çapraz bağlar eğer replikasyon veya transkripsiyon gibi kritik hücresel işlemlerin başlamasından önce tamir edilmezse, bitki hücrelerinde öldürücü etki gösterebilmektedir (Garg ve Manchanda, 2009). ROT'lar aracılığıyla gerçekleşen bu reaksiyonlar sonucunda, DNA parçalanması, pürin ve pirimidin baz kaynaklı mutasyonlar ve oksidasyonlar, fosfodiestester omurgasında hasarlar, tek iplik kopmasına yol açan deoksiriboz radikali üretimi gibi istenilmeyen olaylar meydana gelmektedir (Halliwell ve Gutteridge, 1984; Evans vd. 2005; Gill ve Tuteja, 2010).

Özetle, hücrelerde üretilen ROT'lar antioksidan sistemler tarafından kontrol altına alınmadığı durumlarda DNA'ya hasar vermektedir. Oluşan bu hasarlar ise replikasyon sırasında hataların oluşmasına, hücre zarında parçalanmalar, transkripsiyon ve sinyal iletim yollarında aksamaların olmasına, komşu pirimidinler arasında siklonbütan veya pirimidin dimerlerinin oluşumuna ve ilerleyen zamanlarda da bitkilerin yaşamsal faaliyetlerinin gerçekleşmemesine ve sonunda bitki ölümleri ile sonuçlanmaktadır (Cooke vd., 2003; Tuteja vd., 2009).

2.7. Bitkilerde Antioksidan Savunma Sistemleri

Antioksidan savunma sistemleri insan, hayvan ve bitki hücrelerini ROT'ların zararlı etkilerine karşı koruyan spesifik bileşikler olarak bilinmektedir. Normal şartlar altında hücrelerde ROT üretimi ve antioksidanlar tarafından üretilen bu ROS'ların detoksifikasyonları belirli bir denge içerisindeydir. Ancak çevresel stresler kaynaklı dengenin üretim yönüne kaydığı durumlarda bir dengesizlik meydana gelmekte ve bitkide ROS kaynaklı oksidatif stresin yaşanmasına neden olmaktadır (El-Beltagi ve Mohamed, 2013). Bitkiler bu gibi durumlarda oksidatif stres kaynaklı oluşabilecek hasarlardan kendilerini korumak amacıyla enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri geliştirmişlerdir (Valavanidis vd., 2006). Bu

sistemler; çeşitli etkileşimler sonucu serbest radikal oluşumunu engelleyerek veya oluşan reaktif oksijen türlerini etkisiz hale getirerek ROT'lara karşı bir savunma gerçekleştirmektedirler (Hermes-Lima vd., 2001). Antioksidan sistemler içerisinde özellikle enzimatik savunma sistemleri, reaktif oksijen türlerini zararsız hale dönüştürme ve temizleme özelliğine sahiptirler (Mruk vd., 2002).

Enzimatik antioksidan savunma sistemleri içerisinde; SOD, KAT, GPX, APX, MDHAR, DHAR ve GR; enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri içerisinde ise: AA, GSH, tokoferol, karotenoid ve flavonoidler yer almaktadır (Das ve Roychoudhury, 2014).

2.7.1. Enzimatik antioksidan savunma sistemleri

Bitkiler, ROT üretimine bağlı meydana gelen hasarları önlemek adına bünyelerinde antioksidan savunma sistemleri barındırırlar. Bu sistemin içerisinde yer alan enzimatik antioksidanlar (Çizelge 2.1.) ise genellikle hücrelerde birikimi gerçekleşen ROT'ların daha zararsız formlara dönüşümünü sağlamakta ve Asa-GSH döngüsü denilen mekanizmada yer alan bileşenlerin kontrolünü sağlayarak strese karşı bitkileri korumaktadırlar (Gupta vd., 1993; Katab, 2007).

Çizelge 2.1. Antioksidanlar, katalizledikleri reaksiyonlar ve hücre içi üretim yerleri

Enzimatik Antioksidanlar	Enzim Kodu	Katalizlenen Reaksiyon	Hücre İçi Yerleri
Süperoksit dismutaz	1.15.1.1	$2O_2^- + 2H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$	Sit, Klo, Per Mit
Katalaz	1.11.1.6	$2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$	Per, Mit
Askorbat peroksidaz	1.11.1.11	$AA + H_2O_2 \rightarrow DHA + 2H_2O$	Sit, Per, Klo, Mit
Monodehidroaskorbat redüktaz	1.6.5.4	$NADH + 2MDHA \rightarrow NAD^+ + 2AA$	Klo, Mit, Sit
Dehidroaskorbat redüktaz	1.8.5.1	$2GSH + DHA \rightarrow GSSG + AA$	Sit, Mit, Klo
Glutatyon redüktaz	1.6.4.2	$NADPH + GSSG \rightarrow NADP^+ + 2GSH$	Sit, Klo, Mit

2.7.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD-EC; 1.15.1.1.)

Antioksidan savunma mekanizmasının anahtar enzimi olarak bilinen süperoksit dismutaz (SOD; 1.15.1.1.) enzimi ilk olarak 1968 yılında McCord ve Fridovich tarafından tanımlanmış bir metalloenzim grubu antioksidandır (Murray vd. 1993; Gill ve Tuteja, 2010). Süperoksit radikalini, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüştürme reaksiyonunu katalizlemektedir (Reaksiyon 2.12.) (Karuppanapandian vd. 2011).



Genellikle bitkilerin kloroplast, peroksizom, sitozol ve mitokondri organellerinde bulunan bu enzim merkezlerinde bulunan geçiş metallerine göre, Cu/Zn-SOD, Mn-SOD ve Fe-SOD olmak üzere üç ayrı gruba ayrılmaktadır (Mittler 2002; El-Beltagi ve Mohamed, 2013). SOD enziminin ilk sınıfı olan Cu-Zn\SOD enzimi toplam 32 kDa molekül ağırlığına sahiptir ve bitki hücrelerinin sitoplazma ve kloroplastlarında yer alarak dismutasyonda görevli bakır ve çinko içeren iki alt ünitelerden oluşan bir izoenzimidir ve H₂O₂'ye karşı oldukça duyarlı olduğu bilinmektedir (del Rio vd., 2002; Mruk vd., 2002). Bir diğeri ise ilk kez *E. coli* bakterisinden izole edilen ve aktif bölgesinde Mn⁺³ bulunduran 80 kDa molekül ağırlığına sahip bitki hücrelerinin mitokondri ve peroksizomlarında yer alan Mn\SOD izoenzimidir (del Rio vd., 2002). Bu enzim süperoksit radikali ile tepkimeye girerek süperoksit radikalini moleküler oksijene veya hidrojen peroksit radikaline dönüştürmektedir (Halliwell ve Gutteridge, 1999). Üçüncü ve son SOD izoenzimi ise 41 kDa molekül ağırlığına sahip hücrelerde bulunduğu durumlarda genellikle kloroplastlarda rastlanan Fe\SOD izoenzimidir ve diğeri iki enzime göre O₂⁻ karşı ilgisinin daha düşük olduğu ve yüksek pH'da fazla aktivite gösteremediği belirlenmiştir (Yost ve Fridovich, 1973; Ferreira vd., 2002).

Kuraklık, yüksek sıcaklık, ağır metal gibi abiyotik stres şartları altında oluşan oksidatif hasarlara bağlı olarak SOD enziminin farklı savunma mekanizmalarında görev aldığı ve stresler sırasında aktivitesinde değişimler meydana geldiğine dair sonuçlara ulaşılmıştır (Karuppanapandian vd., 2011).

2.7.1.2. Katalaz (KAT-EC; 1.11.1.6.)

Katalaz (KAT; E.C.1.11.1.6) enzimi, yapısında tetramerik demir içeren stres şartları altında ROT detoksifikasyonu için mutlak gerekli hemoprotein grubu bir enzimdir. Bitkilerde katalaz enziminin üretimi peroksizom başta olmak üzere sitozol, sitoplazma ve mitokondrilerde gerçekleşmektedir (Gill ve Tuteja, 2010). KAT enzimi peroksizomlarda üretilen, H₂O₂'in direkt olarak su ve moleküler oksijene dönüşümünü (Reaksiyon 2.13.) katalize ederek hücreleri streslerden kaynaklanan zararlanmalara karşı korumaktadır (El-Beltagi ve Mohamed, 2013).



KAT enzimi ayrıca, yağ asitlerinin β-oksidasyonu, gliksilat döngüsü ve pürin katabolizması gibi metabolik reaksiyonlar sonucunda peroksizomlarda üretilen H₂O₂'in detoksifikasyonunda da görev almaktadır (Karuppanapandian vd. 2011). Çeşitli bitki türlerinde KAT enziminin üç farklı izoformu bulunmaktadır (Vandenabeele vd. 2004). Bunlardan KAT 1, polen ve tohumlarda (peroksizomlar ve sitozol), KAT 2, fotosentetik dokularda, köklerde ve tohumlarda (peroksizomlarda ve sitoplazmada) ve KAT 3 ise yapraklarda ve vasküler dokularda (mitokondri) ifade edilmektedir (Das ve Roychoudhury, 2014).

2.7.1.3. Glutatyon peroksidaz (GPX-EC; 1.11.1.9)

Glutatyon peroksidaz (GPX E.C. 1.11.1.9) enzimi ilk olarak 1957 yılında hayvan eritrositlerinden izole edilen ve yaklaşık olarak 40-50 kDA molekül ağırlığına sahip hemoprotein grubu bir enzimdir (Arteel ve Sies, 2001). Oksidatif stresler sırasında açığa çıkan, H₂O₂ ve lipid hidroperoksitlerinin detoksifikasyonu için GSH'yi indirgeyici olarak kullanarak (Reaksiyon 2.14.), bitki hücrelerinin oksidatif stres ile mücadelesine katkıda bulunmaktadır (Deaton ve Marlin, 2003; Gill ve Tuteja, 2010).



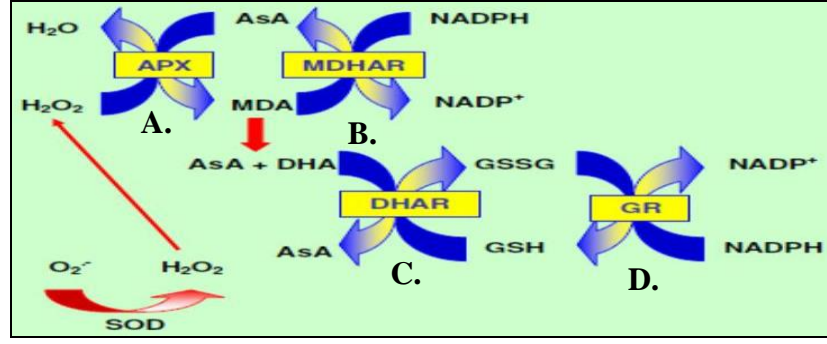
Bitkilerin sitoplazma, kloroplast, mitokondri ve endoplazmik retikulum gibi organellerinde buldukları tespit edilmiştir (Millar vd., 2003). Diğer bazı enzimler

gibi GPX'lerde kendi içerisinde moleküler yapılarına göre farklı tiplere ayrılmaktadırlar. Bunlar; aktif bölgesinde selenyum içeren selenyum bağımlı GPX'ler (Se-GSH-Px) ve selenyum bağımlı olmayan fosfolipid içeren hidroperoksit GPX'lerdir (PL-GSH-Px). Se-GSH-Px'ler GSH oksidasyonu aracılığıyla H₂O₂ gibi ROT'ları ve çeşitli hidroperoksitlerin yıkımını katalizlerken, PL-GSH-Px'ler ise fosfolipid hidroperoksitlerin alkollere indirgenmesini sağlayarak tokoferollerin eksikliğinde membranları peroksidasyonlara karşı korumaktadırlar (Halliwell ve Gutteridge, 1999; Cnubben vd., 2001).

2.7.1.4. Askorbat peroksidaz (APX-EC; 1.11.1.11.)

Askorbat peroksidaz (APX- EC; 1.11.1.11.) enzimi askorbat-glutatyon (AsA-GSH) döngüsünün anahtar bileşeni olarak bilinen ilk enzimdir ve oksidatif stresler sırasında açığa çıkan ROT miktarlarının uygun düzeye indirilmesinde görev almaktadır (El-Beltagi ve Mohamed, 2013). Yapılan araştırmalarda, yüksek bitkilerde, alglerde, öglenalarda ve diğer organizmalarda bulunduğu tespit edilmiştir (Gill ve Tuteja, 2010). KAT enzimi ile aynı göreve sahip olan APX enzimi, KAT'a kıyasla H₂O₂'ye karşı daha yüksek afiniteye sahiptir ve bu nedenle stresler sırasında daha etkin koruma sağlamaktadır. KAT enzimi sadece peroksizomlarda oluşan H₂O₂'nin temizlemesini yaparken APX enzimi kloroplast ve sitozolde oluşan H₂O₂'lerin temizlemesini gerçekleştirmektedir (Wang vd. 1999; Karuppanapandian vd., 2011). Bu görevini ise askorbatı indirgeyici ajan olarak kullanarak, organellerde bulunan H₂O₂'yi H₂O ve MDA'ya indirgeyerek yerine getirmektedir (Reaksiyon 2.15.) (Noctor ve Foyer, 2005) (Şekil 2.7.A).





Şekil 2.7. Askorbat-glutasyon (AsA-GSH) döngüsü (Desikan vd., 2004)

Bugüne kadar yapılmış olan çalışmalar sonucunda APX enzim ailesinin, yüksek bitkilerin farklı hücrelerinde aminoasit dizilişlerine bağlı olarak farklı özelliklere sahip beş farklı izoenzimine rastlanmıştır. Bunlar; stromal APX (sAPX) ve tilakoid membranlara bağlı APX (tAPX), sitozolik APX (cAPX), mitokondriyal APX (mAPX) ve glikosizomlara bağlı APX (gmAPX)'tir (Garg ve Manchanda 2009). Organellerde bulunan APX, organellerden yayılan H₂O₂'yi temizlerken, sitozolik APX ise sitosol ve apoplastlardan yayılan H₂O₂'nin temizlenmesini gerçekleştirmektedir (Mittler ve Zilinskas, 1992).

2.7.1.5. Monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR-EC; 1.6.5.4.)

Monodehidroaskorbat peroksidaz (MDHAR-E.C. 1.6.5.4.) enzimi, APX enzimine yardımcı olması ile bilinen AsA-GSH döngüsünün ikinci adımında yer alan metabolik reaksiyonlar sırasında elektron taşıyıcı olarak görev alan önemli bir enzimdir (Del Rio vd. 2002). Bitkilerin kloroplast, sitozol, mitokondri ve peroksizom gibi kısımlarında üretilmektedir (Moller vd. 2007). Elektron taşımını sırasında, elektron alıcısı olarak monodehidro askorbat (MDHA) enzimi kullanırken, elektron vericisi olarak da NADH tercih edilmektedir (Gil ve Tuteja, 2010; Karuppanapandian vd. 2011). MDHAR antioksidan olarak görevini, NADH'yi indirgeyici olarak kullanarak hücrelerde oluşan monodehidro askorbatı (MDHA), tekrardan askorbata (AsA) indirgeyip yararlı hale dönüştürerek yerine getirmektedir (Reaksiyon 2.16.) (Das ve Roychoudhury, 2014). (Şekil 2.7. B).



MDHAR'lar AsA-GSH döngüsü içerisinde peroksizomlar ve mitokondrilerde, APX enzimi ile birlikte hareket ederek üretilen H₂O₂'nin temizlenmesinde ve askorbatın oksidasyonunda etkin rol oynamaktadırlar (Del Rio vd., 2002; Mittler, 2002).

2.7.1.6. Dehidroaskorbat redüktaz (DHAR- E.C. 1.8.5.1.)

Dehidroaskorbat redüktaz (DHAR E.C. 1.8.5.1.) enzimi tohumlar, kökler, yeşil ve etiyolleşmiş filizlerde bol miktarda bulunan AsA-GSH döngüsünün üçüncü basamağında yer alarak hücrelerde askorbat havuzunun yenilenmesini sağlayan önemli bir enzimdir (Das ve Roychoudhury, 2014). Döngü içerisinde indirgeyici ajan olarak indirgenmiş glutatyonu kullanarak APX enzimi aracılığıyla oluşan DHA'nın askorbata dönüşümünü sağlamaktadır (Reaksiyon 2.17.) (Karuppanapandian vd. 2011) (Şekil 2.7.C.).



Yapılan araştırmalar, gerçekleşen bu reaksiyon ile birlikte bitkilerin çevresel streslere karşı tolerans düzeylerinde artışların olduğunu göstermektedir (Gill ve Tuteja, 2010).

2.7.1.7. Glutatyon redüktaz (GR- EC. 1.6.4.2)

Glutatyon redüktaz (GR) enzimi, oksidatif streslere karşı savunmada önemli bir yer tutan Asa-glutatyon (AsA-GSH) döngüsünün son basamağında bulunan flavoprotein oksidoredüktaz grubu bir enzimdir (Gill ve Tuteja, 2010). Temel olarak bitkilerin, kloroplastlarında bulunmakla birlikte, mitokondri, sitozol ve peroksizomlarında da bulunmaktadır (Garg ve Manchanda 2009). AsA-GSH döngüsünde gerçekleşen, reaksiyonlar sonucunda ROT'ların temizlenmesinde etkin rol oynayan GSH molekülü oksitlenmektedir. GR enzimi ise bu oksitlenmiş glutatyon molekülünü (GSSG), NADPH'yi bir indirgeyici ajan olarak kullanarak tekrardan GSH'a dönüştürerek GSH/GSSG (Reaksiyon 2.18.) oranının korunmasına yardımcı olmaktadır (Karuppanapandian vd. 2011). (Şekil 2.7. D).



Bu oranın korunmadığı durumlarda, tiyol gruplarının oksitlenmesini önleme konusunda indirgeyici bir rol oynayan GSH molekülü yetersiz kalmakta ve bitkiler için zararlı kabul edilen ROT miktarlarında artışlar meydana gelerek bitkilerin yaşamları tehlikeye girmektedir (Asada, 2000). Bitkilerde, GR aktivitesinin artması ile birlikte GSH birikiminde bir artış gerçekleşmekte ve böylece oksidatif streslere karşı bitkilerde dayanıklılık ve/veya toleransların oluşması mümkün olmaktadır (Apel ve Hirt, 2004).

2.7.2. Enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri

Bitkilerin, ROT üretimine bağlı meydana gelen hasarları önlemek adına geliştirdikleri mekanizmalardan bir diğeri enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleridir. Bu sistemin içerisinde yer alan antioksidanlar (Çizelge 2.2.) genellikle hücrelerde birikimi gerçekleşen ROT'ları daha zararsız formlara dönüştürme, stres sırasında açığa çıkan lipid peroksit ürünlerini parçalama ve zincir reaksiyonlarını kırarak meydana gelebilecek hasar oranını azaltma gibi görevler üstlenmektedirler (Gupta vd., 1993; Katab, 2007).

Çizelge 2.2. Enzimatik olmayan antioksidanlar, katalizledikleri reaksiyonlar ve hücre içi üretim yerleri

Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	Katalizlenen Reaksiyon	Hücre İçi Yerleri
Askorbik asit	APX için substrat olma, H ₂ O ₂ , O ₂ -detoksifikasyonu	Klo Sit, Mit, Per, Vak, Apo
İndirgenmiş Glutasyon	GST ve GR için substrat olma H ₂ O ₂ ve diğer toksik bileşenlerin detoksifikasyonu	Klo, Sit, Mit, Per, Vak, Apo
Tokoferol	Lipitleri peroksidasyondan koruma, lipid peroksitleri detoksifiye etme ve ¹ O ₂ parçalama	Membranlar
Karotenoid	Peroksidasyon zincir reaksiyonları önleme, membran stabilitesine koruma, ¹ O ₂ oluşumunu engelleme ve parçalama	Klo, kromoplast
Flavonoid	Direkt olarak, H ₂ O ₂ ve OH ⁻ temizlemesi yapma	Vakuol

2.7.2.1. Askorbik asit (AA)

Askorbik asit, hücrelerde bol miktarda bulunan ve stres fizyolojisi, büyüme-gelişme, hücre farklılaşması gibi çeşitli fizyolojik süreçlerde etkili rol oynayan ve en kapsamlı olarak çalışılmış antioksidanlardan birisidir (Foyer, 1993; El-Beltagi ve Mohamed, 2013). ROS artışına bağlı olarak meydana gelen hasarların en az düzeye indirilmesinde etkin rol oynayan AA en önemli antioksidanlar arasında yer almaktadır (Gil ve Tuteja, 2010). Bitkilerin mitokondrilerinde sentezlenerek proton hareketi veya difüzyon ile kloroplast, sitozol, vakuol, apoplast ve peroksizom gibi bitki kısımlarına taşınmaktadır (Horemans vd. 2000; Gil ve Tuteja, 2010). Antioksidan olarak görevini direkt olarak O_2^- , OH^- ve H_2O_2 temizlenmesinde görev alarak yerine getirmektedir (Noctor ve Foyer, 1998). Yapılan araştırmalar sonucunda AA'nın, pH aracılığı ile FSII aktivitesini düzenlediği ve düzenleme sayesinde fotooksidasyon reaksiyonlarını önlemede görev aldığı belirlenmiştir (Karuppanapandian vd., 2011). AA'ların bir diğer önemli görevi ise okside α -tokoferol radikalini indirgeyerek α -tokoferolün tekrardan serbest radikalleri yakalayıcı antioksidan olarak görev almasını sağlamaktadır (El-Beltagi ve Mohamed, 2013).

2.7.2.2. İndirgenmiş glutatyon (GSH)

İndirgenmiş glutatyon, en fazla kloroplastlarda bulunmakla beraber hemen hemen tüm bitki kısımlarında (Dat vd., 2000) ATP'ye bağlı reaksiyonlar sonucunda üretimi gerçekleşen düşük molekül ağırlıklı bir tiyol bileşiğidir (Arora vd., 2002). Normal koşullar altında sülfat taşınımının düzenlenmesi, sinyal iletimi, hücre farklılaşması (Xiang vd., 2001) hücre ölümü (Noctor vd., 2002), patojen direnci ve stresle ilişkili genlerin ekspresyonu gibi birçok fizyolojik süreçte rol oynamaktadır (Mateo vd. 2006).

Abiyotik ve biyotik stresler gibi çevresel stresler sırasında ise proteinlerdeki sülfhidril (-SH) gruplarını redükte halde tutarak onları oksidasyona karşı korumak, ağır metal stresine karşı ağır metal iyonlarını şelatlamaya yardımcı olan fitoşelatin sentaz yoluyla fitoşelatinlerin oluşumunda yardımcı olmak gibi görevler üstlenmektedir (Mytilineou vd., 2002). GSH'ın, ROT artışına bağlı olarak meydana

gelebilecek lipit peroksidasyon reaksiyonları ile oluşturulan peroksitleri zararsız bileşenlere dönüştürerek membran yapısını stabilize etmek, askorbat- glutatyon döngüsüne katılarak H₂O₂'yi detoksifiye etmek gibi görevleri bulunmaktadır (Price vd., 1990). Ayrıca, DHA'dan DHAR enzimi yoluyla askorbatın yenilenmesi reaksiyonlarına katılmaktadır (Arora vd. 2002) Singlet oksijen, süperoksit radikal ve hidroksil radikal gibi ROT'larla reaksiyona girerek onları daha zararsız bileşikler haline getirerek streslere karşı bitkilerin savunma mekanizmasında rol oynamaktadır (Larson, 1988).

2.7.2.3. Tokoferol

İlk olarak 1922 yılında izole edilen ve biyolojik membranların temel bileşeni olarak bilinen tüm bitki kısımlarında bulunan lipofilik antioksidanlardır. Yapılarında bulunan benzen halkalarına bağlanan protein veya metil gruplarına göre dört farklı (α -, β -, γ -, δ -) izomerden oluşmaktadırlar (Kiffin vd., 2006). Bu izomerler içerisinde α -tokoferol, yapısında üç metil grubu bulundurması nedeni ile en yüksek antioksidan özelliğine sahip izomer olarak bilinmektedir (Brigelius-Flohe ve Traber, 1999). Tokoferollerin, membran sertliğini artırma, bitki büyüme ve gelişmesini düzenleme ve oksidatif strese karşı bitkileri koruma gibi görevleri bulunmaktadır (Racchi, 2013). Antioksidan olarak görevlerini ise, aromatik halka üzerinde bulunan serbest hidroksil grubunun ROT'ları yakalayarak zincir reaksiyonlarını sonlandırıp ROT ve lipit radikallerinin etkin bir şekilde temizlenmesini sağlayarak yerine getirmektedirler. Bu özellikleri sebebiyle lipid peroksidasyonu sırasında bitki savunma mekanizmasında birinci sırada yer alan elemanlar olarak kabul edilmektedirler (Serbinova ve Packer, 1994; El-Beltagi ve Mohamed, 2013). Ayrıca, membranlardaki singlet oksijeni inaktive ederek membran stabilitesinin korunmasına da yardımcı olmaktadır (Gill ve Tuteja, 2010). Bugüne kadar yapılan çalışmalarda, bitkilerde stres altında tokoferol sentezinden sorumlu genlerin ifade düzeylerinde artışların meydana geldiği belirlenmiştir. Aynı zamanda tokoferollerin stresler karşı, kloroplast membranlarında açığa çıkan ROT'ları etkin bir şekilde detoksifiye ederek FSII yapısını ve fonksiyonunu korudukları belirlenmiştir (Kiffin vd., 2006).

2.7.2.4. Karotenoid

Karotenoidler, 400-550 nm dalga boylarındaki ışığı absorbe ederek ışığın klorofillere aktarımını sağlayan bitki dokularının plastidlerine lokalize olmuş lipofilik moleküller olarak bilinmektedirler (Sieferman-Harms, 1987; El-Beltagi ve Mohamed, 2013). Bu bileşikler, bitki bünyesinde farklı şekillerde antioksidan olarak görev yapmaktadırlar. Örneğin; zincir kırıcı özellikleri ile lipit peroksidasyonu reaksiyonlarını sonlandırırken, radikal temizleme özellikleri ile ise, 1O_2 oluşumunu hem engelleyip hemde oluşan radikalin detoksifikasyonunu sağlamaktadırlar (Mathis ve Kleo, 1973; Burton ve Ingold, 1984). Bu görevlerine dışında, stres anında oksidatif hasarlanmalara karşı membran stabilitesini korumaktadırlar (Collins, 2001; Howitt ve Pogson, 2006).

2.7.2.5. Flavonoid

Flavonoidler, polifenolik yapıya sahip suda çözünebilen bitki dokularında bol miktarda bulunan sekonder metabolitlerdir. Yapılarına göre flavonoller, flavonlar, izoflavonoidler, antosiyaninler, flavanoller, proantosiyanidinler ve flavanonlar olarak alt sınıflara ayrılmaktadırlar ve genellikle yapraklarda ve çiçeklerde bulunmaktadırlar (Angaji vd., 2012; El-Beltagi ve Mohamed, 2013). Flavonoidlerin antioksidan etkinlikleri, bitki tür ve çeşidine, yapılarında bulundukları hidroksil gruplarının bulunduğu yere, hidroksil gruplarının bileşikte bulunma sayılarına göre değişiklik göstermektedir (Ercan, 2008). Antioksidan olarak abiyotik ve biyotik stresler sırasında üç farklı görevleri bulunmaktadır. Bunlar; ROT'ların çeşitli reaksiyonlar ile zararsız hale getirilip temizlenmesi, ROT üretiminde yer alan enzimleri ve ROT oluşumuna yol açan Fenton Reaksiyonu gibi reaksiyonlarda yer alan metallerin şelatlanması ve radikallerin eşleşmemiş elektronlarını kontrol altına almaktır. Ayrıca, hidroksil ve peroksil gibi radikallerin yapılarına bağlanarak bu moleküllerin hücrelere herhangi bir zararlı etki göstermeden radikalleri yeniden konumlandırarak veya nötralize ederek ROT temizleyicileri olarak görev almaktadırlar (Løvdal vd., 2010).

