

**ASPIR GENOTİPLERİNDE KURAKLIĞA DAYANIKLILIĞIN
FİZYOLOJİK, BİYOKİMYASAL VE MOLEKÜLER
DÜZEYDE İNCELENMESİ**

**INVESTIGATION OF DROUGHT TOLERANCE AT
PHYSIOLOGICAL, BIOCHEMICAL AND MOLECULAR
LEVEL IN SAFFLOWER GENOTYPES**

ŞEKÜRE ÇULHA ERDAL

PROF. DR. YASEMİN EKMEKÇİ

Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin
Biyoloji Anabilim Dalı için Öngördüğü
DOKTORA TEZİ olarak hazırlanmıştır

2017

Şeküre ÇULHA ERDAL'ın hazırladığı “**Aspir Genotiplerinde Kuraklığa Dayanıklılığın Fizyolojik, Biyokimyasal ve Moleküler Düzeyde İncelenmesi**” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**'nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Zeki KAYA
Başkan

Prof. Dr. Yasemin EKMEKÇİ
Danışman

Prof. Dr. Emine SÜMER ARAS
Üye

Doç. Dr. Remziye YILMAZ
Üye

Doç. Dr. Nuran ÇİÇEK
Üye

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **DOKTORA TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof.Dr. Menemşe GÜMÜŞDERELİOĞLU
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

YAYINLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanması zorunlu metinlerin yazılı izin alarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

- Tezimin/Raporumun tamamı dünya çapında erişime açılabilir ve bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.**

(Bu seçenekle teziniz arama motorlarında indekslenebilecek, daha sonra tezinizin erişim statüsünün değiştirilmesini talep etmeniz ve kütüphane bu talebinizi yerine getirirse bile, tezinin arama motorlarının önbelleklerinde kalmaya devam edebilecektir.)

- Tezimin/Raporumun Haziran 2018 tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını (İç Kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç) istemiyorum.**

(Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde, tezimin/raporumun tamamı her yerden erişime açılabilir, kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı ve ya tamamının fotokopisi alınabilir)

- Tezimin/Raporumun tarihine kadar erişime açılmasını istemiyorum, ancak kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisinin alınmasını onaylıyorum.**

- Serbest Seçenek/Yazarın Seçimi**

14.06.2017

Şeküre ÇULHA ERDAL

ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada,

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversitede veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

05.06.2017



ŞEKÜRE ÇULHA ERDAL

ÖZET

ASPIR GENOTİPLERİNDE KURAKLIĞA DAYANIKLILIĞIN FİZYOLOJİK, BİYOKİMYASAL VE MOLEKÜLER DÜZEYDE İNCELENMESİ

Şeküre ÇULHA ERDAL

Doktora, Biyoloji Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Yasemin EKMEKÇİ

İkinci Tez Danışmanı: Prof. Dr. Füsun İNCİ EYİDOĞAN

Haziran 2017, 231 sayfa

Çalışmada, kuraklık stresine dayanıklı aspir (*Carthamus tinctorius* L.) çeşit ve hatlarının belirlenmesi ve bu genotipler ile kuraklığa dayanıklı olduğu bilinen yabancı aspir türü *Carthamus oxyacantha*'nın kuraklık stresine verdiği cevapların incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışma 3 aşamadan oluşmaktadır; 1. aşamada (seleksiyon) ülkemizde yetiştirilen 4 tescilli aspir çeşitleri ve 8 ıslah hatlarının kuraklık stresine karşı dayanıklılıkları ile iyileşme kapasiteleri orta (5 gün) ve şiddetli kuraklık (7 gün) ile onların yeniden sulama sürelerinde (5 gün), polifazik klorofil a fluoresansı kinetikleri; biyokimyasal (iyon sızıntısı ve pigment içeriği) ve fizyolojik (toprak ve yaprak su potansiyeli ile nispi su içeriği) ölçümleri ile taranmıştır, genotipler puanlandırıldıktan sonra dayanıklılık derecelerine göre sınıflandırılmıştır. 2. aşamada (karakterizasyon); seçilen dayanıklı ve hassas genotipler ile yabancı aspir türünde kuraklığın (7 gün) ve yeniden sulama koşullarının (5 gün) etkisi; morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal değişimler ile karakterize edilmiştir. 3. aşamada ise aspir genotiplerinde (dayanıklı; Remzibey-05 ve duyarlı; Linas çeşidi ile yabancı aspir) kuraklık koşulları altında protein ifadelerindeki değişimler proteomik analizler ile incelenmiştir.

Seleksiyon aşamasında polifazik klorofil a fluoresansı ile bazı fizyolojik ve biyokimyasal analizlerden elde edilen sonuçlara göre hesaplanan kuraklık (KFI) ve

iyileşme (IFI) faktör indeksleri, hasar indeksleri ve iyileşme potansiyellerine göre genotipler kuraklığa dayanıklı (Remzibey-05 ile AÖVD-L/14), orta derece dayanıklı ve hassas (Linac ve AÖVD-L/12) olarak sınıflandırılmıştır. Karakterizasyon sonuçları; kuraklığın aspir genotiplerinde büyüme ve gelişmenin azalmasına neden olduğunu göstermiştir. yeniden sulama koşullarında ise genotipler kuraklığa dayanıklılıklarına göre iyileşme sağlayabilmiştir. Morfolojik analizler ise aspir genotiplerinde kuru ağırlığın stresin etkilerini belirlemede bitki boyu, yaprak sayısı ve taze ağırlığına kıyasla daha seçici bir parametre olduğunu ortaya koymuştur. Kuraklık koşullarında, nispi su içeriği, fotosentetik aktivite ve pigment içeriği genel olarak *C. oxyacantha*'da önemli düzeyde değişmezken; diğer genotiplerde azalmıştır ve en fazla iyileşme Remzibey-05'de belirlenmiştir. Stres koşullarında, en düşük membran hasarı *C. oxyacantha*'da belirlenirken; en yüksek Linac'ta bulunmuştur. Hidrojen peroksit (H₂O₂), prolin, antosiyanin ve flavonoid miktarı ile bazı antioksidan enzim aktivitelerinin [süperoksit dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (APX), glutatyon redüktaz (GR) ve peroksidaz (POD)] *C. oxyacantha*'da diğer genotiplerin kontrollerine göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. H₂O₂ çeşit ve hatlarda kuraklık koşullarında önemli düzeyde artmıştır. Bununla birlikte; yeniden sulamada en fazla Remzibey-05'de azaltır. Prolin, antosiyanin ve flavonoid miktarı ile antioksidan enzim aktivitelerinden [SOD, APX, GR, POD, katalaz (CAT) ve aldoz redüktaz (ALR)] elde edilen sonuçlar bu bulguları destekler niteliktedir. Proteomik analizlerde, genotiplerde farklı şekilde ifade olan 72 proteinden 47 tanesi MALDI-TOF/TOF MS/MS kütle spektrometresi ile ilgili veri tabanları kullanılarak tanımlanmıştır. Kuraklık koşullarında ifadesi değişen proteinlerin çoğunun fotosentez ve karbohidrat metabolizmasında yer aldığı saptanmıştır. Genotiplerin protein ifadelerindeki değişimler; Remzibey-05'in *C. oxyacantha*'ya benzer şekilde kuraklıkta metabolik aktivitelerini sınırlandırarak stres etkisini azalttığını ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: Aspir (*Carthamus tinctorius* L.), kuraklık, polifazik klorofil a fluoresans kinetikleri, antioksidan savunma sistemi, proteom değişimleri

ABSTRACT

INVESTIGATION OF DROUGHT TOLERANCE AT PHYSIOLOGICAL, BIOCHEMICAL AND MOLECULAR LEVEL IN SAFFLOWER GENOTYPES

Şeküre ÇULHA ERDAL

Doctor of Philosophy, Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Yasemin EKMEKÇİ

Co-supervisor: Prof. Dr. Füsün İNCİ EYİDOĞAN

June 2017, 231 pages

In the study, it was aimed to determine the cultivars and lines of drought tolerant safflower (*Carthamus tinctorius* L.) and to investigate the responses of these genotypes to the drought stress with the wild safflower *Carthamus oxyacantha*, which is known to be resistant to drought. The study consists of 3 stages; at stage 1 (selection), 4 registered aspir cultivars and 8 lines grown in our country were screened for drought stress tolerance with recovery capacities during moderate (5 days) and severe (7 days) drought and their re-irrigation periods (5 days) using polyphasic chlorophyll *a* fluorescence kinetics, biochemical (ion leakage and pigment content) and physiological measurements (soil and leaf water potential with relative water content), genotypes were classified after scored data according to their tolerance rates. At stage 2 (characterization); the impact of drought (7 days) and re-irrigation conditions (5 days) on selected tolerant and sensitive genotypes and wild safflower genotypes were characterized with morphological, physiological and biochemical changes. At stage 3, changes in protein expression in safflower genotypes (tolerant; Remzibey-05 and sensitive; Linas cultivars with wild safflower) under drought conditions were explored by proteomic analysis.

At selection phase, genotypes were classified as resistant to drought (Remzibey-05 and AÖVD-L/14), moderate tolerant and sensitive (Linas and AÖVD-L/12)

according to the drought (KFI) and recovery factor indexes (IFI), damage indices and recovery potentials calculated according to the results obtained from some physiological and biochemical analyzes with polyphasic chlorophyll *a* fluorescence. Characterization results showed that the drought causes to decrease of the growth and development of the safflower genotypes. In the case of re-irrigation conditions, genotypes can recover according to their tolerance to drought. Morphological analyzes exhibited that dry weight of safflower genotypes is a more selective parameter than other parameters such as plant height, number of leaves and fresh weight in determining the effects of stress. While relative water content, photosynthetic activity and pigment content were generally unchanged in *C. oxyacantha* under drought conditions; the other genotypes decreased and the maximum improvement was determined in Remzibey-05. Under stress conditions the lowest membrane damage was determined in *C. oxyacantha*, but the highest was in Linas. It was determined that hydrogen peroxide (H₂O₂), proline, anthocyanin and flavonoid amount with some antioxidant enzyme activities [superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX), glutathione reductase (GR) and peroxidase (POD)] were higher in *C. oxyacantha* than they were in the controls of other genotypes. H₂O₂ content was increased significantly in drought conditions in varieties and lines. However, the most decrease was in Remzibey-05 at rewatering. The results obtained from proline, anthocyanin and flavonoid amount and antioxidant enzyme activities [SOD, APX, GR, POD, catalase (CAT) and aldose reductase (ALR)] support these findings. In proteomic analyzes, 47 of the 72 proteins expressed differentially in the genotypes were identified using databases related to the MALDI-TOF/TOF MS/MS mass spectrometer. Most of the proteins which changed their expression under drought conditions were found to be involved in photosynthesis and carbohydrate metabolism. Changes in protein expression of genotypes were exhibited that Remzibey-05 is similar to *C. oxyacantha* by limiting its metabolic activities in drought, thereby reducing stress.

Keywords: Safflower (*Carthamus tinctorius* L.), drought, polyphasic chlorophyll *a* fluorescence kinetics, antioxidative defence system, proteom changes

TEŞEKKÜR

Çalışmanın her aşamasında büyük bir sabır ve özveri ile tüm bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan ve benden hiçbir zaman desteğini esirgemeyip daima yol gösteren tez danışmanım değerli hocam Sayın Prof. Dr. Yasemin EKMEKÇİ'ye, bilimsel görüşleri ve deneyimleri ile çalışmalarımın her zaman destek olan değerli ikinci tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Füsun İNCİ EYİDOĞAN'a;

Bilgileri ve deneyimleri ile bana yol göstererek destek olan tez izleme komitesi üyesi değerli hocalarım Sayın Doç. Dr. Remziye YILMAZ'a ve Sayın Doç. Dr. Nuran ÇİÇEK'e;

Laboratuvar olanakları kullanmadaki katkılarından dolayı Sayın Prof. Dr. Rukiye TIPIRDAMAZ'a; Prof. Dr. Zafir EKMEKÇİ'ye; Uzm. Yasemin ÖZTÜRK'e; Prof. Dr. Hatice MERGEN'e, Arş. Gör. Dr. Emel SAĞLAR'a, Arş. Gör. Tuğçe KARADUMAN'a ve Arş. Gör. Merve ÖZCAN'a; çalışma kapsamında kullanılan aspir tohumlarının temini için Dr. Metin BABAOĞLU ve Dr. Veli PEKCAN'a; kütle spektrometresi analizlerindeki yardımlarından dolayı Prof. Dr. Murat KASAP'a ve Doç. Dr. Gürler AKPINAR'a; protein ekstraksiyonundaki ön çalışmalara yardımlarından dolayı Sayın Prof. Dr. Mustafa YILDIZ'a ve Yrd. Doç. Dr. Hakan TERZİ'ye;

Çalışmalarımın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Dr. Handan SEVİM'e, Dr. Egemen FOTO'ya, Arş. Gör. Dr. Fatma ZİLİFDAR'a, Araş. Gör. Dr. Seçil KARAHİSAR'a;

Tezimin her aşamasında yanımda olan, kendi işi gibi özverili çalışan ve bana her zaman destek olup benden arkadaşlığını esirgemeyen canım dostum Araş. Gör. Ayşe Suna BALKAN NALÇAIYI'ye ve sevgili eşi Ahmet NALÇAIYI'ye;

Her zaman sevgileri ve özverileri ile yanımda hissettiğim canım aileme,

Tez süresi boyunca her zaman yanımda olan beni hep destekleyen ve beni herşeyin çok güzel olacağına inandıran sevgili eşim Ali ERDAL'a

Doktora süresince "2211-A Yurt İçi Lisansüstü Doktora Burs Programı" kapsamında burs sağlayan TÜBİTAK'a ve

Bu araştırmayı, 214Z058 nolu proje kapsamında destekleyen TÜBİTAK/KBAG'a; çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xvi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	xviii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Aspir Bitkisi.....	4
2.1.1. Taksonomisi ve Kökeni.....	4
2.1.2. Morfolojisi, Gelişim Evreleri ve Biyokimyasal Yapısı	4
2.1.3. Ekolojisi ve Tarımı	7
2.1.4. Dünya ve Türkiye’de Üretimi.....	7
2.1.5. Türkiye’nin Tescilli Aspir Çeşitleri.....	7
2.1.6. Kullanım Alanları	7
2.1.7. Aspir Bitkisini Etkileyen Stres Faktörleri	8
2.2. Kuraklık Stresi ve Bitkiler Üzerine Etkisi.....	9
2.2.1. Morfolojik Etkiler	10
2.2.2. Mekanik Etkiler.....	10
2.2.2.1. Su ve İyon Durumundaki Değişimler.....	10
2.2.2.2. Membran Yapısındaki Değişimler.....	12
2.2.3. Metabolik Etkiler.....	13
2.2.3.1. Fotosentez Aktivitesindeki Değişimler.....	13
2.2.3.1.1. Stomatal Sınırlamalar.....	13
2.2.3.1.2. Stomatal Olmayan Sınırlamalar.....	16
2.2.3.2. Solunum Metabolizmasındaki Değişimler	18
2.2.4. Oksidatif Etkiler.....	19
2.2.4.1. Aktif Oksijen Türleri.....	20
2.2.4.2. AOT’lerin Detoksifikasyonu.....	21

2.3. Bitkilerde Kuraklık Stresine Karşı Geliştirilen Dayanıklılık Mekanizmaları	24
2.3.1. Morfolojik Mekanizma.....	25
2.3.2. Fizyolojik Mekanizma.....	25
2.3.3. Biyokimyasal Mekanizma.....	26
2.3.3.1. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	26
2.3.3.2. Bitki Büyüme Düzenleyicileri.....	26
2.3.3.3. Osmotik Düzenleyiciler.....	28
2.3.4. Moleküler Mekanizmalar.....	29
2.3.4.1. Gen İfadesi Düzeyindeki Değişimler.....	29
2.3.4.2. Proteom Düzeyindeki Değişimler.....	33
3. MATERYAL ve METOD.....	40
3.1. Bitki materyali.....	40
3.2. Bitki Yetiştirme Yöntemi.....	40
3.3. I. Aşama: Seleksiyon.....	42
3.3.1. Bitki Materyali.....	42
3.3.2. Uygulamalar.....	42
3.3.3. Ölçüm ve Analizler.....	44
3.3.3.1. Klorofil a Floresans Kinetikleri.....	44
3.3.3.2. Fizyolojik Ölçümler.....	50
3.3.3.2.1. Yaprak Nispi Su İçeriğinin Belirlenmesi.....	50
3.3.3.2.2. Yaprak Su Potansiyelinin Belirlenmesi.....	50
3.3.3.2.3. Toprak Su Potansiyelinin Belirlenmesi.....	50
3.3.3.3. Biyokimyasal Ölçümler.....	51
3.3.3.3.1. Yapraklardaki Fotosentetik Pigment İçeriklerinin Belirlenmesi.....	51
3.3.3.3.2. Yapraklardaki İyon Sızıntısı Oranının Belirlenmesi.....	51
3.3.4. Puanlama.....	52
3.4. II. Aşama: Karakterizasyon.....	53
3.4.1. Bitki Materyali.....	53
3.4.2. Uygulamalar.....	53
3.4.3. Ölçüm ve Analizler.....	55
3.4.3.1. Morfolojik Ölçümler.....	55
3.4.3.1.1. Bitki Boyu ve Yaprak Sayısı Ölçümleri.....	55
3.4.3.1.2. Taze ve Kuru Ağırlık Ölçümleri.....	55

3.4.3.2. Fizyolojik Ölçümler.....	56
3.4.3.2.1. Nispi Su İçeriğinin Belirlenmesi.....	56
3.4.3.3. Fotosentetik Ölçümler.....	56
3.4.3.3.1. Fotokimyasal Ölçümler.....	56
3.4.3.4. Biyokimyasal Ölçümler.....	57
3.4.3.4.1. Klorofil a ve Klorofil b Miktarları, Klorofil a/b Oranı ile Toplam Klorofil ve Karotenoid Miktarı ile Klorofil Stabilite İndeksinin Belirlenmesi.....	57
3.4.3.4.2. Malondialdehit (MDA) ve Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂) Miktarının Belirlenmesi.....	57
3.4.3.4.3. Prolin Miktarının Belirlenmesi.....	58
3.4.3.4.4. Antosiyenin ve Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi.....	58
3.4.3.5. Antioksidan Enzim Aktiviteleri Ölçümleri.....	59
3.4.3.5.1. Protein İçeriğinin Belirlenmesi.....	59
3.4.3.5.2. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Belirlenmesi.....	59
3.4.3.5.3. Askorbat Peroksidaz (APX) Aktivitesinin Belirlenmesi.....	59
3.4.3.5.4. Glutasyon Redüktaz (GR) Aktivitesinin Belirlenmesi.....	60
3.4.3.5.5. Peroksidaz (POD) Aktivitesinin Belirlenmesi.....	60
3.4.3.5.6. Katalaz (CAT) Aktivitesinin Belirlenmesi.....	60
3.4.3.5.7. Aldoz Redüktaz (ALR) Aktivitesinin Belirlenmesi.....	61
3.5. III. Aşama: Proteomik.....	61
3.5.1. Bitki Materyali.....	61
3.5.2. Uygulamalar.....	61
3.5.3. Proteomik Analizler.....	63
3.5.3.1. Toplam Protein Ekstraksiyonu	63
3.5.3.2. Proteinlerin Çözdürülmesi ve Toplam Protein Miktarının Tayini.....	63
3.5.3.3. İki-yönlü poliakrilamid jel elektroforezi (2-D)	64
3.5.3.4. Jellerin Boyanması ve Görüntü Analizi.....	64
3.5.3.5. Jeldeki Proteinlerin Tripsin ile Kesimi.....	65
3.5.3.6. Kütle Spektrometresi Analizleri	65
3.5.3.7. Biyoinformatik Analizler.....	66
3.6. İstatistiksel Analizler.....	66
4. BULGULAR.....	67

4.1. Seleksiyon Aşamasında Elde Edilen Bulgular.....	67
4.1.1. Kuraklık ve Yeniden Sulama Uygulamalarında Genotiplerin Fotokimyasal Etkinlik.....	67
4.1.1.1. Kuraklık ve Yeniden Sulama Uygulamalarında Genotiplerde Fotosentetik PI_{abs} (Performans indeksi)	67
4.1.1.2. Kuraklık ve Yeniden Sulama Uygulamalarında Genotiplerde Fotosentetik PI_{top} (Toplam performans indeksi)	69
4.1.1.3. Kuraklık ve Yeniden Sulama Uygulamalarında Genotiplerdeki Fotosentetik Etkinliği Ortaya Koyan Bazı JIP Testi Parametreleri...	71
4.1.1.4. Kuraklık Faktör İndeksi (KFI)	77
4.1.1.4.1. PI_{abs} için KFI.....	77
4.1.1.4.2. PI_{top} için KFI.....	78
4.1.1.5. İyileşme Faktör İndeksi (IFI)	79
4.1.1.5.1. PI_{abs} için IFI.....	79
4.1.1.5.2. PI_{top} için IFI.....	79
4.1.2. Kuraklık ve Yeniden Sulama Uygulamalarında Genotiplerindeki Fizyolojik Ölçümler.....	80
4.1.2.1. Kuraklık ve Yeniden Sulama Uygulamalarında Genotiplerin Yaprak Nispi Su İçeriği.....	80
4.1.2.2. Kuraklık ve Yeniden Sulama Uygulamalarında Genotiplerin Yaprak Su Potansiyelleri.....	82
4.1.2.3. Kuraklık ve Yeniden Sulama Uygulamalarında Genotiplerin Yetiştirildiği Toprağın Su Potansiyeli.....	84
4.1.3. Kuraklık ve Yeniden Sulama Uygulamalarında Genotiplerindeki Biyokimyasal Ölçümler.....	86
4.1.3.1. Kuraklık ve Yeniden Sulama Uygulamalarında Genotiplerin Yapraklarındaki Fotosentetik Pigment İçeriği.....	86
4.1.3.1.1. Kuraklık ve Yeniden Sulama Uygulamalarında Genotiplerin Yapraklarındaki Toplam Klorofil (a+b) İçeriği.....	86
4.1.3.1.2. Kuraklık ve Yeniden Sulama Uygulamalarında Genotiplerin Yapraklarındaki Karotenoid İçeriği.....	89
4.1.3.2. Kuraklık ve Yeniden Sulama Uygulamalarında Genotiplerin Yapraklarındaki İyon Sızıntısı.....	91

4.1.4. Analiz Edilen Parametreler için Yapılan Puanlama.....	93
4.2. Karakterizasyon Aşamasından Elde Edilen Bulgular.....	99
4.2.1. Kuraklık ve Yeniden Sulama Sürecinin Genotiplerde Morfolojik Değişimler Üzerine Etkisi.....	99
4.2.1.1. Bitki Boyu ve Tolerans İndeksi (BBTI)	99
4.2.1.2. Yaprak Sayısı.....	100
4.2.1.3. Taze Ağırlık ve Tolerans İndeksi (TATI)	101
4.2.1.4. Kuru Ağırlık ve Tolerans İndeksi (KATI)	103
4.2.2. Kuraklık ve Yeniden Sulama Sürecinin Genotiplerde Fizyolojik Ölçümler Üzerine Etkisi.....	104
4.2.2.1. Nispi Su İçeriği.....	104
4.2.3. Kuraklık ve Yeniden Sulama Sürecinin Genotiplerin Fotokimyasal Etkinliği Üzerine Etkisi.....	105
4.2.3.1. Minimum Floresans (F_0)	105
4.2.3.2. Maksimum Floresans (F_M)	105
4.2.3.3. PSII'nin Potansiyel Fotokimyasal Etkinliği (F_V/F_M).....	107
4.2.3.4. PSII'de O_2 Oluşturan Kompleksin Etkinliği (F_V/F_0).....	108
4.2.3.5. PSII'nin Gerçek Fotokimyasal Etkinliği (Φ_{PSII}).....	109
4.2.3.6. PSII'nin Enerji Yakalama Etkinliği (F_V'/F_M').....	110
4.2.3.7. Elektron Taşıma Hızı (ETH)	111
4.2.3.8. Işık Enerjisinin Fotokimyasal Kullanımı (qP).....	112
4.2.3.9. Işık Enerjisinin Fotokimyasal Olmayan Kullanımı (NPQ).....	113
3.1.4. Kuraklık ve Yeniden Sulama Sürecinin Genotiplerin Yapraklarındaki Biyokimyasal Ölçümler Üzerine Etkisi.....	114
4.2.4.1. Klorofil a Miktarı.....	114
4.2.4.2. Klorofil b Miktarı.....	115
4.2.4.3. Klorofil a/b Oranı.....	115
4.2.4.4. Toplam Klorofil Miktarı ve Stabilitate İndeksi (KSI).....	116
4.2.4.5. Toplam Karotenoid Miktarı	118
4.2.4.6. Malondialdehit (MDA) Miktarı.....	119
4.2.4.7. Hidrojen peroksit (H_2O_2) Miktarı.....	120
4.2.4.8. Prolin Miktarı.....	121
4.2.4.9. Antosiyanin İçeriği.....	122

4.2.4.10. Flavonoid İçeriği.....	123
4.2.5. Kuraklık ve Yeniden Sulama Sürecinin Genotiplerin Yapraklarındaki Enzimatik Antioksidan Savunma Sistemleri Üzerine Etkisi.....	124
4.2.5.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi.....	124
4.2.5.2. Askorbat Peroksidaz (APX) Aktivitesi.....	125
4.2.5.3. Glutasyon Redüktaz (GR) Aktivitesi.....	126
4.2.5.4. Peroksidaz (POD) Aktivitesi.....	127
4.2.5.5. Katalaz (CAT) Aktivitesi.....	128
4.2.5.6. Aldoz Redüktaz (ALR) Aktivitesi.....	129
4.3. Proteomik Aşamasından Elde Edilen Bulgular.....	131
4.3.1. Solunum Metabolizması.....	135
4.3.2. Fotosentez ve Karbohidrat Metabolizması.....	138
4.3.3. Protein Metabolizması.....	147
4.3.4. Savunma Mekanizması.....	147
4.3.5. Nükleotid Metabolizması.....	150
4.3.6. Azot Metabolizması.....	150
4.3.7. Hücre Çeper Biyogenezisi.....	150
5. TARTIŞMA.....	152
5.1. Aspir Genotiplerinin Kuraklığa Dayanıklılık Potansiyellerinin Belirlenmesi.....	152
5.2. Seçilen Aspir Genotiplerinin Kuraklığa Dayanıklılığının Morfolojik, Fizyolojik ve Biyokimyasal Analizler ile Karakterizasyonu.....	162
5.3. Aspir Genotiplerinde Kuraklıkta İndüklenen Proteom Değişimleri.....	175
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	190
KAYNAKLAR.....	195
ÖZGEÇMİŞ.....	230

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1.	Yapısal fosfolipidlerin PLC ve PLD aracılığıyla hidrolizi ve sentezlenen PA ve IP3'ün etkileri..... 13
Şekil 2.2.	Stoma kapanmasında sinyal faktörlerinin rolü..... 15
Şekil 2.3.	Fotosentez süresince elektron transfer reaksiyonları..... 18
Şekil 2.4.	Bitki mitokondrial elektron taşıma zinciri..... 20
Şekil 2.5.	Stres koşullarında AOT'lerin oluşumu ve bunların antioksidanlar tarafından yakalanma mekanizmaları..... 22
Şekil 2.6.	Kuraklık stresinde yer alan başlıca transkripsiyon faktörleri..... 32
Şekil 3.1.	I. aşamaya ait deneme deseni..... 43
Şekil 3.2.	Bitkilerin yetiştirildiği kontrollü iklim odasına ait genel görünüm... 43
Şekil 3.3.	a) HandyPEA cihazının genel görünümü, b) Biolyzer HP3 programı ile analiz görüntüsü ve c) Bitkiler tarafından sergilenen tipik polifazik klorofil a fluoresansı..... 45
Şekil 3.4.	JIP-Testinin ve enerji akışlarının şematik özeti..... 46
Şekil 3.5.	WP4 Dewpoint Potential Meter cihazının genel görünümü..... 51
Şekil 3.6.	II. aşamaya ait deneme deseni..... 53
Şekil 3.7.	Kuraklık ve yeniden sulama uygulanan aspir genotiplerinin hasat günlerine ait fotoğrafları..... 54
Şekil 3.8.	III. aşamaya ait deneme deseni..... 62
Şekil 4.1.	Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarında aspir genotiplerinin fotosentetik performans indeksi (PI_{abs})..... 68
Şekil 4.2.	Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarında aspir genotiplerinin fotosentetik toplam performans indeksi (PI_{top})..... 70
Şekil 4.3.	Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarında aspir genotiplerinin yapraklarından ölçülen DI_0/RC , (A); S_M , (B); F_0 , (C); TR_0/ABS , (D); ET_0/TR_0 , (E) ve $PHI(E_0)$, (F) parametrelerinin radar grafiği ile gösterimi..... 74
Şekil 4.4.	Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarında aspir genotiplerinin yapraklarından ölçülen ABS/RC , (A); RE_0/ABS , (B); RE_0/ET_0 , (C) ve ET_0/RC , (D) parametrelerinin radar grafiği ile gösterimi..... 77
Şekil 4.5.	Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarında aspir genotiplerinin

	yaprak nispi su içeri.....	81
Şekil 4.6.	Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarında aspir genotiplerinin yaprak su potansiyeli.....	83
Şekil 4.7.	Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarında aspir genotiplerinin yetiştirildiği saksılardaki toprak su potansiyeli.....	85
Şekil 4.8.	Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarında aspir genotiplerinin yapraklarındaki toplam klorofil (a+b) içeriği.....	88
Şekil 4.9.	Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarında aspir genotiplerinin yapraklarındaki karotenoid içeriği.....	90
Şekil 4.10.	Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarında aspir genotiplerinin yapraklarındaki iyon sızıntısı.....	92
Şekil 4.11.	Kuraklığın aspir genotiplerinde bitki boyu üzerine etkisi.....	99
Şekil 4.12.	Aspir genotiplerinde bitki boyu tolerans indeksleri ve iyileşme potansiyelleri.....	100
Şekil 4.13.	Kuraklığın aspir genotiplerinde yaprak sayısı üzerine etkisi.....	101
Şekil 4.14.	Kuraklığın aspir genotiplerinde taze ağırlık üzerine etkisi.....	102
Şekil 4.15.	Aspir genotiplerinde taze ağırlık tolerans indeksleri ve iyileşme potansiyelleri.....	102
Şekil 4.16.	Kuraklığın aspir genotiplerinde kuru ağırlık üzerine etkisi.....	103
Şekil 4.17.	Aspir genotiplerinde kuru ağırlık tolerans indeksleri ve iyileşme potansiyelleri.....	104
Şekil 4.18.	Kuraklığın aspir genotiplerinde nispi su içeriği üzerine etkisi.....	104
Şekil 4.19.	Kuraklığın aspir genotiplerinde minimum fluoresans (F_0) üzerine etkisi.....	106
Şekil 4.20.	Kuraklığın aspir genotiplerinde maksimum fluoresans (F_M) üzerine etkisi.....	107
Şekil 4.21.	Kuraklığın aspir genotiplerinin PSII potansiyel fotokimyasal etkinliği (F_V/F_M) üzerine etkisi.....	108
Şekil 4.22.	Kuraklığın aspir genotiplerinin PSII'de O_2 oluşturan kompleksinin etkinliği (F_V/F_0) üzerine etkisi.....	109
Şekil 4.23.	Kuraklığın aspir genotiplerinde PSII'nin gerçek fotokimyasal etkinliği (Φ_{PSII}) üzerine etkisi.....	110
Şekil 4.24.	Kuraklığın aspir genotiplerinde PSII'nin enerji yakalama etkinliği	