2.8. Bitkilerde Çevresel Stresler Sırasında ROT ve Detoksifikasyonları İle İlgili Yapılmış Çalışmalar

2.8.1. Abiyotik stresler sırasında yapılmış olan çalışmalar

Kuraklık stresinin etkilerinin araştırıldığı çalışmada 5 farklı dut (*Morus alba* L.) çeşidinin (BC2-59, K-2, MR-2, S-13 ve TR-10) yaprak su potansiyeli -2,5 Mpa'ya ulaşıncaya kadar susuz bırakılmış ve ardından antioksidan enzim aktiviteleri, askorbat, prolin, glisin-betain, absisik asit, MDA oranında meydana gelen değişimler incelenmiştir. Çalışma sonucunda su stresi sırasında yapraklarda SOD, KAT, APX, POD, GR, MDHAR antioksidan enzim aktivitelerinde ve AA seviyelerinde önemli düzeyde artışlar belirlenmiştir. Meydana gelen artışların, BC2-59 ve S-13 çeşitlerinde daha fazla olduğu dolayısıyla da bu çeşitlerin strese karşı daha dayanıklı oldukları tespit edilmiştir (Reddy vd., 2004).

Chai vd. (2005), tarafından yapılan bir çalışmada *in vitro* ortamda yetiştirdikleri 2 muz (*Musa cavendishii*) çeşidine (*Musa* AAA 'Berangan' ve *Musa*AA 'Mas') kuraklık stresi %40 polietilen glikol (PEG) uygulaması ile gerçekleştirmişlerdir. Uygulamının sonucunda bitkilerde yapılan analizler sonucunda bitkilerin membran stabilitesinde ve SOD enzim aktivitelerinde azalmalar gözlemlenirken, KAT, APX, MDA ve GR aktivitelerinde ise kuraklığın ilerleyen aşamalarında artışlar olduğu belirlenmiştir.

Kuraklık stresine karşı toleranslı *Lycopersicon chilense* ve duyarlı olduğu bilinen *Lycopersicon esculentum* Mill. domates çeşitlerinde 5 günlük kuraklık stresi uygulaması sırasında kök, gövde uzunluğunda, yaprak oransal su içeriğinde, lipid peroksidasyon oranında ve antioksidan aktivitelerinde meydana gelen değişimler incelenmiştir. Yapılan analizler sonucunda kuraklığa toleranslı olarak bilinen çeşitte stres sonunda oransal su içeriğinin ve MDA miktarının azalmasına karşın Asa miktarında ve SOD ve APX enzim aktivitelerinde artışlar olduğu belirlenmiştir (Güzel, 2006).

Cervilla vd. (2007), yaptıkları bir çalışmada iki domates (*Solanum lycopersicum*) çeşidinin (Kosaco ve Josefina) bor toksisitesine karşı antioksidan savunma mekanizmalarında meydana gelen değişimler araştırılmıştır. Bu amaçla her iki

domates çeşidine ait bitkiler her grupta altı bitki olacak şekilde iki gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu bitkilerine 0.05 mM bor uygulanmış, stres grubu bitkilerine ise 0.5 - 2 mM bor uygulaması gerçekleştirilmiştir. Oluşturulan gruplara 14 gün boyunca belirtilen dozlarda bor stresi için uygulama yapılarak 14. günün sonunda yaprak örnekleri toplanıp biyokimyasal olarak bazı analizler yapılmıştır. Yapılan bu analizler sonucunda, bor toksisitesinin her iki çeşitte de büyümeyi azalttığı, MDA ve H₂O₂ ve askorbat miktarlarını arttırdığı ancak bu artışların Josefina genotipinde daha belirgin düzeyde olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca kontrol bitkilerine kıyasla her iki bitki çeşidinde de stres dozu arttıkça KAT, APX, GR, DHAR ve MDHAR enzimlerinin aktivitelerinde de artışlar olduğu belirlenmiştir.

Filippou vd. (2011), *Medicago truncatula* bitkisinde yaptıkları bir çalışmada kuraklık stresi sırasında ve ardından stres sonrası tekrar su verilerek bitkilerde ROT üretiminde meydana gelen değişimler ve bitkilerin bu süreçler sırasında antioksidan savunma sistemlerinde meydana gelen değişimleri incelemişlerdir. Bu amaçla bitkilere 9 gün boyunca su verilmeyerek kuraklık stresi uygulanmıştır. Dokuzuncu günün sonunda ise bitkiler iki gruba ayrılmış ve bir gruba iki gün boyunca düzenli su verilmiş diğer gruba ise hiç su verilmemiştir. Toplam 11 gün boyunca yapılan bu uygulamanın ardından 3, 9 ve 11. günlerde bitkilerden yaprak ve kök örnekleri alınarak bazı analizler gerçekleştirilmiştir. Yapılan bu analizlerin sonucunda, kuraklık stresi sonrasında bitkilerin hem köklerde hem de yapraklarda, ROT üretiminin, prolin içeriğinin ve hücrel hasarların arttığını ancak yapraklarda stoma iletkenliğinin azaldığı belirlenmiştir. Tekrar sulamanın ardından ise bitkilerin iyi gözökmelerine karşın kuraklık stresi sonrasında alınan sonuçlara benzer sonuçlar alınmıştır. KAT, cAPX, Zn/Fe SOD ve AOX antioksidan enzim aktivitelerinde meydana gelen değişimler bu genlere spesifik olarak dizayn edilmiş primerler kullanılarak real-time PCR yöntemiyle belirlenmiştir. Yapılan analizlerin sonucunda kuraklık stresi arttıkça bu enzimlerin ifade düzeylerinde de artışlar gerçekleşmiştir. Ancak bitkilere uygulanan tekrar su verme uygulaması ile bu genlerin ifade düzeylerinde herhangi bir azalma gerçekleşmemiştir.

Fu-Fan vd. (2014), tarafından yapılan bir çalışmada kısa süreli olarak uygulanan su stresinin hıyar (*Cucumis sativus* L., cv. Jinyou No. 1) fidesilerinin köklerinde meydana getirdiği değişimler incelenmiştir. Kuraklık stresi uygulaması için, stres

grubu bitkilere %5 ve %10 PEG içeren Hoagland besin çözeltisi, kontrol grubu bitkilere ise sadece Hoagland besin çözeltisi ile bir uygulama gerçekleştirilmiştir. Uygulamanın 0, 12, 24 ve 36. saatlerinde bitkilerden kök örnekleri toplanmıştır. Yapılan analizler sonucunda, PEG'in oluşturduğu kuraklık stresine bağlı olarak kontrol bitkilerine kıyasla 36 saatlik stres uygulaması sonucunda hıyar fidelerinin köklerinde su içeriğinin, O_2^- ve H_2O_2 'nin belirgin bir şekilde azaldığı, MDA içeriğinin ise artış gösterdiği belirlenmiştir. Aynı zamanda kontrol grubu bitkilerine kıyasla stres grubu bitkilerinin köklerinde SOD, POD, KAT ve APX aktiviteleri farklı zamanlarda ve farklı ölçülerde artış gözlemlenirken, AsA ve GSH içeriği ve GR, DHAR ve MDHAR enzimlerinin aktivitelerinde ise azalma olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, kuraklık stresinin hıyar fidelerinin köklerinde su emilim metabolizması üzerine etki ettiği ve bu kısa vadeli su eksikliğinde meydana gelen oksidatif hasara karşı korumada da antioksidan enzimlerinin önemli rollerinin olduğunu göstermiştir.

Zonouri vd. (2014), tarafından asmada (*Vitis vinifera*) yapılan bir çalışmada White Seedless ve Khoshnav üzüm çeşitlerinde kuraklık stresinden bitkileri korumak amacıyla 3 farklı askorbik asit uygulaması gerçekleştirilmiştir. Her iki çeşitte de kuraklık stresi sırasında askorbik asit miktarları kontrol gruplarına göre daha fazla olarak belirlenmiştir. Bununla birlikte MDA, protein ve APX miktarları ise kuraklık uygulaması sırasında en yüksek değerlere ulaşmıştır. Ayrıca en yüksek membran geçirgenliği de kuraklık stresi uygulanan bitkilerde belirlenmiştir.

Kirazgillerden farklı genotipler kullanılarak yapılan bir çalışmada, kuraklık stresine toleranslı *Cerasus humilis* Huai'rou (HR) genotipi ve kuraklık stresine karşı hassas olan Nongda4 (ND4) genotipine su kısıtlaması yöntemi ile 21 günlük kuraklık stresi uygulanmış ve bitkilerde kuraklık stresine bağlı olarak antioksidan sistemlerinde meydana gelen değişimler incelenmiştir. Stres uygulaması sırasında kontrol grubu bitkilere her gün düzenli bir şekilde su verilirken, stres grubu bitkilere ise ilk sulamadan sonra 21 gün boyunca su verilmemiştir ve 21 gün sonunda tüm gruplardan yaprak örnekleri toplanarak bazı analizler gerçekleştirilmiştir. Yapılan analizler sonucunda, kuraklığa dayanıklı olduğu bilinen HR genotipine ait bitkilerin aşırı kuraklık durumunda ND4 genotipine sahip bitkilere kıyasla SOD ve APX izoenzimlerinin, DHAR enziminin ve AsA-GSH döngüsü enzimlerinin

aktivitelerinde daha fazla artışların meydana geldiği sonucuna ulaşmışlardır. Bu duruma bağlı olarak HR genotipine ait bitkilerde ND4 genotipli bitkilere kıyasla daha düşük ROT ve MDA birikiminin olduğu membran hasarlanmasının daha az olduğunu belirlemişlerdir. Yapılan bu çalışma ile antioksidan sistemlerin kuraklık stresi sırasında etkin rol oynadığı ve kuraklığa toleransın genotipik farklılıklara bağlı olarak değişimler gösterebileceği ortaya konulmuştur (Ren vd., 2016).

Çelik vd. (2017), iki farklı ticari domates (*Lycopersicon esculentum*) çeşidinde 7 günlük kuraklık stresi uygulaması sonucunda antioksidan kapasitesindeki değişimleri incelemişlerdir. Araştırma sonucunda, kuraklık stresinin oksidatif strese neden olarak birçok metabolik yolu etkilediği ve buna bağlı olarak da MDA, SOD, KAT ve APX gibi antioksidan enzim aktivitelerinde artışlar meydana geldiği gözlemlenmiştir.

Zhang ve Shi (2018), yapmış oldukları bir çalışmada kuraklığa toleranslı (Longzhong) ve duyarlı (Gannong No. 3) iki yonca (*Medicago sativa* L.) genotipine 15 gün boyunca PEG aracılığıyla kuraklık stresi uygulaması gerçekleştirilmiş ve bitkilerin strese karşı gösterdikleri tepkiler fizyolojik olarak ve protein düzeyinde incelenmiştir. Bu amaçla bitkilere PEG 6000 kullanılarak ozmotik potansiyel -1.2 MPa'a kadar düşürülmüş ve stres uygulamasının 0, 3, 6, 9, 12 ve 15. günlerinde kök örnekleri toplanarak bazı analizler gerçekleştirilmiştir. Yapılan analizler sonucunda, her iki genotipte de prolin, MDA, H₂O₂, OH⁻ ve O₂⁻ seviyeleri artış gösterirken, köklerde SOD ve GR aktiviteleri ve AsA/DHA ve GSH/GSSG oranlarının önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir. Çözünebilir protein, POD, KAT ve APX enzimlerinin aktivitelerinin ise stres uygulamasının ilk günlerinde arttığı ancak daha sonra azaldıkları gözlemlenmiştir. Ayrıca, ozmotik stres altında, Longzhong genotipinde Gannong No.3 genotipine göre daha düşük düzeyde MDA, H₂O₂, OH⁻ ve O₂⁻ birikimi gözlemlenirken, SOD, KAT, APX enzim aktiviteleri ve AsA/DHA ve GSH/GSSG oranları daha yüksek seviyelerde belirlenmiştir.

2.8.1.1 Abiyotik stresler sırasında turunçgillerde yapılmış olan çalışmalar

Arbona vd. (2003), yaptıkları bir çalışmada, Carrizo sitrajına (*Citrus. sinensis* L. Osb. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.) uygulanan farklı dozlardaki tuz stresinin antioksidanlar üzerinde ki etkisini araştırmışlardır. Bu amaç doğrultusunda 4 aylık

Carrizo fidelerini stres ve kontrol grubu olarak ikiye ayırıp 28 gün boyunca 2 günde bir olacak şekilde 0, 30, 60 ve 90 mM tuz uygulaması ve 0.5 l Hoagland çözeltisi ile sulayarak tuz stresi uygulamışlardır. Uygulamanın 0, 4, 7, 14, 21 ve 28. günlerinde bitkilerden yaprak örnekleri toplayarak bazı analizler gerçekleştirmişlerdir. Yapılan analizler sonucunda, tuz uygulamasının dozu arttıkça fidelerin gelişiminde yavaşlamaların olduğu, MDA içeriklerinin ise uygulamanın 14. gününden itibaren artmaya başladığı ancak 21. günden sonra ise azalmalar olduğu belirlenmiştir. Antioksidan enzim aktiviteleri bakımından ise Carrizo kontrol grubunun fidelerinde, SOD ve KAT enzimlerinin aktivitelerinde azalmalar meydana gelirken APX ve GR aktivitelerinde çok az bir artış meydana gelmiştir. Stres grubunun enzim aktivite analizlerinin sonucunda ise SOD enzim aktivitesi 4. günden itibaren artmaya başlamış 21 ve 28. günlerde ise maksimum seviyeye ulaşırken, KAT aktivitesi sadece 4. günde 30 mM tuz stresi uygulanan dozda maksimum seviyeye ulaşmış fakat diğer uygulanan dozlarda ve stresin diğer günlerinde aktivitelerinde azalmalar meydana gelmiştir. APX ve GR enzim aktiviteleri ise 0 ve 7. günlerde artış gösterirken daha sonra diğer günlerde azalmalar göstermiştir. Ancak her iki enzimin aktivitesinde de 90 mM NaCl uygulamasının 14. gününden sonra artışlar olduğu gözlemlenmiştir.

Yoo vd. (2004), *Wando yuzus*, *Goheung yuzus* ve *Sadeung yuzus* olmak üzere 3 çeşit Yuzu (*C. junos Sieb ex Tanaka*) meyvesinin olgunlaşma döneminde hesperidin, naringin, C vitamini, toplam fenolik miktarı ve toplam antioksidan aktiviteleri bakımından farklılıkların olup olmadığını araştırmışlardır. Yaptıkları incelemeler ve analizler sonucunda, *Wando yuzus* çeşidinin tüm incelenen özellikler bakımından çeşitler arasında en yüksek içeriğe *Goheng yuzus* çeşidinin ise en düşük içeriğe sahip olduğu belirlenmiştir.

Chen vd. (2005), 9 haftalık Kleopatra mandarin (*C. reshni Hort. ex Tanaka*) fidelerini, 8 hafta boyunca haftada iki kere 150 ml olacak şekilde 0 ve 2 mM'lık bir konsantrasyonda alüminyum içeren besin çözeltisi uygulayarak yaprak örnekleri toplamışlar ve antioksidanlarda meydana gelen değişimleri incelemiştir. Yapılan analizler sonucunda alüminyum uygulanan bitkilerde kontrole bitkilerine göre SOD, KAT, APX, GR, DHAR, MDHAR enzim aktivitelerinde ve AA ve GSH miktarlarında artışların meydana geldiği belirlenmiştir.

2007 yılında Arbona vd. su stresine karşı dayanım bakımından farklı özellik gösteren Citrumelo CPB 4475 (*C. paradisi* L. Macf. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.), Carrizo sitranjı (*C. sinensis* L. Osb. x *P. trifoliata* L. Raf.) ve Kleopatra mandarin (*C. reshni*) genotiplerinde fazla su ve oksidatif hasar arasındaki ilişkinin ortaya çıkarılması için bir araştırma yapmışlardır. Araştırma için 2 aylık fideleri 48 gün boyunca aşırı sulamaya maruz bırakarak aşırı su stresinin oluşumunu sağlamışlar ve strese giren bu bitkilerin antioksidan savunma sistemlerinde meydana gelen değişimler incelenmiştir. Yapılan analizler sonucunda, Citrumelo CPB 4475 ve Carrizo sitranjına ait genotiplerde MDA ve prolin içeriği, SOD, KAT, GR ve aktivitelerinin arttığını ancak Kleopatra mandarin genotipinde ise SOD ve GR enzim aktivitesi, MDA içeriği artarken KAT ve APX aktiviteleri ve prolin içeriğinde azalmalar meydana gelmiştir. Sonuç olarak fazla su stresine karşı Carrizo sitranjının toleranslı, Citrumelo CPB 4475 genotipinin orta derece toleranslı ve Kleopatra mandarininin ise tüm genotipler içerisinde en hızlı ve en yüksek MDA artışı nedeniyle hassas olduğu sonucuna varılmıştır.

Hossain vd. (2009), farklı anoksik ve post-anoksik dönemlerin turuncgil fizyolojisi üzerindeki etkisini incelemek amacıyla su basmasına karşı orta derecede tolerans gösteren *Citrumelo* CPB 4475 (*C. paradisi* L. Macf. x *P. trifoliata* L. Raf.) genotipi, üç farklı seviyede fazla su stresine maruz bırakılmış bitkilerde morfolojik gözlemler sonucunda belirlenebilen hasarlar, fotosentez aktivitesi, MDA ve H₂O₂ birikimi incelenerek genel bitki performansının durumu ve antioksidan kapasitelerindeki meydana gelen değişimler incelenmiştir. Stres uygulaması yapılırken kontrol grubu bitkiler haftada 3 kez olacak şekilde 0.5 l Hoagland çözelitisi ile sulanmış, stres grubu bitkiler ise 4 l saksı içerisinde alttan su uygulaması yapılarak 22 günlük stres uygulanmıştır. Stres uygulamasının 12, 13, 17, 22. günlerinde bitkilerden yaprak örnekleri toplanmıştır. Yapılan analizler sonucunda, MDA ve H₂O₂ birikiminin arttığı buna bağlı olarak da SOD, APX, GR ve KAT enzim aktivitelerinde ve AsA ve GSH konsantrasyonlarında artışlar meydana gelmiştir. Ancak antioksidan savunma sistemlerinde meydana gelen bu artışların, düşük seviyelerde olması nedeni ile oksidatif hasarın giderilmesi pek mümkün olmamıştır.

Georgia-Tanou vd. (2009), yapmış oldukları bir çalışmada 5 aylık ekşi portakal (*C. aurantium* L.) bitkilerinin köklerine H₂O₂ uygulaması gerçekleştirerek, H₂O₂

varlığında 0-150 mM tuz stresinin 16 gün boyunca antioksidan savunma tepkilerinde meydana getirdiği değişimleri incelemiştir. Uygulamalar sırasında, bitkileri iki gruba ayırarak bir grubun köklerini karanlıkta 8 saat boyunca 10 mM H₂O₂ ile diğer grubun köklerine ise sadece saf su uygulamışlardır. Daha sonra ise her gruptan belirli sayıda bitki alarak, 16 gün boyunca 0-150 mM tuz stresi uygulamışlardır. Stres uygulaması sırasında dört farklı grup oluşturmuşlar ve her gruptan örnekleme yapmışlardır. Oluşturulan gruplar, saf su ile ön muamele işlemi yapılmış, tuz stresi uygulanmamış ve uygulanmış grup, H₂O₂ ile ön muamele işlemi yapılmış tuz stresi uygulanmamış ve uygulanmış grup şeklindedir. Yapılan antioksidan analizler sonucunda H₂O₂ ile ön muamele edilmiş ve tuz stresi uygulaması yapılmamış grubun yapraklarında SOD, KAT, APX ve GR enzimlerinin aktivitelerinde artışlar olduğu belirlenmiştir. Saf su uygulaması yapıp tuz stresi uygulanan bitkilerde ise askorbatın redoks tepkimelerinde bir azalma gözlemlenirken H₂O₂ uygulaması gerçekleştirilip ve tuz stresi uygulanmış bitkilerde ise tam tersine bir durum gözlemlenmiştir. Elde edilen sonuçlar H₂O₂'in bitkilerde farklı durumlarda farklı etkilerinin olabileceğini ortaya koymaktadır.

Mukhtar Balal vd. (2011), tarafından 10 farklı turunçgil anacına *C. jambhiri* Lush, *Rubidoux* üç yapraklısı, *C. obvidea*, Rangpur laym (*Citrus x Limonia*), *Sanchton* Citrumelo, *Citrumelo-1452*, Carrizo sitranjı, Yuma sitranjı, *C. maxima* ve *C. aurantium* 90 gün boyunca 0, 30, 60, 90 mM NaCl uygulaması gerçekleştirerek tuz stresinin büyüme ve biyokimyasal parametreler üzerine etkileri araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda artan miktarlarda tuz stresinin anaçların sürgün ve kök gelişimleri üzerine, kuru ve yağ ağırlıklarında, klorofil içeriklerinde azalmalara sebep olduğu belirlenmiştir. Ayrıca bitkilerin stresle mücadele etmek için prolin ve şeker üretimini arttırarak ozmolit birikimine katkıda bulunduğu ve böylece de hücrenin turgor basıncının korunarak strese karşı tolerans sağlandığı ortaya konmuştur.

Perez-Clemente vd. (2012), yapmış oldukları bir çalışmada Carrizo anacına 10, 20 ve 30 günlük olarak %20 ve %40 PEG uygulaması ile bitki üzerinde kuraklık stresi oluşturmuşlardır. Ve strese bağlı olarak meydana gelen prolin, jasmonik asit, salisilik asit, absisik asit düzeylerinde ve MDA, SOD, KAT ve APX enzim aktivitelerindeki değişimler incelenmiştir. Yapılan analizler sonucunda stres dozunun ve süresinin artışı ile birlikte KAT dışındaki ölçülen tüm parametlerde düzenli bir artış

gözlemlenmiş ve bu artışların 30. günde ise maksimum düzeye ulaştığı belirlenmiştir. KAT enzim aktivitesinde ise stresin 20. gününde çok az miktarda bir artış meydana gelmiş ve daha sonra ki günlerde ise azaldığı belirlenmiştir.

Machoda vd. (2013), yapmış oldukları bir çalışmada düşük sıcaklığın Rangpur laym (*Citrus x limonia*) ve Swingle citromelo anaçları üzerine aşılı olan Valencia portakalları üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Yaptıkları araştırmalarda, düşük sıcaklığın olumsuz etkilerinin Rangpur laym üzerine aşılı bitkilerde daha şiddetli olduğu bu bitkilerde fotosentez mekanizmasının geri dönüşümsüz olarak tahrip olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca yapılan antioksidan aktivite analizleri sonucunda DHA, SOD, APX, KAT enzimlerinin ve askorbik asit ve AsA içeriklerinin her iki bitki grubunda da arttığı belirlenmiştir.

Subba vd. (2014), 12 aylık mandarin (*C. reticulata*) bitkilerine 14 hafta boyunca 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15 ve 20 mM konsantrasyonlarında çinko sülfat ($ZnSO_4$) uygulaması gerçekleştirmişler ve 14 hafta sonunda bitkilerden yaprak örnekleri toplanmıştır. Yaprak örnekleri kullanılarak yapılan analizlerde reaktif oksijen türlerinin, enzimatik olan ve olmayan antioksidan savunma sistemlerinde meydana gelen değişimlerin stres ile ilişkisi araştırılmıştır. Yapılan analizler sonucunda, SOD, KAT, APX enzimlerinin aktivitelerinde ve MDA, H_2O_2 ve O_2^- birikimlerinde 5 mM $ZnSO_4$ konsantrasyonundan sonra düzenli bir artışın gerçekleştiği tespit edilmiştir. Askorbik asit içeriğinde ise enzimatik aktivitenin tam tersi bir durum söz konusu olmuştur. Ancak savunmada yer alan antioksidan enzimlerin hem çinko fazlalığında hem de eksikliğinde artış göstermelerine rağmen bitkileri korumada yetersiz kaldıkları gözlemlenmiştir.

Al-Anbari vd. (2015), turunçgillere ait limon (*C. limon*), portakal (*C. sinensis*), greyfurt (*C. paradisi*), mandarin (*C. reticulata*) ve turunç (*C. aurantium*) olarak 5 çeşit üzerinde toplam fenolik ve toplam flavonoid miktarı, metal iyonlarının şelatlanması, antioksidan kapasite ve hidrojen peroksit yıkımı bakımından çeşitlerin karşılaştırıldığı bir araştırma yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda, incelenen özellikler bakımından toplam fenolik miktarı, hidrojen peroksit yıkımı ve antioksidan aktivitenin portakalda, toplam flavonoid miktarının turunçta, metal iyonlarının şelatlanma hızının ise limonda en yüksek seviyede olduğu belirlenmiştir.

Li vd. (2016), 18 haftalık portakal (*C. sinensis*) ve şadok (*C. grandis*) bitkileri üzerinde alüminyum toksisitesinin etkilerini gözlemlemek amacıyla bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Bitkileri kontrol ve stres grubu olarak ikiye ayırarak kontrol grubunu normal sulama şartları altında sulayıp, stres grubunu ise saksılar doymun hale gelene kadar 1.2 mM alüminyum klorür içeren solüsyonla sulama yapılmıştır. Saksılar doymun hale geldikten sonra bitki gruplarından rastgele yaprak örnekleri toplanmıştır. Yapılan analizler sonucunda, toplam protein içeriği, klorofil miktarı, fotosentez oranı gibi parametrelerde şadok bitkilerinde portakala göre daha fazla azalmaların olduğu gözlemlenmiş, ancak antioksidan enzimler bakımından ise artışlar daha düşük seviyelerde belirlenmiştir. Elde edilen bu sonuçlar portakal bitkisinin enerji ile ilgili genleri indükleyerek fotosentezi koruduğu, ROT temizlenmesinde daha etkin olduğu ve bu nedenle de stres sırasında hızlı bir şekilde savunma oluşturması sebebiyle de şadok meyvesine göre alüminyum toksisitesine karşı daha toleranslı olduğu sonucuna varılmıştır.

Zandalinas vd. (2016), Carrizo (*C. sinensis* x *P. trifoliata*) ve Kleopatra mandarini (*C. reshni*) anaçlarına yüksek sıcaklık, kuraklık ve yüksek sıcaklık ve kuraklık stresinin kombinasyonu şeklinde üç farklı stres uygulaması gerçekleştirilmiştir. Bitkiler üzerinde sıcaklık stresi oluşturmak amacıyla bitkilere 10 gün süre ile 40 °C sıcaklık uygulaması, kuraklık stresi oluşturmak amacıyla bitkilere 10 gün boyunca su kısıtlaması uygulaması, kombine stres oluşturmak amacıyla da bitkilere 40 °C'de sıcaklıkta bırakılarak kuraklık stresi uygulanmıştır. Stres uygulamaları sonunda bitkilerdeki farklılıkları belirlemek amacıyla prolin, MDA, ABA ve salisilik asit içeriklerindeki değişimler incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar Carrizo sitranjının incelenen özellikler bakımından hem kombine hem de tekli streslere karşı Kleopatra mandarinine göre daha toleranslı olarak bulunmuştur.

Mukhtar Balal vd. (2017), *Poncirus trifoliata* (L.), *C. reshni* ve *C. limonia* Osbeck üzerine aşılı Kinnow mandarininde (*C. nobilis* Lour x *C. deliciosa* Ten) krom toksisitesinin biyokütle, fotosentez, antioksidan ve reaktif oksijen türlerinin üretimi üzerine etkisi araştırılmıştır. Yapılan analizler ve gözlemler sonucunda, krom toksisitesine maruz kalan bitkilerde büyümenin yavaşladığı, klorofil konsantrasyonunun, stoma iletkenliğinin, antioksidan enzim aktivitesinin, fotosentez

ve transpirasyon oranının azaldığı; lipid peroksidasyonu ve reaktif oksijen türlerinin oluşum hızının arttığı belirlenmiştir.

Neves vd. (2017), farklı düzeylerde kuraklık stresi sırasında anaç\kalem etkileşiminin fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler düzeyde etkilerini ortaya koymak amacıyla bir çalışma yapmışlardır. Yapılan bu çalışmada Rangpur laym ve Sunki maravilha anaçları üzerine aşılınmış Valencia çeşidine bir defa kuraklık stresi (KS1), iki defa kuraklık stresi (KS2) ve üç defa kuraklık stresi (KS3) olacak şekilde stres uygulamaları gerçekleştirmişler ve belirlenen parametreler çerçevesinde kuraklık streslerinin anaç\kalem arasındaki etkileri karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre hormonal açıdan en büyük değişimin KS3 sulama şartlarında Sunki maravilha\Valencia kombinasyonunda meydana geldiği belirlenmiştir. Biyokimyasal açıdan ise SOD ve GPx enzim aktivitelerinde büyük farklılıklar oluşmazken, KAT ve APX enzim aktivitelerinde KS1 sulama şartlarında Sunki maravilha\Valencia kombinasyonunda maksimum seviyeye ulaşmış diğer sulama şartlarında ise aktivitelerde azalmalar meydana gelmiştir.