	(F_V/F_M) üzerine etkisi.....	111
Şekil 4.25.	Kuraklığın aspir genotiplerinde elektron taşıma hızı (ETH) üzerine etkisi.....	112
Şekil 4.26.	Kuraklığın aspir genotiplerinde ışık enerjisinin fotokimyasal kullanımı (qP) üzerine etkisi.....	113
Şekil 4.27.	Kuraklığın aspir genotiplerinde ışık enerjisinin fotokimyasal olmayan kullanımı (NPQ) üzerine etkisi.....	114
Şekil 4.28.	Kuraklığın aspir genotiplerinde klorofil a miktarı üzerine etkisi.....	115
Şekil 4.29.	Kuraklığın aspir genotiplerinde klorofil b miktarı üzerine etkisi.....	116
Şekil 4.30.	Kuraklığın aspir genotiplerinde klorofil a/b oranı üzerine etkisi.....	117
Şekil 4.31.	Kuraklığın aspir genotiplerinde toplam klorofil miktarı üzerine etkisi.	117
Şekil 4.32.	Aspir genotiplerinde klorofil stabilite indeksleri ve iyileşme potansiyelleri.....	118
Şekil 4.33.	Kuraklığın aspir genotiplerinde toplam karotenoid miktarı üzerine etkisi.....	119
Şekil 4.34.	Kuraklığın aspir genotiplerinde MDA miktarı üzerine etkisi.....	120
Şekil 4.35.	Kuraklığın aspir genotiplerinde H_2O_2 miktarı üzerine etkisi.....	121
Şekil 4.36.	Kuraklığın aspir genotiplerinde prolin miktarı üzerine etkisi.....	122
Şekil 4.37.	Kuraklığın aspir genotiplerinde antosiyanin içeriği üzerine etkisi.....	123
Şekil 4.38.	Kuraklığın aspir genotiplerinde flavonoid içeriği üzerine etkisi.....	124
Şekil 4.39.	Kuraklığın aspir genotiplerinde toplam SOD enzim aktivitesi üzerine etkisi.....	125
Şekil 4.40.	Kuraklığın aspir genotiplerinde toplam APX enzim aktivitesi üzerine etkisi.....	126
Şekil 4.41.	Kuraklığın aspir genotiplerinde toplam GR enzim aktivitesi üzerine etkisi.....	127
Şekil 4.42.	Kuraklığın aspir genotiplerinde toplam POD enzim aktivitesi üzerine etkisi.....	128
Şekil 4.43.	Kuraklığın aspir genotiplerinde toplam CAT enzim aktivitesi üzerine etkisi.....	129

Şekil 4.44.	Kuraklığın aspir genotiplerinde toplam ALR enzim aktivitesi üzerine etkisi.....	130
Şekil 4.45.	Remzibey-05 çeşidinin yaprak dokusunda kontrol (A), kuraklık (B) ve yeniden sulama (C) uygulamalarında farklı şekilde ifade olan 23 proteinin 2-D elektroforetik jellerdeki gösterimi.....	132
Şekil 4.46.	Linas çeşidinin yaprak dokusunda kontrol (A), kuraklık (B) ve yeniden sulama (C) uygulamalarında farklı şekilde ifade olan 21 proteinin 2-D elektroforetik jellerdeki gösterimi.....	133
Şekil 4.47.	<i>Carthamus oxyacantha</i> genotipinin yaprak dokusunda kontrol (A), kuraklık (B) ve yeniden sulama (C) uygulamalarında farklı şekilde ifade olan 28 proteinin 2-D elektroforetik jellerdeki gösterimi.....	134
Şekil 4.48.	Kuraklık ve yeniden sulama koşullarında aspir genotiplerinin yaprak dokusundan ortak/veya farklı ifade düzeylerine göre tanımlanmış proteinlerin venn diagramı ile gösterimi.....	135
Şekil 4.49.	Kuraklık ve yeniden sulama koşullarında aspir genotiplerinin yaprak dokusundan protein skorları ile tanımlanmış proteinlerin fonksiyonlarına göre sınıflandırılması.....	138
Şekil 5.1.	Fotosentezin ışık reaksiyonlarının şematik görünümü.....	177
Şekil 5.2.	Fotosentezin Calvin döngüsü ile glikoliz reaksiyonlarının şematik görünümü.....	181
Şekil 5.3.	Aspir bitkisinde tanımlanan proteinlerin birbirleri ile etkileşimleri.....	189

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1. Aspir bitkisinin (<i>Carthamus tinctorius</i> L.) BBCH skalasına göre fenomolojik büyüme evreleri.....	6
Çizelge 2.2. Türkiye'nin tescilli aspir çeşitlerinin bazı özellikleri.....	8
Çizelge 2.3. Bitkilerde kuraklık toleransını artıran önemli osmotik düzenleyici bileşikler.....	30
Çizelge 2.4. Kuraklık uygulanmış bitkilerin yaprak dokularında proteomik analizlerle ortaya konulan ve ifadesi değişen proteinler ile yer aldıkları ilgili metabolizmaları gösteren son yıllarda yapılan çalışmaların genel değerlendirilmesi.....	37
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan aspir genotipleri.....	40
Çizelge 3.2. Deneme toprağının bazı fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları..	41
Çizelge 3.3. JIP-testte kullanılan bazı terimlerin, tanımlamaların ve formüllerin özeti.....	48
Çizelge 4.1. Kuraklık ve yeniden sulama uygulanan aspir genotiplerinde PI_{abs} verilerine göre hesaplanan kuraklık faktör indeksleri (KFI).....	78
Çizelge 4.2. Kuraklık ve yeniden sulama uygulanan aspir genotiplerinde PI_{top} verilerine göre hesaplanan kuraklık faktör indeksleri (KFI).....	78
Çizelge 4.3. Kuraklık ve yeniden sulama uygulanan aspir genotiplerinde PI_{abs} verilerine göre hesaplanan iyileşme faktör indeksleri (IFI).....	79
Çizelge 4.4. Kuraklık ve yeniden sulama uygulanan aspir genotiplerinde PI_{top} verilerine göre hesaplanan iyileşme faktör indeksleri (IFI).....	80
Çizelge 4.5. Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarının aspir genotiplerinde performans indekslerinden (PI_{abs} ve PI_{top}) hesaplanan KFI ve IFI'ya göre puanlanması ve genotiplerin fotokimyasal etkinliğe ait toplam puanları.....	94
Çizelge 4.6. Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarının aspir genotiplerinde yaprak su içeriği, yaprak su potansiyeli ve	

	bitkinin yetiştirildiği toprak su potansiyellerinden hesaplanan hasar indeksi ve iyileşme derecelerine göre puanlanması ve genotiplerin fizyolojik ölçümlerine ait toplam puanları.....	95
Çizelge 4.7.	Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarının aspir genotiplerinde pigment içeriği ve iyon sızıntısından hesaplanan hasar indeksi ve iyileşme derecelerine göre puanlanması ve genotiplerin biyokimyasal ölçümlerine ait toplam puanları.....	96
Çizelge 4.8.	Aspir genotiplerinin analiz edilen tüm parametreleri için ayrı ayrı ve toplam puanları ve kuraklığa dayanıklılık sıralaması....	97
Çizelge 4.9.	Aspir genotiplerinin analiz edilen tüm parametrelere ait toplam puanları ve kuraklığa dayanıklılık sıralaması.....	98
Çizelge 4.10.	Kuraklık uygulanan aspir genotiplerinin yaprak dokusunda MALDI-TOF/TOF MS/MS kütle spektrometresi kullanılarak tanımlanan solunum metabolizmasına ait proteinler.....	136
Çizelge 4.11.	Kuraklık uygulanan aspir genotiplerinin yaprak dokusunda MALDI-TOF/TOF MS/MS kütle spektrometresi kullanılarak tanımlanan fotosentez ve karbohidrat metabolizmasına ait proteinler.....	141
Çizelge 4.12.	Kuraklık uygulanan aspir genotiplerinin yaprak dokusunda MALDI-TOF/TOF MS/MS kütle spektrometresi kullanılarak tanımlanan protein metabolizması ve savunma mekanizmasına ait proteinler.....	148
Çizelge 4.13.	Kuraklık uygulanan aspir genotiplerinin yaprak dokusunda MALDI-TOF/TOF MS/MS kütle spektrometresi kullanılarak tanımlanan nükleotid ve azot metabolizması ile hücre çeper biyogenezine ait proteinler.....	151
Çizelge 5.1.	Tanımlanan proteinlerin <i>Arabidopsis thaliana</i> 'daki homoloğu ve string analizindeki karşılığı.....	188

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

°C	Santigrat derece
%	Yüzde
cm	Santimetre
dk	Dakika
g	Gram
kDa	Kilodalton
kg	Kilogram
m	Metre
m ²	Metrekare
mA	Miliamper
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
nm	Nanometre
MPa	Megapaskal
MA	Moleküler ağırlık
L	Litre
Log	Logaritma
pI	İzoelektrik noktası
ppm	Milyonda bir birim
rpm	Dakikadaki devir sayısı
s	Saniye
V	Volt
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
µmol	Mikromol
µs	Mikro saniye
µS	Mikrosimens

Kısaltmalar

ABS/RC	Aktif reaksiyon merkezinin verimli anten büyüklüğü
ACN	Asetonitril
ANOVA	Varyans analizi (Analyses of variance)
ALR	Aldoz redüktaz
AOT	Aktif Oksijen Türleri
AÖF	Anlamlı önemli fark
APX	Askorbat peroksidaz
AsA	Askorbik asit
ATP	Adenin trifosfat
BBTI	Bitki boyu tolerans indeksi
BSA	Sığır serum albümini (Bovine serum albumin)
CAT	Katalaz
DHAR	Dehidroaskorbat redüktaz
DI ₀ /RC	Bir aktif reaksiyon merkezinin enerji dağılımı
DTT	Dikloro difenil trikloroethan
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
ETH	Elektron taşıma hızı
ET ₀ /ABS(ϕE_0)	Elektron transportunun maksimum verimi (PHI(E ₀))
ET ₀ /RC	Reaksiyon merkezi başına elektron transportu
ET ₀ /TR ₀ (Ψ_0)	Q _A 'dan elektron transport zincirine bir elektronu hareket ettirme etkinliğini
F ₀	Karanlığa adapte olmuş yapraklardaki minimum fluoresans
F _M	Karanlığa adapte olmuş yapraklardaki maksimum fluoresans
F _V	Karanlığa adapte olmuş yapraklardaki değişken fluoresans
F _V /F _M (ϕP_0)	PSII'nin potansiyel fotokimyasal etkinliği (TR ₀ /ABS)
F _V /F ₀	PSII'de O ₂ oluşturan kompleksin etkinliği
F _V '/F _M '	PSII'nin eksitasyon enerjisini yakalama etkinliği
F ₀ '	Işık ile doygun durumdaki minimum fluoresans
F _M '	Işık ile doygun durumdaki maksimum fluoresans
F _s	Işık ile adapte edilmiş yapraklardaki dinamik denge

GAPDH	durumdaki fluoresans Gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz
GR	Glutasyon redüktaz
GSH	İndirgenmiş glutasyon
GSİ	Gerçek su içeriği
GSSG	Yükseltgenmiş glutasyon
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
HA	Turgor durumdaki ağırlık (Hidrate ağırlık)
HCl	Hidroklorik asit
KA	Kuru ağırlık
KATI	Kuru ağırlık tolerans indeksi
KFI	Kuraklık faktör indeksi
KSI	Klorofil stabilite indeksi
IEF	İzoelektrik fokuslama
IFI	İyileşme faktör indeksi
IP	İyileşme performansı
IPG	İmmobilize pH gradiyent
KH ₂ PO ₄	Potasyum di hidrojen fosfat
MDA	Malondialdehit
MDHAR	Monodehidroaskorbat redüktaz
MgCl ₂	Magnezyum klorür
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid
Na ₂ EDTA	Di sodyum etilendiamin tetraasetik asit
NBT	Nitrobluetetrazolyum
NH ₄ NO ₃	Amonyum nitrat
NPQ	Fotokimyasal olmayan kullanım
NSİ	Nispi su içeriği
O ₂ ⁻	Süperoksit radikali
¹ O ₂	Singlet oksijen
OH [·]	Hidroksil radikali
PI-PI _{abs}	Performans indeksi
PI _{top}	Toplam performans indeksi
PMSF	Fenil metil sülfonil florid
POD	Peroksidaz

PSI	Fotosistem I
PSII	Fotosistem II
PVP	Polivinilpirolidon
$RE_0/ABS (\phi R_0)$	Q_A^- 'dan ferrodoksine elektron transportunun kuantum verimi
$RE_0/ET_0 (\delta R_0)$	İndirgenmiş sistemler arası elektron alıcılarının bir elektronu PSI son elektron alıcılarına hareket ettirme etkinliği
qP	Fotokimyasal kullanım
SDS	Sodyum dedosil sülfat
SDS-PAGE	Sodyum dedosil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi
S_M	Reaksiyon merkezi başına toplam elektron taşıyıcıları
SOD	Süperoksit dismutaz
SPSS	Sosyal bilimler için istatistik paket programı (Statistical Package for the Social Sciences)
TA	Taze ağırlık
TATI	Taze ağırlık tolerans indeksi
TBA	Tiyobarbütirik asit
TCA	Trikloroasetik asit
TEMED	Tetra metil etilen diamin
TFA	Trifloroasetik asit
UV	Ultraviyole
Φ_{PSII}	PSII'nin gerçek fotokimyasal etkinliği
β -ME	β -merkaptoetanol
Ψ_w	Su potansiyeli

1. GİRİŞ

Günümüzde sıcaklık artışına bağlı olarak etkisi daha da yoğun hissedilen ve küresel iklim değişikliklerinin sonuçlarından biri olan kuraklık, kullanılabilir su miktarını azaltarak özellikle tarım alanlarını etkilemekte ve tarımsal ürünlerde önemli verim kayıplarına neden olmaktadır. Bu nedenle sulamanın önemi ise her geçen gün biraz daha artmakta; buna karşın, dünyanın birçok bölgesinde, tarımsal amaçla kullanılan su kaynakları da giderek azalmaktadır. Artan dünya nüfusunun su kullanımı ve endüstriyel gereksinimleri de bu azalmayı belirli ölçüde hızlandırmaktadır. Suyun, bitki büyüme ve gelişimindeki rolü göz önüne alındığında, kuraklığın tarımsal bitkilerde verim kayıplarının artmasında önemli nedenlerden biri olduğu görülmektedir. Yapılan bilimsel tahminlere göre kuraklık, gelecekte şiddeti artacak olan en önemli tehditler arasındadır [1].

Yüksek omega-9 (%16-20 oleik asit) ve omega-6 (%71-75 linoleik asit) içeriğine sahip olan aspir bitkisi (*Carthamus tinctorius* L.), dünyanın en eski yağlı tohumlu bitkilerinden biridir ve özellikle linoleik asit içeriği mısır, fındık, zeytin, ayçiçeği, kolza gibi diğer yağ bitkilerine oranla daha yüksektir [2, 3]. Güney Asya orijinli olan aspir bitkisi ilk olarak Asya'nın güneyinde, Ortadoğu'da ve Akdeniz bölgesinde ekilmiştir [4]. Günümüzde Hindistan, Meksika, Kazakistan, ABD, Arjantin ve Çin gibi ülkelerde üretimi yapılmaktadır ve Türkiye bu üretimde 7. sırada yer almaktadır [5]. Dünyadaki ekim alanı ve üretimi diğer yağlı tohumlu bitkiler ile kıyaslandığında daha düşük olan aspir bitkisinin [6], verim ve kalitesindeki önemli azalış, bitkinin büyüme ve gelişimi sırasında karşılaştığı biyotik (*Alternaria carthanti*, *Pseudomonas syringae*, *Puccinia carthand*, *Sclerotonia sclerotiorum* gibi patojenler) ve abiyotik (düşük ve yüksek sıcaklık, kuraklık ve tuzluluk vb.) stres faktörlerinden kaynaklanmaktadır. Dünyada dar bir ekim alanına sahip olan aspir bitkisinin soğuk, kuraklık ve tuz streslerine karşı dayanıklılığının belirlenmesi ile bu bitkinin özellikle kurak alanlar için önemli alternatif yağ bitkilerinden biri olacağı bildirilmektedir [3, 7]. Aspir bitkisinin optimum büyümesi yeterli su miktarına bağlı olmasına rağmen [8], 2-3 metreye ulaşabilen derin kök sistemi sayesinde aspir, kuraklık stresi karşısında hayat döngüsünü devam ettirebilmektedir [9-11]. Aspir bitkisinin kuraklığa dayanıklılığı ile ilgili çalışmaların büyük çoğunluğunu çiçeklenme ve tohum dolum evresindeki değişimlerin araştırıldığı tarla denemelerinden oluşurken [12-15]; bitkinin kuraklığa karşı göstermiş olduğu

fizyolojik ve moleküler cevaplar ile ilgili çok az sayıda araştırma bulunmaktadır [15-18]. Bu nedenle aspir verimini ve kalitesini arttırmak amacıyla, ülkemizde yetiştirilen aspir çeşit ve hatlarının özellikle kuraklık stresine karşı geliştirdikleri dayanıklılık ile ilgili fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler temellerin aydınlatılması gerekmektedir.

Bu çalışmada, kuraklık stresine dayanıklı ve değişik ekolojik bölgelere adapte olabilecek uygun aspir (*Carthamus tinctorius* L.) çeşit ve hatlarının belirlenmesi ve bu genotiplerin kuraklık stresine verdiği cevapların incelenerek, dünyada geniş yayılış alanına sahip olup kuraklığa dayanıklılığı belirlenmiş yabancı aspir genotipi *Carthamus oxyacantha* [7] ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Bu kapsamda, kuraklığın aspir bitkisinin büyümesi üzerine etkisi ile kuraklığa karşı oluşturulan cevaplar ve aralarındaki ilişki sırasıyla 3 aşamada gerçekleştirilmiştir:

1. Aşama: Seleksiyon

Ülkemizde yetiştirilen tescilli aspir çeşit (4 farklı çeşit) ve hatlarının (8 farklı hat) kuraklık stresine karşı dayanıklılıkları ile iyileşme kapasiteleri orta (5 gün) ve şiddetli kuraklık (7 gün) stresleri ile onların yeniden sulama sürelerinde (5 gün) hızlı klorofil a fluoresans kinetikleri ölçümü ile biyokimyasal (iyon sızıntısı ve fotosentetik pigment içeriği) ve fizyolojik (toprak ve yaprak su potansiyeli ile yaprak nispi su içeriği) analizleriyle taranmıştır. Bu aşamadan elde edilen verilere bağlı olarak genotipler dayanıklılık derecelerine göre puanlandırılmış ve sınıflandırılmıştır.

2. Aşama: Karakterizasyon

Bu aşamada, seleksiyon sonuçlarına göre belirlenen dayanıklı ve hassas genotipler ile kuraklığa dayanıklı yabancı aspir *Carthamus oxyacantha*'da kuraklığın ve yeniden sulama koşullarının etkisi morfolojik (bitki boyu, yaprak sayısı, ağırlık değişimleri), fizyolojik (yaprak nispi su içeriği), fotosentetik (klorofil a fluoresans ölçümü), biyokimyasal [klorofil a ve b miktarı, klorofil a/b oranı, klorofil stabilite indeksi, karotenoid miktarı, lipid peroksidasyonu, hidrojen peroksit (H_2O_2), osmotik koruyucu (prolin) ile antosiyanin ve flavonoid içeriği] ve antioksidan enzim aktivite ölçümleri [süperoksit dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (APX), glutatyon redüktaz (GR), peroksidaz (POD), katalaz (CAT), aldoz redüktaz (ALR)] incelenerek belirlenmeye çalışılmıştır.

3. Aşama: Proteomik

Kuraklığa dayanıklılığın ortaya konulması için moleküler değişimlerin belirlenmesi oldukça önemlidir. Bu nedenle aspir bitkisinin kuraklık stresine karşı verdiği tepkiler son ürün olan proteinlerin miktarındaki değişimler ile tespit edilmeye çalışılmıştır. Duyarlı ve dayanıklı aspir genotiplerinin protein ifadesindeki değişiklikler, 2-D yöntemi (proteinlerin ayırımı) ve kütle spektrometresi (proteinlerin tanımlanması) kullanılarak belirlenmiş ve kuraklığa dayanıklı yabancı aspir *Carthamus oxyacantha* ile karşılaştırılmıştır.



2.GENEL BİLGİLER

2.1. Aspir Bitkisi

2.1.1. Taksonomisi ve Kökeni

Çiçekli bitkilerin en büyük familyası olan Asteraceae (papatyagiller)'ye ait *Carthamus* cinsinde yer alan aspir (*Carthamus tinctorius* L.), yağlı tohumlu bir bitki olması nedeniyle bu familyasının ekonomik öneme sahip türleri arasındadır [19, 20]. *Carthamus tinctorius* L. dünyada genel olarak aspir adıyla bilinmesine rağmen [21], birçok bölgede yalancı safran, dikenli ayçiçeği, zerdeçal, haspir, kır safranı, papağan yemi, Amerikan safranı ve boyacı aspiri gibi isimlerle de tanınmaktadır.

Dünya üzerinde *Carthamus* cinsi 25 taksona sahiptir ve bunun 6'sı Türkiye'de doğal olarak yetişmektedir [22]. Türkiye'de yetişen *Carthamus* türlerini; *C. lanatus* L. (2n=44), *C. dentatus* (Forssk.) Vahl. (2n=20), *C. glaucus* M.Bieb. (2n=20), *C. tenuis* (Boiss.&Blanche) Bornm. (2n=20), *C. persicus* Desf. ex Willd. (2n=24) ve *C. tinctorius* L. (2n=24) oluşturur [23]. Bunların yanı sıra, yabancı aspir türlerinden biri olan *C. oxyacantha*'nın da (2n=24) Türkiye'de yayılış gösterdiği bildirilmiştir [24]. Bununla birlikte; kültür bitkisi olan *C. tinctorius*'ün stres toleransının artırılmasında, *C. oxyacantha*'nın genetik kaynak olarak kullanılabilir yabani tür olduğu ve bu iki türün çaprazlanması ile canlı döller elde edilebileceği belirtilmiştir [25].

Aspir, dünyanın en eski yağlı tohumlu bitkilerinden birisi olup [21, 26, 27] kökeninin Güney Asya'ya dayandığı düşünülmektedir [19, 28]. Yaklaşık 4500 yıl önce Mezopotamya ve Doğu Akdeniz'i kapsayan ve bereketli hilal olarak da adlandırılan bölgede aspir bitkisi ilk defa kültüre alınmıştır [20].

2.1.2. Morfolojisi, Gelişim Evreleri ve Biyokimyasal Yapısı

Aspir, genellikle 80-100 cm'e kadar boylanabilen; dikenli ve dikensiz çeşitlere sahip [3, 29], yaygın olarak dallanma gözlenen çalimsı formda tek yıllık ve dikotil bir uzun gün bitkisidir [28, 30, 31].

2-3 m derinliğe ulaşabilen derin kazık kök sistemine sahip aspir [32, 33]; bu uzun kök sistemi ile toprağın farklı bölümlerinde yer alan nemi ve besin elementlerini kullanabilmektedir [33, 34].

Aspir bitkisinde yapraklar, 2.5 ile 5 cm genişliğinde ve 10 ile 15 cm uzunluğunda olup genellikle ovat yada obovat şekle sahiptir [9, 35]. Gövde üzerinde sarmal diziliş gösteren bu yapraklardan gövdenin daha aşağı kısmındakiler genellikle

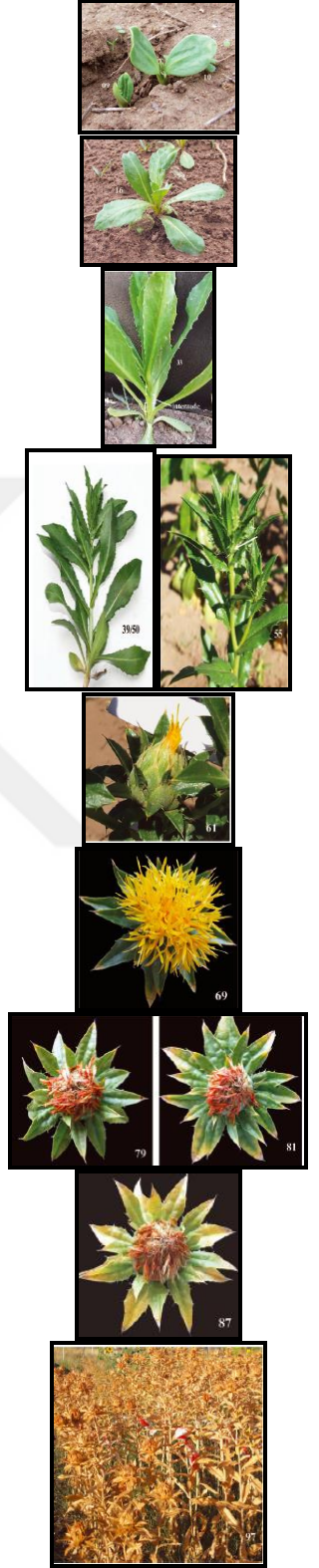
dikensiz iken; üst kısımlarda yer alanların kenarlarında dikenler bulunur ve özellikle çiçeklenmenin sonuna doğru involukrumu oluşturan brakte yaprakları kısa ve bükülmez bir hal alır [9]. Aspir bitkisinin çiçeklenme evresinde her dalın ucunda, bir ile beş arasında değişen sayıda, etrafını dikenli veya dikensiz brakte denilen yaprakların sardığı kapitulumlar oluşur [36, 37]. Çiçekler genellikle sarı, turuncu, kırmızı ve nadiren de beyaz renge sahiptir [28, 38]. Her kapitulumda, 15 ile 30 arasında aken tipi meyve olan tohumlar gelişir [2, 36]. Akenler; parlak beyaz renkte olup üst kısımları siyahtır ve perikarp yüzeyi ince çizgilere sahiptir. Eğik açılı yapıya sahip olan akenler dört köşelidir ve bazı aspir çeşitlerinde pappus yokken bazılarında çok az miktarda bulunur [22]. Ayrıca, aspir çiçeklerine renk veren sekonder metabolitler (suda çözünmeyen kırmızı renkli pigment carthamin ile suda çözünebilen sarı renkli pigment carthamidin) flavonoidlerin alt grubunda yer alan kalkon türevlerine ait bileşiklerden sentezlenirler [39].

Aspir bitkisinin gelişim evreleri son yıllarda BBCH (Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt und Chemische Industrie) skalası olarak adlandırılan ondalık kod sistemine göre 9 esas büyüme evresine ayrılarak incelenmektedir (Çizelge 2.1) [35].

Aspir genotiplerinde genel olarak olgun akenlerin %33-60'ını perikarp, kalan kısmı ise tohum oluşturur [9]. Aspir tohumunda %30-45 yağ [40], %15-20 protein [41], %5-8 su, %2-7 sodyum karbonat ve %32-40 ham lif bulunur [42]. Tohumlardaki yağ içeriğini 4 temel yağ asiti oluşturur; bunlar, doymuş yağ asitleri palmitik (C16:0 / %6-8) ve stearik (C18:0 / %2-3) asit ile doymamış yağ asitleri oleik (C18:1 / %16-20 / Omega-9) ve linoleik (C18:2 / %71-75 / Omega-6) asitlerdir [3, 43, 44]. Ayrıca tohumlarda düşük miktarlarda linolenik asit (%1-6) ve miristik asit de bulunur [45-47]. Aspir yağı besin açısından ayçiçeği ile benzer biçimde iken [28]; tohumlardaki linoleik asit yüzdesinin mısır, soya, keten tohumu, fındık ve zeytin yağından fazla olduğu ifade edilmektedir [2]. Aspir tohumlarında yağ içeriği çevresel koşullar, genotip ve tarımsal uygulamalara göre değişmektedir [32]. Temel yağ asitlerine ek olarak, aspir tohumları iyi bir vitamin E kaynağıdır [48]. Tohum yağında bulunan tokoferoller yağda çözünür bileşikler olup biyolojik sistemlerde antioksidan aktiviteye sahiptirler [49]. Aspir bitkisinde tokoferollerin α , β , γ tokoferollerini olmak üzere üç farklı tipi bulunur [48, 50]. Ayrıca üç tokoferol tipinde vitamin E aktivitesinin birbirinden farklılık gösterdiği ve en yüksek

Çizelge 2.1. Aspir bitkisinin (*Carthamus tinctorius* L.) BBCH skalasına göre fenomenolojik büyüme evreleri [35'den modifiye edilmiştir]

KOD	Tanımlama
Esas büyüme evresi 0: Çimlenme	
00	Kuru tohum
05	Tohumda radikula oluşumu
09	Ortaya çıkış: Kotiledonların toprak yüzeyine çıkışı
Esas büyüme evresi 1: Yaprak gelişimi (ana evre)	
10	Kotiledonların tamamıyla çıkışı
12	2 yaprak çıkışı (ilk çift yapraklar basit olup karşılıklı dizilişe sahiptir)
13	3 yaprak çıkışı (3 ve sonraki yapraklar basit olup alternat dizilişe sahiptir)
1.	Evre devam ediyor...
19	9 ve daha fazla yaprak çıkışı (rozet evre)
Esas büyüme evresi 2: Dallanma (ana evre)^a	
20	Yan sürgün yok
21	İlk yan sürgün görünür durumda
22	2 yan sürgün görünür durumda
	3 yan sürgün görünür durumda
2.	Evre devam ediyor...
29	9 ve daha fazla yan sürgün görünür durumda
Esas büyüme evresi 3: Gövde uzaması (ana evre)	
30	Gövde uzamasının başlaması: görünür internod yok (rozet)
31	1 tane görünür uzayan internod
32	2 tane görünür uzayan internod
33	3 tane görünür uzayan internod
3.	Evre devam ediyor...
39	9 ve daha fazla görünür uzayan internod
Esas büyüme evresi 5: Kapitulum oluşumu (ana evre)	
50	Kapitulum oluşumunun başlaması, hala yapraklarla örtülü
55	Kapitulular en genç yeşil yapraklardan açıkça ayırt edilebilir
59	İnvolutrum brakteler morfolojik olarak farklı: dıştaki, ortadaki brakteler ayırt edilebilir
Esas büyüme evresi 6: Çiçeklenme (ana evre)	
61	Çiçeklenmenin başlaması: İlk çiçekler açar (çiçeğin üst kısmının brakteler boyunca çıkışı)
65	Çiçeklerin %50'si açık
67	Çiçeklerin %70'si açık
69	Çiçeklerin %90'si açık: Çiçeklenme sona erer
Esas büyüme evresi 7: Kapitulum ve meyve gelişimi (ana evre)	
71	Kapitulular meyve gelişim için genişlemeye başlar
75	Kapitulular son hacminin %50'sine ulaşır
79	Kapitulum ve meyve son hacmine ulaşır: tüm çiçekler solar ve renk kaybeder ^b
Esas büyüme evresi 8: Kapitulum ve meyve olgunlaşması (ana evre)	
81	İnvolutral brakteler sararmaya başlar
83	Kapitulumun %30'u sararır
85	Kapitulumun %50'u sararır
87	Kapitulumun %70'u sararır: meyveler fizyolojik olgunluğa erişir
89	Kapitulumun %90'u sararır: meyveler tamamıyla olgun ve hasata hazır
Esas büyüme evresi 9: Senesens (tüm bitki)	
91	Yaprakların %10'u sararmış durumda
95	Yaprakların %50'u sararmış durumda
97	Yaprakların %100'u ve kapitulumların çoğu sararmış durumda
99	Hasat sonrası ya da depolama işlemleri



^a Gövde uzaması genellikle 21. evreden önce meydana gelir. Bu durumda 30. evreden devam edilir.