Zandalinas vd. (2018), yaptıkları bir çalışmada Kleopatra mandarininde (*C. reshni*) kuraklık stresi, yüksek sıcaklık stresi ve kuraklık ve yüksek sıcaklık streslerinin birlikte uygulandığı farklı durumlarda hormon ve prolin seviyesi, yaprak su içeriği, klorofil ve lipid peroksidasyonunda meydana gelen değişimler incelenmiştir. Bu amaçla bitkileri kontrol, orta derece kuraklık (%40), 40 °C'de yüksek sıcaklık ve orta derecede kuraklık ve 40 °C'de yüksek sıcaklığa maruz bırakarak stres oluşturmuşlardır. Streslerin 3, 7 ve 10. günlerinde bitki gruplarından yaprak örnekleri toplanarak bazı analizler gerçekleştirilmiştir. Yapılan analizler sonucunda salisilik asit ve oksidatif stresin bir göstergesi olarak kabul edilen MDA miktarı her deney grubunda kontrole göre artış gösterirken yaprak su içeriği ve klorofil miktarı azalma göstermiştir. Strese karşı savunmada yer alan ozmolitlerden birisi olarak bilinen prolin miktarı ise kontrol grubuna kıyasla yüksek sıcaklık stresi altında azalırken diğer deney gruplarında artış göstermiştir. Elde edilen bu sonuçlar, Kleopatra mandarininin yüksek sıcaklık stresine karşı oldukça duyarlı olduğu ve kombine stres ile karşı karşıya kaldığında ise stresin kuraklıktan bağımsız bir şekilde bitkiyi olumsuz olarak etkilediği sonucuna varılmıştır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Araştırmada bitkisel materyal olarak, Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü (BATEM)'den temin edilen kuraklığa dayanım yönünden farklı özelliklere sahip 12 aylık (*Citrus aurantium* L.) turunç, *Citrus sinensis* (L.) Osb. x *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. melezleri olan Carrizo ve Troyer sitranjları kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Bitki yetiştirme koşulları ve kuraklık stresi uygulaması

BATEM'den temin edilen ve çekirdek kullanılarak yetiştirilen 12 aylık turunçgil bitkileri, içerisinde torf-perlit (3:1) karışımı bulunan 2.7 l'lik saksılara aktarılmıştır. Aktarımı yapılan bitkiler haftada bir olmak üzere 350 ml su verilerek sulanmış ve kontrollü şartlar altında (16 saat aydınlık\8 saat karanlık ve $24^{\circ}\text{C} \pm 2$) 6 ay boyunca bitki büyütme kabininde ortama alıştırmıştır.

Ortama alışma sürecinden sonra 18 aylık olan yetiştirilen bu turunçgil bitkilerine kuraklık stresi uygulanmıştır. Yetiştirilen bitkilerin arasından her bir bitki grubuna ait rastgele 20 şer bitki seçilmiş ve seçilen bitkiler her grupta 10'ar bitki olacak şekilde stres-kontrol grubu şeklinde ikiye ayrılmıştır. İki gruba ayrılan bu bitkiler arasından stres grubuna 14 günlük kuraklık stresi uygulanmıştır. Uygulama sırasında, her iki grupta da bulunan bitkilere stres başlangıcının sabahında 0. gün olarak 350 ml su verilmiş ve ardından stres grubunda bulunan bitkilere 14 gün boyunca su verilmemiştir. Kontrol grubunda bulunan bitkilere ise her örnek alım zamanından bir gün önce 150 ml su verilmiştir. Stres uygulaması sırasında gruplara ait bitkilerden 0, 7, 8, 9, 12 ve 14. günlerde yaprak örnekleri toplanarak hızlı bir şekilde sıvı azot içerisinde dondurulmuştur. Dondurulan örnekler laboratuvara getirilerek sıvı azot yardımıyla ezilip eppendorf tüplere doldurulmuş ve analizlerde kullanılmaya kadar -80°C 'de saklanmıştır. Uygulama başlangıcında ve bitimine ait bitkilerin genel görünüşleri Şekil 3.1'de gösterilmektedir.



Şekil 3.1. Kuraklık uygulamasının ilk (solda) ve 14. gününde (sağda) anaçların görünümü [Carrizo (üstte), turunç (ortada), Troyer (altta)]

3.2.2. Fizyolojik ölçümler

3.2.2.1. Toprak neminin belirlenmesi

Stres uygulaması sırasında, stres ve kontrol grubu bitkilerine ait toprak nemi 0, 7, 8, 9, 12 ve 14. günlerde toprak nem sensörü kullanılarak HH2 nem ölçüm cihazı (Delta-T, İngiltere) ile ölçülmüştür. Ölçümler her bir saksının iki farklı yerinden gerçekleştirilmiş ve bu ölçümlerin ortalamaları alınmıştır.

3.2.2.2. Stoma iletkenliğinin belirlenmesi

Stres uygulaması sırasında, stres ve kontrol grubu bitkilerine ait stoma direnci 0, 7, 8 ve 9. günlerde SC-1 yaprak porometresi (Decagon Devices, Almanya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ölçümler 1-3 yaprak kullanılarak gerçekleştirilmiş ve yaprakların

uçları kalem ile işaretlenerek tüm ölçüm günlerinde aynı saatte aynı yaprak örneklerinin ölçülmesine dikkat edilmiştir.

3.2.3. Biyokimyasal analizler

3.2.3.1. Lipid peroksidasyonu miktarının belirlenmesi

Bitkilerde lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA miktarının ölçülmesi ile lipid peroksidasyonu seviyesi belirlenmiştir. MDA miktarı Hodges vd. (1999) metoduna göre belirlenmiştir. Sıvı azot içerisinde ezilerek dondurulmuş 0.5 g yaprak örneği 5 ml %80 soğuk etanol ile homojenize edilmiş ve ardından 3000 g'de +4 °C'de 10 dak. santrifüj yapılmıştır. Santrifüj sonunda her örnek için 2 yeni tüp hazırlanmış ve tüplere 1'er ml süpernatant eklenmiştir. Ardından içerisinde, 1 ml süpernatant bulunan birinci tüpe 1 ml %0.5 thiobarbitirik asit (TBA) içeren %20 trikloroastik asit (TCA), ikinci tüpe ise 1 ml süpernatant üzerine 1 ml %20 TCA ilave edilerek karışımlar 90 °C'de 1 saat su banyosunda kaynatılmıştır. Kaynatmanın ardından reaksiyonu durdurmak amacıyla örnekler hızla buz banyosuna alınarak soğutulmuş ve son olarak soğuyan örneklerle tekrardan 3000 g'de +4 °C'de 10 dak. santrifüj yapılmıştır. Santrifüj sonunda elde edilen süpernatantlar spektrofotometre küvetine alınarak 440, 534 ve 660 nm dalga boyunda absorbans değerleri belirlenmiştir. Elde edilen absorbans değerleri aşağıdaki formülde yerine yazılarak her gruba ait lipid MDA miktarı hesaplanmıştır.

3.2.3.2. Hidrojen peroksit miktarının belirlenmesi

Hidrojen peroksit konsantrasyonu Velikova vd. (2000) metoduna göre belirlenmiştir. 0.5 g yaprak örneği 5 ml %0.1 TCA ekstraksiyon çözeltisi ile homojenize edilip ardından 4000 rpm'de +4 °C'de 10 dak. santrifüj edilerek ekstraktlar çıkarılmıştır. Analiz için ise, 0.5 ml ekstrakt üzerine 0.5 ml 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH: 7) ve 1 ml 1 M potasyum iyodür içeren reaksiyon karışımı eklenip 5 dak. karanlık bir ortamda oda sıcaklığında bekletildikten sonra 390 nm dalga boyunda okumalar yapılmıştır. Blank olarak ekstraksiyon çözeltisi kör olarak ise reaksiyon karışımı kullanılmıştır. H₂O₂'nin konsantrasyonu, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan H₂O₂'den elde edilen standart grafik üzerinden hesaplanmıştır. Standart grafik elde

etmek amacıyla, 8.8 mM H₂O₂ stoğu oluşturulmuş ve bu stoktan farklı konsantrasyonlarda standartlar oluşturularak mevcut protokolda ekstrakt yerine H₂O₂ standartları kullanılarak standart grafik elde edilmiştir. Grafikten elde edilen denklemde y yerine absorbans değeri konularak H₂O₂ miktarı $\mu\text{mol g}^{-1}$ taze ağırlık şeklinde belirlenmiştir.

3.2.3.3. Örneklerden ekstrakt çıkarımı

Enzim aktivitelerinin ve protein miktarının belirlenebilmesi için ekstraktlar Arbona vd., (2003); Zandalinas vd. (2017)'ye göre belirlenmiştir. Bu amaçla 0.5 g yaprak örneği 2.5 ml 50 mM (pH:7) sodyum fosfat tamponu ile homojenize edilerek +4 °C'de 15.000 g'de 20 dak. santrifüj yapılmıştır. Enzim ekstraksiyonları için farklı içerikte ve pH'da tamponlar kullanılmıştır. SOD ve KAT ekstraksiyonu için 50 mM sodyum fosfat tamponu (pH:6.8), APX ve GR için ise sırasıyla; 1mM askorbat ve 0.1 mM EDTA içeren 50 Mm sodyum fosfat tamponu (pH:7.1) ve 50 mM sodyum fosfat tamponu (pH:7.1) kullanılmıştır. Santrifüj sonunda oluşan süpernatantlar, yeni tüplere alınarak analizlerde kullanılmak üzere -20 °C'de saklanmıştır.

3.2.3.4. Protein miktarının belirlenmesi

Örneklerin protein miktarı Bradford (1976) yöntemine göre belirlenmiştir. Protein miktarının belirlenmesinden önce Bradford ayırıcı olarak bilinen 5X Comassie Brilliant Blue (CBB) analiz için çözelti haline getirilmiştir. Bu amaçla 0.1 g CBB, 50 ml %96 etanol içinde iyice çözülmüş, daha sonra 100 ml %85 orto-fosforik asit ilave edilmiştir. Boyanın iyice çözünmesi sağlandıktan sonra karışımın hacmi saf su ile 200 ml'ye tamamlanmıştır. Örneklerin protein miktarının belirlenmesi için 100 μl ekstrakt üzerine 5 ml 1X Bradford ayırıcı eklenmiş ve köpürtmeden hafifçe karıştırılmıştır. Ardından 10 dak. oda sıcaklığında bekletilmiş ve 595 nm dalga boyunda okuma yapılmıştır. Örneklerin içerdiği protein miktarı ise Bovine serum albumin (BSA) kullanılarak elde edilen standart grafik aracılığıyla hesaplanmıştır. Grafikten elde edilen denklemde, absorbans değeri yerine konularak protein miktarı mg g^{-1} taze ağırlık şeklinde belirlenmiştir.

3.2.3.5. Süperoksit dismutaz aktivitesinin belirlenmesi

SOD enzim aktivitesi Gong vd. (2005), yöntemine göre gerçekleştirilmiştir. Buna amaçla, 50 mM sodyum fosfat bafır çözeltisi (pH:7.3), 13 mM methionin, 75µM Nitroblue Tetrazolium (NBT), 0.1 mM EDTA, 4 µM riboflavin içeren 1.25 ml reaksiyon karışımı hazırlanmıştır. Hazırlanan karışımın içerisine 50 µl enzim ekstraktı eklenerek 40W beyaz ışık altında alınmış ve 15 dak. ışık altında bekletilmiştir. Bu süre sonunda ışık kaynağı kapatılarak reaksiyon durdurulmuş ve ardından 560 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Blank işlemi için reaksiyon karışımının karanlıkta bekletilmiş hali kontrol olarak ise reaksiyon karışımının ışık altında bekletilmiş hali kullanılmıştır. 1 ünite SOD aktivitesi, NBT'nin %50'sinin indirgenmesi için gerekli enzim miktarı olarak tanımlanmaktadır ve spesifik enzim aktivitesi buna göre belirlenerek ünite mg⁻¹ protein olarak ifade edilmiştir.

3.2.3.6. Katalaz aktivitesinin belirlenmesi

KAT enzim aktivitesi Aebi (1984)'ye göre belirlenmiştir. Yöntem 240 nm'de 1 dakikada H₂O₂'nin, 240 nm dalga boyunda absorbansında oluşan azalmanın spektrofotometrik olarak belirlenmesine dayanmaktadır. 1.5 ml reaksiyon karışımı, 100 mM sodyum fosfat tamponu (pH:7.0), 10 mM H₂O₂ ve 15 µl ekstrakt içermektedir. Reaksiyon ekstraktın reaksiyon karışımına eklenmesi ile başlatılmıştır. Blank olarak enzim içermeyen reaksiyon karışımı kullanılmıştır. Spesifik aktivite 39.4 mM⁻¹ cm⁻¹ ekstinsiyon katsayısı kullanılarak hesaplanmış ve µmol dak⁻¹ mg protein⁻¹ olarak ifade edilmiştir.

3.2.3.7. Askorbat peroksidaz aktivitesinin belirlenmesi

APX enzim aktivitesi Hossain ve Asada (1984)'ya göre belirlenmiştir. Yöntem 290 nm'de 1 dakikada askorbatın absorbansında meydana gelen azalmanın spektrofotometrik olarak belirlenmesine dayanmaktadır. 1 ml'lik reaksiyon karışımı, 25 mM sodyum fosfat tamponu (pH:7.0), 0.5 mM askorbat, 0.1 mM H₂O₂, 0.1 mM EDTA ve 100 µl ekstrakt içermektedir. Reaksiyon H₂O₂'nin reaksiyon karışımına eklenmesi ile başlatılmıştır. Blank olarak enzim içermeyen reaksiyon karışımı

kullanılmıştır. Spesifik aktivite $2.8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ekstinsiyon katsayısı kullanılarak hesaplanmış ve $\mu\text{mol dak}^{-1} \text{ mg protein}^{-1}$ olarak ifade edilmiştir.

3.2.3.8. Glutasyon redüktaz aktivitesinin belirlenmesi

GR enzim aktivitesi Reddy vd. (2004)'ye göre belirlenmiştir. Yöntem 340 nm dalga boyunda 1 dakikada NADPH oksidasyonuna bağlı olarak absorbansta meydana gelen azalmanın spektrofotometrik olarak belirlenmesine dayanmaktadır. 1 ml'lik reaksiyon karışımı: 100 mM Tris buffer (pH 7.8), 2 mM EDTA, 50 μM NADPH, 0.5 mM GSSG ve 200 μl ekstrakt içermektedir. Spesifik aktivite $6.22 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ekstinsiyon katsayısı kullanılarak hesaplanmış ve $\mu\text{mol dak}^{-1} \text{ mg protein}^{-1}$ olarak ifade edilmiştir.

3.2.3.9. Askorbik asit miktarının belirlenmesi

Askorbik asit miktarı Dutta vd. (2016)'ye göre belirlenmiştir. İlk olarak 0.125 g yaprak örneği 5 ml %6'lık TCA ile homojenize edilip ardından $+4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 10.000 g'de 10 dak. santifüj edilerek ekstraktlar çıkarılmıştır. Daha sonra ise 1 ml ekstrakt üzerine 0.5 ml %2'lik 2,4 dinitrofenilhidrazin ve %70'lik etil alkolde çözülmüş 1 damla %10'luk thioüre eklenerek reaksiyon karışımı hazırlanmıştır. Hazırlanan karışım $90 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 15 dakika su banyosunda kaynatılıp bu süre sonunda oda sıcaklığına kadar soğutulmuştur. Soğutulan örnekler üzerine, 1.25 ml soğuk %80'lik H_2SO_4 ilave edildikten sonra hidrazin kompleksi içeren çözeltilerin absorbansları 530 nm dalga boyunda okunmuştur. Örneklerin askorbik asit içeriği ise askorbik asit kullanılarak elde edilen standart grafik aracılığıyla hesaplanmıştır. Grafikten elde edilen denklemde, absorbans değeri yerine konularak askorbik asit miktarı mg g^{-1} taze ağırlık şeklinde belirlenmiştir.

3.2.3.10. Fenolik miktarının belirlenmesi

Toplam fenolik madde miktarı Škerget vd. (2005)'ye göre belirlenmiştir. İlk olarak 250 mg yaprak örneği 1.25 ml %70'lik metanol ile homojenize edilip ardından $40 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 240 rpm'de 2 sa. boyunca çalkalanarak ekstraktlar çıkarılmıştır. Daha sonra ise toplam fenolik madde miktarın belirlenmesi amacıyla 0.5 ml ekstrakt üzerine

sırasıyla 2.5 ml 0.2 N Folin Cioceltau çözeltisi ve 2 ml Na₂CO₃ çözeltisi (%7.5) ilave edilerek karıştırılmış ve 50 °C'de su banyosunda 5 dak. bekletilip bu süre sonunda oda sıcaklığında soğutularak 760 nm dalga boyunda okunmuştur. Örneklerin fenolik madde miktarı ise gallik asit kullanılarak elde edilen standart grafik aracılığıyla hesaplanmıştır. Grafikten elde edilen denklemde absorbans değeri yerine konularak fenolik madde miktarı GAE mg⁻¹ taze ağırlık olarak belirlenmiştir.

3.2.4. İstatistiksel Analizler

Çalışmada üzerinde durulan özellikler bakımından elde edilen veriler SPSS paket programı aracılığıyla faktöriyel düzende tekrarlanan ölçümlü varyans analiz tekniği kullanılarak analiz edilmiştir. Çalışmada, grup faktörünün Troyer, Carrizo ve turunç olmak üzere üç seviyesi, uygulama faktörünün stres ve kontrol olmak üzere iki seviyesi, zaman faktörünün ise 7, 8, 9, 12 ve 14 olmak üzere beş seviyesi bulunmaktadır. Çalışmada tekrarlanan ölçümler zaman faktörü seviyesinde gerçekleştirilmiştir. 0. gün ölçümleri ise analize kovaryant olarak dahil edilmiştir. Denemede faktörlerin seviye ortalamaları arasındaki farklılıkların belirlenmesinde ise Çoklu Karşılaştırma Yöntemlerinden Tukey Testi kullanılmıştır. Tukey Testi sonuçları ortalamaların üzerinde Latin harfleri ile gösterilmektedir.

4. BULGULAR

Kuraklık stresinin turunçgil anaçları üzerinde ROT üretimi ve antioksidan özelliklere etkilerinin incelendiği bu araştırmada elde edilen sonuçlar aşağıda sunulmuştur.

4.1. Fizyolojik Ölçümler

4.1.1. Kuraklığın toprak nemine etkisi

Kuraklık stresi uygulaması sonucunda turunçgil anaçlarının toprak nem seviyelerine ilişkin kovaryans alınmış ve alınmamış sonuçlar kullanılarak yapılan varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.1, Çizelge 4.2 ve Çizelge 4.3'de gösterilmektedir.

Toprak nem seviyesi bakımından elde edilen verilerle yapılan varyans analizi sonucunda zaman x anaç x uygulama üçlü interaksyonu ve zaman x anaç, uygulama x anaç ikili interaksyonu istatistiki olarak önemli ($p>0.05$) bulunmamıştır. Zaman x uygulama ikili interaksyonu ise istatistiki olarak önemli ($p<0.01$) bulunmuştur. Tukey Testi sonucunda çalışmada bulunan farklılıklar ortalamaların üzerinde Latin harfleri ile gösterilmektedir.

Kovaryans alınan sonuçlar değerlendirildiğinde anaç x uygulama x zaman açısından toprak nem seviyesi bakımından değişimler gözlemlense de bu değişimler istatistiki olarak birbirinden farklı bulunmamıştır.

Kovaryans alınan sonuçlar değerlendirildiğinde her bir uygulamada zamanlar arasında farklılık tespit edilmiştir. Stres uygulamasında en yüksek toprak nem seviyesi %33,844 ile 7. günde tespit edilirken en düşük nem seviyesi ise %15,754 ve %12,588 ile 12. ve 14. günlerde tespit edilmiş olup bu günler dışındaki diğer tüm zaman noktalarında ölçülen değerlerin birbirlerinden farklı olduğu belirlenmiştir. Gerçekleştirilen kontrol uygulaması ise zamanlar arasında istatistiki bir farklılık göstermemiştir.

Kovaryans alınan sonuçlar değerlendirildiğinde, her bir zamanda uygulamalar arasında farklılık olduğu ve bu farklılığın kontrol grubu bitkilerde daha büyük olduğu tespit edilmiştir.



Çizelge 4.1. Turunçgil anaçlarının toprak nem düzeyine ait kovaryans alınmamış (anaç x zaman x uygulama) üçlü interaksyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

		Toprak Nemi (%)						
		Anaç	0. Gün	7.Gün	8.Gün	9. Gün	12.Gün	14.Gün
UYGULAMA	Stres	Troyer	48,058±3,831	30,098±4,969	24,220±4,461	18,272±4,643	14,083±2,655	10,875±2,378
		Carrizo	48,965±3,831	35,979±4,969	29,832±4,461	25,865±4,643	18,714±2,655	12,758±2,378
		Turunç	45,421±3,831	30,761±4,969	24,907±4,461	20,205±4,643	14,342±2,655	12,593±2,378
	Kontrol	Troyer	50,135±3,831	52,993±4,969	52,695±4,461	52,718±4,643	49,650±2,655	52,123±2,378
		Carrizo	54,258±3,831	56,029±4,969	55,176±4,461	54,773±4,643	54,655±2,655	49,203±2,378
		Turunç	49,437±3,831	51,643±4,969	51,360±4,461	53,508±4,643	51,545±2,655	54,297±2,378

Çizelge 4.2. Turunçgil anaçlarının toprak nem düzeyine ait kovaryans alınmış (anaç x zaman x uygulama) üçlü interaksyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

		Toprak Nemi (%)					
		Anaç	7.Gün	8.Gün	9. Gün	12.Gün	14.Gün
UYGULAMA	Stres	Troyer	31,188±4,243	25,108±4,030	19,453±3,471	14,112±2,936	11,232±2,368
		Carrizo	36,320±4,206	30,111±3,994	26,235±3,441	18,723±2,910	12,869±2,347
		Turunç	34,024±4,560	27,567±4,331	23,740±3,730	14,429±3,155	13,663±2,545
	Kontrol	Troyer	52,369±4,215	52,187±4,003	52,042±3,448	49,634±2,917	51,918±2,353
		Carrizo	52,005±4,736	51,896±4,497	50,414±3,874	54,549±3,277	47,883±2,643
		Turunç	51,595±4,202	51,321±3,990	53,456±3,437	51,544±2,907	54,282±2,345

0. Gün: 49,379

Çizelge 4.3. Turunçgil anaçlarının toprak nemine ait kovaryans alınmış (zaman x uygulama) ikili interaksyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

		Toprak Nemi (%)				
		7. Gün	8. Gün	9. Gün	12. Gün	14. Gün
UYGULAMA	Stres	33,844±2,570 Ab ^a	27,595±2,441 Bb ^a	23,143±2,103 Cb ^a	15,754±1,778 Db ^a	12,588±1,435 Db ^a
	Kontrol	51,990±2,570 Aa ^a	51,801±2,441 Aa ^a	23,143±2,103 Aa ^a	51,909±1,778 Aa ^a	51,361±1,435 Aa ^a

0. gün: 49,3790

Her bir uygulamada zamanlar arası farklılıklar büyük harfler ile, her bir zamanda uygulamalar arası farklılıklar ise küçük harfler ile gösterilmektedir.

4.1.2. Kuraklığın stoma iletkenliğine etkisi

Kuraklık stresi uygulaması sonucunda turunçgil anaçlarının stoma iletkenliğine ilişkin kovaryans alınmış ve alınmamış sonuçlar kullanılarak yapılan varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5’de gösterilmektedir.

Stoma iletkenliği bakımından elde edilen veriler kullanılarak yapılan varyans analizi sonucunda zaman x anaç x uygulama üçlü interaksyonu, zaman x anaç, uygulama x anaç ve zaman x uygulama ikili interaksyonu önemli ($P>0.05$) bulunmamıştır. Tukey Testi sonucunda çalışmada bulunan farklılık seviyeleri ortalamaların üzerinde Latin harfleri ile gösterilmektedir.

Buna göre kovaryans alınan (zaman x anaç x uygulama) üçlü interaksiyon sonuçları değerlendirildiğinde, Troyer, Carrizo ve turunç anaçlarına ait stres uygulamalarında $64-122 \text{ m}^2\text{s}^{-1}$ ve kontrol uygulamalarında ise $74-133 \text{ m}^2\text{s}^{-1}$ aralıkların da stoma iletkenliklerinde değişimler gözlemlenmiştir. Ancak uygulamalara bağlı olarak her ne kadar zaman ve anaç bakımından stoma iletkenliklerinde değişimler gözlemlense de bu değişimlerin istatistiki açıdan birbirlerinden farklı olmadığı sonucuna varılmıştır.

Çizelge 4.4. Turunçgil anaçlarının stoma iletkenliğine ait kovaryans alınmamış (anaç x zaman x uygulama) üçlü interaksiyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

		Stoma İletkenliği				
		Anaç	0. Gün	7.Gün	8.Gün	9. Gün
UYGULAMA	Stres	Troyer	101,532±20,040	73,719±18,197	72,277±10,246	67,917±9,346
		Carrizo	122,990±20,040	97,970±18,197	79,334±10,246	64,555±9,346
		Turunç	101,710±20,040	89,264±18,197	76,471±10,246	81,719±9,346
UYGULAMA	Kontrol	Troyer	78,600 ±20,040	85,005±18,197	82,509±10,246	79,245±9,346
		Carrizo	133,875±20,040	79,610±18,197	80,720±10,246	75,527±9,346
		Turunç	101,581±20,040	88,621±18,197	84,630±10,246	74,962±9,346

Çizelge 4.5. Turunçgil anaçlarının stoma iletkenliğine ait kovaryans alınmış (anaç x zaman x uygulama) üçlü interaksiyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

		Stoma İletkenliği			
		Anaç	7.Gün	8.Gün	9. Gün
UYGULAMA	Stres	Troyer	70,847± 17,854	76,062± 10,629	67,359± 10,178
		Carrizo	104,094± 18,449	81,925± 10,983	65,743± 10,518
		Turunç	82,659± 17,723	77,061± 10,551	81,989± 10,104
UYGULAMA	Kontrol	Troyer	62,520± 20,683	77,227± 12,312	76,822± 11,791
		Carrizo	90,297± 19,925	85,240± 11,862	77,601± 11,359
		Turunç	85,770± 17,852	83,424± 10,627	74,409± 10,177
		0. Gün: 108,381			

4.2. Biyokimyasal Analizler

4.2.1. Kuraklığın lipit peroksidasyonu miktarına etkisi

Kuraklık stresi uygulaması sonucunda turunçgil anaçlarının lipit peroksidasyonu (MDA) miktarlarına ilişkin kovaryans alınmış ve alınmamış sonuçlar kullanılarak yapılan varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.6 ve Çizelge 4.7’de gösterilmektedir.

Lipit peroksidasyonu bakımından elde edilen veriler kullanılarak yapılan varyans analizi sonucunda zaman x anaç x uygulama üçlü interaksyonu, istatistiki olarak önemli ($P<0.01$) bulunmuştur. Tukey Testi sonucunda çalışmada bulunan farklılık seviyeleri ortalamaların üzerinde Latin harfleri ile gösterilmektedir.

Kovaryans alınan sonuçlar değerlendirildiğinde, her bir anaç uygulama kombinasyonlarında arasında zamanlar arası farklılık tespit edilmiştir. Stres grubuna ait Troyer anacında en yüksek MDA miktarının $28,671 \mu\text{mol g}^{-1}$ ile 8. günde en düşük MDA miktarının ise $15,318 \mu\text{mol g}^{-1}$ ile 14. günde gerçekleştiği belirlenirken Carrizo anacında, en yüksek MDA miktarının $29,868 \mu\text{mol g}^{-1}$ ile 7. günde en düşük MDA miktarının ise $10,766 \mu\text{mol g}^{-1}$ ile 14. günde gerçekleştiği belirlenmiştir. Stres grubunda bulunan turunç anacında ise en yüksek MDA miktarı $89,023 \mu\text{mol g}^{-1}$ değeri ile 14. günde, en düşük MDA miktarı ise $53,698 \mu\text{mol g}^{-1}$ değeri ile 7. günde tespit edilmiştir. Kontrol uygulamasına ait verilerin karşılaştırılması sonucunda ise anaçlara ait tüm zaman noktalarında MDA miktarlarında değişimler olmasına rağmen bu değişimler istatistiki olarak birbirlerinden farklı bulunmamıştır.

Kovaryans alınan sonuçlar değerlendirildiğinde ise her bir anaç zaman kombinasyonlarında uygulamalar arasında farklılıklar tespit edilmiştir. Troyer anacında sadece 8. günde farklılık meydana gelmiş olup bu farklılığın $20,509 \mu\text{mol g}^{-1}$ ile en düşük MDA miktarı olduğu belirlenmiştir. Uygulamalar arasında Carrizo anacında 7. 8. ve 14. günlerde farklılık meydana gelmiş olup bu farklılık, stres grubunda $29,868-26,322 \mu\text{mol g}^{-1}$ ile 7. ve 8. günde kontrol grubunda ise $18,768 \mu\text{mol g}^{-1}$ ile 14. günde en yüksek MDA miktarı olarak tespit edilmiştir. Turunç anacında meydana gelen farklılığın $53,698 \mu\text{mol g}^{-1}$ MDA miktarı ile 7. günden

itibaren başlayarak uygulamanın son gününe kadar devam ettiği ve MDA miktarının stres grubunda daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Herbir uygulama zaman kombinasyonlarında anaçlar arasında farklılıklar tespit edilmiştir. Stres grubuna ait tüm zaman noktalarında sadece turunç anacında farklılık olduğu belirlenmiştir. Kontrol grubunda ise sadece 8. ve 9. günlerin diğer zaman noktalarından farklı olduğu ancak onlarında kendi içlerinde fark bulunmadığı tespit edilmiştir. Kontrol grubuna ait turunç anacı 24,525 ve 23,595 $\mu\text{mol g}^{-1}$ ile 8. ve 9. günlerde en yüksek MDA miktarına sahip anaç olarak belirlenmiştir.



Çizelge 4.6. Turunçgil anaçlarının MDA miktarına ait kovaryans alınmamış (anaç x zaman x uygulama) üçlü interaksiyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

		MDA ($\mu\text{mol g}^{-1}$)						
		Anaç	0. Gün	7.Gün	8.Gün	9. Gün	12.Gün	14.Gün
UYGULAMA	Stres	Troyer	23,585±0,686	24,293±2,261	27,510±2,957	20,736±3,345	18,963±2,416	14,571±2,556
		Carrizo	21,439±0,686	30,270±2,261	26,571±2,957	22,735±3,345	16,288±2,416	10,926±2,556
		Turunç	21,304±0,686	54,243±2,261	59,740±2,957	75,822±3,345	85,502±2,416	89,240±2,556
UYGULAMA	Kontrol	Troyer	23,386±0,686	18,641±2,261	19,479±2,957	16,495±3,345	22,324±2,416	19,866±2,556
		Carrizo	19,599±0,686	21,068±2,261	17,686±2,957	17,216±3,345	21,313±2,416	19,707±2,556
		Turunç	21,596±0,686	24,773±2,261	24,671±2,957	23,724±3,345	23,827±2,416	24,859±2,556

Çizelge 4.7. Turunçgil anaçlarının MDA miktarına ait kovaryans alınmış (anaç x zaman x uygulama) üçlü interaksiyonuna ait varyans ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

		MDA ($\mu\text{mol g}^{-1}$)					
		Anaç	7.Gün	8.Gün	9. Gün	12.Gün	14.Gün
UYGULAMA	Stres	Troyer	b26,167±3,402 ABa ^a	b28,671±4,644 Aa ^a	b21,759±5,279 BCa ^a	b18,980±3,840 CDa ^a	b15,318±4,036Da ^a
		Carrizo	b29,868±2,404 Aa ^a	b26,322±3,281ABa ^a	b22,516±3,730B ^a	b16,284±2,714Ca ^a	b10,766±2,852Cb ^a
		Turunç	a53,698±2,452 Ca ^a	a59,402±3,348 Ca ^a	a75,524±3,805Ba ^a	a85,497±2,768Aa ^a	a89,023±2,909 Aa ^a
UYGULAMA	Kontrol	Troyer	a20,303±3,206 Aa ^a	ab20,509±4,377Ab ^a	ab17,403±4,975 Aa ^a	a22,339±3,620 Aa ^a	a20,530±3,804 Aa ^a
		Carrizo	a18,715±3,883 Ab ^a	b16,229±5,301Ab ^a	b15,931±6,025Aa ^a	a21,292±4,383 Aa ^a	a18,768±4,606 Aa ^a
		Turunç	a24,537±2,365 Ab ^a	a24,525±3,229 Ab ^a	a23,595±3,670 Ab ^a	a23,825±2,670 Ab ^a	a24,765±2,806 Ab ^a

0. Gün: 21,818

Her bir anaç uygulama kombinasyonlarında zamanlar arası farklılıklar büyük harfler,

Her bir anaç zaman kombinasyonlarında uygulamalar arası farklılıklar küçük harfler (sağda),

Her bir uygulama zaman kombinasyonlarında anaçlar arası farklılıklar küçük harfler (solda) ile gösterilmektedir.

4.2.2. Kuraklığın hidrojen peroksit miktarına etkisi

Kuraklık stresi uygulaması sonucunda turunçgil anaçlarının hidrojen peroksit (H_2O_2) miktarlarına ilişkin kovaryans alınmış ve alınmamış sonuçları kullanılarak yapılan varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.8 ve Çizelge 4.9'da gösterilmektedir.

Hidrojen peroksit miktarı bakımından elde edilen veriler kullanılarak yapılan varyans analizi sonucunda zaman x anaç x uygulama üçlü interaksiyonu, zaman x anaç, zaman x uygulama ve uygulama x anaç ikili interaksiyonları istatistiki olarak önemli ($P>0.05$) bulunmamıştır. Tukey Testi sonucunda çalışmada bulunan farklılıklar ortalamaların üzerinde Latin harfleri ile gösterilmektedir.

Buna göre kovaryans alınan zaman x anaç x uygulama üçlü interaksiyonuna ait sonuçlar değerlendirildiğinde, Troyer, Carrizo ve turunç anaçlarına ait stres uygulamalarında $78-96 \mu\text{m g}^{-1}$ ve kontrol uygulamalarında ise $55-93 \mu\text{m g}^{-1}$ aralıklarında H_2O_2 miktarında değişimler gözlemlenmiştir. Ancak uygulamalara bağlı olarak her ne kadar zaman ve anaçlar arasında H_2O_2 miktarında değişimler tespit edilsede bu değişimlerin istatistiki olarak birbirlerinden farklı olmadığı sonucuna varılmıştır.

Çizelge 4.8. Turunçgil anaçlarının H₂O₂ miktarına ait kovaryans alınmamış (anaç x zaman x uygulama) üçlü interaksiyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

		H ₂ O ₂ (µm g ⁻¹)					
UYGULAMA	Anaç	0. Gün	7.Gün	8.Gün	9. Gün	12.Gün	14.Gün
	Stres	Troyer	65,018±8,703	67,696 ±9,321	66,208±12,819	65,018±10,962	67,994±12,605
Carrizo		68,292±8,703	67,101±9,327	67,696±12,819	78,411±10,962	74,839±12,605	75,732±16,171
Turunç		113,232±8,703	119,482±9,327	122,16±12,819	126,030±10,962	129,006±12,605	136,149±16,171
Kontrol	Troyer	62,935±8,703	62,637±9,327	63,827±12,819	60,554±10,962	58,470±12,605	63,232±16,171
	Carrizo	72,458±8,703	62,339±9,327	68,887±12,819	65,315±10,962	71,565±12,605	68,292±16,171
	Turunç	107,280±8,703	105,792±9,327	87,935±12,819	83,470±10,962	84,363±12,605	87,042±16,171

Çizelge 4.9. Turunçgil anaçlarının H₂O₂ miktarına ait kovaryans alınmış (anaç x zaman x uygulama) üçlü interaksiyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

		H ₂ O ₂ (µm g ⁻¹)				
UYGULAMA	Anaç	7.Gün	8.Gün	9. Gün	12.Gün	14.Gün
	Stres	Troyer	82,209± 7,402	87,095±9,110	84,330±5,650	88,401±9,117
Carrizo		78,737±6,882	84,443±8,477	93,895±5,258	91,201±8,484	96,983±10,516
Turunç		91,634±10,481	92,082±12,903	90,971±8,003	89,847±12,913	85,290±16,005
Kontrol	Troyer	78,980±7,765	87,348±9,557	82,301±5,928	81,451±9,564	93,079±11,854
	Carrizo	70,315±6,359	80,365±7,827	75,928±4,855	82,780±7,833	82,857±9,708
	Turunç	83,173±9,173	55,382±11,290	53,37±7,003	53,558±11,299	55,734±14,005
		0. Gün : 81,535				

4.2.3. Kuraklığın protein miktarına etkisi

Kuraklık stresi uygulaması sonucunda turunçgil anaçlarının protein miktarlarına ilişkin kovaryans alınmış ve alınmamış sonuçlar kullanılarak yapılan varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.10 ve Çizelge 4.11’de gösterilmektedir.

Protein miktarı bakımından elde edilen veriler kullanılarak yapılan varyans analizi sonucunda zaman x anaç x uygulama üçlü interaksyonu, istatistiki olarak önemli ($P<0.01$) bulunmuştur. Tukey Testi sonucunda çalışmada bulunan farklılıklar ortalamaların üzerinde Latin harfleri ile gösterilmektedir.

Kovaryans alınan sonuçlar değerlendirildiğinde her bir anaç uygulama kombinasyonları arasında zamanlar arasında farklılık tespit edilmiştir. Stres grubunda bulunan Troyer anacında en yüksek protein miktarı $2,951 \text{ mg g}^{-1}$ ile 14. günde tespit edilirken en düşük protein miktarı ise $1,635-1,540 \text{ mg g}^{-1}$ ile 7. ve 8. günlerde tespit edilmiştir. Stres grubunda bulunan Carrizo anacında en yüksek protein miktarı $2,448-2,736 \text{ mg g}^{-1}$ ile uygulamanın son iki gününde, en düşük protein miktarı ise $1,538 \text{ mg g}^{-1}$ ile 8. günde belirlenmiştir. Turunç anacına ait stres grubunda ise en yüksek protein miktarı $2,171-2,234 \text{ mg g}^{-1}$ ile 9. ve 12. günlerde, en düşük protein miktarı ise $1,630 \text{ mg g}^{-1}$ ile 7. günde gerçekleşmiştir. Kontrol grubuna ait protein miktarına ilişkin verilerin karşılaştırılması sonucunda Troyer ve Carrizo anaçlarında bir farklılık belirlenemezken turunç anacında ise 14. günde elde edilen $2,385 \text{ mg g}^{-1}$ protein miktarının diğer uygulama günlerinden farklı olduğu belirlenmiştir.

Her bir anaç zaman kombinasyonlarında uygulamalar arasında farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. Uygulamalar arası farklılığın, Troyer ve turunç anaçlarında 9. günde, Carrizo anacında ise 12. günde başladığı tespit edilmiştir. Ayrıca 9. günde Troyer ve turunç, 12. günde ise Troyer ve Carrizo anaçlarına ait kontrol gruplarının en düşük protein miktarına sahip olduğu belirlenmiştir.

Her bir uygulama zaman kombinasyonlarında stres uygulaması yapılan tüm bitkilerde 14. günün diğer zaman noktalarından farklı olduğu tespit edilirken,

meydana gelen farklılığın Troyer ve Carrizo anaçlarında turunç anacına kıyasla daha fazla olduğu belirlenmiştir. Kontrol grubunda bulunan bitkilerde ise 12. ve 14. günlerin diğer zaman noktalarından farklı olduğu tespit edilirken meydana gelen farklılığın turunç anaçlarında Troyer ve Carrizo anaçlarına kıyasla daha fazla olduğu belirlenmiştir.



Çizelge 4.10. Turunçgil anaçlarının protein miktarına ait kovaryans alınmamış (anaç x zaman x uygulama) üçlü interaksiyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

		Toplam Protein (mg g ⁻¹)						
		Anaç	0. Gün	7.Gün	8.Gün	9. Gün	12.Gün	14.Gün
UYGULAMA	Stres	Troyer	1,949±0,398	1,816±0,469	1,655±0,332	2,243±0,358	2,456±0,373	3,081±0,394
		Carrizo	1,941±0,398	1,838±0,469	1,647±0,332	2,066±0,358	2,566±0,373	2,860±0,394
		Turunç	1,632±0,398	1,449±0,469	1,750±0,332	2,044±0,358	2,110±0,373	1,816±0,394
UYGULAMA	Kontrol	Troyer	1,802±0,398	1,610±0,469	1,625±0,332	1,677±0,358	1,706±0,373	1,618±0,394
		Carrizo	1,890±0,398	1,963±0,469	1,618±0,332	1,868±0,358	1,927±0,373	1,662±0,394
		Turunç	1,530±0,398	1,706±0,469	1,713±0,332	1,750±0,358	1,956±0,373	2,169±0,394

Çizelge 4.11. Turunçgil anaçlarının protein miktarına ait kovaryans alınmış (anaç x zaman x uygulama) üçlü interaksiyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

		Toplam Protein (mg g ⁻¹)					
		Anaç	7.Gün	8.Gün	9. Gün	12.Gün	14.Gün
UYGULAMA	Stres	Troyer	a1,635±0,119 Ca ^a	a1,540±0,185 Ca ^a	a2,116±0,179 Ba ^a	a2,332±0,228 Ba ^a	a2,951±0,242 Aa ^a
		Carrizo	a1,665±0,119 BCa ^a	a1,538±0,184 Ca ^a	a1,945±0,179 Ba ^a	a2,448±0,228 Aa ^a	a2,736±0,242 Aa ^a
		Turunç	a1,630±0,119 Ba ^a	a1,864±0,185 ABa ^a	a2,171±0,179 Aa ^a	a2,234±0,228 Aa ^a	b1,947±0,242 ABa ^a
UYGULAMA	Kontrol	Troyer	a1,598±0,117 Aa ^a	a1,617±0,182 Aa ^a	a1,668±0,177 Ab ^a	b1,697±0,225 Ab ^a	b1,609±0,239 Ab ^a
		Carrizo	a1,849±0,118 Aa ^a	a1,546±0,183 Aa ^a	a1,788±0,178 Aa ^a	ab1,849±0,226 Ab ^a	b1,580±0,240 Ab ^a
		Turunç	a2,006±0,121 Ba ^a	a1,902±0,189 Ba ^a	a1,960±0,183 Bb ^a	a2,160±0,233 Ba ^a	a2,385±0,247 Aa ^a

0. Gün : 1,790

Her bir anaç uygulama kombinasyonlarında zamanlar arası farklılıklar büyük harfler,

Her bir anaç zaman kombinasyonlarında uygulamalar arası farklılıklar küçük harfler (sağda),

Her bir uygulama zaman kombinasyonlarında anaçlar arası farklılıklar küçük harfler (solda) ile gösterilmektedir.

4.2.4. Kuraklığın süperoksit dismutaz aktivitesine etkisi

Kuraklık stresi uygulaması sonucunda turunçgil anaçlarının SOD aktivitelerine ilişkin analizler yapılırken, diğer analizlerden farklı olarak sonuçların doğruluğu bakımından tüm örnekler için iki defa tekrarlanmıştır ve yapılan iki analizde elde edilen sonuçların birbiri ile benzer olduğu belirlenmiştir. Sonuçların benzer olması nedeniyle de yapılan analizlerden birisine ait veriler istatistiki olarak değerlendirilmiştir. SOD aktivitesine ilişkin kovaryans alınmış ve alınmamış sonuçlar kullanılarak yapılan varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.12 ve Çizelge 4.13'te gösterilmektedir.

SOD aktiviteleri bakımından elde edilen veriler kullanılarak yapılan varyans analizi sonucunda zaman x anaç x uygulama üçlü interaksyonu ve zaman x anaç, uygulama x anaç ikili interaksyonu istatistiki olarak önemli ($P>0.05$) bulunmamıştır. Zaman x uygulama ikili interaksyonu ise istatistiki olarak önemli ($P<0.01$) bulunmuştur. Tukey Testi sonucunda çalışmada bulunan farklılık seviyeleri ortalamaların üzerinde Latin harfleri ile gösterilmektedir.

Kovaryans alınan sonuçlar değerlendirildiğinde anaç x uygulama x zaman açısından SOD aktivitesi bakımından değişimler gözlemlense de bu değişimler istatistiki olarak birbirinden farklı olarak bulunmamıştır.

Kovaryans alınan sonuçlar değerlendirildiğinde her bir uygulamada zamanlar arası farklılıklar tespit edilmiştir. Stres grubunda en yüksek SOD aktivitesi 1,400 ünite mg^{-1} protein ile 7. günde tespit edilirken en düşük SOD aktivitesi ise 0,576 ünite mg^{-1} protein ile 14. günde tespit edilmiştir. Gerçekleştirilen kontrol uygulamasında ise zamanlar arasında istatistiki bir farklılık bulunmadığı tespit edilmiştir.

Kovaryans alınan sonuçlar değerlendirildiğinde ise her bir zaman aralığında uygulamalar arasında herhangi bir farklılık bulunmamıştır.

Çizelge 4.12. Turunçgil anaçlarının SOD aktivitesine ait kovaryans alınmamış (anaç x zaman x uygulama) üçlü interaksyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

		SOD (ünite mg ⁻¹ protein)						
		Anaç	0. Gün	7.Gün	8.Gün	9. Gün	12.Gün	14.Gün
UYGULAMA	Stres	Troyer	1,350±0,065	1,297±0,065	1,157±0,084	1,046±0,140	0,463±0,110	0,370±0,105
		Carrizo	1,419±0,065	1,369±0,065	1,163±0,084	1,021±0,140	0,831±0,110	0,649±0,105
		Turunç	1,568±0,065	1,519±0,065	1,487±0,107	1,496±0,084	1,396±0,140	0,668±0,105
	Kontrol	Troyer	1,526±0,065	1,354±0,065	1,460±0,084	1,443±0,140	1,413±0,110	1,402±0,105
		Carrizo	1,543±0,065	1,455±0,065	1,479±0,084	1,613±0,140	1,450±0,110	1,475±0,105
		Turunç	1,435±0,065	1,464±0,065	1,498±0,084	1,476±0,140	1,408±0,110	1,340±0,105

Çizelge 4.13. Turunçgil anaçlarının SOD aktivitesine ait kovaryans alınmış (anaç x zaman x uygulama) üçlü interaksyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

		SOD (ünite mg ⁻¹ protein)					
		Anaç	7.Gün	8.Gün	9. Gün	12.Gün	14.Gün
UYGULAMA	Stres	Troyer	1,365±0,075	1,169±0,116	1,004±0,191	0,462±0,152	0,403±0,144
		Carrizo	1,369±0,062	1,168±0,097	1,002±0,160	0,831±0,127	0,663±0,120
		Turunç	1,467±0,069	1,487±0,107	1,428±0,176	0,876±0,140	0,663±0,132
	Kontrol	Troyer	1,325±0,062	1,455±0,096	1,461±0,159	1,413±0,126	1,388±0,120
		Carrizo	1,417±0,064	1,472±0,100	1,637±0,165	1,450±0,131	1,457±0,124
		Turunç	1,486±0,061	1,501±0,094	1,462±0,156	1,408±0,124	1,350±0,117

0. Gün: 1,473

Çizelge 4.14. Turunçgil anaçlarının SOD aktivitesine ait kovaryans alınmış (zaman x uygulama) ikili interaksyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

		SOD (ünite mg ⁻¹ protein)				
		7. gün	8. gün	9. gün	12. gün	14. gün
UYGULAMA	Stres	1,400±0,036 Aa ^a	1,274±0,055 ABa ^a	1,145±0,091 Ba ^a	0,723±0,072 Ca ^a	0,576±0,069 Da ^a
	Kontrol	1,409±0,036 Aa ^a	1,476±0,055 Aa ^a	1,520±0,091 Aa ^a	1,424±0,072 Aa ^a	1,398±0,069 Aa ^a

0. gün: 1,473

Her bir uygulamada zamanlar arası farklılıklar büyük harfler ile, her bir zamanda uygulamalar arası farklılıklar ise küçük harfler ile gösterilmektedir.

4.2.5. Kuraklığın katalaz aktivitesine etkisi

Kuraklık stresi uygulaması sonucunda turunçgil anaçlarının KAT aktivitelerine ilişkin kovaryans alınmış ve alınmamış sonuçlar kullanılarak yapılan varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.15, Çizelge 4.16 ve 4.17’de gösterilmektedir.

KAT aktiviteleri bakımından elde edilen veriler kullanılarak yapılan varyans analizi sonucunda zaman x anaç x uygulama üçlü interaksyonu ve zaman x uygulama, uygulama x anaç ikili interaksyonu istatistiki olarak önemli ($P>0.05$) bulunmamıştır. Zaman x anaç ikili interaksyonu ise istatistiki olarak önemli ($P<0.01$) bulunmuştur. Tukey Testi sonucunda çalışmada bulunan farklılıklar ortalamaların üzerinde Latin harfleri ile gösterilmektedir.

Kovaryans alınan sonuçlar değerlendirildiğinde anaç x uygulama x zaman açısından KAT bakımından değişimler gözlemlense de bu değişimler istatistiki olarak birbirinden farklı bulunamamıştır.

Her bir anaçta zamanlar arasında meydana gelen farklılıklar incelendiğinde Carrizo anacında bir farklılık bulunamazken Troyer ve turunç anaçlarında farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. Bu farklılık Troyer ve turunç anaçlarında 8. günden itibaren başlamış olup en yüksek KAT aktivitesinin Troyer anacında $361,437 \mu\text{mol dak}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$ ile 8. günde, turunç anacında ise $378,408 \mu\text{mol dak}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$ ile 14. günde gerçekleştiği belirlenmiştir. Enzim aktivitesi bakımından Troyer anacında 7. günde elde edilen değer turunç anacında ise 7. ve 12. günlerde elde edilen değerlerin diğer zaman noktalarında elde edilen değerlerle benzer olduğu belirlenmiştir.

Her bir zamanda anaçlar arasında 7. ve 9. günler dışında, diğer zaman noktalarında KAT aktivitesi bakımından farklılık olduğu tespit edilmiştir. Bu farklılıklar, Troyer anacında $361,437 \mu\text{mol dak}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$ ile 8. günde, Carrizo anacında $207,690 \mu\text{mol dak}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$ ile 12. günde, turunç anacında ise $378,408 \mu\text{mol dak}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$ ile 14. günde meydana gelmiş olup en yüksek KAT aktivitelerinin de bu günlerde tespit edilen değerler olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.15. Turunçgil anaçlarının KAT aktivitesine ait kovaryans alınmamış (anaç x zaman x uygulama) üçlü interaksyonuna ait varyans analiz ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

		KAT ($\mu\text{mol dak.}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$)					
UYGULAMA	Anaç	0. Gün	7.Gün	8.Gün	9. Gün	12.Gün	14.Gün
	Stres	Troyer	250,878±94,131	378,805±93,312	463,062±86,319	290,616±51,490	268,930±51,490
Carrizo		267,939±94,131	280,796±93,312	297,854±86,319	340,881±51,379	212,869±51,490	185,920±56,246
Turunç		237,533±94,131	297,671±93,312	314,004±86,319	320,631±51,379	309,230±51,490	387,466±56,246
Kontrol	Troyer	227,865±94,131	206,427±93,312	267,599±86,319	266,228±51,379	190,553±51,490	252,767±56,246
	Carrizo	283,718±94,131	275,393±93,312	231,817±86,319	219,408±51,379	239,403±51,490	269,244±56,246
	Turunç	134,438±94,131	220,495±93,312	213,789±86,319	233,842±51,379	298,518±51,490	319,871±56,246

Çizelge 4.16. Turunçgil anaçlarının KAT aktivitesine ait kovaryans alınmış (anaç x zaman x uygulama) üçlü interaksyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

		KAT ($\mu\text{mol dak.}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$)				
UYGULAMA	Anaç	7.Gün	8.Gün	9. Gün	12.Gün	14.Gün
	Stres	Troyer	363,760±47,737	451,229±62,459	284,414±42,272	261,416±33,86
Carrizo		250,786±48,127	294,250±62,968	258,508±42,617	230,880±34,138	220,193±31,016
Turunç		294,333±47,612	311,379±62,295	319,255±42,161	307,563±33,773	385,495±30,684
Kontrol	Troyer	211,571±47,621	271,645±62,307	268,349±42,169	193,122±33,779	255,805±30,690
	Carrizo	231,541±48,712	197,327±63,734	201,330±43,135	217,501±34,553	243,341±31,393
	Turunç	307,596±51,832	282,294±67,816	269,750±45,898	342,021±36,766	371,322±33,404

0.Gün: 233,728

Çizelge 4.17. Turunçgil anaçlarının KAT aktivitesine ait kovaryans alınmış (zaman x anaç) ikili interaksyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

		KAT ($\mu\text{mol dak.}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$)				
ANAÇ	7.Gün	8.Gün	9. Gün	12.Gün	14.Gün	
Troyer	287,665±33,682 ABa ^a	361,437±44,069 Aa ^a	276,382±23,891 Ba ^a	227,269±22,681 Bb ^a	235,621±21,707 Bb ^a	
Carrizo	241,164±34,766 Aa ^a	235,789±45,487 Aab ^a	264,919±30,786 Aa ^a	207,690±24,660 Aa ^a	205,767±22,405 Ab ^a	
Turunç	300,965±35,076 ABa ^a	296,837±45,892 Bab ^a	294,502±31,060 Ba ^a	324,792±24,880 ABa ^a	378,408±22,605 Aa ^a	

0. Gün: 233, 728

Her bir grupta zamanlar arası farklılıklar büyük harfler ile her bir zamanda gruplar arası farklılıklar küçük harfler ile gösterilmektedir.

4.2.6. Kuraklığın askorbat peroksidaz aktivitesine etkisi

Kuraklık stresi uygulaması sonucunda turunçgil anaçlarının APX aktivitelerine ilişkin kovaryans alınmış ve alınmamış sonuçlar kullanılarak yapılan varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.18, Çizelge 4.19, Çizelge 4.20 ve Çizelge 4.21’de gösterilmektedir.

APX aktiviteleri bakımından elde edilen veriler kullanılarak yapılan varyans analizi sonucunda zaman x anaç x uygulama üçlü interaksyonu ve uygulama x anaç ikili interaksyonu istatistiki olarak önemli ($P>0.05$) bulunmamıştır. Zaman x uygulama ve zaman x anaç ikili interaksyonları ise istatistiki olarak önemli ($p<0.01$) bulunmuştur. Tukey Testi sonucunda çalışmada bulunan farklılık seviyeleri ortalamaların üzerinde Latin harfleri ile gösterilmektedir.

Kovaryans alınan sonuçlar değerlendirildiğinde zaman x anaç x uygulama açısından APX aktivitesi bakımından değişimler gözlemlense de bu değişimler istatistiki olarak birbirinden farklı bulunmamıştır.

Kovaryans alınan sonuçlar değerlendirildiğinde ise her bir uygulama ve zaman arasında farklılıklar tespit edilmiştir. Stres grubunda en yüksek APX aktivitesi 6,909 ve 7,272 $\mu\text{mol dak.}^{-1} \text{ mg protein}^{-1}$ ile 7. ve 8. günlerde tespit edilirken en düşük APX aktivitesi ise 3,614 $\mu\text{mol dak.}^{-1} \text{ mg protein}^{-1}$ ile 14. günde tespit edilmiştir. 7. ve 8. günlerde elde edilen APX aktivitesinin diğer zaman noktalarından farklı oldukları belirlenmiştir. Ayrıca 12. günde elde edilen APX aktivitesinin ise 9. ve 14. gün ile benzer olduğu fakat diğer zaman noktalarından farklı olduğu gözlemlenmiştir. Kontrol grubunda ise en yüksek APX aktivitesi 4,335 ve 4,728 $\mu\text{mol dak.}^{-1} \text{ mg protein}^{-1}$ ile 7. ve 14. günlerde, en düşük APX aktivitesi ise diğer zaman noktalarında tespit edilmiştir. 7. ve 14. günlerin kendileri arasında, 8. 9. ve 12. günlerin ise yine kendi aralarında herhangi bir fark olmadığı ancak 7. ve 14. günün diğer zaman noktalarından farklı olduğu gözlemlenmiştir.