^b 81. evre, 79. evreden önce gerçekleşebilir. Bu durumda esas büyüme evresi 81'den devam edilir.

aktivitenin α -tokoferollerde, en düşük aktivitenin ise γ -tokoferollerde olduğu bildirilmiştir [50].

2.1.3 Ekolojisi ve Tarımı

Aspir nötr ve uzun gün bitkisidir [9]. Aspir bitkisinin hem yazlık hem de kışlık çeşitleri bulunur ve ülkemizde tarımı yapılan aspir çeşitleri yazlık tiplerdir. Aspir, erken ilkbahar aylarında nemli ve genel olarak iyi drenaja sahip toprakların bulunduğu sıcak ve kurak iklim bölgelerinde yetiştirilmeye uygun bir bitkidir [19]. Aspir bitkisi için derin, tınlı, iyi drenaj kapasitesine sahip, su tutma kapasitesi yüksek, pH değeri nötr veya nötr'e yakın (pH 5-7) olan topraklar idealdir. Aspirde çimlenme için gerekli olan sıcaklık 15-16°C olmasına rağmen, 4-5°C gibi düşük sıcaklıklarda da bitkinin çimlenebildiği gözlenmiştir [29]. Genellikle kendi kendine tozlaşabilen aspir; arı, bombus arıları ve diğer böcekler aracılığı ile türler arası döllenmektedir [9, 19].

2.1.4. Dünya ve Türkiye'de Üretimi

Aspir bitkisinin dünya üzerindeki kültür alanları doğuda Çin'den başlayarak batıda Akdeniz'e; kuzeyde Rusya ve güneyde Etiyopya'ya kadar yayılmıştır [21]. Ayrıca Amerika, Arjantin, Meksika, Avusturalya ve Portekiz'de aspir kültürünün yapıldığı bildirilmiştir [28, 51, 52]. Dünya üzerinde diğer yağlı tohumlu bitkilere göre daha az ekim alanı ve üretime sahip olan aspir bitkisinin [53] Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü'nün (FAO) 2014 yılı verilerine göre dünyadaki ekim alanı 1,010,180 hektardır ve bu alandan 867,659 ton ürün elde edilmiştir. 2014 yılı verilerine göre Dünya'da en çok aspir üretimi yapan ülkeler arasında Türkiye 7 sırada yer almaktadır [5].

2.1.5. Türkiye'nin Tescilli Aspir Çeşitleri

Ülkemizde tescilli 7 aspir çeşidi bulunmaktadır. Tescilli çeşitlere ait bazı özellikler Çizelge 2.2'de verilmiştir.

2.1.6. Kullanım Alanları

Aspir bitkisinin yaprakları, çiçekleri ve tohumları; yağ asitleri, fenoller, flavonoidler, serotonin, lignin, pigment, mineral ve uçucu yağlar gibi biyoetken maddeler içermesi nedeniyle tıbbi, kozmetik ve boya sanayilerinde kullanılmaktadır [9, 42, 54-59]. Yüksek oranda oleik ve linoleik asit içeriğine sahip olan aspir tohumları yenilebilir yağ eldesi için endüstriyel amaçlı kullanılmaktadır

Çizelge 2.2. Türkiye'nin tescilli aspir çeşitlerinin bazı özellikleri

ÇEŞİTLER	Dikenlilik	Çiçek Rengi	Bitki Boyu (cm)	Tane Rengi	Yağ Oranı (%)	1000 Tane ağırlığı(g)
YENİCE	Dikensiz	Kırmızı	100-120	Beyaz	24-25	38-40
DİNÇER	Dikensiz	Turuncu	90-110	Beyaz	25-28	45-49
REMZİBEY-05	Dikenli	Sarı	60-80	Beyaz	35-40	46-50
BALCI	Dikenli	Sarı	70-100	Beyaz	38-41	40-48
LİNAS	Dikenli	Turuncu	85-90	Krem	37-38	-
OLAS	Dikenli	Sarı	70-80	Krem	39-40	45-50
TRE-ASO12/08	Dikenli	Turuncu	70-80	Beyaz	40-41	45-48

[60]. Ayrıca günümüzde aspir yağının biyodizel üretimi için de oldukça uygun bir bitki olduğu bildirilmiştir [19, 28, 61].

2.1.7. Aspir Bitkisini Etkileyen Stres Faktörleri

Aspir bitkisi yetiştiği bölgeye ve mevsime bağlı olarak çeşitli abiyotik ve biyotik stres faktörlerine maruz kalmaktadır. Aspir bitkisinin gelişimi ve verimi, aşırı yağışlara bağlı olarak çoğalan bakteri ve funguslar nedeniyle oluşan hastalıklardan etkilenmektedir [37]. Aspir bitkisini etkileyen en önemli fungus türü olan *Alternaria carthanti*, *Alternaria* yaprak beneği hastalığına sebep olur. Bu hastalıkta aspir bitkisinin çiçeklenme öncesi dönemde yaprak ve çiçek braktelerinde daire şeklinde kahverengi benekler oluşur [62]. *Pseudomonas syringae* ise aspir bitkisinde, *alternaria* yaprak beneği hastalığıyla benzer semptomları gösteren bakteri hastalığını tetiklemektedir [2]. Ayrıca aspir bitkisinde *Sclerotonia sclerotiorum* ve *Botrytis cinerea* fungusları kapitulumda küf oluşumuna; *Phytophthora* ve *Pythium* mantarları kök küfüne, *Verticillium* ya da *Fusarium* mantarları ise bitkide solmaya neden olmaktadır [9]. Bir diğer fungus türü olan *Cercospora carthami* ise aspir bitkisinin yapraklarında benek oluşumunu tetikler ve [63] aspir tohumlarına bitki büyüme destekleyicisi rhizobiumları uygulayarak bu funguslara karşı dirençliliğin artırıldığını bildirmişlerdir.

Aspirin büyüme ve gelişimi sırasında karşılaştığı en önemli abiyotik stres faktörleri düşük sıcaklık, tuzluluk ve kuraklıktır. Pace vd. [30] aspir bitkisinin düşük sıcaklık koşullarına karşı rozet evrede dayanıklı olduğunu; uzama, dallanma ve çiçeklenme evresinde ise bu toleransın azaldığını bildirilmiştir. Ayrıca aspir bitkisinde soğuğa dayanıklılık ile rozet döneminin uzunluğunun ilişkili olduğu ve yabancı aspir türlerinden *C. flavescens*'in uzun rozet dönemi ile -15°C'lik kış soğuklarında bile zarar görmeden dayanabildiği belirtilmiştir [64, 65]. Aspirin yetiştiği bölgelerde

maruz kaldığı tuzluluk ve kuraklık stresine karşı erken büyüme evresinde daha duyarlı iken; bitkinin büyüme ve gelişimi ile birlikte bu stres faktörlerine toleranslarının arttığı bildirilmiştir [66, 67]. Bu nedenle aspir, kuraklığa ve tuzluluğa orta derecede toleranslı olup bitkinin büyümesi ve verimi topraktaki çözünebilir tuz miktarı ile kullanılabilir su içeriğine bağlı olarak etkilenmektedir [44, 68-73]. Aspir bitkisinin dünyadaki üretim alanları incelendiğinde, yetiştirildiği bölgelerdeki en önemli stres faktörü **kuraklık** olarak ortaya çıkmaktadır. Aspirin kuraklığa dayanıklılığı ile ilgili çalışmalar sınırlı olup bunların çoğunluğunu çiçeklenme ve tohum dolum evresi ile ilgili tarla denemeleri oluştururken [12-15]; diğer kısmını kuraklığa karşı bitkinin göstermiş olduğu fizyolojik ve moleküler cevaplar ile ilgili araştırmalar oluşturmaktadır [15-18].

2.2. Kuraklık Stresi ve Bitkiler Üzerine Etkisi

Tüm organizmaların yaşamını etkileyen en önemli abiyotik stres faktörlerinden birisi olarak tanımlanan kuraklık (su stresi); gerekli yağışların olmaması; toprak suyu ile havadaki nemin azalması ve çevresel sıcaklığın artmasına bağlı olarak ortamdaki su içeriğinin önemli düzeyde düştüğü periyodu ifade eder [74, 75]. Yapılan iklim modellemelerine göre 21. yüzyılda iklimde meydana gelen değişimler nedeniyle; kuru subtropik bölgelerdeki su düzeyinin daha da azalacağı ve var olan suyun da kirlenme nedeni ile kullanılamayacağı belirtilmektedir [1].

Kuraklık, çok yönlü bir stres faktörü olup bitkiyi; hücre, organ ve organizma (tüm bitki) düzeyinde etkiler [76]. Birçok bitki ile yapılan çalışmalar, kuraklığın etkisinin stresin şiddetine, süresine ve bitkinin gelişim evresine bağlı olduğunu göstermiştir [77].

Kuraklığa bağlı olarak bitki, su kaybederek dehidrate olur. Bu koşullarda bitki; hücre su potansiyelini ve turgorunu azaltıp; çözünen maddelerin sitozol ve hücre dışı matrikstekki konsantrasyonunu artırır [78]. Sonuç olarak hücre genişlemesi azalır ve büyümede inhibisyona neden olur. Bu değişimleri ABA birikimi takip eder ve böylece bitkilerde hem adaptasyon cevapları hem de ilgili genlerin aktivasyonu gerçekleşir [77]. Kuraklığın indüklediği bir diğer etki ise aktif oksijen türleri (AOT)'nin sentezinin artması ve bitkide oksidatif hasarı tetiklemesidir [79]. Stresin neden olduğu bu değişimler fotosentezi, solunumu, taşınımı, iyon alımını, karbohidratları, besin metabolizmasını ve hormon sentezini etkileyerek bitki büyüme ve gelişimini engelleyebilmektedir [80-82].

2.2.1. Morfolojik Etkiler

Kuraklık koşullarına bağlı olarak bitkilerin başta yaprak ve kök olmak üzere tüm organlarında hem morfolojik hem de anatomik değişimler meydana gelmektedir. Kuraklığın, yaprak morfolojisindeki en önemli etkisi yaprak alanı ve sayısının azalmasıdır. Bunun yanı sıra, kuraklığa bağlı olarak kök büyümesi de azalmaktadır. Stres koşullarında bitki kök büyümesini azaltsa bile, sürgün köke göre daha fazla etkilenir ve bu nedenle kuraklık koşullarında bitkilerde kök/sürgün oranı artmasına bağlı olarak biyokütle oranı değişebilmektedir [83]. Ayrıca yaprak alanının ve stoma sayısının azalması, hücre çeperinin kalınlaşması, yaprak yüzeyinde kutikula birikiminin artması, iletim sisteminin gelişmemesi, tüy yoğunluğunun artması, daha büyük trakelerin oluşması ve erken senesensin indüklenmesi bitkilerde meydana gelen diğer morfolojik değişimlerdir [80].

2.2.2. Mekanik Etkiler

2.2.2.1. Su ve İyon Durumundaki Değişimler

Kuraklık; toprak ve kök sistemi ile evaporasyon arasında su akış oranındaki bozulmaya bağlı olarak ortaya çıkar. Bu durum bitkide suyun akışı ile su akışına karşı oluşan bir dizi dirence bağlı olarak; toprak, kök sistemi ve sürgün ile atmosfer arasındaki etkileşimi içerir [75]. Bitkilerde bitki-su ilişkileri yönünden kuraklıktan etkilenen başlıca özellikler; yaprak su içeriği ile su potansiyeli, ozmotik potansiyel, basınç potansiyeli ve transpirasyon hızıdır [82].

Köklerde suyun alımını ifade eden kök hidrolik iletkenliği (L_p); hücre membran geçirgenliği ve akuaporinler (su kanalları) tarafından düzenlenir. Kısa süreli kuraklıkta akuaporin aktivitesine ve düzenlenişine bağlı olarak L_p azalır [84]. Uzun süreli kuraklıkta ise kök endodermisi ve/veya ekzodermisinde suberizasyonun artması nedeniyle L_p 'de daha da fazla azalma gözlenmektedir [85]. Ayrıca toprak neminin azaldığı dönemlerde havadaki nemin azalması ve sıcaklığın yükselmesiyle beraber bitki yapraklarından suyun buharlaşması da fazlasıyla artmaktadır [86]. Bu koşullarda yapraklara yeterli miktarda su iletiminin sürdürülmesi zorlaşmakta olup, oluşan hidrolik aksaklıklar sonucu kuruma nedeniyle tüm su kolonunda geri dönüşümsüz kavitasyona bağlı embolizm oluşabilir [87].

Kurak koşullarda topraktan alınan su kısıtlanırken, yapraktan kaybedilen suyun artması; çeşitli fizyolojik süreçlerdeki cevapları indükler. Bu cevapların bazıları,

dokuların değişen su durumu tarafından doğrudan tetiklenirken, bazıları ise su durumundaki değişikliklere bağlı olarak bitki hormonları tarafından gerçekleştirilir [88]. Toprakdan alınan su miktarı azaldıkça bitkinin; kök, gövde ve yapraklarındaki hücrelerde su içeriği azalır, hücre küçülür, hücre çeperi gevşer ve sonunda yaprak ve kök genişlemesinin azalması ile büyüme olumsuz yönde etkilenir [74]. Kuraklık stresinin algılanması ile birlikte bir stres hormonu olan absisik asitin (ABA) sentezi artar ve ABA, kökte akuaporinlerin sentezi ile birlikte su girişini artırırken; yapraklarda stomanın aktivitesini düzenleyerek su kaybını azaltır [89]. Ayrıca bitkiler kökten su alımını artırmak ve dokulardan su kaybını azaltmak için çeşitli osmotik koruyucu bileşikler de sentezlemektedirler [90].