Herbir zamanda uygulamalar arasında 7. ve 8. günlerin diğer zaman noktalarından farklı olduğu ancak kendi aralarında incelendiğinde herhangi bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca kontrol uygulamasına ait 7. ve 8. günler dışında her bir

uygulamadaki zaman noktaları APX aktivitesi bakımından en yüksek değerleri göstermiştir.

Herbir anaç ve zaman arasında, Troyer ve Carrizo anaçlarında farklılık tespit edilirken turunç anacında ise farklılık olmadığı belirlenmiştir. Troyer anacında en yüksek APX aktivitesi 7,807 $\mu\text{mol dak/ mg protein}$ ile 7. günde, 3,678 $\mu\text{mol dak.}^{-1}$ mg protein⁻¹ ile de en dūřuk 14. günde ölçülmüştür. Carrizo anacında ise 6,431 $\mu\text{mol dak.}^{-1}$ mg protein⁻¹ ile en yüksek 8. günde 5,416 $\mu\text{mol dak.}^{-1}$ mg protein⁻¹ ile de en dūřuk 9. günde ölçülmüştür.

Her bir zaman ve anaç arasında 7. günde farklılıklar olduğu tespit edilmiş olup bugünde anaçlara ait değerlerin karşılaştırılması sonucunda 7,807 $\mu\text{mol dak.}^{-1}$ mg protein⁻¹ ile Troyer anacının en yüksek APX aktivitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca Carrizo ve turunç anaçlarına ait 7. günde elde edilen aktivite değerleri dışında diğer anaçlara ait tüm zaman noktalarında APX aktivitesi en yüksek değerde tespit edilmiştir.

Çizelge 4.18. Turunçgil anaçlarının APX aktivitesine ait kovaryans alınmamış (anaç x zaman x uygulama) üçlü interaksiyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

		APX ($\mu\text{mol dak.}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$)					
UYGULAMA	Anaç	0. Gün	7.Gün	8.Gün	9. Gün	12.Gün	14.Gün
	Stres	Troyer	4,960±1,355	9,684±1,539	7,926±1,102	5,884±1,165	4,438±1,197
Carrizo		3,587±1,355	6,365±1,539	9,434±1,102	4,416±1,165	3,712±1,197	3,316±1,304
Turunç		4,971±1,355	4,839±1,539	4,939±1,102	4,508±1,165	4,428±1,197	4,968±1,304
Kontrol	Troyer	3,388±1,355	5,983±1,539	3,102±1,102	5,055±1,165	3,779±1,197	4,201±1,304
	Carrizo	2,787±1,355	4,003±1,539	3,099±1,102	2,644±1,165	3,775±1,197	4,907±1,304
	Turunç	3,431±1,355	2,856±1,539	3,778±1,102	4,762±1,165	4,853±1,197	4,187±1,304

Çizelge 4.19. Turunçgil anaçlarının APX aktivitesine ait kovaryans alınmış (anaç x zaman x uygulama) üçlü interaksiyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

		APX ($\mu\text{mol dak.}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$)				
UYGULAMA	Anaç	7.Gün	8.Gün	9. Gün	12.Gün	14.Gün
	Stres	Troyer	9,592±1,772	7,653±1,212	5,701±1,320	3,971±1,214
Carrizo		6,387±1,687	9,500±1,153	4,460±1,256	3,825±1,156	3,438±1,263
Turunç		4,747±1,774	4,663±1,213	4,323±1,321	3,956±1,215	4,461±1,329
Kontrol	Troyer	6,022±1,698	3,217±1,161	5,132±1,265	3,976±1,163	4,413±1,272
	Carrizo	4,092±1,766	3,363±1,208	2,821±1,316	4,226±1,210	5,392±1,323
	Turunç	2,891±1,695	3,882±1,159	4,832±1,263	5,031±1,161	4,379±1,476

0. Gün: 3,853

Çizelge 4.20. Turunçgil anaçlarının APX aktivitesine ait kovaryans alınmış (zaman x uygulama) ikili interaksiyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

		APX ($\mu\text{mol dak.}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$)				
UYGULAMA		7. gün	8. gün	9. gün	12. gün	14. gün
	Stres		6,909±1,025 Aa ^a	7,272±0,701 Aa ^a	4,828±0,764 Ba ^a	3,917±0,702 BCa ^a
Kontrol		4,335±1,025 Ab ^a	3,487±0,701 Bb ^a	4,261±0,764 Ba ^a	4,411±0,702 Ba ^a	4,728±0,768 Aa ^a

0. Gün: 3,853

Her bir uygulamada zamanlar arası farklılıklar büyük harfler ile, her bir zamanda uygulamalar arası farklılıklar küçük harfler ile gösterilmektedir.

Çizelge 4.21. Turunçgil anaçlarının APX aktivitesine ait kovaryans alınmış (zaman x anaç) ikili interaksyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

ANAÇ	APX ($\mu\text{mol dak.}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$)				
	7.Gün	8.Gün	9. Gün	12.Gün	14.Gün
Troyer	7,807±1,200 Aa ^a	5,435±0,820 Ba ^a	5,416±0,893Ba ^a	3,974±0,822BCa ^a	3,678±0,898 Ca ^a
Carrizo	5,239±1,235 ABb ^a	6,431±0,845Aa ^a	3,640±0,920 Ca ^a	4,025±0,847BCa ^a	4,415±0,925 BCa ^a
Turunç	3,819±1,20 Ab ^a	4,273±0,822 Aa ^a	4,577±0,895 Aa ^a	4,494±0,823 Aa ^a	4,420±0,900Aa ^a

0. Gün: 3,853

Her bir anaçta zamanlar arası farklılıklar büyük harfler ile, her bir zamanda anaçlar arası farklılıklar küçük harfler ile gösterilmektedir.

4.2.7. Kuraklığın glutatyon redüktaz aktivitesine etkisi

Kuraklık stresi uygulaması sonucunda turunçgil anaçlarının GR aktivitelerine ilişkin kovaryans alınmış ve alınmamış sonuçlar kullanılarak yapılan varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.22 ve Çizelge 4.23’de gösterilmektedir.

Glutatyon redüktaz aktivitesi ile ilgili olarak elde edilen veriler kullanılarak yapılan varyans analizi sonucunda zaman x anaç x uygulama üçlü interaksyonu, istatistiki olarak önemli ($P<0.05$) bulunmuştur. Tukey testi sonucunda çalışmada bulunan farklılıklar ortalamaların üzerinde Latin harfleri ile gösterilmektedir.

Kovaryans alınan sonuçlar değerlendirildiğinde her bir anaç uygulama kombinasyonları arasında zamanlar arasında farklılık tespit edilmiştir. Troyer ve Carrizo anaçlarına ait stres gruplarında en yüksek GR aktivitesinin 39,422 ve 53,829 $\mu\text{mol dak.}^{-1} \text{ mg protein}^{-1}$ aralığında 7. 8. ve 9. günlerde, turunç anacında ise 33,203 $\mu\text{mol dak.}^{-1} \text{ mg protein}^{-1}$ ile sadece 7. günde olduğu belirlenmiştir. Kontrol gruplarında ise GR aktivitesi, 53,058 $\mu\text{mol dak.}^{-1} \text{ mg protein}^{-1}$ ile 8. günde Troyer anacında, 29,726 ve 36,801 $\mu\text{mol dak.}^{-1} \text{ mg protein}^{-1}$ 7. ve 8. günlerde turunç anacında tespit edilmiştir. Carrizo anacında ise zamanlar arasında herhangi bir farklılık tespit edilememiştir.

Her bir anaç zaman kombinasyonlarında uygulamalar arasında turunç anacında bir farklılık tespit edilemezken diğer anaçlarda farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. Bu farklılık Troyer anacında 9. günden itibaren Carrizo anacında ise 7. günden itibaren ortaya çıkmıştır. Ayrıca Troyer ve Carrizo anaçlarında stres gruplarında bu farklılığın kontrole kıyasla daha büyük olduğu belirlenmiştir.

Kovaryans alınan sonuçlar değerlendirildiğinde her bir uygulama zaman kombinasyonlarında anaçlar arasında farklılıkların olduğu tespit edilmiştir. Stres grubunda 8. ve 9. günlerde, kontrol grubunda ise 7. ve 8. günlerde GR aktivitesi bakımından farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. Stres grubunda meydana gelen farklılıkların Troyer ve Carrizo anaçlarında turunç anacına kıyasla daha fazla olduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda kontrol grubunda meydana gelen farklılıkların 7. günde

Troyer ve Turunç anaçlarında, 8. günde sadece Troyer anacında daha fazla olduğu belirlenmiştir.



Çizelge 4.22. Turunçgil anaçlarının GR aktivitesine ait kovaryans alınmamış (anaç x zaman x uygulama) üçlü interaksiyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

		GR ($\mu\text{mol dak.}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$)						
		Anaç	0. Gün	7.Gün	8.Gün	9. Gün	12.Gün	14.Gün
UYGULAMA	Stres	Troyer	25,861±6,316	39,482±7,981	53,927±15,268	44,610±5,939	18,800±4,396	7,260±3,588
		Carrizo	27,998±6,316	38,775±7,981	46,775±15,268	48,034±5,939	22,202±4,396	9,693±3,588
		Turunç	22,358±6,316	29,426±7,981	19,887±15,268	15,313±5,939	7,934±4,396	5,853±3,588
	Kontrol	Troyer	22,437±6,316	27,018±7,981	47,002±15,268	10,742±5,939	12,831±4,396	20,906±3,588
		Carrizo	35,842±6,316	24,885±7,981	27,052±15,268	26,858±5,939	19,811±4,396	20,695±3,588
		Turunç	20,340±6,316	23,737±7,981	26,974±15,268	22,719±5,939	10,662±4,396	9,805±3,588

Çizelge 4.23. Turunçgil anaçlarının GR aktivitesine ait kovaryans alınmış (anaç x zaman x uygulama) üçlü interaksiyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

		GR ($\mu\text{mol dak.}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$)					
		Anaç	7.Gün	8.Gün	9. Gün	12.Gün	14.Gün
UYGULAMA	Stres	Troyer	a39,422±4,353 Aa ^a	a53,829±11,180 A ^a	a44,590±5,956 Aa ^a	a18,775±3,597 Ba ^a	a7,235±2,384 Bb ^a
		Carrizo	a36,373±4,397 Aa ^a	a42,833±11,292 Aa ^a	a47,205±6,015 Aa ^a	a21,187±3,633 Ba ^a	a8,703±2,408 Ba ^a
		Turunç	a33,203±4,460 Aa ^a	b26,085±11,454 ABa ^a	b16,618±6,102 BCa ^a	a9,530±3,685 Ca ^a	a7,410±2,443 Ca ^a
	Kontrol	Troyer	a30,709±4,455 Ba ^a	a53,058±11,442 Aa ^a	a12,017±6,095 Cb ^a	a14,391±3,681 Ca ^a	a22,427±2,440 Ca ^a
		Carrizo	b13,888±5,189 Ab ^a	c9,010±13,326 Ab ^a	a23,061±7,099 Ab ^a	a15,166±4,287 Aa ^a	a16,164±2,842 Aa ^a
		Turunç	a29,726±4,617 Aa ^a	b36,801±11,857 Aa ^a	a24,788±6,316 ABa ^a	a13,192±3,815 Ba ^a	a12,273±2,529 Ba ^a

0. Gün: 25,806

Her bir anaç uygulama kombinasyonlarında zamanlar arası farklılıklar büyük harfler,

Her bir anaç zaman kombinasyonlarında uygulamalar arası farklılıklar küçük harfler (sağda),

Her bir uygulama zaman kombinasyonlarında anaçlar arası farklılıklar küçük harfler (solda) ile gösterilmektedir.

4.2.8. Kuraklığın askorbik asit miktarına etkisi

Kuraklık stresi uygulaması sonucunda turunçgil anaçlarının askorbik asit miktarlarına ilişkin kovaryans alınmış ve alınmamış sonuçları kullanılarak yapılan varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.24, Çizelge 4.25 ve Çizelge 4.26'da gösterilmektedir.

Elde edilen askorbik asit miktarlarına ait sonuçlar kullanılarak yapılan varyans analizi sonucunda zaman x anaç x uygulama üçlü interaksyonu ve zaman x anaç, uygulama x anaç istatistiki olarak önemli ($P>0.05$) bulunmamıştır. Zaman x uygulama ikili interaksyonu ise istatistiki olarak önemli ($P<0.01$) bulunmuştur. Tukey Testi sonucunda çalışmada bulunan farklılıklar ortalamaların üzerinde Latin harfleri ile gösterilmektedir.

Kovaryans alınan sonuçlar değerlendirildiğinde anaç x uygulama x zaman açısından askorbik asit miktarı bakımından değişimler gözlemlense de bu değişimler istatistiki olarak birbirinden farklı olarak bulunmamıştır.

Kovaryans alınan sonuçlar değerlendirildiğinde her bir uygulamada zamanlar arasında farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. Stres ve kontrol grubunda farklılık 7. günden itibaren başlamıştır. En yüksek AA miktarı stres grubunda 35,794 ve 38,192 mg g^{-1} aralığında 8., 9. ve 12. günlerde kontrol grubunda ise 24,950 ve 25,442 mg g^{-1} değerleri ile sırasıyla 7. ve 9. günlerde tespit edilmiştir. Ayrıca stres grubunda 7. ve 14. günler diğer zaman noktalarından farklı iken, kontrol grubunda ise 8. ve 12. günlerin 7. ve 9. günlere benzer olduğu ancak 14. günün daha düşük bir aktivite değeri ile diğer zamanlardan farklı olduğu belirlenmiştir.

Her bir zamanda uygulamalar arasında farklılığın 8. günde başlayıp uygulamanın son gününe kadar devam ettiği ve oluşan farklılığın stres grubunda kontrole kıyasla daha büyük olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.24. Turunçgil anaçlarının AA miktarına ait kovaryans alınmamış (anaç x zaman x uygulama) üçlü interaksiyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

		Askorbik Asit (mg g ⁻¹)						
		Anaç	0. Gün	7.Gün	8.Gün	9. Gün	12.Gün	14.Gün
UYGULAMA	Stres	Troyer	15,861±2,885	18,500±3,608	37,806±2,311	40,167±2,131	43,222±2,598	29,750±2,592
		Carrizo	26,139±2,885	34,056±3,608	38,778±2,311	39,472±2,131	37,528±2,598	34,750±2,592
		Turunç	21,278±2,885	27,528±3,608	31,694±2,311	33,917±2,131	34,194±2,598	24,056±2,592
	Kontrol	Troyer	16,139±2,885	21,556±3,608	22,528±2,311	23,639±2,131	25,306±2,598	18,222±2,592
		Carrizo	25,028±2,885	28,500±3,608	23,639±2,311	24,472±2,131	26,000±2,598	25,861±2,592
		Turunç	19,194±2,885	24,194±3,608	20,306±2,311	27,528±2,131	20,167±2,598	17,528±2,592

Çizelge 4.25. Turunçgil anaçlarının AA miktarına ait kovaryans alınmış (anaç x zaman x uygulama) üçlü interaksiyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

		Askorbik Asit (mg g ⁻¹)					
		Anaç	7.Gün	8.Gün	9. Gün	12.Gün	14.Gün
UYGULAMA	Stres	Troyer	20,450±4,496	40,724±1,954	42,399±2,168	44,417±3,291	29,631±3,419
		Carrizo	31,782±4,740	35,376±2,060	36,869±2,286	36,135±3,470	34,889±3,605
		Turunç	27,252±3,749	31,282±1,629	33,601±1,808	34,025±2,744	24,072±2,851
	Kontrol	Troyer	23,392±4,416	25,275±1,919	25,741±2,130	26,431±3,232	18,110±3,358
		Carrizo	26,683±4,403	20,920±1,913	22,392±2,123	24,887±3,223	25,972±3,34
		Turunç	24,775±3,806	21,174±1,654	28,192±1,836	20,522±2,786	17,492±2,895
		0. Gün: 20,606					

Çizelge 4.26. Turunçgil anaçlarının AA miktarına ait kovaryans alınmış (zaman x uygulama) ikili interaksiyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

		Askorbik Asit (mg g ⁻¹)				
		7. gün	8. gün	9. gün	12. gün	14. gün
UYGULAMA	Stres	26,495±2,170 Ba ^a	35,794±0,943Aa ^a	37,623±1,047Aa ^a	38,192±1,589Aa ^a	29,531±1,650Ba ^a
	Kontrol	24,950±2,170Aa ^a	22,456±0,943ABb ^a	25,442±1,047Ab ^a	23,946±1,589ABb ^a	20,525±1,650Bb ^a
		0. Gün: 20,606				

Her bir uygulamada zamanlar arası farklılıklar büyük harfler ile, her bir zamanda uygulamalar arası farklılıklar küçük harfler ile gösterilmektedir.

4.2.9. Kuraklığın fenolik miktarına etkisi

Kuraklık stresi uygulaması sonucunda turunçgil anaçlarının toplam fenolik miktarlarına ilişkin kovaryans alınmış ve alınmamış sonuçlar kullanılarak yapılan varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 4.27 ve Çizelge 4.28’de gösterilmektedir.

Toplam fenolik miktarı bakımından elde edilen veriler kullanılarak yapılan varyans analizi sonucunda zaman x anaç x uygulama üçlü interaksyonu istatistiki olarak önemli ($P<0.01$) bulunmuştur. Tukey Testi sonucunda ise bulunan farklılıklar ortalamaların üzerinde Latin harfleri ile gösterilmektedir.

Kovaryans alınan sonuçlar değerlendirildiğinde her bir anaç uygulama kombinasyonları arasında zamanlar arası farklılıklar tespit edilmiştir. Stres grubunda bulunan Troyer anacında en yüksek fenolik miktarı 35,712 GAE mg⁻¹ ile 12. günde en düşük fenolik miktarı ise 27,063 GAE mg⁻¹ ile 7. günde belirlenirken, turunç anacında ise en yüksek fenolik miktarı 36,698 GAE mg⁻¹ ile 14. günde en düşük fenolik miktarı ise 26,719- 27,754 GAE mg⁻¹ aralığında 7., 8. ve 9. günlerde tespit edilmiştir. Stres grubunda bulunan Carrizo anacında ise tüm zamanlarda elde edilen değerlerin aralarında fark bulunmadığı tespit edilmiştir. Kontrol grubunda bulunan Troyer anacına ait zamanlar arasında arasında fark tespit edilemezken, Carrizo anacında 7. ve 8. günlerin 14. günden farklı olduğu ancak 9. ve 12. günlerin bu zamanlar ile benzer olduğu tespit edilmiştir. Kontrol grubuna ait turunç anacında ise 9. gün dışında diğer zamanlarda bir farklılık belirlenmemiştir. Kontrol grubunda bulunan Carrizo anacında en yüksek fenolik miktarı 26,751 GAE mg⁻¹ ile 14. günde en düşük fenolik miktarı ise 20,295 ve 21,829 GAE mg⁻¹ ile 7 ve 8. günlerde belirlenmiştir. Kontrol grubunda bulunan turunç anacında en yüksek fenolik miktarı 32,687 GAE mg⁻¹ ile 9 günde en düşük fenolik miktarı ise 25,457 ve 27,180 GAE mg⁻¹ aralığında diğer zaman noktalarının tümünde tespit edilirken, Troyer anacında ise tüm zaman noktalarında elde edilen değerlerin aralarında fark bulunmadığı tespit edilmiştir.

Her bir anaç zaman kombinasyonları arasında fenolik miktarlarında farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. Bu farklılıkların Troyer anacında 8. günde, Carrizo anacında 7. günde turunç anacında ise 9. günde başladığı tespit edilmiştir.

Her bir uygulama zaman kombinasyonlarında anaçlar arasında fenolik miktarlarında fark tespit edilmiştir. Tespit edilen bu farklılıkların stres grubunda 9. günde turunç ve Troyer anaçlarında 14. günde ise Carrizo anacında olduğu belirlenmiştir. Kontrol grubunda ise 7. 8. günlerde Troyer ve Carrizo anaçlarında fenolik miktarlarında farklılık meydana gelmiştir.



Çizelge 4.27. Turunçgil anaçlarının fenolik miktarına ait kovaryans alınmamış (anaç x zaman x uygulama) üçlü interaksiyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

UYGULAMA		Fenolik (GAE mg ⁻¹)					
		Anaç	0. Gün	7.Gün	8.Gün	9. Gün	12.Gün
Stres	Troyer	25,672±2,495	27,545±2,219	31,662±2,411	33,410±2,862	36,025±2,396	35,124±2,015
	Carrizo	23,308±2,495	28,159±2,219	29,776±2,411	29,527±2,862	32,637±2,396	29,776±2,015
	Turunç	30,398±2,495	31,269±2,219	32,512±2,411	32,886±2,862	35,124±2,396	35,871±2,015
Kontrol	Troyer	22,811±2,495	24,055±2,219	23,930±2,411	24,552±2,862	25,174±2,396	24,179±2,015
	Carrizo	28,035±2,495	22,811±2,219	24,552±2,411	25,920±2,862	25,796±2,396	26,294±2,015
	Turunç	20,448±2,495	21,443±2,219	21,443±2,411	28,159±2,862	23,682±2,396	27,910±2,015

Çizelge 4.28. Turunçgil anaçlarının fenolik miktarına ait kovaryans alınmış (anaç x zaman x uygulama) üçlü interaksiyonuna ait varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları

UYGULAMA		Fenolik (GAE mg ⁻¹)				
		Anaç	7.Gün	8.Gün	9. Gün	12.Gün
Stres	Troyer	a27,063±0,612Ca ^a	a31,140±0,702 BCa ^a	a32,867±1,677 ABa ^a	a35,712±2,144 Aa ^a	a35,212±2,174 ABa ^a
	Carrizo	a29,712±0,635Aa ^a	a31,456±0,729 Aa ^a	ab31,278±1,741 Aa ^a	a33,643±2,226 Aa ^a	b29,494±2,257 Aa ^a
	Turunç	a26,719±0,806Ca ^a	a27,588±0,924 Ca ^a	b27,754±2,208 Cb ^a	a32,174±2,823Ba ^a	a36,698±2,862 Aa ^a
Kontrol	Troyer	a26,035±0,651Aa ^a	a26,074±0,747 Ab ^a	b26,786±1,784 Ab ^a	a26,458±2,282 Ab ^a	a23,819±2,313 Ab ^a
	Carrizo	b20,295±0,676Bb ^a	b21,829±0,775 Bb ^a	b23,083±1,851 ABb ^a	a24,165±2,367 ABb ^a	a26,751±2,400 Aa ^a
	Turunç	ab25,457±0,767Ba ^a	ab25,788±0,879 Ba ^a	ab32,687±2,100 Aa ^a	a26,285±2,686 Bb ^a	a27,180±2,723 Bb ^a

0.Gün: 25,111

Her bir anaç uygulama kombinasyonlarında zamanlar arası farklılıklar büyük harfler,

Her bir anaç zaman kombinasyonlarında uygulamalar arası farklılıklar küçük harfler (sağda),

Her bir uygulama zaman kombinasyonlarında anaçlar arası farklılıklar küçük harfler (solda) ile gösterilmektedir.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bitkiler metabolik faaliyetlerini gerçekleştirirken bünyelerinde bulundukları suyun bir kısmını kaybetmektedirler. Kaybedilen bu suyu kökleri aracılığıyla topraktan yeteri kadar alamadıkları durumlarda ise kuraklık stresine girmektedirler (Wilhite ve Glantz, 1985). Kuraklık stresi bitkilerde fizyolojik, morfolojik ve biyokimyasal düzeyde birçok değişime neden olarak bitkilerde büyümeyi ve gelişmeyi olumsuz yönde etkilemektedir. Yapılmış olan bu tez çalışmasında da 3 farklı turunçgil anacının kuraklık stresine karşı olan tolerans düzeyleri bazı fizyolojik parametreler ve biyokimyasal analizler ile ortaya konulmaya çalışılmıştır. Kuraklık uygulamaları sonucunda yapılan ölçümler sonucunda Troyer ve Carrizo sitranjlarının turunç anacına göre kuraklık stresine karşı daha toleranslı oldukları tespit edilmiştir.

Toprak nemi, toprakta bulunan suyun ve bu suyun bitkiler tarafından alınabilirliğini belirlemek için kullanılan bir ölçü olarak bilinmektedir (Çolak ve Baydar, 2015). Bu nedenle toprakta bulunan nem miktarı bitkilerin kuraklık stresine maruz kalıp kalmadıklarını belirleme ve bitkilerin hayatlarının devamlılığı için önem taşımaktadır. Yapılmış olan bu tez çalışmasında toprak neminin, kontrole ve uygulamanın ilk gününe kıyasla tüm anaçlarda azaldığı belirlenmiştir. Toprak neminde meydana gelen bu azalma kontrole kıyasla, Troyer anacında %39, Carrizo anacında %48 ve turunç anacında %43 oranında gerçekleşirken uygulamanın ilk gününe kıyasla Troyer ve Carrizo anaçlarında %35, turunç anacında ise %40 oranında gerçekleşmiştir. Diğer anaçlara kıyasla turunç anacında uygulama süresince nem miktarında daha fazla azalmanın gerçekleşmiş olması bu anacın yaprak yüzey alanı, yaprak sayısı ve stoma sayısı gibi özelliklerinin diğer iki anaca göre daha farklı olması ile açıklanabilmektedir. Çalışmadan elde edilen sonuçlar doğrultusunda toprakta bulunan su miktarının uygulama süresince azaldığı buna bağlı olarak bitkilerin kuraklık stresine maruz kaldıkları düşünülmektedir. Bu veriler literatürde bulunan kuraklık stresi tanımı ile uyum sağlamaktadır.

Kuraklık stresi altında bitki köklerinin yeteri kadar topraktan su alamamasına bağlı olarak yapraklarda bulunan su miktarında azalma meydana gelmektedir. Bu azalmaya bağlı olarak bitkilerde stoma direncini arttırma veya iletkenliğini azaltma, stomaları kapatma gibi birtakım değişimler gerçekleşmekte ve böylece de mevcut su

içeriğinin korunmasına çalışılmaktadır (Çırak ve Esendal, 2006; Taiz ve Zeiger, 2008). Yapılmış olan bu tez çalışmasında, stoma iletkenliğinin, kontrole kıyasla tüm anaçlarda azaldığı belirlenmiştir. Stoma iletkenliğinde meydana gelen bu azalma Troyer anacında %5, Carrizo anacında %10 ve turunç anacında %28 oranında gerçekleşmiştir. Rahman vd. (2002), domates üzerinde yaptıkları bir çalışmada kuraklık stresi sırasında yaprağın oransal su içeriğinin azaldığını ve buna bağlı olarak stoma iletkenliğinde azalma meydana geldiğini belirtmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada ise, kuraklığa karşı tolerans seviyeleri farklı olan kavun genotiplerinin strese bağlı olarak stoma iletkenliklerinde azalma ve bu azalmanın ise strese karşı tolerans gösteren genotiplerde daha az olarak gerçekleştiği rapor edilmiştir (Kıran vd. 2014). Güneş vd. (2006), mercimek bitkisinin kuraklığa maruz kalması sonucunda stoma direncinin arttığını fakat direnç ve iletkenliğin ters orantılı olması nedeniyle iletkenlikte azalmanın gerçekleştiğini belirtmişlerdir. Yapılmış olan bu çalışmalar ve buğday, çilek, elma, mısır, fasulye, domates ve karpuz gibi diğer bitkilerde kuraklık stresi sırasında yapılmış olan diğer çalışmalar, stoma iletkenliğinin kuraklık stresi sırasında azaldığını göstermiştir. Diğer bitkilerden stoma iletkenliği ile ilgili olarak elde edilen bu sonuçlar yapılmış olan bu tez çalışmasından elde edilen sonuçlarla benzerlik göstermekte olup çalışmamızın sonucunu desteklemektedir (Larbi ve Melliche, 2004; Ghaderi ve Siosemardeh, 2011; Çetinkaya, 2015; Rosales vd. 2012; Süyüm, K. 2011).

Stres sırasında, stomaların kapanması ile beraber net fotosentez oranında da azalmalar meydana gelmekte ve bitki metabolizmasında aksaklıklar oluşmaya başlamaktadır (Lawlor ve Cornic, 2002). Metabolizmada meydana gelen bu aksaklıklar nedeni ile hücrelerde ROT birikimi artmakta ve buna bağlı olarak da lipit peroksidasyonu gerçekleşmektedir. Lipit peroksidasyonun, son ürünlerinden birisi olan MDA miktarında meydana gelen değişim ise ROT üretiminin bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Halliwell ve Gutteridge 1989). Yapılmış olan bu tez çalışmasında da MDA miktarının kontrole kıyasla Troyer, Carrizo ve turunç anaçlarında arttığı belirlenmiştir. MDA miktarında gerçekleşen bu artışın Troyer anacında %6, Carrizo anacında %13 turunç anacında ise %197 oranında gerçekleştiği tespit edilmiştir. Bu tez çalışmasından elde edilen sonuçlara benzer olarak Rangpur Laym (kuraklığa toleranslı) ve *Sunki maravilha* (kuraklığa hassas), Carrizo sitranjı (kuraklığa toleranslı) ve Kleopatra mandarini (kuraklığa hassas) gibi farklı turunçgil

genotiplerini kapsayan çalışmalarda da kuraklık stresi sırasında MDA miktarlarında artışlar olduğu belirlenmiştir. Belirlenen bu artış oranları ise kuraklığa hassas genotiplerde daha fazla ve toleranslı genotiplerde ise daha az olarak gerçekleştiği tespit edilmiştir (Neves vd., 2017; Zandalinas vd., 2017). Ayrıca bu çalışmaların dışında, tütün, muz, maş fasulyesi, kavak, yonca, şufen, misvak ağacı, çavdar, mürdümük, biber, mısır ve çim gibi farklı bitkilerde kuraklık stresi sırasında çeltik, lahana domates, mısır gibi bitkilerde tuz stresi ve sıcaklık stresleri sırasında MDA miktarlarında artışların olduğu rapor edilmiştir (Su vd., 2017; Chai vd., 2005; Dutta vd., 2016; Yu vd., 2017; Flippou vd., 2011; Rangani vd. 2018; Pan vd. 2018; Cai-Xiong vd., 2016; Kumar-Patel vd., 2011; Carrasco ve Pinto, 2014; Shi vd., 2012; Hasannuzzaman vd., 2014; Soengas vd. 2018; Shakir vd., 2018; Anjum vd., 2017). Sonuç olarak yapılmış olan bu tez çalışmasından elde edilen sonuçlar literatürde bugüne kadar MDA miktarı ve abiyotik stresler konusunda gerek turunçgillerde gerekse diğer bitki tür ve çeşitlerinde elde edilmiş sonuçlarla benzerlik göstermektedir.

Kuraklık stresine bağlı olarak bitki bünyesinde ortaya çıkan ROT'lardan birisi de H_2O_2 'dir ve oksidatif hasara yol açması nedeniyle de metabolizma için oldukça zararlı bir bileşendir (Azevedo Neto vd., 2005). Bu tez çalışması kapsamında elde edilen sonuçlar, H_2O_2 miktarının kontrole kıyasla Troyer, Carrizo ve turunç anaçlarında arttığı belirlenmiştir. H_2O_2 miktarında meydana gelen bu artışın Troyer anacında %2,4, Carrizo anacında %13 turunç anacında ise %49 oranında gerçekleşmiştir. Elde edilen bu sonuçlar daha önce kuraklık stresi sırasında susam bitkisine ait Yekta (kuraklığa toleranslı) ve Darab (kuraklığa hassas), çim bitkisine ait Tifgreen (kuraklığa toleranslı) ve Yukon (kuraklığa hassas), elma bitkisine ait Garnem (kuraklığa toleranslı) ve Myrobolan 29 (kuraklığa hassas), su sümbülü bitkisine ait HR (kuraklığa toleranslı) ve ND4 (kuraklığa hassas), mısır bitkisine ait Llutena (kuraklığa toleranslı) ve Jubilee (kuraklığa hassas), tütün bitkisine ait LJ851 (kuraklığa toleranslı) ve JX6007 (kuraklığa hassas) ve çavdar bitkisine ait Abundant 10 (kuraklığa toleranslı) ve Adrenalin 11 (kuraklığa hassas) genotipleri ile yapılan çalışmalarla benzerlik göstermiş ve farklı genotipler kullanılarak yapılan bu çalışmalarda strese bağlı olarak H_2O_2 miktarının arttığı ve bu artışın hassas genotiplerde toleranslı olarak bilinen genotiplere kıyasla daha fazla olarak

gerçekleştiği rapor edilmiştir (Fazeli vd., 2007; Shi vd., 2012; İpek, 2015; Ren vd., 2015; Anjum vd., 2017; Su vd., 2017; Pan vd., 2018).

Bu çalışmaların yanı sıra yapılan başka çalışmalarda, bor uygulaması sonrasında domateste, tuz stesi altında turunçgiller ve çeltikte, yüksek sıcaklık stresi sırasında ise lahana bitkisinde H₂O₂ miktarının arttığına dair sonuçların elde edildiği rapor edilmiştir (Cervilla vd., 2007; Arbona vd. 2003; Hasannuzzaman vd., 2014; Soengas vd., 2018). Farklı araştırmacıların elde etmiş oldukları bu sonuçlar yapılmış olan bu tez çalışmasından elde edilen sonuçları destekler niteliktedir.

Yapılmış olan bu tez çalışmasından elde edilen sonuçlar kontrole kıyasla protein miktarının Troyer ve Carrizo anaçlarında sırası ile %29 ve %19 oranında arttığını turunç anacında ise %6 oranında azaldığını göstermiştir. Çalışmada Troyer ve Carrizo anaçlarında protein miktarının artması strese karşı adapte olmaları veya stresten etkilenmemiş olmaları ile açıklanabilirken turunç anacında protein miktarının azalması ise turunç bitkilerinin kuraklık stresinden etkilendiklerini ve bunun sonucunda ise proteinlerde degradasyonun gerçekleştiği ile açıklanabilmektedir. Ahmad ve Basra (1998), bezelye bitkisinde yaptıkları bir çalışmada kuraklık stresi sırasında bitkilerin protein miktarında bir süre artış meydana geldiğini ve bunun ardından azalma gerçekleştiğini tespit etmişlerdir. Haşhaş bitkisinde Kılınç (2011), tarafından yapılmış olan bir diğer çalışmada ise hafif kuraklık stresi sırasında protein miktarında artış gözlenirken şiddetli kuraklık stresi sırasında ise protein miktarında azalış gözlemlenmiştir. Yapılmış olan bu tez çalışması kapsamında da çevresel streslere karşı toleranslı olarak bilinen Troyer ve Carrizo anaçları için uygulanmış olan kuraklık stresi hafif kuraklık olarak algılanırken strese karşı hassas olarak bilinen turunç anacında ise uygulanan stres şiddetli kuraklık olarak algılandığı düşünülmektedir. Yonca bitkisine ait kuraklığa dayanım yönünden farklı özelliklere sahip Longzhong (Kuraklığa toleranslı) ve Gannong No:3 (kuraklığa hassas) genotipleri kullanılarak yapılan bir başka çalışmada ise protein miktarının toleranslı genotipte artarken hassas genotipte azaldığı tespit edilmiştir (Zhang ve Shi, 2018). Bu durumun stres sırasında proteinlerin parçalanmasını düzenleyen ubiquitin taşıyıcı enzimin aktivitesinin, Gannong No:3 genotipinde daha fazla olmasından dolayı hassas genotipte proteinlerin azaldığını belirtmişlerdir. Ayrıca bu azalmanın, proteinlerin

translokasyonunu sağlayan ve yanlış katlanmış proteinlerin düzeltilmesinde yer alan transkonon ile ilişkili proteinlerin birikiminin hassas çeşitte daha az gerçekleşmesi sonucunda protein miktarında azalma gerçekleştiği ancak dayanıklı genotipte bu azalmanın daha az olarak gerçekleşmesi veya azalma gerçekleşmemesine bağlı olarak protein miktarında artışların gerçekleştiği şeklinde açıklanmıştır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçların diğer araştırmacıların elde ettiği sonuçlar ile benzer olduğu ve protein miktarlarında meydana gelen değişimlerin araştırmacıların belirttiği sebeplerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Kuraklık stresine bağlı olarak bitkiler de oksidatif stres meydana gelmektedir. Oksidatif stresin sonucunda ise serbest radikaller olarak bilenen ROT'ların üretimi gerçekleşmektedir. Bitkiler oluşan bu radikalleri etkisiz hale getirip stresi tolere edebilmek için SOD, KAT, APX ve GR gibi antioksidan enzimleri kullanmaktadırlar (Manivannon vd., 2007). SOD enzimi, hücrelerde bulunan $O_2^{\cdot-}$ 'yi, H_2O_2 'ye dönüştürerek antioksidan savunmanın ilk adımını başlatmaktadır (Dixit vd., 2001). Bu tez çalışmasında, SOD enzim aktivitesinin, kontrole ve uygulamanın ilk gününe kıyasla Troyer, Carrizo ve turunç anaçlarında azaldığı belirlenmiştir. SOD aktivitesinde gerçekleşen bu azalma anaçlarda kontrole kıyasla sırası ile Troyer anacında %37, Carrizo anacında %33 turunç anacında ise %18 oranında gerçekleşirken, uygulamanın ilk gününe kıyasla Carrizo anacında %44 oranında, turunç anacında %45, Troyer anacında ise %27 oranında gerçekleşmiştir. Troyer anacında uygulamanın 9. gününde meydana gelen aktivite artışının ardından azalma gözlemlenirken diğer anaç çeşitlerinde ise uygulamanın ilk gününden itibaren belirgin bir azalma tespit edilmiştir. Alexiva vd. (2001), yapmış oldukları bir çalışmada, kuraklık stresi sırasında buğday bitkisinde 7. günde çim bitkisinde ise 18. günde SOD aktivitesinin azaldığını belirlemişlerdir. Aynı şekilde, Xu vd. (2011), kuraklığa toleransları farklı iki çim çeşidinde kuraklığa karşı toleranslı çeşitte stres uygulamasının 22. gününde, hassas çeşitte ise 18. gününde SOD aktivitesinin azalmaya başladığını bildirmişlerdir. Chai vd. (2005), *in vitro* şartlarda çoğalttıkları 2 muz çeşidinde kuraklık stresine bağlı olarak SOD enzim aktivitesinde azalmalar tespit etmişlerdir. Neves vd. (2017), iki farklı turunçgil çeşidinde kuraklık stresine maruz kalma sürelerine bağlı olarak antioksidan miktarlarında meydana gelen değişimleri araştırdıkları bir çalışmalarında bitkilerin bir kere strese maruz kalmaları durumunda SOD enzim aktivitesinde değişimin meydana gelmediğini ancak bu stres uygulaması

üç kere gerçekleştirildiğinde enzim aktivitesinin arttığını bildirmişlerdir. Zandalinas vd. (2017), kuraklığa tolerans yönünden farklı özelliğe sahip iki turunçgil anacına uyguladıkları kuraklık stresi sonucunda Carrizo anacının kontrole kıyasla SOD aktivitesinde azalış meydana gelirken, Kleopatra mandarininde SOD aktivitesinde artış meydana geldiği rapor edilmiştir. Carrizo anacında yapılmış olan başka bir çalışmada ise, tuz stresi uygulaması sonucunda 4. günde, kuraklık stresi uygulaması sonucunda 10. günde SOD aktivitesinin arttığı bildirilmiştir (Arbona vd., 2006; Perez-Clemente vd., 2012). Carrizo sitranjına ait SOD aktivitesi ile ilgili çeşitli çalışmalardan elde edilen sonuçlar, bu çalışmada edilen sonuçlar ile uyum sağlamamaktadır bu uyumsuzluğun stres planlamasından, bitkide üretilen süperoksit radikalının yetersizliğinden veya SOD enzim analizi sırasında meydana gelmiş olan bazı aksaklıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Soengas vd. (2018) ısı stresi uyguladıkları lahana bitkilerinde 20°C’de, Zhang ve Shi (2018), ise ozmotik stres uyguladıkları domates bitkilerinin stres uygulamasının 9. gününden itibaren SOD aktivitesinin azalmaya başladığını tespit etmişlerdir. Reddy vd. (2004), dut bitkisinde -2.5 Mpa’da, Zlatev vd. (2006), soya fasulyesinde 14. günde, Pan vd. (2018), ise çavdar bitkisinde 7. günde kuraklık stresi sırasında SOD aktivitesinin arttığını bildirmişlerdir. SOD aktivitesinin, farklı veya aynı bitki türlerinde bazen artış ve bazen de azalışların olduğu ve bazen de hiç değişim göstermeyerek aynı düzeylerde kaldığı rapor edilmiştir. Literatürde bulunan bu çalışmalar bu tez çalışması kapsamında SOD aktivitesine ilişkin elde edilen sonuçları destekler niteliktedir. Bugüne kadar bu konuda yapılmış olan araştırmalarda aynı bitki çeşitlerinin kullanıldığı durumlarda bile SOD aktivitelerinin farklı olduğu görülmektedir. Meydana gelen bu farklılıklar üzerinde stresin süresi, şiddeti, kullanılan bitkilerin yaşı, büyüme koşulları gibi parametrelerin etkili olduğu bildirilmektedir (Sgherri vd. 2000, Sairam ve Srivastava 2001). Aynı zamanda, SOD aktivitesinin bu denli farklı sonuçlar göstermesi enzimin farklı izoformlarının olması nedeniyle her izoformun kuraklık stresine karşı özel tepkiler vermesi ile açıklanmaktadır (Navari-Izzo ve Rascio, 1999).

SOD aracılığıyla veya kendiliğinden oluşan H₂O₂’nin zararsız hale getirilmesi gerekmektedir. Bu dönüşüm KAT ve APX enzimleri tarafından gerçekleştirilerek hücrelerde bulunan H₂O₂ bitkiler için daha zararsız formlara dönüştürülmektedir (El-Beltagi ve Mohamed, 2013). KAT ve APX ile ilgili yapılan çalışmalarda stresler

sırasında bu enzimleri kodlayan genlerin ifade profilleri incelendiğinde strese bağlı ifade seviyelerinde artışların olduğu belirlenmiştir (Millar vd., 2003). Yapılmış olan bu tez çalışması kapsamında da tüm anaçlarda kontrole kıyasla KAT aktivitesi bakımından artışların olduğu belirlenmiştir. Meydana gelen bu artışların Troyer, Carrizo ve turunç anaçlarında sırası ile %35, %25 ve %3 oranında gerçekleştiği belirlenmiştir. Kuraklık stresine maruz kalan bitkilerin KAT aktivitelerinin, strese maruz kalmamış kontrol bitkilerine göre daha yüksek olması stres sırasında üretimi artan H₂O₂'nin detoksifikasyonu için KAT'ın etkin bir role sahip olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Nayyar ve Gupta, 2006). Kuraklık stresi ile ilgili, mısır bitkisine ait Dong Dan 80 (kuraklığa toleranslı) ve Run Nong 35 (kuraklığa hassas) genotipleri, turunçgillere ait Rangpur Laym ile Carrizo anaçları (kuraklığa toleranslı) ve *Sunki maravilha* ile Kleopatra mandarini (kuraklığa hassas) ve arpa bitkisine ait Abundant 10 (kuraklığa toleranslı) ve Adrenalin 11 (kuraklığa hassas) genotipleri ile ilgili yapılan çalışmalarda toleranslı olarak bilinen genotiplerin KAT aktivitesinin hassas genotiplere göre daha yüksek olduğu araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (Anjum vd., 2017; Neves vd., 2017; Zandalinas vd., 2017; Pan vd., 2018). Yapılan diğer çalışmalarda da soya fasülyesi, muz, turunçgil, susam, bürülce, biber, çeltik, geven, mürdümük, tütün ve yonca gibi farklı bitkilerde farklı stresler sırasında KAT aktivitesinde artışların olduğu bildirilmiştir (Velikova vd., 2001; Reddy vd., 2004; Arbona vd., 2006; Fazeli vd., 2007; Nair vd., 2008; Kumar- Patel vd., 2011; Hasannuzzaman vd., 2014; Ren vd., 2016; Chai- Xiong vd., 2006; Su vd., 2017; Zhang ve Shi, 2018). KAT enzim aktivitesi ile ilgili olarak literatürde bulunan araştırmaların sonuçları bu tez çalışmasından elde edilen sonuçlarla benzerlik göstermektedir. Diğer bitkilerde olduğu gibi bu çalışmada da kuraklık stresi sırasında KAT enzim aktivitesinde artışlar gerçekleşmiş ve bu artışlar toleranslı çeşitlerde hassas çeşitlere göre daha fazla olarak belirlenmiştir (Sairam vd., 2004).

Antioksidan mekanizmanın üçüncü enzimi olarak bilinen APX enzimi, elektron vericisi olarak askorbatı kullanarak stresler sırasında kloroplast ve sitozolde üretilen H₂O₂'nin su ve MDHA'ya dönüşümünü sağlayan Asa-GSH döngüsünün anahtar enzimidir (Karuppanapandian vd., 2011; El-Beltagi ve Mohamed, 2013). Bu çalışmada, tüm anaçlarda kontrole kıyasla APX aktivitesi bakımından artış gerçekleştiği belirlenirken, bu artışın Troyer, Carrizo ve turunç anaçlarında sırası ile %31, %32 ve %5 oranında gerçekleştiği belirlenmiştir. Turunçgil bitkisine ait

Rangpur Laym ile Carrizo (kuraklığa toleranslı) anaçları ve *Sunki marvilla* ile Kleopatra mandarini (kuraklığa hassas) genotipleri arasında, nohut bitkisine ait *Macrocarpa* (kuraklığa toleranslı) ve *Microcarpa* (kuraklığa hassas) genotipleri, fasülye bitkisine ait Prelom (kuraklığa toleranslı) ve Dobrudjanski (kuraklığa hassas) genotipleri, çavdar bitkisine ait Abundant 10 (kuraklığa toleranslı) ve Adrenalin 11 (kuraklığa hassas) genotipleri ve yonca bitkisine ait Longzong (kuraklığa toleranslı), ve Gannong (kuraklığa hassas) genotipleri kullanılarak yapılan kuraklık stresi çalışmalarında toleranslı olarak bilinen genotiplerin APX aktivitelerinin hassas genotiplere göre daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (Nayyar vd., 2006; Zlatev vd., 2006; Neves vd., 2017; Zandalinas vd., 2017; Pan vd., 2018; Zhang ve Shi, 2018). Bu çalışmaların dışında tütün, muz, turunçgil, bodur kiraz, hıyar, mürdümük, mısır bitkilerinin kuraklık stresi sırasında kullanıldığı diğer çalışmalarda, çeltik, turunçgil bitkilerinde tuz stresi sırasında, su sümbülü, domates, buğday ve siyah mercimek bitkilerinde ağır metal stresi sırasında APX aktivitesinde artışların olduğu bildirilmiştir (Badawi vd., 2004; Chai vd., 2005; Perez- Clemente vd., 2012; Ren vd., 2016; Fan vd., 2014; Cai-Xiong vd., 2006; Anjum vd., 2017; Hasannuzzaman vd., 2014; Arbona vd., 2003; Malar vd., 2014; Cervilla vd., 2007; Khan vd., 2007; Singh vd., 2008). Yapılmış olan bu tez çalışması kapsamında da APX aktivitesine yönelik elde edilen sonuçlar yukarıda özetlendiği gibi gerek kuraklık stresi ile ilgili gerekse de diğer stresler ile ilgili olarak turunçgiller veya diğer bitkiler kullanılarak yapılmış olan çalışmalar tarafından da desteklenmektedir.

Antioksidan sistemin önemli bir bileşeni olan GR enzimi, elektron vericisi olarak NADPH'yı kullanarak stresler sırasında okside olan glutatyonun indirgenmiş glutatyona dönüşümünü sağlayan AsA-GSH döngüsünün son basamağında yer alan enzim olarak bilinmektedir (Gill ve Tuteja, 2010). Farklı araştırmacıların farklı stres koşullarında, biber, *Arabidopsis thaliana*, domates, bamya, çim, mısır, çeltik ve kavak bitkilerinde gerçekleştirdikleri çalışmalarda GR aktivitesinin genel olarak arttığını belirlemişlerdir (Leon vd., 2002; Skorzynska-Polit vd., 2004; Cervilla vd., 2007; Kuşvuran vd., 2012; Shi vd., 2012; Hasannuzzaman vd., 2014; Yu vd., 2017). Bu çalışmada ise, kuraklık stresi uygulaması sonucunda kontrole kıyasla Troyer ve Carrizo anaçlarının GR aktivitelerinde sırası ile %20 ve %50 oranında artış meydana gelirken, turunç anacının GR aktivitesinde ise %24 oranında azalma meydana geldiği gelmiştir. Bu çalışmadan alınan sonuca benzer olarak Arbona vd. (2003), tuz stresi

uyguladıkları Carrizo anacında GR aktivitesinin arttığını tespit etmişlerdir. Kuraklık stresine karşı tolerans düzeyleri farklı muz ve farklı bodur kiraz genotiplerine uygulanan kuraklık stresleri sonucunda kuraklığa karşı tolerans gösteren genotiplerin GR aktivitelerinde strese tepki olarak artış belirlenmiş; hassas olan genotiplerde ise GR aktivitelerinde azalmaların olduğu tespit edilmiştir (Chai vd., 2005; Ren vd., 2016). Zandalinas vd. (2017), turunçgil bitkisine ait Carrizo sitranjı (kuraklığa toleranslı) ve Kleopatra mandarin (kuraklığa hassas) genotiplerine uyguladıkları kuraklık stresi sonucunda her iki genotipte de GR aktivitesinin arttığını ancak artışın toleranslı genotipte daha fazla olduğu rapor edilmiştir. Toleranslı genotipten elde edilen verilerin bu tez çalışmasında elde edilen veriler ile tamamlayıcı nitelikte olduğu gözlemlenirken, hassas genotipten elde edilen verilerin bu çalışma ile zıt yönde olduğu görülmektedir. Arada ki bu zıtlığın, hassas genotip olarak olarak kullanılan genotiplerin farklılığından ve stres koşullarından veya uygulanmış olan streslerin sürelerinin farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Enzimatik olmayan antioksidanlar, ROT gibi zararlı bileşenleri ve peroksit ürünlerini çeşitli yollar ile detoksifiye ederek stresler ile mücadele sırasında yardımcı olmaktadır (Gill ve Tuteja, 2010). En yaygın bilinen antioksidanlardan birisi olan askorbik asit direkt olarak ROT detoksifikasyonu yaparak oksidatif stres kaynaklı oluşabilecek zararların önlenmesine yardımcı olan hidrofilik yapıda bir antioksidandır (Jaleel vd., 2009). Yapılan bu çalışmada da, kuraklık stresi uygulaması süresince tüm anaçlarda, kontrole kıyasla AA miktarlarında artış gerçekleştiği belirlenmiştir. Meydana gelen bu artış Troyer anacında %43, Carrizo anacında %44, turunç anacında ise %33 oranında gerçekleştiği belirlenmiştir. Mısır bitkisine ait Dong Dan 80 (kuraklığa toleranslı) ve Run Nong 35 (kuraklığa hassas) genotipleri ve elma bitkisine ait Garnem (kuraklığa toleranslı) ve Myrobolan 29C (kuraklığa hassas), nohut bitkisine ait AWC611 (kuraklığa toleranslı) ve ILC8617 (kuraklığa hassas) genotipleri ile yapılan kuraklık stresi çalışmalarında genotiplerin AA miktarlarında artış meydana geldiği rapor edilmiştir ve bu artışın toleranslı genotiplerde daha belirgin olduğuna vurgu yapılmıştır (İpek vd., 2015; Anjum vd., 2017). Bu çalışmaların yanı sıra, dut, üzüm, ayçiçeği, nohut, börülce, susam ve kavun gibi bitkilerde yapılan çalışmalarda da kuraklık stresi altında askorbik asit miktarlarında artışların olduğuna dair sonuçlar bulunmaktadır (Reddy vd., 2004; Zonouri vd., 2004; Keleş ve Ünyayar, 2004; Nayyar vd., 2006; Nair vd., 2008;

Somasundaram vd., 2009; Kuşvuran, 2010). Aynı zamanda, Arbona vd. (2003), turunçgil bitkisine ait Carrizo anacında tuz stres uygulaması sonunda askorbik asit miktarında artış meydana geldiğini bildirmişlerdir. Yapılmış olan bu tez çalışması kapsamında elde edilen sonuçların, turunçgiller ve diğer bitkilerde çevresel stresler sırasında AA miktarlarındaki artışlarla ilgili olarak benzerlikler gösterdiği görülmektedir.

Kuraklık stresi sırasında miktarında değişimlerin olduğu bildirilmiş bir diğer antioksidan bileşen fenolikler maddelerdir. Fenolikler, bitki bünyesinde bulunan sekonder metabolitler olarak bilinmekte olup stresler sırasında hücrelerde üretilen ROT'lar ile etkileşime girerek onları kendilerine bağlamaları nedeniyle stresler sırasında oldukça önemli olan maddelerdir (Reyes ve Zevallos, 2003; Berli vd. 2010). Farklı stres koşulları sırasında stres ile mücadele için bitkilerde fenolik miktarında artışların meydana geldiği bilinmektedir (Singh vd., 2000). Bu çalışmada ise kuraklık stresi uygulaması sonucunda, tüm anaçların kontrole kıyasla fenolik miktarlarında artış gerçekleştiği belirlenmiştir. Meydana gelen bu artışın Troyer anacında %25, Carrizo anacında %33 turunç anacında ise %9 oranında gerçekleştiği belirlenmiştir. Dutta vd. (2016), tarafından kuraklık stresi karşısında tolerans seviyeleri farklı iki maş fasülyesi genotipi arasında yapılmış olan bir çalışmada stres sırasında fenolik madde miktarlarında artışların meydana geldiği ancak bu artışın toleranslı genotipte daha fazla olduğu bildirilmiştir. Yine aynı şekilde mısır bitkisinde yapılmış olan bir çalışmada fenolik miktarının strese bağlı olarak arttığı ve bu artışın toleranslı olarak bilinen Dong Dan genotipinde daha fazla olduğu rapor edilmiştir (Anjum vd. 2017). Arbona vd. (2006), turunçgillerde Carrizo anacı üzerinde yaptıkları bir çalışmada tuz stresi sırasında bitkilerin fenolik miktarlarında artışların olduğu rapor edilmiştir. Yapılmış olan bu çalışmaların yanı sıra kuraklık stresi sırasında domates bitkisinde, yüksek sıcaklık stresi sırasında lahana bitkisinde, UV-B stresi sırasında ise brokkoli bitkisinde fenolik miktarında artışların olduğu belirlenmiştir (Rodriguez vd., 2010; Soengas vd., 2018; Topçu vd., 2018). Rivero vd. (2001), domates bitkisinde soğuk ve yüksek sıcaklık stresleri sırasında fenolik miktarlarının arttığını ve bu artışın fenilalanin amonyum liyaz (PAL) enzimine bağlı olarak gerçekleştiğini belirtmişlerdir. Yapılmış olan bu tez çalışması kapsamında da fenolik miktarlarına dair elde edilen sonuçların farklı araştırmacıların yapmış olduğu çalışma sonuçları ile benzerlikler gösterdiği ve fenolik miktarlarında ki bu artışların Rivero vd. (2001),

tarafından belirtildiği gibi artışın PAL enzimine bağlı olarak gerçekleştiği düşünülmektedir.