Kuraklık stresinde su alımının ve kullanılabilirliğin azalması ile birlikte; besin alımı, translokasyonu, kullanılabilirliği ve metabolize olmasında da aksaklıklar meydana gelir [77] ve bu durum iyon dengesini olumsuz yönde etkilemektedir. Toprakdan alınan suyun azalmasına bağlı olarak nitrat (NO_3^-), sülfat (SO_4^{2-}), Ca^{+2} , Mg^{+2} , K^+ , P^{+2} , Fe^{+3} , Zn^{+2} ve Cu^{+2} gibi suda çözünen besinlerin difüzyonu kütle akışı ile azalır [76, 83]. Bitkilerde yapısal ve hücrel işlevlerde (hücre bölünmesi, uzaması, farklılaşması; hücrel yapıların stabilizasyonu, hücreler arası sinyalizasyon, fotomorfojeniz, bitki savunması gibi) önemli role sahip olan Ca^{+2} elementinin kuraklık stresinde alımının azalması, bir sinyal olarak algılanır ve hücrelerde endoplazmik retikulum, plazma membranı ve diğer hücrel organellerden sitozole Ca^{+2} kanalları vasıtasıyla Ca^{+2} geçişi gerçekleşir. Sitozolda Ca^{+2} iyonunun artışı; su korunumunun, hücrel zarların hidrofobikliğinin artmasını, dolayısıyla da zarların kararlılığı ile hücrel dehidrasyon direncinin artmasını ve protoplazma viskozitesinin korunmasını sağlar [91]. Bir diğer önemli besin elementi olan K^+ ; osmotik düzenleme, enzim aktivasyonu, stoma hareketleri, tuzlu topraklardan Na^+ ve $\text{Fe}^{+2/+3}$ gibi iyonların alımının azaltılması gibi birçok temel biyokimyasal ve fizyolojik fonksiyonda görev alır. Kuraklık stresi altında K^+ eksikliği; yaprak alanı, fotosentez ve azot metabolizmasında azalmalara [92] ve membran hasarı ile iyon dengesinde bozulmalara [80] neden olmaktadır. Ayrıca kuraklık koşullarında bitkilerde görülen NO_3^- eksikliğinin en önemli nedeni kuraklığa oldukça duyarlı bir enzim olan nitrat redüktaz sentezinin stres koşullarında inhibe olmasıdır [74].

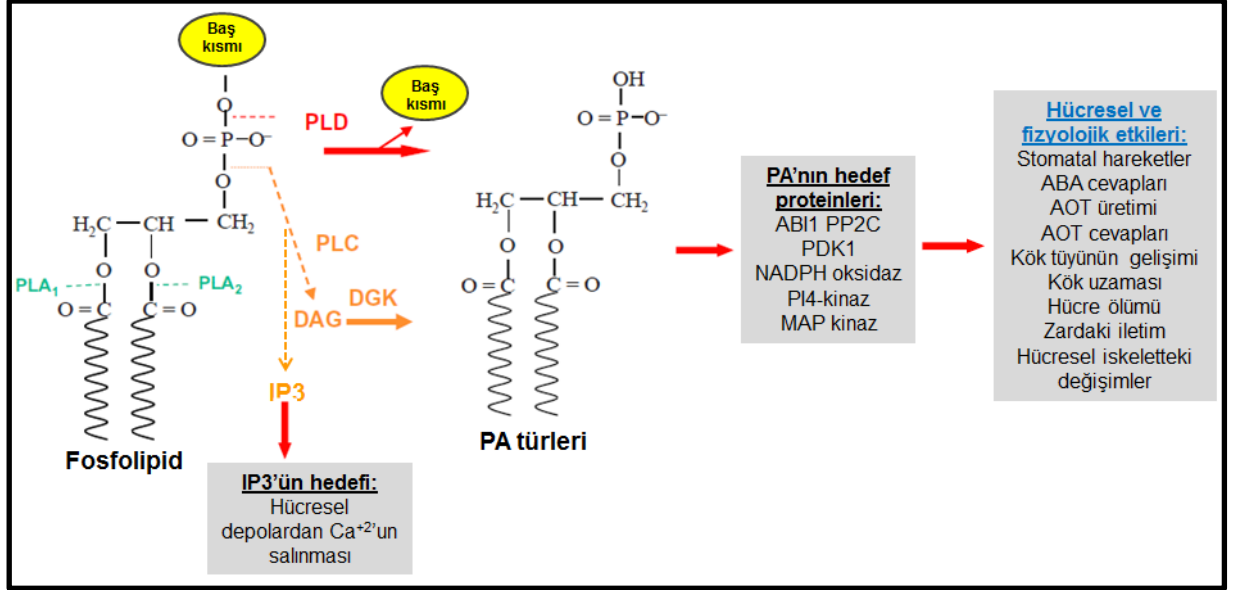
2.2.2.2. Membran Yapısındaki Değişimler

Hücrel membranlar; iyonlar ile moleküllerin geçişini kontrol eden ve bariyer görevi gören yapısal bileşenlerdir. Membrandaki lipid bileşimi, membran yapısını ve akışkanlığını önemli düzeyde etkiler ve membran akışkanlığı değişen doymamış yağ asit düzeyi ile belirlenir [93]. Birçok hücrel membranda temel olarak bulunan lipid sınıfı fosfolipidlerdir. Bazı bitkisel membranlar ise yüksek oranda glikolipidler [monogalaktozil diaçilgliserol (MGDG), digalaktozil diaçilgliserol (DGDG), sulfokuinozil diaçilgliserol (SQDG) ve fosfatidilgliserol (PG)] içerebilir [93, 94]. Fosfolipidler miktarlarına veya yapılarına göre sınıflandırılabilirler; bol miktarda bulunan yapısal fosfolipidler (örn; PC-fosfatidilkolin ve PE-fosfatidiletanolamin) ve daha az miktarda bulunup sinyal molekülü olan fosfolipidler (örn; PIP-fosfatidilinositol monofosfat ve PIP2-fosfatidilinositol bisfosfat) [95]. Lipid yapısı ve miktarının değişimi; en bilinen hücrel bozunma göstergesi olup stres koşullarında ortaya çıkan en önemli cevaplardandır [96].

Membranlar, kuraklık stresinin yol açtığı parçalanma süreçlerinin başlıca hedefidir ve su stresi altında, membranların yapısal lipid içeriğindeki azalmanın; lipid biyosentezinin inhibisyonu ile lipolitik ve peroksidatif aktivitelerin (lipid peroksidasyonu) uyarılmasıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir [97]. Ayrıca oksidatif stres nedeniyle miktarı artan AOT'ler de membran lipidlerinin peroksidasyonundan sorumludur [98]. Kuraklık stresi altında lipid içeriği bakımından özellikle, DGDG/MGDG oranında ve doymamış yağ asidi miktarında artış meydana gelir ve bu koşullarda DGDG biyosentezinin ve ekstraplastidial membranlarda DGDG birikiminin arttığı rapor edilmiştir. Bu değişiklikler, bitkinin su stresine karşı toleransına katkıda bulunur. Bunlara ek olarak DGDG ve MGDG sentez de dahil olmak üzere galaktolipid biyosentezi ile ilgili enzimlerin kuraklığa bağlı olarak etkilendiği de bildirilmektedir [99].

Canlı ve dinamik bir sistem olan bitki hücre zarlarında fosfolipidler yapısal bütünlük sağlması yanında IP3 (inositol 1,4,5-trifosfat), diaçilgliserol (DAG) ve PA (fosfatidik asit) gibi çok sayıda sinyal molekülünün sentezlenmesinde de rol oynar (Şekil 2.1) [100]. Hücrel sinyalde görev alan PA iki farklı fosfolipaz yolu ile yapısal fosfolipidlerden sentezlenir (Şekil 2.5). Birinci yol; yapısal fosfolipidlerin fosfolipaz D (PLD) aracılığı ile doğrudan PA ve serbest baş kısmına hidrolizidir. İkinci yol ise; yapısal fosfolipidlerin fosfolipaz C (PLC) ve DAG kinaz (DAK)'ın sıralı

aktivitesi ile PA'nın sentezidir [101]. Bu yolda yapısal fosfolipidden PLC aracılığı ile IP3 ve DAG sentezlenir. IP3 sitozole geçer ve hücre içindeki depolardan Ca^{+2} iyonlarının serbest kalmasını sağlar. DAG ise membranda kalır ve DAK aracılığıyla PA'ya dönüştürülür [102]. Kuraklık koşullarında bitkiler her iki yolu kullanarak sinyal molekülü olan PA'nın sentezini gerçekleştirir [101, 103]. Yapısal proteinlerden PLC aracılığıyla DAG ile birlikte stres koşullarında sentez düzeyi artan PA bir çok hücrel ve fizyolojik olayda görev alır [104].



Şekil 2.1. Yapısal fosfolipidlerin PLC ve PLD aracılığıyla hidrolizi ve sentezlenen PA ve IP3'ün etkileri [104'dan modifiye edilmiştir].

2.2.3. Metabolik Etkiler

2.2.3.1. Fotosentez Aktivitesindeki Değişimler

Kuraklık stresi, hem yaprak alanını hem de yaprağın birim alandaki fotosentez oranını azaltarak bitkilerde fotosentetik aktiviteyi etkiler. Kuraklıkta fotosentez aktivitesindeki değişimler; stomaların kapanmasına bağlı olarak gerçekleşen stomatal sınırlamalar ile genellikle daha uzun süreli ve daha şiddetli streslerde ortaya çıkan stomatal olmayan sınırlamalarla gerçekleşir [105].

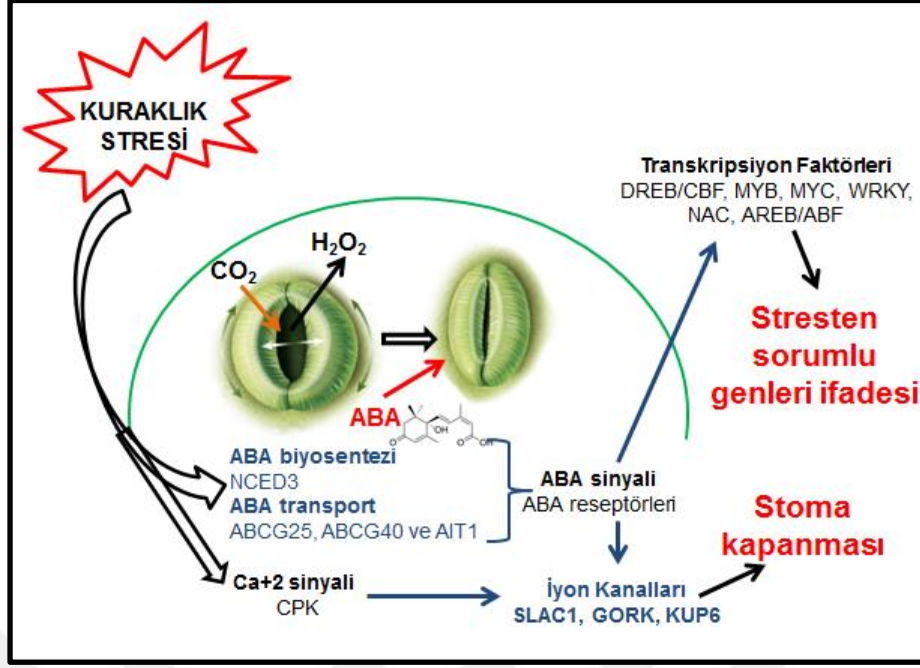
2.2.3.1.1. Stomatal Sınırlamalar

Kuraklık koşullarında fotosentez aktivitesindeki değişimler ile ilgili olarak ilk ortaya çıkan cevap stoma kapanmasıdır. Bu durum; yaprak turgoru ve/veya su potansiyelinin azalması ya da düşük atmosfer nemi gibi hidrolik sinyallerin bir sonucu olarak ortaya çıkmış olabilir [77]. Hem hidrolik iletkenlik hem de kuruyan köklerden sürgüne gönderilen kimyasal sinyaller; toprağın kuruması sürecinde

büyümenin azalması ve stoma kapanmasının düzenlenmesinde rol oynar [106]. Stomatal yanıtlarda, yaprak suyunun durumuna kıyasla toprak nem içeriği daha etkilidir. Köklerde kuraklığın algılanması ile ABA sentezi artar ve bu hormon yapraklara gönderilerek yaprakta su durumu değişim göstermeden stomaların kapanmasını sağlar [107].

Rizosferde bitkinin kullanabileceği su miktarı azaldığında, diğer ksilem elemanları ile kolayca bağlantı kurabilen vasküler dokular (ksilem parankima hücrelerine) tarafından bu durum algılanır. ABA'nın sentezinde anahtar role sahip olan 9-cis-epoksikarotenoid dioksijenaz (NCED) enzimini kodlayan genin ifadesi kuraklık stresi ile indüklenir [108]. Sentezlenen ABA ksilem boru elemanlarına bırakılır ve transpirasyon akımı ile bekçi hücrelerine ulaşır [109]. Ksilem boru elemanlarına geçen ABA protonlanmış formda (ABA^H) olup ksilemin pH'sını asidik hale getirir ve ksilem pH'sının azalması ABA'nın bazik özellikte olan yaprak hücrelerinin simplastındaki bileşenlere ulaşmasını sağlar [82]. Stoma hücrelerine ulaşan ABA, pH değişimine cevap olarak hücre içerisine pasif difüzyonla ya da spesifik taşıyıcılar aracılığıyla girer (Şekil 2.2). *Arabidopsis* ile yapılan çalışmada ABA taşınımında görev alan spesifik taşıyıcılar tanımlanmıştır; bunlardan 2 tanesi membrana lokalize olmuş ABC taşıyıcı ailesinden [ABCG25 (ABA'nın hücre dışına taşınımında rol alır) ve ABCG40 (ABA'nın hücre içine alımında rol alır)], 1 tanesi ise nitrat taşıyıcı ailesindedir [(AIT1(ABA'nın hücre içine alımında rol alır))] [110-113].

Stoma hücresine giren ABA, sitozolik Ca⁺²'un artışını indükleyen AOT'lerin sentezinin artışı ile ilgili sinyal yolunu da uyarır [110, 114]. Daha sonra iyon kanalları aktive olur ve iyon çıkışı sağlanarak plazma membranının depolarizasyonu sağlanır [115]. Sonuçta; stomanın açılmasında görev alan K⁺ giriş kanallarının ve H⁺-ATPaz'ların aktivitesi azalırken; K⁺ çıkış kanallarının [GORK (GUARD CELL OUTWARD RECTIFYING K⁺ CHANNEL) ve KUP6 (potassium uptake transporter)] ve anyon çıkış kanallarının [SLAC1 (SLOW ANION CHANNEL-ASSOCIATED 1)] aktivitesi artar [110, 116-119]. Ayrıca ABA, stresten sorumlu birçok genin ifadesini düzenleyen transkripsiyon faktörlerinin (TF'ler) de aktivasyonunu sağlar [120]. ABA'nın indüklemesine bağlı olarak ortaya çıkan bu değişimler; stomatal cevaplarda önemli role sahiptir ve bitkilerin kuraklık koşullarında su kaybını engeller.



Şekil 2.2. Stoma kapanmasında sinyal faktörlerinin rolü [110'den modifiye edilmiştir]

Kuraklıkta stomatal sınırlamalar ile ortaya çıkan metabolik aksaklıklar, fotosentezin karbon metabolizmasındaki değişikliklerden kaynaklanmaktadır. Kuraklık stresinde fotosentezin biyokimyasal etkinliği temel olarak ribuloz-1,5-bisfosfat (RuBP) rejenerasyonuna ve ribuloz-1,5-bisfosfat karboksilaz/oksijenaz (RuBisCO) aktivitesine bağlıdır [105]. Kuraklığa bağlı olarak fotosentetik elektron taşınımının indirgenmesi sonucu Rubisco'nun oksijenaz aktivitesi artar. Bu durumda ortaya çıkan substrat eksikliği (CO_2 , ATP ve NADPH); Rubisco'nun aktivite kaybından daha çok, karboksilaz aktivitesinin indirgenmiş olduğunu göstermektedir [121]. Fotosolunum; indirgenmiş ajanlar ile enerjinin fazlasını doğrudan [ATP, NAD(P)H ve indirgenmiş Fd kullanarak] veya dolaylı [örneğin alternatif oksidaz (AOS)] yoldan azaltarak içsel bir CO_2 havuzunun oluşmasını sağlar [122]. Bu nedenle fotosolunum; fotosentetik CO_2 asimilasyonunun sınırlandırıldığı stres koşullarında enerji havuzu gibi görev alarak fotosentetik elektron zincirinin aşırı indirgenmesini önler ve böylece hem enerji dağılımını kolaylaştırır hem de fotoinhibisyonu engeller [123, 124]. Fotosolunum sonucu açığa çıkan CO_2 , Calvin döngüsünde yeniden kullanılarak Rubiskonun oksijenaz reaksiyonunu azaltılır. Buna ek olarak fotosolunumda ortaya çıkan H_2O_2 , sinyal iletiminde yer alır ve gen ifadesinin düzenlenmesinde rol oynayabilir [122].

Stres koşullarında su düzeyine bağlı olarak kloroplastın hacminin azalması Rubisco'da konformasyonel değişimlere neden olur. Bu değişimlere ek olarak karboksilasyon için substratın (CO₂) azalması, ATPaz aktivitesinin inhibisyonu, Rubisco'daki RuBP tanıma bölgelerinin kaybı, hasar görmüş bölgelerin Rubiskodan ayrılması ve Rubiskonun katalitik bölgesine inhibitörlerin bağlanması da enzim aktivitesinin azalmasına sebep olur [80, 125]. Bunlara ilaveten, RuBP rejenerasyonu Rubisko dışındaki Calvin döngüsü enzimlerinin inaktivasyonuna bağlı olarak da sınırlanabilir [126]. Kuraklık koşullarında NADP:gliseraldehit-3-fosfat dehidrojenaz, fosforibulokinaz ve fruktoz-1,6-bisfosfataz gibi Calvin döngüsü enzimlerinin aktivitelerinin de azaldığı bildirilmiştir [77, 80].

2.2.3.1.2. Stomatal Olmayan Sınırlamalar

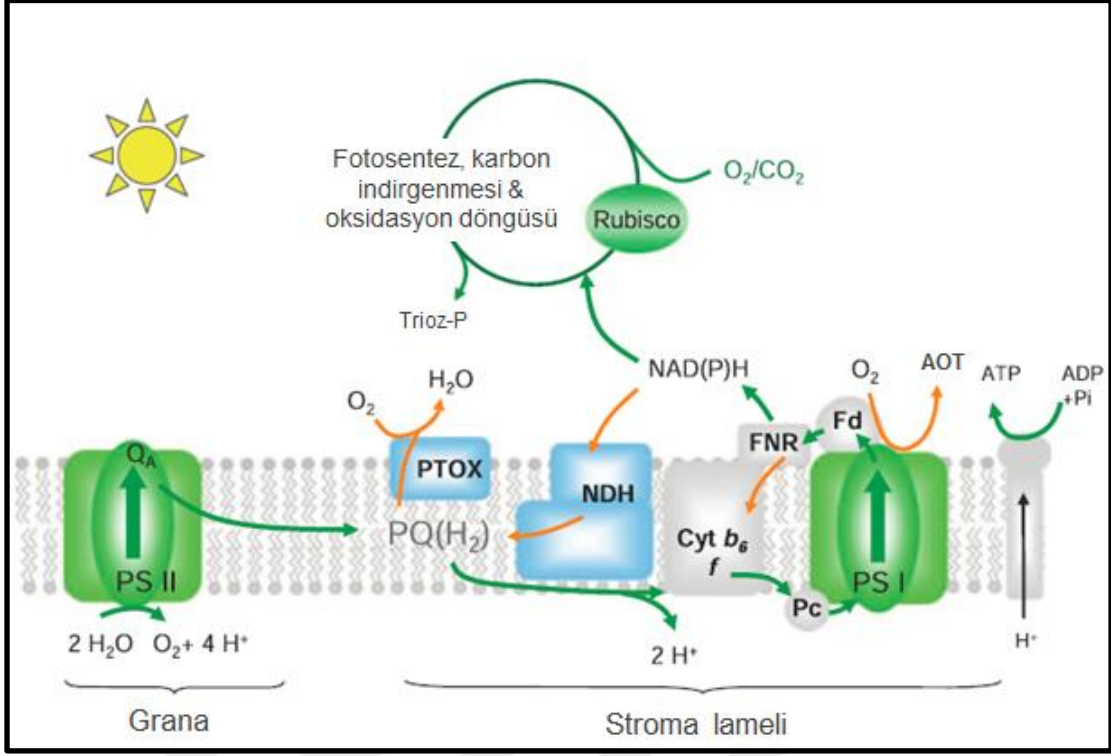
Kuraklığın şiddeti ve süresinin artmasına bağlı olarak stomatal sınırlamanın yanı sıra fotosentetik elektron taşınımı ve fotofosforilasyon kapasitesinin azalmasına neden olan stomatal olmayan sınırlamalar da gerçekleşir. Bitkilerin absorbladığı fakat kuraklığın oluşturduğu etkiler nedeni ile fotosentezde kullanamadığı fazla ışık yapraklarda asimilasyon oranının azalmasına katkıda bulunur ve bu fazla ışık fotosentetik elektron taşınım zincirinde yer alan bileşiklerin (protein/pigment) fotooksidasyonu ile fotoinhibisyonuna neden olur [127]. Fotosentez için önemli kloroplast bileşenlerinden biri olan klorofil pigmentinin miktarı, fotosentez hızı ile doğrusal bir ilişkiye sahiptir ve kuraklıkta oksidatif stresin tipik bir semptomu olarak klorofil içeriği azalır [128]. Yapraklardaki klorofilin büyük bir kısmı, tilakoid membranlarda en çok bulunan protein olan ışık tutucu kompleks (LHC) II'ye bağlıdır ve stres koşulları altında bu klorofil-protein kompleksinde büyük miktarlarda singlet oksijen (¹O₂) üretilmektedir [129]. Her iki fotosistemin ışık toplama komplekslerinde bulunan bir diğer pigment grubunu oluşturan karotenoidler klorofile göre su stresine daha az duyarlıdır ve su stresinde zeaksantin ve anteraksantin gibi ksantofil pigmentlerinin de arttığı bildirilmiştir [80]. Sınırlı su koşullarında fotosentetik elektron transport zincirinin her iki tarafındaki pH farkının artması ve tilakoid lümen tarafında pH'nın düşmesi; violaksantin de-epoksidazın aktivitesini artırır. Bu enzim ksantofil döngüsünde violaksantin- anteraksantin-zeakantin dönüşümünü katalizler ve bu sayede ışık enerjisi ısı şeklinde yayılarak zararsız hale getirilir (NPQ-fotokimyasal olmayan kullanım) [130]. Ayrıca karotenoid pigmentleri klorofillerin oksidasyonu sonucu açığa çıkan

süperoksiti ($O_2^{\cdot-}$) etkin bir şekilde detoksifiye ederek AOT'lere karşı koruyucu rol üstlenirler [131].

Kuraklık stresinde stomaların kapanması CO_2 difüzyonunu engellediği için mezofil iletkenliğini düşürür ve yaprakta içsel sıcaklığın artmasına neden olarak fotoinhibisyonu uyarır [132]. Yüksek sıcaklık ve kuraklık stresleri PSII'nin oksijen oluşturan kompleksinde (OEC) yapısal bozulmalar meydana getirir ve bu durum PSII'nin alıcı tarafındaki OEC'den PSI yönündeki elektron akışında dengesizlikler oluşmasına neden olur. Ayrıca her iki stres faktörü PSII'nin reaksiyon merkezindeki D1 proteinin degradingasyonuna bağlı olarak hasarların oluşmasını da tetikler [126, 133].

Stomaların kapanmasına bağlı olarak CO_2 alımının sınırlanması ışık reaksiyonlarının son ürünleri olan NADPH ve ATP'nin kullanımını da sınırlandırır. Yüksek NADPH/NADP⁺ ve ATP/ADP oranları fotosentetik elektron zincirini inaktive eder [134]. Calvin döngüsü enzimlerinin CO_2 sınırlanmasına bağlı olarak inaktivasyonu, NADPH'nin indirgenememesi ve sonuç olarak ferrodoksinin (Fd) elektronu ferrodoksin NADP redüktaz (FNR) yerine O_2 'ye aktarmasına ve $O_2^{\cdot-}$ oluşmasına sebep olur (Mehler reaksiyonu) [135, 136]. Kuraklık koşullarında ATP sentaz enziminin aktivitesinin azalması ise sentezlenen AOT'lerin enzim alt birimlerinin (α , β ve γ alt birimleri) yapısının bozmasıyla ilişkilidir [137].

Yüksek bitkilerde fotosentezin döngüsel olmayan ışık reaksiyonlarındaki elektron taşıyıcılarına ek olarak; tilakoidlerin stroma lamellerinde plastidal NAD(P)H dehidrogenaz (NDH) kompleksi ve plastid terminal plastokinon oksidaz (PTOX) enzimi bulunur (Şekil 2.3). Bu taşıyıcılar kloroplastta bulunan solunum elektron yolunu ifade eden **klorosolunum** yolunda görev alır ve çevresel stres koşullarında NDH ile ilişkili olan PTOX, PSI üzerindeki elektron basıncını azaltıp, PSI'nin fotoinhibisyonunu önler. NDH; hem PSI'den hem de NADPH'dan elektronları alıp plastokinona aktararak bu kompleksin indirgenmesini sağlar (döngüsel elektron transportu). PTOX ise mitokondrial alternatif oksidaz (AOS)'ın homoloğu olup AOT'lerin deoksifikasyonunda rol oynar ve O_2 'yi substrat olarak kullanıp H_2O 'yu oluşturur [138, 139]. Ayrıca PSI'de Mehler reaksiyonu sonucu sentezlenen $O_2^{\cdot-}$ 'nin detoksifikasyonunu sağlayan su-su döngüsü; fazla eksitasyon enerjisinin söndürülmesinde görev alan alternatif elektron havuzlarından birini oluşturur [140].



Şekil 2.3. Fotosentez süresince elektron transfer reaksiyonları [138]

2.2.3.2. Solunum Metabolizmasındaki Değişimler

Kuraklık stresi bitkilerde fotosenteze ek olarak solunum aktivitesinde önemli değişimlere neden olur. Mitokondrial solunum, bitki hücrelerinin fotosolunumsuz karbon salınım olayı olup, hücrenin korunması ve büyüme için gerekli olan enerji (ATP ve NADPH) ile karbon iskeletinin üretildiği temel metabolik süreçleri oluşturur [141].

Mitokondriyal elektron taşıma zinciri; ubikinon havuzundaki elektronların sitokrom yolu (kompleks III, sitokrom c ve kompleks IV'ten oluşur) ve alternatif oksidaz (AOS) arasında bölünmesi şeklinde ikiye ayrılır. Sitokrom yolu ATP sentezi için proton itici gücü oluştururken; AOS ubikinondaki elektronları doğrudan suya aktarır ve solunum enerjisini düşürür (Şekil 2.4). Kuraklık gibi stres koşullarında AOS hücrenin aşırı indirgenmesini önleyerek mitokondrial solunumun korunmasını sağlar [142]. AOS aktivitesinin artışı bitkilerde antioksidan savunmaya 2 yolla katkı sağlar: (1) mitokondrial elektron taşınımını sürdürerek AOT'lerin oluşumunu engeller; (2) bitkileri oksidatif stresden koruyan ve mitokondride gerçekleşen askorbat sentezine katkıda bulunur [143]. Ribas-Carbo vd. [144] soya bitkisi ile yaptıkları çalışmada orta şiddetli ve şiddetli kuraklık uygulamalarında solunumdaki toplam O_2 alımının değişmediğini belirlemiştir. Araştırmacılar sulama grubuna göre

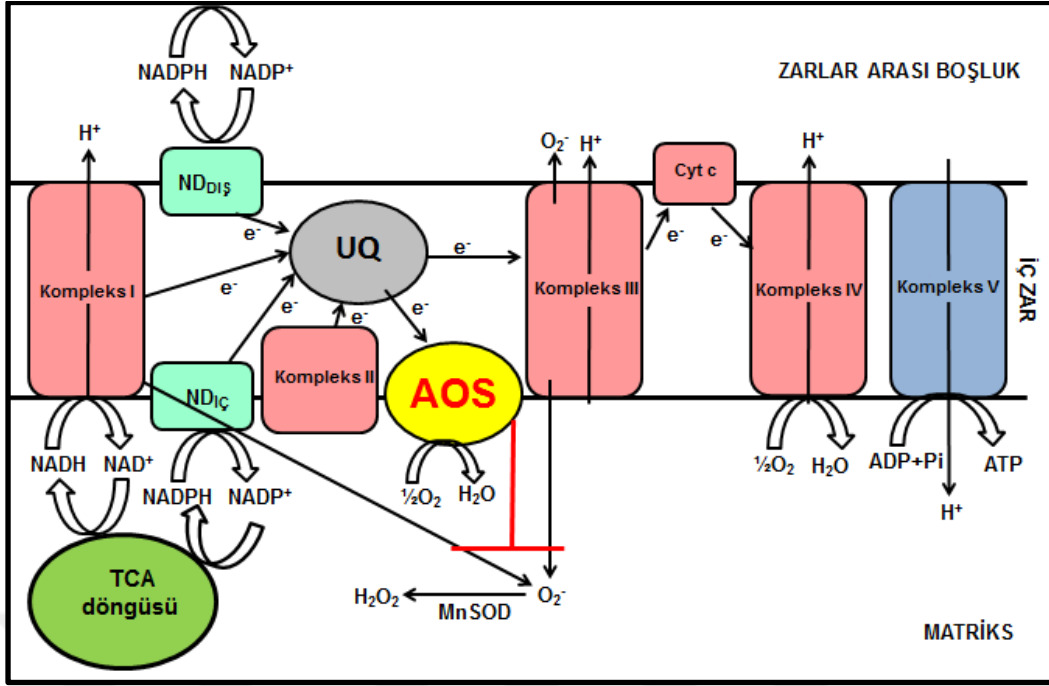
AOS aktivitesinin orta şiddetli kuraklıkta %10-12 oranında, şiddetli kuraklıkta ise %40 oranında arttığını ve özellikle şiddetli kuraklıkta elektron akışının sitokrom yolundan AOS'ye kaydını bildirmişlerdir.