Sonuç olarak, toprak nem ölçüm sonuçlarına göre bitkilerin saksı nem miktarlarında uygulama boyunca azalmalar meydana gelmiştir. Nem miktarında gerçekleşen azalmalar doğrultusunda kuraklık stresi altında Troyer, Carrizo ve turunç anaçlarında birtakım metabolik değişimler gerçekleşmiştir. Stres göstergesi olarak bilinen MDA ve H₂O₂ miktarı incelendiğinde tüm anaçlarda artışların meydana geldiği ancak bu artışların turunç anacında diğer anaçlara göre kontrole kıyasla daha fazla olduğu belirlenmiştir. Protein miktarında gerçekleşen değişimler incelendiğinde ise kuraklık stresi sırasında protein miktarının turunç anacında azalırken diğer anaçlarda arttığı belirlenmiştir. Stresler sırasında bitki savunma sisteminde yer alan antioksidan enzim aktivitelerinde ve enzim olmayan antioksidan miktarlarında meydana gelen değişimler incelendiğinde ise SOD aktivitesi tüm anaçlarda azalırken, GR aktivitesinin sadece turunç anacında azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca KAT ve APX enzim aktivitelerinin, askorbik asit ve fenolik miktarının tüm anaçlarda arttığı ancak meydana gelen artışların turunç anacında daha az gerçekleştiği belirlenmiştir.

Elde edilen veriler doğrultusunda Troyer ve Carrizo anaçlarının turunç anacına göre kuraklık stresine daha dayanıklı olduğu belirlenmiştir. Bu dayanıklılık, anaçların stres koşulları altında geliştirmiş oldukları savunma mekanizmalarının farklılıklarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Her üç anacında antioksidan enzim aktiviteleri incelendiğinde Troyer ve Carrizo anaçlarının antioksidan enzimleri daha fazla sentezlediği ve bu sayede stres şartlarına dayanım sağladığı belirlenmiştir. Troyer ve Carrizo anaçları stres sırasında bitki bünyesinde biriken H₂O₂'yi ve MDA'yı sentezlemiş oldukları KAT ve APX enzimleri ile bertaraf ederken turunç anacı ise daha az enzim aktivitesi gerçekleştirerek dayanıklılığı sağlamaya çalışmıştır. Troyer ve Carrizo anaçları stres altında GR sentezi yaparak membran zararlanmasını azaltmış ve sonuçta fotosentezi ve yaşamın devamını sağlayarak kuraklık stresine dayanıklılığı artırmıştır. Ayrıca Troyer ve Carrizo anaçları turunca göre daha yüksek askorbik asit ve fenolik madde sentezi gerçekleştirerek hücrelerde biriken ROT'ların daha etkin bir şekilde detoksifiye edilmesini sağlamışlardır.

Çalışma sonuçlarına göre streslere dayanıklı bitki tür ve çeşitlerinin seçiminde veya geliştirilmesi aşamasında hücrelerde birikimleri artan ROT'lara karşı bitki savunma mekanizmasında görev alan antioksidan savunma sistemlerinde meydana gelen değişimlerin belirlenmesi streslere dayanıklı bitki geliştirilmesi bakımından oldukça önemli olarak görülmektedir.

Hücrelerin büyük bir yüzdesini su oluşturması nedeniyle, büyüme ve gelişmenin devamlılığı hücrelerdeki su miktarının korunmasına bağlı olmaktadır. Hücrelerde su noksanlığı olduğu durumlarda yani bitkiler kuraklığa maruz kaldığında ise fotosentez ve solunumda azalma buna bağlı olarak da büyümenin, gelişmenin yavaşlaması ve verim ve kalitenin azalması gibi istenilmeyen durumlar ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle de strese dayanım mekanizmalarının özellikle de kuraklık stresine dayanımın mekanizmasının açığa çıkarılması ve streslere karşı dayanıklı bitkilerin geliştirilmesi açısından oldukça büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar bundan sonra başta turuncgiller olmak üzere bitkilerde kuraklık ve/veya diğer çevresel streslere karşı dayanıklı bitki tür ve çeşitlerinin geliştirilmesine ve bu konularda yapılacak olan çalışmalara katkıda bulunacaktır. Aynı zamanda bundan sonra bu konularda yapılacak olan çalışmalarda stresler sırasında bitkilerde hem biyokimyasal hem de moleküler düzeyde birçok değişikliğin meydana geldiği düşünülürse streslere dayanıklı bitki üretiminde veya streslere dayanımın mekanizmasının daha iyi anlaşılması bakımından yapılacak olan çalışmalarda biyokimyasal ve moleküler mekanizmaların kombine bir şekilde incelenmesinin daha da yararlı olacağı düşünülmekte ve yapılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105, 121-126.
- Ahmad, M. A., & Basha, S.M. (1998). Effect of Water Stress on Composition of Peanut Leaves. *Peanut Science*, 25, 31- 34.
- Al-Anbari, A.K.H., & Hasan, M.A. (2015). Antioxidant Activity in Some Citrus Leaves and Seeds Ethanolic Extracts. *Biological & Environmental Sciences*, 22-23, Londra.
- Alexieva, V., Ivanov, S., Sergiev, I., & Karanov, E. (2003). Interaction Between Stresses. *Bulgaria Journal Plant Physiology Special Issue*, 12, 1-17.
- Alscher, R. G., Ertürk, N., & Heath, L.S. (2002). Role of Superoxide Dismutases (SODs) in Controlling Oxidative Stress in Plants. *Journal of Experimental Botany*, 53, 1331-1341.
- Angaji, S.A., Mousavi, S.F., & Babapour, E. (2012). Antioxidants: A Few Key Points. *Scholars Research Library*, 3, 3968-3977.
- Apel, K., & Hirt, H. (2004). Reactive Oxygen Species: Metabolism, Oxidative Stress, and Signal Transduction. *Annual Review of Plant Biology*, 55, 373-399.
- Araus, J.L., Slafer, G.A., Reynolds, M.P., & Royo, C. (2002). Plant Breeding and Drought in C3 Cereals: What Should we Breed for? *Annual Botany*, 89, 925-940.
- Arbona, V., Flors, V., Jacas, J., García-Agustín, P., & Gómez-Cadenas, A. (2003). Enzymatic and Non-Enzymatic Antioxidant Responses of Carrizo Citrange, a Salt-Sensitive Citrus Rootstock, to Different Levels of Salinity. *Plant and Cell Physiology*, 44, 388-394.
- Arora, A., Sairam, R.K., & Srivastava, G.C. (2002). Oxidative Stress and Antioxidative System in Plants. *Current Science Association*, 82, 1227-1238.
- Arteel, G.E., & Sies, H. (2001). The Biochemistry of Selenium and the Glutathione System. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 10, 153-158.
- Asada, K. (2006). Production and Scavenging of Reactive Oxygen Species in Chloroplasts and Their Functions. *Plant Physiology*, 141, 391-396.
- Awasthi, R., Bhandari, K., & Nayyar, H. (2015). Temperature Stress and Redox Homeostasis in Agricultural Crops. *Frontiers in Environmental Science*, 3, 1-24.
- Badawi, G. H., Kawano, N., Yamauchi, Y., Shimada, E., Sasaki, R., & Kubo, A. (2004). Over-Expression of Ascorbate Peroxidase in Tobacco Chloroplasts Enhances the Tolerance to Salt Stress and Water Deficit. *Physiology Plant*, 121, 231-238.

- Balal, R.M., Ashraf, M.Y., Khan, M.M., Jaskani, M.J., & Ashfaq, M. (2011). Influence of Salt Stress on Growth and Biochemical Parameters of Citrus Rootstocks. *Pakistan Journal of Botany*, 43, 2135-2141.
- Balal, R.M., Shahid, M.A., Vincent, C., Zotarelli, L., Liu, G., Mattson, N.S., Rathinasabapathi, B., Martínez-Nicolas, J.J., & Garcia-Sanchez, F. (2017). Kinnow Mandarin Plants Grafted on Tetraploid Rootstocks are More Tolerant to Cr-toxicity than Those Grafted on its Diploids One. *Environmental and Experimental Botany*, 140, 8-18.
- Berli, F.J., Moreno, D., Piccoli, P., Hespanhol-Viana, L., Silva, M.F., Bressan-Smith, R., Cavagnaro, J.B., & Bottini, R. (2010). Abscisic Acid is Involved in the Response of Grape (*Vitis vinifera* L.) cv. Malbec Leaf Tissues to Ultraviolet-B Radiation by Enhancing Ultraviolet-Absorbing Compounds, Antioxidant Enzymes And Membrane Sterols. *Plant Cell Environmental*, 33, 1-10.
- Blokhina, O., & Fagerstedt, K.V. (2010). Reactive Oxygen Species and Nitric Oxide in Plant Mitochondria: Origin and Redundant Regulatory Systems. *Plant Physiology*, 138, 447-462.
- Blum, A. (1986). Breeding Crop Varieties for Stress Environments. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2, 199- 237.
- Blum, A., Munns, R., Passioura, J.B., Turner, N.C., Sharp, R.E., Boyer, J.S., Nguyen, H.T., Hsiao, T.C., Verma, D.P.S., & Hong, Z. (1996). Genetically Engineered Plants Resistant to Soil Drying and Salt Stress: How to Interpret Osmotic Relations? *Plant Physiology*, 110, 1051-1053.
- Bose, J., Rodrigo-Moreno, A., & Shabala, S. (2014). ROS Homeostasis in Halophytes in the Context of Salinity Stress Tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 65, 1241-1257.
- Bowler, C., Van Montagu, M., & Inze, D. (1992). Superoxide Dismutase and Stress Tolerance. *Plant Molecular Biology*, 43, 83-116.
- Bozkurt Çolak, Y., & Baydar, A. (2015). *Turunçgil Bahçelerinde Sulama*. Alata Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Toprak ve Su Kaynakları Lokasyonu. 1-7.
- Bradford, M.M. (1976). A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
- Bray, E. A. (1997). Plant Responses to Water Deficit. *Trends in Plant Science*, 2, 48-54.
- Brigelius-Flohe, R., & Traber, M.G. (1999). Vitamin E: Function and Metabolism. *Faseb Journal*, 13, 1145-1155.
- Buchert, F., & Forreiter, C. (2010). Singlet Oxygen Inhibits ATPase and Proton Translocation Activity of the Thylakoid ATP Synthase. *Faseb Journal*, 584, 147-152.

- Burton, G.W., & Ingold, K.U. (1984). β -Carotene: an Unusual Type of Lipid Antioxidant. *Science*, 224, 569-573.
- Cai Xiong, Y., Mei Xing, X., Mei Gong, C., Min Li, F., Ming Wang, S., Xiao Li, Z., & Fu Wang, Y. (2016). Dual Role of Abscisic Acid on Antioxidative Defense in Grass Pea Seedling (*Lathyrus Sativus* L.) *Pakistan Journal Botany*, 38, 999-1014,
- Camello Almaraz, C., Gomez-Pinilla, P.J., & Camello, P.J. (2006). Mitochondrial Reactive Oxygen Species and Ca^{2+} Signaling. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 291, 1082-1088.
- Campbell, K.G., Finney, P.F., Bergman, C.J., Gualberto, D.G., Anderson, J.A., Giroux, M.J., Siritunga, D., Zhu, J., Gendre, F., Roue', C., Ve'rel, A., Sorrells, M.E. (2001). Quantitative Trait Loci Associated with Milling and Baking Quality in a Soft Hard Wheat Cross. *Published in CropS Science*, 41, 1275-1285.
- Carrasco, L., & Pinto, M. (2014). Effect of Salt Stress on Antioxidant Enzymes and Lipid Peroxidation in Leaves in Two Contrasting Corn, 'Lluteño' and 'Jubilee'. *Chilean journal of Agricultural Research*, 74, 89-95.
- Cervilla, L.M., Blasco, B., Ríos, J.J., Romero, L., & Ruíz, J.M. (2007). Oxidative Stress and Antioxidants in Tomato (*Solanum lycopersicum*) Plants Subjected to Boron Toxicity. *Annals of Botany*, 100, 747-756.
- Chai, T.T., Fadzillah, N.M., Kusnan, M., & Mahmood, M. (2005). Water Stress Induced Oxidative Damage and Antioxidant Responses in Micropropagated Banana Plantlets. *Biologia Plantarum*, 49, 153-156.
- Chen, L.S., & Liu, X.H. (2005). Effects of Aluminum on Light Energy Utilization and Photoprotective Systems in *Citrus* Leaves. *Annals of Botany*, 96, 35-41.
- Choudhury, S., Panda, P., Sahoo, L. & Panda, S.K. (2013). Reactive Oxygen Species Signaling in Plants Under Abiotic Stress. *Plant Signaling & Behavior*, 8, 1-6.
- Cnubben, N.H.P., Rietjens, I.M.C.M., Wortelboer, H., Van-Zanden, J., & Van Bladeren, P.J. (2001). The Interplay of Glutathione Related Processes in Antioxidant Defense. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 10, 141-152.
- Collins, A. (2001), Carotenoids and Genomic Stability. *Mutation Research*, 475, 1-28.
- Cooke, M.S., Evans, M.D., Dizdaroglu, M., & Lunec, J. (2003). Oxidative DNA Damage: Mechanisms, Mutation, and Disease. *Faseb Journal*, 17, 1195-1214.
- Courtois, B., McLaren, G., Sinha, P.K., Prasad, K., Yadav, R., & Shen, L. (2000). Mapping QTLs Associated with Drought Avoidance in Upland Rice. *Molecular Breeding*, 6, 55-56.

- Çelik, Ö., Atak, Ç., & Ayan A. (2017). Enzymatic and Non-Enzymatic Comparison of Two Different Industrial Tomato (*Solanum lycopersicum*) Varieties Against Drought Stres. *Botanical Studies*, 58, 32–45.
- Çetinkaya H. (2015). *Kuraklığa Duyarlı Ve Toleranslı Mısır (Zea Mays L.) Bitkisinde Kuraklık Stresi Altında Yapılan Bakır Uygulamalarının Oluşturduğu Oksidatif Hasar ve Savunma Cevaplarının Araştırılması.* (Yüksek Lisans Tezi, Sinop Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü)
- Çevik, S. (2009). *Kuraklık Toleransları Farklı Olan Cicer (Nohut) Genotiplerinde Askorbat ve Glutasyon Uygulamalarının Antioksidan Sistem Üzerine Etkilerinin Araştırılması ve Genomik Varyasyonların Karşılaştırılması.* (Yüksek Lisans Tezi, Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü)
- Çırak, C., & Esendal, E. (2006). Soyada Kuraklık Stresi. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21, 231-237.
- Das, K., & Roychoudhury, A. (2014). Reactive Oxygen Species (ROS) and Response of Antioxidants ROS-Scavengers During Environmental Stress in Plants. *Frontiers in Environmental Science*, 2, 1-13.
- Dat, J., Vandenabeele, S., Vranova, E., Montagu, V.M., Inze, D., & Breusegem, F.V. (2000). Dual Action of The Active Oxygen Species During Plant Stress Responses. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 57, 779-795.
- Davies, F.S., & Albrigo, L.G. (1994). *Citrus*. Wallingford:CAB International.
- Deaton, C.M., & Marlin, D.J. (2003). Exercise-Associated Oxidative Stress. *Clinical Techniques in Equine Practice*, 2, 278-291.
- Del Rio, L.A., Corpas, F.J., Sandalio, L.M., Palma, J.M., Gomez, M., & Barroso, J.B. (2002). Reactive Oxygen Species, Antioxidant Systems and Nitric Oxide in Peroxisomes, *Journal Experimental Botany*, 53, 1255-1272.
- Desikan, R., Hancock, J.T., & Neill, S.J. (2004). Oxidative Stress Signalling Plant Responses to Abiotic Stress. *Springer*, 52, 121-135.
- Dixit, V., Pandey, V., & Shyam, R. (2001). Differential Antioxidative Responses to Cadmium in Roots and Leaves of Pea (*Pisum sativum* L. cv. Azad), *Journal of Experimental Botany*, 52, 1101-1109.
- Droge, W. (2002). Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiological Reviews*, 82, 47-95.
- Dunlop, R.A., Rodgers, K.J., & Dean, R.T. (2002). Recent Development in the Intracellular Degradation of Oxidized Proteins. *Free Radical Biology Medicine*, 33, 894–906.
- Dutta, P., Bandopadhyay, P., & Bera, A.K. (2016). Identification of Leaf Based Physiological Markers for Drought Susceptibility During Early Seedling Development of Mungbean. *American Journal of Plant Sciences*, 7, 1921-1936.

- El-Beltagi H.S., & Mohamed, H.I. (2013). Reactive Oxygen Species, Lipid Peroxidation and Antioxidative Defense Mechanism. *Not Bot Horti Agrobo*, 41, 44-57.
- Ercan, O. (2008). *Effect of Drought and Salt Stresses on Antioxidant Defense System and Physiology of Lentil (Lens Culinaris M.) Seedlings*. Yüksek Lisans Tezi, Orta Doğu Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü)
- Erenel, G., Erbaş, D., & Arıcıoğlu, A. (1992). Serbest Radikaller ve Antioksidan Sistemler. *Gazi Tıp Dergisi*, 3, 243-250.
- Evans, N.H., McAinsh, M.R., Hetherington, A.M., & Knight, M.R. (2005). ROS Perception in *Arabidopsis thaliana*: the Ozone Induced Calcium Response. *Plant Journal*, 41, 615–626.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., & Basra, S.M.A. (2009). Plant drought stress: Effects, Mechanisms and Management. *Agronomy Sustainable Development*, 29, 185–212.
- Fazeli, F., Ghorbanli, M., & Niknam, V. (2007). Effect of Drought on Biomass, Protein Content, Lipid Peroxidation and Antioxidant Enzymes in Two Sesame Cultivars. *Biologia Plantarum*, 51, 98-103.
- Ferreira, R.R., Fornazier, R.F., Vitoria, A.P., Lea, P.J., & Azevedo, R.A. (2002). Changes in Antioxidant Enzyme Activities in Soybean Under Cadmium Stress. *Journal Plant Nutrition*, 25, 327-342.
- Filippou, P., Antoniou, C., & Fotopoulos, V. (2011). Effect of Drought and Rewatering on the Cellular Status and Antioxidant Response of *Medicago Truncatula* Plants. *Plant Signaling & Behavior*, 6, 270-277.
- Flors, C., & Nonell, S. (2006). Light and Singlet Oxygen in Plant Defense Against Pathogens: Phototoxic Phenolone Phytoalexins. *Accounts of Chemical Research*, 39, 293-300.
- Foyer, C. (1993). Ascorbic Acid. *Antioxidants in Higher Plants*. 31-58.
- Foyer, C.H., & Noctor, G. (2005). Redox Homeostasis and Antioxidant Signaling: A Metabolic Interface Between Stress Perception and Physiological Responses. *The Plant Cell*, 17, 1866-1875.
- Fu Fan, H., Ding, L., Xia Du, C., & Wu, X. (2014). Effect of Short-Term Water Deficit Stress on Antioxidative Systems in Cucumber Seedling Roots. *Annual et al. Botanical Studies*, 55, 46-53.
- Garg, N., & Manchanda, G. (2009). Ros Generation in Plants: Boon or Bane?. *Plant Biosystems*, 143, 81–96.
- Georgia Tanou, G., Molassiotis, A., & Diamantidis, G. (2009). Hydrogen Peroxide- and Nitric Oxide-Induced Systemic Antioxidant Prime-Like Activity Under NaCl-Stress and Stress-Free Conditions in Citrus Plants. *Journal of Plant Physiology*, 166, 1904-1913.

- Ghaderi, N., & Siosemardeh, A. (2011). Response to Drought Stress of Two Strawberry Cultivars (cv. Kurdistan and Selva). *Environment and Biotechnology*, 52, 6-12.
- Gill, S., & Tuteja, N. (2010). Reactive Oxygen Species and Antioxidant Machinery in Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants. *Plant Physiology Biochemistry*, 48, 909-930.
- Gong, H., Zhu, X., Chen, K., Wang, S., & Zhang, C. (2005). Silicon Alleviates Oxidative Damage of Wheat Plants in Pots under Drought. *Plant Science*, 169, 313-321.
- Gorantla, M., Babu, P.R., Lachagari, V.B.R., Reddy, A.M.M., Wusirika, R., Bennetzen, J.L., & Reddy, A.R. (2006). Identification of Stress Responsive Genes in an Indica Rice (*Oryza sativa* L.) Using ESTs Generated from Drought-Stressed Seedlings. *Journal Experiment Botany*, 58, 253-265.
- Guy, C.L., Niemi, K.J., & Brambi, R. (1985). Altered Gene Expression During Cold Acclimation of Spinach. The Proceedings of The National Academy of Sciences Of The USA, 82, 3673-3677.
- Güneş, A., Adak, S., İnal, A., Alpaslan, M., Eraslan, F., Çiçek, N., Kayan, N., & Soylu, B. (2006). Mercimek ve Nohut Bitkilerinde Kuraklığa Bağlı Oksidatif Stres ve Fizyolojik Tolerans Mekanizmalarının Belirlenmesi. Bilimsel Araştırma Projesi Kesin Raporu. Rapor No: 20030711074, 53s.
- Güzel, A. (2006). *Kuraklık Stresine Maruz Bırakılan Domates Bitkilerinde Bazı Fizyolojik Büyüme Parametreleri Üzerine Absisik Asit (ABA) ve Kalsiyum (Ca) Etkisinin İncelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü)
- Halliwell, B. & Gutteridge, J.M.C. (1999). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press. Inc.
- Halliwell, B. (2006). Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology is A Fundamental Theme of Aerobic Life. *Plant Physiology*, 141, 312-322.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J.M.C. (1990). Role of Free Radicals and Catalytic Metal Ions in Human Disease: An Overview. *Methods Enzymology*, 186, 1-85.
- Hansen, J.M., Go, Y.M., & Jones, D.P. (2006). Nuclear and Mitochondrial Compartmentation of Oxidative Stress and Redox Signaling. *Annual Review Pharmacology Toxicology*, 46, 215-217.
- Hasanuzzaman, M., Alam, M.M., Rahman, A., Hasanuzzaman, M., Nahar, K., & Masayuki Fujita, M. (2014). Exogenous Proline and Glycine Betaine Mediated Upregulation of Antioxidant Defense and Glyoxalase Systems Provides Better Protection against Salt-Induced Oxidative Stress in Two Rice (*Oryza sativa* L.) Varieties. *BioMed Research International*, 1-17.

- Hatz, S., Lambert, J.D.C., & Ogilby, P.R. (2007). Measuring The Lifetime of Singlet Oxygen in a Single Cell: Addressing the Issue of Cell Viability. *Photochemical and Photobiological Sciences*, 6, 1106-1116.
- Hermes-Lima, M., Storey, J.M., & Storey, K.B. (2001). *Antioxidant Defenses and Animal Adaptation to Oxygen Availability During Environmental Stress*. Elsevier Press.
- Higuchi, T. (2006). Look Back Over the Studies of Lignin Biochemistry. *Journal Wood Science*, 52, 2-8.
- Hodges, D., Delong, J., Forney, C., & Prange, R. (1999). Improving The Thiobarbituric Acid-Reactive-Substances Assay for Estimating Lipid Peroxidation in Plant Tissues Containing Anthocyanin and other Interfering Compounds. *Planta*, 207, 604-611.
- Hoekstra, F.A., Golovina, E.A., & Buitink, J. (2001). Mechanisms of Plant Desiccation Tolerance. *Trends Plant Science*, 6, 431–438.
- Horemans, N., Foyer, C.H., & Asard, H. (2000). Transport and Action of Ascorbate at the Plant Plasma Membrane. *Trends in Plant Sciences*, 5, 263-267.
- Hossain, A.M., & Asada, K. (1984). Inactivation of Ascorbate Peroxidase in Spinach Chloroplasts on Dark Addition of Hydrogen Peroxide: Its Protection by Ascorbate. *Plant and Cell Physiology*, 25, 1285-1293.
- Hossain, Z., Lopez-Climent, M.F., Arbona, V., Perez-Clemente, R.M., & Gomez-Cadenas, A. (2009). Modulation of the Antioxidant System in *Citrus* Under Waterlogging and Subsequent Drainage. *Journal of Plant Physiology*, 166, 1391-1404.
- Howitt, C.A., & Pogson, B.J. (2006). Carotenoid Accumulation and Function in Seeds and Non-Green Tissues. *Plant Cell and Environment*, 29, 435–445.
- Iba, K., (2002). Acclimative Responses to Temperature Stress in Higher Plants: Approaches of Gene Engineering for Temperature Tolerance. *Annual Review Plant Biology*, 53, 225-245.
- İpek, M., 2015. *In Vitro Şartlarda Garnem ve Myrobolan 29c Anaçlarının Kurak Stresine Karşı Tepkilerinin Belirlenmesi*. Dok. Tez. Fen. Bil. Ens. Selçuk Üni.
- Jaleel, C.A., Manivannan, P., Wahid, A., Farooq, M., Somasundaram, R., & Panneerselvam, R., (2009). Drought Stress in Plants: A Review on Morphological Characteristics and Pigments Composition. *International Journal of Agriculture and Biology*, 11, 100-105.
- Jalmi, S.K., & Sinha, A.K., (2015). ROS Mediated MAPK Signaling in Abiotic and Biotic Stress- Striking Similarities and Differences. *Frontiers Plant Science*, 6,1-9.

- Karuppanapandian, T., Moon, J.C., Kim, C., Manoharan, K., & Kim, W., (2011). Reactive Oxygen Species in Plants: Their Generation, Signal Transduction, and Scavenging Mechanisms. *Australian Journal of Crop Science*, 5, 709-725.
- Kavar, T., Maras, M., Kidric, Sustar-Vozlic, J., & Meglic, V., (2007). Identification of Genes Involved in the Response of Leaves of *Phaseolus vulgaris* to Drought Stress. *Molecular Breeding*, 21, 159-172.
- Keleş, Y., & Ünyayar, S., (2004). Responses of Antioxidant Defence System of *Helianthus annuus* to Abscisic Acid Treatment under Drought and Waterlogging. *Acta Physiologia Plantarum*, 26, 149-156.
- Khan, N.A., Samiullah, S., & Singh, R., (2007). Activities of Antioxidative Enzymes, Sülphür Assimilation, Photosynthetic Activity and Growth of Wheat (*Triticum aestivum*) Cultivars Differing in Yield Potential under Cadmium Stress, *Journal Agricultural Crop Science*. 193 435-444.
- Kılınç, Y., (2011). *Tescilli Haşhaş (Papaver Somniferum L.) Çeşitlerinde Su Stresinin Antioksidant Enzimler Üzerine Etkisi*. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Gaziosmanpaşa Üniversitesi.
- Kıran, S., Kuşvuran, Ş., Ateş, Ç., & Ellialtıoğlu, Ş.Ş. (2017). Aşılı ve Aşısız Patlıcan Bitkilerinin Su Noksanlığı Koşullarındaki Bazı Fizyolojik Özellikleri ve Verim Parametrelerine İlişkin İncelemeler. *Toprak Su Dergisi*, 6,18-25.
- Kıran, S., Özkay, F., Ellialtıoğlu, Ş.Ş., & Kuşvuran, Ş. (2014). Tuz Stresine Tolerans Seviyesi Farklı Domates Genotiplerinin Kuraklık Stresi Koşullarında Bazı Özelliklerinde Meydana Gelen Değişimler. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 31, 41-48.
- Kiffin, R., Bandyopadhyay, U., & Cuervo, A.M. (2006). Oxidative Stress and Autophagy. *Antioxidants & Redox Signaling*, 8, 152-162.
- Kim, M.J., Ciani, S., & Schachtman, D.P. (2010) Response to Potassium Deficiency. *Molecular Plant* 3, 420-427.
- Kumar Patel, P., A. Hemantaranjan, A., Sarma, B.K., & Singh, R. (2011). *Cicer arietinum* L.) as Sustained by Salicylic Acid. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 7, 130-144.
- Kumar, B., Pandey, D.M., Goswami, C.L., & Jain, S. (2001). Effect of Growth Regulators on Photosynthesis. Transpiration and Related Parameters in Water Stressed Cotton. *Biologia Plantarum*, 44, 475-478.
- Kuşvuran, Ş. (2012). Effects of Drought and Salt Stresses on Growth, Stomatal Conductance, Leaf Water and Osmotic Potentials of Melon Genotypes (*Cucumis Melo* L.). *African Journal of Agricultural Research*, 7, 775-781.
- Kwak, J.M., Mori, I.C., Pei, Z.M., Leonhardt, N., Torres, M.A., & Dangl, J. (2003). NADPH Oxidase *AtrbohD* and *AtrbohF* Genes Function in ROS-Dependent ABA Signaling in *Arabidopsis*. *EMBO Journal*, 22, 2623-2633.

- Larbi, A., & Mekliche, A. (2004). Relative Water Content (RWC) and Leaf Senescence as Screening Tools for Drought Tolerance in Wheat. *CIHEAM*, 5, 193-196.
- Larson, R.A. (1988). The Antioxidants of Higher Plants. *Phytochemistry*, 27, 969-978.
- Lawlor, D.W., & Cornic, G. (2002). Photosynthetic Carbon Assimilation and Associated Metabolism in Relation to Water Deficits in Higher Plants. *Plant Cell Environmental*, 25, 275-294.
- Leon, A.M., Palma, J.M., Corpas, F.J., Gomez, M., Romero-Puertas, M.C., Chatterjee, D., Mateos, R.M., del Rio, L.A., & Sandalio, L.M. (2002). Antioxidant Enzymes in Cultivars of pepper Plants with Different Sensitivity to Cadmium. *Plant Physiology Biochemicals*, 40, 813-820.
- Levitt, J. (1980). *Responses of Plants to Environmental Stresses*. Academic Press.
- Li, H., Yang, L.T., Qi, Y.P., Guo, P., Lu, Y.B., & Chen, L.S., (2016). Aluminum Toxicity-Induced Alterations of Leaf Proteome in Two Citrus Species Differing in Aluminum Tolerance. *International Journal Molecular Science*, 17, 1-19.
- Lichtenthaler, H.K. (1996). Vegetation Stress: an Introduction to the Stress Concept in Plants. *Journal Plant Physiology*, 148, 4-14.
- Liu, H.S., Li, F.M., & Xu, H. (2004). Deficiency of Water can Enhance Root Respiration Rate of Drought-Sensitive but not Drought-Tolerant Spring Wheat. *Agricultural Water Manage*, 64, 41-48.
- Løvdal, T., Olsen, K.M., Slimstad, R., Verheul, M., & Lillo, C. (2010). Synergetic Effects of Nitrogen Depletion, Temperature, and Light on the Content of Phenolic Compounds and Gene Expression in Leaves of Tomato. *Phytochemistry*. 71, 605-613.
- Ludlow, M.M., & Muchow, R.C. (1990). A Critical Evaluation of Traits for Improving Crop Yields in Water-Limited Environments, *Advances Agronomy*, 43, 107-153.
- Lutfor Rahman, S.M., Mackay, W.A., Quebedeaux, B., Nawata, E., & Sakuratani, T., Udin, A.S. (2002). Superoxide Dismutase Activity, Leaf Water Potential, Relative Water Content, Growth and Yield of a Drought-Tolerant and a Drought-Sensitive Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Cultivars. *Subtropical Plant Science*, 54, 16-22.
- Machado, D.F.S.P., Ribeiro, R. V., Silveira, J.A.G., Filho, J.R.M., & Machado, E.C. (2013). Rootstocks Induce Contrasting Photosynthetic Responses of Orange Plants to Low Night Temperature Without Affecting the Antioxidant Metabolism. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 25, 26-35.
- Mahajan, S., & N. Tuteja. (2005). "Cold, Salinity and Drought Stresses: An Overview." *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 444, 139-158

- Maisch, T., Baier, J., Franz, B., Maier, M., Landthaler, M., Szeimies, R.M., & Baumler, W. (2007). The Role of Singlet Oxygen and Oxygen Concentration in Photodynamic Inactivation of Bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *104*, 7223-7228.
- Malar, S., Vikram, S.S., Favas, P.J.C., & Perumal, V. (2014). Lead Heavy Metal Toxicity Induced Changes on Growth and Antioxidative Enzymes Level in Water Hyacinths [*Eichhornia crassipes* (Mart.)]. *Botany Student*, *8*, 55-54.
- Manivannan, P., Jaleel, C. A., Sankar, B., Kishorekumar, A., Somasundaram, R., Heerden, P. D. R., Swanepoel, J. W., Kruger, G. H. J., (2007). Modulation of Photosynthesis by Drought in Two Desert Scrub Species Exhibiting C3-Mode CO₂ Assimilation. *Environmental and Experimental Botany*, *61*, 124-136.
- Marnett, L.J. (2000). Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis*, *21*, 361-370.
- Mateo, A., Funck, D., Mühlenbock, P., Kular, B., Mullineaux, P.M., Karpinski, S. (2006). Controlled Levels of Salicylic Acid are Required for Optimal Photosynthesis and Redox Homeostasis. *Journal of Experimental Botany*, *57*, 1795-1807.
- Mathis, P., & Kleo, J. (1973). The Triplet State of β -Carotene and of Analog Polyenes of Different Length. *Photochemical Photobiology*, *18*, 343-346.
- McKersie, B.D., & Leshem, Y.Y. (1994). *Stress and Stress Coping in Cultivated Plants*.
- Millar, A.H., Mittova, V., Kiddle, G., Heazlewood, J.L., Bartoli, C.G., Theodoulou, F.L., & Foyer, C.H. (2003). Control of Ascorbate Synthesis by Respiration and its Implication for Stress Responses, *Plant Physiology*, *133*, 443-447.
- Miller, G., Suzuki, N., Ciftçi-Yılmaz, S., & Mittler, R. (2010). Reactive Oxygen Species Homeostasis and Signalling During Drought and Salinity Stresses. *Plant Cell and Environmental*, *33*, 453-467.
- Mitra, J. (2001). Genetics and Genetic Improvement of Drought Resistance in Crop Plants. *Current Science*, *80*, 1-12.
- Mittler, R., (2002). Oxidative Stress, Antioxidants and Stress Tolerance. *Trends Plant Science*, *7*, 405-410.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M., & Van-Breusegem, F. (2004). Reactive Oxygen Gene Network of Plants. *Trends in Plant Science*, *9*, 490-498.
- Mittler, R., & Zilinskas, B.A. (1992). Molecular Cloning and Characterization of a Gene Encoding Pea Cytosolic Ascorbate Peroxidase. *Journal Biology Chemicals*, *267*, 21802-21807.
- Møller, I.M., Jensen, P.E. & Hansson, A. (2007). Oxidative Modifications to Cellular Components in Plants. *Annual Review of Plant Biology*, *58*, 459-481.

- Moller, I.M. (2001). Plant Mitochondria and Oxidative Stress: Electron Transport, NADPH Turnover, and Metabolism of Reactive Oxygen Species. *Plant Molecular Biology*, 52, 561-591.
- Montillet, J.L., Chamnongpol, S., Rust rucci, C., Dat, J., van de Cotte, B., Agnel, J.P., Battesti, C. Inz , D. Van Breusegem F., & Triantaphylides, C. (2005). Fatty Acid Hydroperoxides and H₂O₂ in the Execution of Hypersensitive Cell Death in Tobacco Leaves, *Plant Physiology*, 138, 1516-1526.
- Mruk, D.D., Silvestrini, B., Meng-Yun, M.O., & Cheng, C.Y. (2002). Antioxidant Superoxide Dismutase -A Review: its Function, Regulation in The Testis, and Role in Male Fertility. *Contraception*, 65, 305-311.
- Mundree, S.G., Baker, B., Mowla, S., Peters, S., Marais, S., Willigen, C.V., Govender, K., Maredza, A., Muyanga, S., Farrant, J.M., & Thomson, J.A. (2002). Physiological and Molecular Insights into Drought Tolerance. *African Journal Biotechnology*, 1, 23-38.
- Murray, R.K., Mayes, P.A., Granner, D.K., & Radwell, V.W. (1993). *Harper'in Biyokimyası*.
- Mytilineou, C., Kramer, B.C., & Yabut, J.A. (2002). Glutathione Depletion and Oxidative Stress. *Parkinsonism Relation*, 24, 385-388.
- Nagy, S., & Attaway, J.A. (1980). *Citrus Nutrition and Quality*. American Chemical Society Symposium Series.
- Nair, A.S., Abraham, T., K., & Jaya, D. S. (2008). Studies on the Changes in Lipid Peroxidation and Antioxidants in Drought Stress Induced Cowpea (*Vigna Unguiculata* L.) Varieties. *Journal of Environmental Biology*, 29, 689-691.
- Navari-Izzo, F., & Rascio, N. (1999). Plant Response to Water-Deficit Condition. In: Handbook of Plant and Crop Stress. CRC Press.
- Nayyar, H., & Gupta, D. (2006). Differential Sensitivity of C3 and C4 Plants to Water Deficit Stress: Association with Oxidative Stress and Antioxidants. *Environmental and Experimental Botany*, 58, 106-113.
- Nayyar, H., Singh, S., Kaur, S., & Kumar, S. (2006). Upadhyaya, Differential sensitivity of *Macrocarpa* and *Microcarpa* types of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) to Water Stress: Association of Contrasting Stress Response with Oxidative Injury. *Journal of Integrative Plant Biology*, 48,1318-1329.
- Neto, A., Prisco, A.D., Eneas-Filho, J.T., Medeiros, J., & Gomes-Filho, J.V.R. (2005). Hydrogen Peroxide Pre-Treatment Induces Stress Acclimation in Maize Plants. *Journal Plant Physiology*, 162, 1114-22.
- Netto, L.E.S., Kowaltowski, A.J., Castilho, R.F., & Vercesi, A.E. (2002). Thiol Enzymes Protecting Mitochondria Against Oxidative Damage. *Methods Enzymology*, 348, 260-270.

- Neves, D.M., Santana-Vieira, D.D.S., Doria, M.S., Freschi, L., Ferreira, C.F., Soares-Filho, W.D.S., Costa, M.G.C., Coelho-Filho, M.A., Micheli, F., & Gesteria, A.D.S. (2018). Recurrent Water Deficit Causes Alterations in the Profile of Redox Proteins in Citrus Plants. *Plant Physiology Biochemicals*, *132*, 497-507.
- Nithithev Narang, N., & Jiraungkoorskul, W. (2016). Anticancer Activity of Key Lime, *Citrus aurantifolia*. *Pharmacognosy Review*, *10*, 118-122.
- Noctor, G., & Foyer, C.H. (1998). Ascorbate and Glutathione: Keeping Active Oxygen Under Control. *Annual Review Plant Physiology*, *49*, 249-279.
- Noctor, G., Veljovic-Jovanovic, S., Driscoll, S., Novitskaya, L., & Foyer, C.H. (2002). Drought and Oxidative Load in the Leaves of C3 Plants: A Predominant Role for Photorespiration?. *Annual Botany*, *89*, 841-850.
- Nordberg, J., & Arner, E.S.J. (2001). Reactive Oxygen Species, Antioxidants, and The Mammalian Thioredoxin System. *Free Radical Biology & Medicine*, *31*, 1287-1312.
- op den Camp, R.G., Przybyla, D., Ochsenbein, C., Laloi, C., Kim, C., Danon, A., Wagner, D., Hideg, E., Gobel, C., Feussner, I., Nater, M., & Apel, K. (2003). Rapid Induction of Distinct Stress Responses After the Release of Singlet Oxygen in Arabidopsis. *Plant Cell*, *15*, 2320-2332.
- Pan, L., Meng, C., Wang, J., Ma, X., Fan, X., Yang, Z., Zhou, M., & Zhang, X. (2018). Integrated Omics Data of Two Annual Ryegrass (*Lolium Multiflorum* L.) Genotypes Reveals Core Metabolic Processes under Drought Stress. *Plant Biology*, *18*, 1-18.
- Panagiota Filippou, P., Antoniou, C., & Fotopoulos. V. (2011). Effect of Drought and Rewatering on the Cellular Status and Antioxidant Response of *Medicago truncatula* plants. *Plant Signaling & Behavior*, *6*, 270-277.
- Parvaiz A., Shahid, U., & Satyawati, S. (2010). Mechanism of Free Radical Scavenging and Role of Phytohormones in Plants Under Abiotic Stresses. *Plant Adaptation And Phytoremediation*, 99-118.
- Pastori, G.M., & Foyer, C.H. (2002). Common Components, Networks, and Pathways of Cross-Tolerance to Stress. The Central Role of Redox and Abscisic Acid Mediated Control. *Plant Physiology*, *129*, 460-468.
- Peng, C.L., Ou, Z.Y., Liu, N., & Lin, G.Z. (2005). Response to High Temperature in Flag Leaves of Super High-Yielding Rice Pei'ai 64S/E32 and Liangyoupeijiu. *Rice Science*, *12*, 179-186.
- Pérez-Clemente, R.M., Montoliu, A., Zandalinas, S.I., de Ollas, C., & Gómez-Cadenas, A. (2012). Carrizo Citrange Plants do not Require The Presence of Roots to Modulate the Response to Osmotic Stress. *Scientific World Journal*, *795396*, 1-13.

- Pfannschmidt, T. (2003). Chloroplast Redox Signals: How Photosynthesis Controls its own Genes. *Trends Plant Science*, 8, 33–41.
- Pilar Soengas, P., Rodríguez, V.M., Velasco, P., & Cartea, M.E. (2018). Effect of Temperature Stress on Antioxidant Defenses in *Brassica oleracea*. *ACS Omega*, 3, 5237-5243.
- Pinto, E., Sigaud-Kutner, T.C.S., Leitao, M.A.S., Okamoto, O.K., Morse, D., & Colepicolo, P. (2003). Heavy Metalinduced Oxidative Stress in Algae. *Journal of Phycology*, 39,1008-1018.
- Price, A., Lucas, P.W., & Lea, P.J. (1990). Age Dependent Damage and Glutathione Metabolism in Ozone Fumigated Barley: A Leaf Section Approach. *Journal of Experimental Botany*, 41, 1309-1317.
- Quan, L.J., Zhang, B., Shi, W.W., & Li, H.Y. (2008). Hydrogen Peroxide in Plants: A Versatile Molecule of the Reactive Oxygen Species Network. *Journal of Integrative Plant Biology*, 50, 2-18.
- Racchi, M.L. (2013). Antioxidant Defenses in Plants with Attention to *Prunus* and *Citrus* spp. *Antioxidants*, 2,340-369.
- Ramachandra Reddy., A, Chaitanya, K.V., Jutur, P.P., & Sumithra, K. (2004). Differential Antioxidative Responses to Water Stress Among Five Mulberry (*Morus Alba* L.) Cultivars. *Environmental And Experimental Botany*, 52, 33–42.
- Ramos, M.L.G., Gordon, A.J., Minchin, F.R., Sprent J.I., & Parsons, R. (1999). Effect of Water Stress on Nodule Physiology and Biochemistry of a Drought Tolerant Cultivar of Common Bean (*Phaseolus Vulgaris* L.). *Annals of Botany*, 83, 57–63.
- Rangani, J., Panda, A., Patel, M., & Parida, A.K. (2018). Regulation of ROS through Proficient Modulations of Antioxidative Defense System Maintains the Structural and Functional Integrity of Photosynthetic Apparatus and Confers Drought Tolerance in the Facultative Halophyte *Salvadora persica* L. *Journal of Photochemistry & Photobiology*,189, 214-233.
- Rasmusson, A.G., Geisler, D.A., & Møller, I.M. (2008). The Multiplicity of Dehydrogenases in the Electron Transport Chain of Plant Mitochondria. *Mitochondrion*, 8, 47–60.
- Rasmusson, A.G., Soole, K.L., & Elthon, T.E. (2004). Alternative NAD(P)H Dehydrogenases of Plant Mitochondria, *Annual Review Plant Biology*, 55, 23-39.
- Reddy, A.R., & Raghavendra, A.S. (2006). Photooxidative stress. Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants. *Springer*, 157-186.
- Ren, J., Sun, L.N., Zhang, Q. Y., & Song, X.S. (2016). Drought Tolerance is Correlated with the Activity of Antioxidant Enzymes in *Cerasus Humilis* Seedlings. *Biomed Research International*, 9, 1-17.

- Reyes, L.F., & Cisneros- Zevallos, L. (2003). Wounding Stress Increases the Phenolic Content and Antioxidant Capacity of Purple-Flesh Potatoes (*Solanum tuberosum* L.). *Journal Agricultural Food Chemicals*, 27, 296-300.
- Rivero, R.M., Ruiz, J.M., Garcí'A, P.C., Lo' Pez-Lefebvre, L.R., Sa'Nchez, E., & Romero, L. (2001). Resistance to Cold and Heat Stress: Accumulation of Phenolic Compounds in Tomato and Watermelon Plants, *Plant Science*, 160, 315–321,
- Rodriguez, E.S., Wilhelmi, M.R., Cervilla, L., Blasco, B., Rios, J.J., Rosales, M.A., Romero, L., & Ruiz J.M. (2010). Genotypic Differences in Some Physiological Parameters Symptomatic for Oxidative Stress under Moderate Drought in Tomato Plants, *Plant Science*, 178, 30–40.
- Rosales, M.A., Ocampo, E., Rodríguez-Valentin, R., Olvera- Carrillo, Y., Acosta-Gallegos, J., & Covarrubias, A.A. (2012). Physiological Analysis of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Cultivars Uncovers Characteristics Related to Terminal Drought Resistance. *Plant Physiology Biochemicals*, 56, 24-34.
- Singh, S.K., Sharma, H.C., Goswami, A.M., Datta, S.P., & Singh, S.P. (2000). *In vitro* Growth and Leaf Composition of Grapevine Cultivars as Affected by Sodium Chloride. *Biologia Plantarum*, 43, 283-286.
- Sairam, R.K., Rao, K.V., & Srivastava, G.C. (2004). Differential Response of Wheat Genotypes to Long Term Salinity Stress in Relation to Oxidative Stress, Antioxidant Activity and Osmolyte Concentration. *Plant Science*, 163, 1037-1046.
- Sairam, R.K., & Srivastava, G.S. (2001). Water Stress Tolerance of Wheat (*Triticum Aestivum* L.): Variations in Hydrogen Peroxide Accumulation and Antioxidant Activity in Tolerant and Susceptible Genotypes. *Journal Agronomy Crop Science*, 186, 63-70.
- Salisbury, F.B., & Ross, C.W. (2009). *Plant Physiology*. Cengage Learning.
- Serbinova, E.A., & Packer, L. (1994). Antioxidant Properties of A-Tocopherol and A-Tocotrienol. *Methods in Enzymology*, 234, 354-366.
- Serraj, R., & Sinclair, T.R. (2002). Osmolyte Accumulation: Can it Really Help Increase Crop Yield Under Drought Conditions? *Plant Cell Environmental*, 25, 333-341.
- Sewelam, N., Kazan, K., & Schenk, P.M. (2016). Global Plant Stress Signaling: Reactive Oxygen Species at the Cross-Road. *Frontiers in Plant Science*, 187, 5-6.
- Sgherri, C.L.M., Maffei, M., & Navari-Izzo, F. (2000). Antioxidative Enzymes in Wheat Subjected to Increasing Water Deficit and Rewatering. *Journal Plant Physiology*, 157, 273- 279.
- Shakir, S.K., İrfan, S., Akhtar, B., Rehman, S.U., Daud, M.K., Nadia Taimur, N., & Azizullah, A. (2018). Pesticide-Induced Oxidative Stress and Antioxidant

- Responses in Tomato (*Solanum Lycopersicum*) Seedlings. *Ecotoxicology*, 27, 919–935.
- Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., & Pessarakli, M. (2012). Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants Under Stressful Conditions. *Journal Botany*, 21, 703-715.
- Shi, H., Wang, Y., Cheng, Z., Ye, T., & Chan, Z. (2012). Analysis of Natural Variation in Bermudagrass (*Cynodon dactylon*) Reveals Physiological Responses Underlying Drought Tolerance. *Plos One*, 7, 1-12.
- Sieferman-Harms, D. (1987). The Light Harvesting Function of Carotenoids in Photosynthetic Membrane. *Plant Physiology*, 69, 561-568.
- Sies, H. (1991). Oxidative Stress: From Basic Research to Clinical Application. *American Journal of Medicine*, 91, 31-38.
- Singh, S., Anjum, N.A., Khan, N.A., & Nazar, R. (2008). Metal-Binding Peptides and Antioxidant Defence System in Plants: Significance in Cadmium Tolerance. *Abiotic Stress and Plant Responses*, Springer. (pp.159-189)
- Škerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hraš, A.R., Simonič, M., & Knez, Ž. (2005). Phenols, Proanthocyanidins, Flavones and Flavonols in Some Plant Materials and Their Antioxidant Activities. *Food Chemicals*, 89, 191-198.
- Smirnoff, N. (2000). Ascorbic Acid: Metabolism and Functions of a Multifaceted Molecule. *Current Opinion in Plant Biology*, 3, 229-235.
- Somasundaram, R., Jaleel, C. A., Azooz, M. M., Abraham, S. S., Gomathinayagam, M., & Panneerselvam, R. (2009). Induction of Drought Stress Tolerance by Paclobutrazol and Abscisic Acid in Gingelly (*Sesamum indicum* L.). *Global Journal of Molecular Sciences*, 4, 49-55.
- Spiteller, G. (2003). The Relationship Between Changes in the Cell Wall, Lipid Peroxidation, Proliferation, Senescence and Cell Death. *Physiology Plant*, 119, 5-18.
- Su, X., We, F., Huo, Y., & Xia, Z. (2017). Comparative Physiological and Molecular Analyses of Two Contrasting Flue-Cured Tobacco Genotypes under Progressive drought Stress. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1-13.
- Subba, P., Mukhopadhyay, M., Mahato, S.K., Bhutia, K.D., Mondal, T.K., & Ghosh, S.K. (2014). Zinc Stress Induces Physiological, Ultra-Structural and Biochemical Changes in Mandarin Orange (*Citrus reticulata* Blanco) Seedlings. *Physiolgy Molecular Biology Plants*, 20, 461-473.
- Subbarao, G.V., Nam, N.H., Chauhan, Y.S., & Johansen, C. (2000). Osmotic Adjustment, Water Relations and Carbohydrate Remobilization in Pigeonpea Under Water Deficits. *Journal Plant Physiology*, 157, 651-659.

- Süyüm, K. (2011). *Karpuz Genetik Kaynaklarının Tuzluluk ve Kuraklığa Tolerans Seviyelerinin Belirlenmesi*. (Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü)
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2006). *Plant Physiology*. Sinauer Associates Inc. Publishers.
- Topçu, Y., Dogan, A., Şahin-Nadeem, H., Polat, E., Kasımoğlu, Z., & Erkan, M. (2018). Morphological and Biochemical Responses of Broccoli Florets Tosupplemental Ultraviolet-B İllumination. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 259, 1-10.
- Torres, M.A., & Dangl, J.L. (2005). Functions of the Respiratory Burst Oxidase in Biotic Interactions, Abiotic Stress and Development, *Current Opinion in Plant Biology*, 8, 397-403.
- Triantaphylidès, C., Krischke, M., Hoerberichts, F.A., Ksas, B., Gresser, G., Havaux, M., Van Breusegem, F., & Mueller, M.J. (2008). Singlet Oxygen is the Major Reactive Oxygen Species Involved in Photooxidative Damage to Plants. *Plant Physiology*, 148, 960-968.
- Tripathy, B.C., & Oelmüller, R. (2012). Reactive Oxygen Species Generation and Signaling in Plants. *Plant Signaling & Behavior*, 7, 1621-1633.
- Tuteja, N., Ahmad, P., Panda, B.B., & Tuteja, R. (2009). Genotoxic Stress in Plants: Shedding Light on DNA Damage, Repair and DNA Repair Helicases, *Mutation Research*, 681, 134-149.
- Valavanidis, A., Vlahogianni, T., Dassenakis, M. & Scoullou, M. (2006). Molecular Biomarkers of Oxidative Stress in Aquatic Organisms in Relation to Toxic Environmental Pollutants. *Ecotoxicology Environmental*, 64, 178-179.
- Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., & Mazur, M. (2006). Free Radicals, Metals and Antioxidants in Oxidative Stress-Induced Cancer. *Chemical Biology Interaction*, 160, 1-40.
- Vandenabeele, S., Vanderauwera, S., Vuylsteke, M., Rombauts, S., Langebartels, C., Seidilitz, H.K., Zabeau, M., Van Montagu, M., Inze, D., & Van Breusegem, F., (2004). Catalase Deficiency Drastically Affects Gene Expression Induced by High Light in *Arabidopsis Thaliana*. *Plant Journal*, 39, 45-58.
- Velikova, V., Yordanov, I., & Edreva, A. (2000). Oxidative Stress and Some Antioxidant Systems in Acid Rain Treated Bean Plants Protective Role of Exogenous Polyamines. *Plant Science*, 151, 59-66.
- Wang, J., Zhang, H., & Allen, R.D. (1999). Overexpression of an Arabidopsis Peroxisomal Ascorbate Peroxidase Gene in Tobacco Increases Protection Zgainst Oxidative Stress. *Plant Cell Physiology*, 40, 725-732.
- Wilhite, D.A., & Glantz, M.H. (1985). Understanding the Drought Phenomenon: The Role of Definitions. *International Drought Mitigation Center Faculty Publications*, 10, 111-120.

- Xiang, C., Werner, B.L., Christensen, E.M., & Oliver, D.J. (2001). The Biological Function of Glutathione Revisited in *Arabidopsis* Transgenic Plants with Altered Glutathione Levels. *Plant Physiology*, *126*, 564-574.
- Xu, L., Han, L., & Huang, B. (2011). Antioxidant Enzyme Activities and Gene Expression Patterns in Leaves of Kentucky Bluegrass in Response to Drought and Post-drought Recovery. *Journal American Society Horticultural Science*, *136*, 247–255.
- Yoo, K, M., Lee, K.W., Park, J.B., Lee, H.J., & Hwang, I.K. (2004). Variation in Major Antioxidants and Total Antioxidant Activity of Yuzu (*Citrus junos Sieb ex Tanaka*) During Maturation and Between Cultivars. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, *52*, 5907-5913.
- Yost, F.J., & Fridovich, I. (1973). An Iron-Containing Superoxide Dismutase from *Escherichia Coli*. *Journal Biology Chemicals*, *248*, 4905-4908.
- Young, T.E., Meeley, R.B., & Gallie, D.R. (2004). ACC Synthase Expression Regulates Leaf Performance and Drought Tolerance in Maize, *Plant Journal*, *40*, 813–825.
- Yu, J., Jin, X., Sun, X., Gao, T., Chen, X., She, Y., Jiang, T., Chen, S., & Dai, S. (2017). Hydrogen Peroxide Response in Leaves of Poplar (*Populus simonii* × *Populus nigra*) Revealed from Physiological and Proteomic Analyses. *International Journal Molecular Science*, *18*, 1-26.
- Zandalinas, S.I., Rivero, R.M., Martínez, V., Gómez-Cadenas, A., & Arbona, V. (2016). Tolerance of *Citrus* Plants to the Combination of High Temperatures and Drought is Associated to the Increase in Transpiration Modulated by a Reduction in Abscisic Acid Levels. *BMC Plant Biology*, *16*, 1-12.
- Zandalinas, S.I., Balfagón, D., Arbona, V., & Gómez-Cadenas, A. (2017). Modulation of Antioxidant Defense System is Associated with Combined Drought and Heat Stress Tolerance in *Citrus*. *Frontiers in Plant Science*, *8*, 1-9.
- Zandalinas, S.I., Balfagón, D., Arbona, V., & Gómez-Cadenas, A. (2018). Regulation of *Citrus* Responses to the Combined Action of Drought and High Temperatures Depends on the Severity of Water Deprivation. *Physiologia Plantarum*, *162*, 427-38.
- Zhang, C., & Shi, S. (2018). Physiological and Proteomic Responses of Contrasting Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Varieties to PEG-Induced Osmotic Stress. *Frontiers in Plant Science*, *9*, 1-21.
- Zlatev, Z.S., Lidon, F.C., Ramalho, J C., & Yordanov, I.T. (2006). Comparison of Resistance to Drought of Three Bean Cultivars. *Biology Plantarum*, *50*, 389–394.
- Zolla, L., & Rinalducci, S. (2002). Involvement of Active Oxygen Species in Degradation of Light-Harvesting Proteins under Light Stresses. *Biochemistry*, *41*, 14391–14402.

Zonouri, M., Javadi, T., & Ghaderi, N. (2014). Effect of Foliar Spraying of Ascorbic Acid on Cell Membrane Stability, Lipid Peroxidation, Total Soluble Protein, Ascorbate Peroxidase and Leaf Ascorbic Acid Under Drought Stress in Grapes. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, 4, 349-354.



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Büşra ARSLAN

Doğum Yeri ve Yılı : Antalya, 1994

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

E-posta : busrarslan60@gmail.com

Eğitim Durumu

Lise : Avsallar Recep Karaca Çok Programlı Lisesi, 2011

Lisans : Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, 2016