Su stresine maruz kalan bitkilerde solunum köklerde azalırken, yaprakta kuraklığın süresine ve şiddetine göre farklılık gösterir. Yaprak solunumu; yaprak su içeriği %50-55 oranında düştüğünde artarken; su içeriği %70'den fazla düştüğünde azalabilir [145]. Yapraklarda solunum üç nedene bağlı olarak azalabilir; (1) fotosentezin indirgenmesi sonucu mitokondri için gerekli olan substratın azalması, (2) hücrel metabolizmayı desteklemek için gerekli olan solunum enerjisinin azalması; (3) mitokondri bileşiminin, yapısının ve miktarının azalması [145, 146]. Yapılan çalışmalarda kuraklık stresi altında yaprak solunumunun azalmasında; solunum ürünlerine olan (ATP, NADPH ve TCA döngüsü ara ürünleri gibi) ihtiyacın azalmasının etkili olduğunu belirtilmiştir [146, 147]. Ayrıca fotosentezin sınırlandırılmasına bağlı olarak yapraklardan köke iletilen karbon bileşiklerin miktarının azalması kök solunumunun da azalmasına neden olur [148].

2.2.4. Oksidatif Etkiler

Bitkilerde oksijen metabolizmasının doğal sonucu olarak devamlı üretilen AOT'ler [singlet oksijen (1O_2), süperoksit molekülü (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali (OH^-) ve perhidroksil radikali (HO_2^-)] yüksek konsantrasyonlarda olumsuz etkilere neden olurken; düşük konsantrasyonlarda hücrel sinyallerde önemli rol oynar [149].

Optimum koşullar altında çeşitli antioksidan korunma mekanizmaları tarafından detoksifiye edilen AOT'lerin sentezi ve detoksifikasyonu arasındaki denge; biyotik (patojen vb.) ve abiyotik (kuraklık, tuzluluk, UV-radyasyonu, ağır metal, besin eksikliği, hava kirliliği, herbisit) stres koşullarında bozulabilir. Dengedeki bu bozulma AOT düzeyinin ani bir şekilde yükselmesine ve hücrel yapılarda önemli hasarların oluşmasını tetiklemektedir [150]. Kuraklıkta bitkilerin detoksifiye etme kapasitesinin üzerindeki AOT üretimi, hücrelerdeki kontrol mekanizmaları ve sinyalleri bozarak oksidatif strese neden olur [82]. Oksidatif stres; lipid peroksidasyonu, nükleik asit ile proteinlerde yapısal ve fonksiyonel degradasyon ve enzim inhibisyonlarına yol açar [76, 77]. Bu değişimlere bağlı olarak da büyümede aksaklıklar, verimlilikte azalma ve erken senesens meydana gelmektedir [152].



Şekil 2.4. Bitki mitokondrial elektron taşıma zinciri. Bu zincir ubikinondan itibaren sitokrom yolu ve AOS olmak üzere ikiye ayrılır. AOS, O_2 'yi H_2O 'ya indirger; sitokrom yolu ile de ATP sentezi sağlanır. Ayrıca mitokondri matriksinde yer alan MnSOD'da elektron iletimi esnasında sentezlenen $O_2^{\cdot-}$ 'yi H_2O_2 'ya indirgeyerek AOT detoksifikasyonunda görev alır [151].

Kompleks I: NADH dehidrogenaz; Kompleks II: Süksinat dehidrogenaz; Kompleks III: Sitokrom bc1 kompleksi; Kompleks IV: Sitokrom oksidaz; Kompleks V: ATP sentaz; $ND_{iç}$: İç NADPH dehidrogenaz; $ND_{dış}$: Dış NADPH dehidrogenaz.

2.2.4.1. Aktif Oksijen Türleri

Bitkiler çevresel streslere maruz kaldığı zaman AOT'lerin sentezi artar. AOT oluşumu fotosentezde PSI ve PSII ile birlikte tüm fotosentetik mekanizmada güçlü bir zarara neden olur. Ayrıca, kuraklık gibi abiyotik stres koşullarında stomaların kapanması kloroplastlarda düşük hücre içi CO_2 konsantrasyonuna neden olarak 1O_2 oluşumunu tetikler [150]. $O_2^{\cdot-}$ 'nin bir elektron alması ile oluşan $O_2^{\cdot-}$ kısa ömürlü ve orta derece reaktif bir AOT olup hem indirgeyici hem de yükseltgeyici özelliğe sahip nükleofilik bir reaktandır. $O_2^{\cdot-}$, demir-kükürt [4Fe-4S] kümelerini içeren enzimleri okside eder ve sitokrom c'nin aktivitesini azaltır [153]. $O_2^{\cdot-}$ 'den sentezlenen H_2O_2 ise diğer AOT'lere göre daha kararlı ve yüksüz bir moleküldür. Akuaporinleri kullanarak membranlardan geçebilen H_2O_2 sinyal molekülü olarak da görev alabilir [154]. Metal iyonları varlığında H_2O_2 ve $O_2^{\cdot-}$ 'den sentezlenen OH^{\cdot} oldukça reaktif bir molekül olup hücrede belirgin oksidatif hasarlara neden olur.

OH⁻ sinyal molekülü olmamasına rağmen bu molekülün reaksiyon ürünleri sinyal rolü üstlenebilir. Bu nedenle hücreler katalitik metalleri etkin bir şekilde metaloşaperonlara dönüştürülerek OH⁻ oluşumunu engelleyebilir [155].

AOT'ler hücrelerin birçok bölümünde farklı yollardan sentezlenirler. Kloroplast AOT'lerin en önemli kaynağını oluştururken [156]; fotosentetik olmayan dokularda AOT'lerin kaynağı mitokondridir; ancak bitkinin yeşil dokuları ile kıyaslandığında mitokondrilerin AOT sentezine katılımı daha azdır. Mitokondride AOT'ler mitokondrial elektron taşınım sisteminde özellikle kompleks I ve II ile indirgenmiş ubikinon tarafından [155]. Kloroplast ve mitokondriye ek olarak peroksizom, hücre çeperi, hücre zarı, apoplast ve endoplazmik retikulum da kuraklığın indüklediği AOT üretiminde önemli role sahiptir [79].

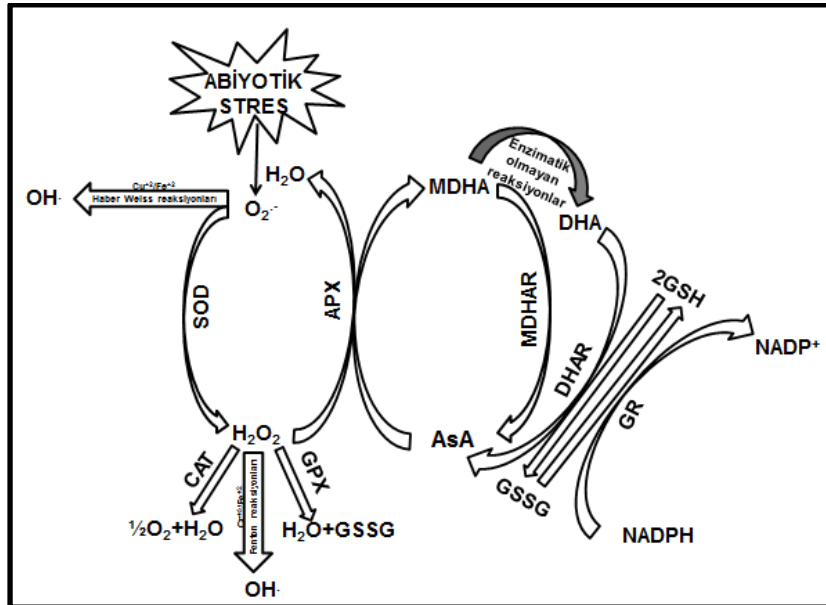
2.2.4.2. AOT'lerin Detoksifikasyonu

Bitkilerin AOT'lerin toksik etkilerinin üstesinden gelmek ve üretimini kontrol altında tutmak için geliştirdikleri detoksifikasyon mekanizmalarında antioksidan enzimler ile antioksidan metabolitler bulunur [157]. Enzimatik [süperoksit dismutaz (SOD-1.15.1.1), askorbat peroksidaz (APX-1.11.1.11), glutatyon redüktaz (GR-1.6.4.2), katalaz (CAT-1.11.1.6), peroksidaz (POD-1.11.1.7), monodehidroksiaskorbat redüktaz (MDAR-1.6.5.4) ve dehidroksiaskorbat redüktaz (DHAR-1.8.5.1)] ve enzimatik olmayan antioksidan [askorbat (AsA), glutatyon (GSH), karotenoidler, α - tokoferoller ve fenolik bileşikler] savunma sistemleri AOT'leri doğrudan veya dolaylı yoldan detoksifiye ederler (Şekil 2.5) [158]. Antioksidanlar arasındaki bu işbirliği, aynı zamanda, oksitlenmiş antioksidanların tekrar dönüşümüne olanak sağlar. Ayrıca antioksidanlar hücrel redoks durumunun önemli sensörleridir ve hücrel redoks dengesini muhafaza etmeyi amaçlayan bir dizi sinyal basamağını uyarır [159].

AOT'lere karşı koruyucu sistemin ilk adımını oluşturan SOD; 2 molekül O₂⁻ kullanır ve bu O₂⁻'den biri H₂O₂'ye indirgenirken; diğeri O₂'ye yükseltgenir (Şekil 2.6) [160]. SOD enzimi O₂⁻'yi ortamdan uzaklaştırarak metallerin katalizlediği Haber-Weiss reaksiyonu ile OH⁻ oluşum riskini de azaltır [150]. Metaloprotein olan SOD; Cu, Zn, Mn veya Fe gibi kofaktörler ile reaksiyonları katalizler ve bu reaksiyonlar kloroplastta, mitokondride, sitozolde, peroksizomda ve apoplastta gerçekleşir [161, 162].Yapılarına ve işlevlerine göre bitkilerde SOD'un üç izoenzimi bulunur; Mn-

SOD (mitokondri ve peroksizom), Cu/Zn-SOD (sitozol, mitokondri ve plastid), Fe-SOD (kloroplastta).

Güçlü bir oksidan olan ve tiyol gruplarını hızlıca oksitleyebilen H_2O_2 'nin tiyol-düzenleyici enzimlerin bulunduğu kloroplast gibi organellerde birikmesi önlenmelidir [163]. APX, H_2O_2 detoksifikasyonunda görev alan anahtar role sahip bir enzimdir [164]. Hem-bazlı peroksidazlar grubu (sınıf I) içinde yer alan APX, hücre içi lokalizasyonlarına göre sınıflandırılan izoformlara sahiptir: Çözünebilir izoenzimler [sitozol (cAPX), mitokondri (mitAPX) ve kloroplast stromasında (sAPX)] ve membrana bağlı izoenzimleri [mikrocisimlerde (peroksizom ve glioksizom dahil) (mAPX) ve kloroplast tilakoidlerinde (tAPX)] [165]. APX, H_2O_2 'nin detoksifiye edildiği askorbat-glutatyon döngüsü veya Halliwell-Asada döngüsünde yer alır ve elektron donörü olarak askorbatı (AsA) kullanır (Şekil 2.5). AsA'ın indirgenmesi sonucu oluşan monodehidroaskorbat (MDA), MDAR enziminin aktivitesiyle AsA'ya indirgenebileceği gibi kendiliğinden dehidroksiaskorbata (DHA) da indirgenebilir. DHA'dan AsA sentezlenmesinde DHAR enzimi görev alır ve itici güç olarak glutatyonun [GSH (redükte glutatyon)'den GSSH (okside glutatyon)] oksidasyonunu kullanılır. GSSH'dan GSH'ın tekrar sentezlenmesini ise GR enzimi aracılığıyla gerçekleştirir [166, 167]. Ayrıca kloroplastlarda Mehler reaksiyonu sonucu sentezlenen O_2^- 'nin detoksifikasyonu APX'in görev aldığı su-su döngüsü ile gerçekleşir [168]. Diğer hem-bazlı peroksidaz grubunda (sınıf III) yer alan POD;



Şekil 2.5. Stres koşullarında AOT'lerin oluşumu ve bunların antioksidanlar tarafından yakalanma mekanizmaları [100].

fenolikleri, lignin öncüllerini veya sekonder metabolitleri elektron donörü olarak kullanarak H_2O_2 'yi indirger [169]. Peroksidazlar kloroplast, sitosol, vakuol, hücre çeperi ve hücreler arası boşlukta bulunur [170, 171].

Katalaz, 2 molekül H_2O_2 'yu su ve oksijene çevirerek zararsız hale getirir. CAT; peroksizomda yağ asitlerinin β -oksidasyonunda yer alan oksidazlar ile fotorespirasyon ve pürin katabolizması tarafından üretilen H_2O_2 'nin detoksifikasyonunda önemli role sahiptir [150].

Enzimatik olmayan savunma sisteminde görev alan antioksidan moleküller elektron ya da hidrojen vererek serbest radikallerin detoksifiye edilmesinde etkili role sahiptirler [135]. Önemli antioksidanlardan biri olan askorbat (AsA- L-askorbat, vitamin C), enzimatik reaksiyonlarda rol almasının yanında, H_2O_2 ile enzimatik olmayan reaksiyona girer [172]. Bitkilerde mitokondrinin iç zarında sentezlenen ve öncelikle 1O_2 , O_2^- , $HO_2^.$ ve tiyol grupları ile reaksiyona giren AsA, birçok bitki peroksidazı (APX gibi) için doğal substrat olarak işlev gösterir [173]. Ayrıca AsA; prolin sentezi, prostetik geçiş metal iyonlarına sahip enzimlerin korunması; hücre bölünmesi, hücre uzaması, hücre vakuolizasyonu, hücre çeperinin genişlemesi, okside karotenoid ve tokoferollerin korunması ve yenilenmesi ile fotosentezde görev alır [157, 163].

AOT artışı ile indüklenen oksidatif hasara karşı en önemli hücre içi savunma metabolitlerinden biri olarak kabul edilen glutatyon; sitozol, kloroplast, endoplazmik retikulum, vakuol ve mitokondri gibi hücresel bölümlerde bulunur [174]. Glutatyonun hücrelerde serbest tiyol grubu ile indirgenmiş bir formu (GSH) ya da iki özdeş molekül arasında bir disülfid bulunan oksitlenmiş bir formu (GSSG) mevcuttur [175]. Glutatyonun hücre farklılaşması, hücre ölümleri ve yaşlanma, patojen direnci ve enzimatik regülasyon gibi çeşitli büyüme ve gelişme olaylarında önemli rol oynadığı bilinmektedir [150]. Ayrıca hücre fonksiyonları için önemli olan GSH/GSSG oranı, askorbat-glutatyon döngüsünün temel bileşenlerinden olan GR tarafından korunur [176].

Lipid antioksidanları olarak adlandırılan α -tokoferoller (vitamin E), AOT'nin yakalanmasında ve lipidlerin oksidatif hasara karşı korunmasında görev alır [177]. Kloroplast membranlarında bulunan α -tokoferoller bu zarları fotooksidatif hasara karşı korur [178]. Bu mekanizmada α -tokoferol 1O_2 'yi H_2O_2 'ye dönüştürürken aldığı

elektron ile α -tokoferol radikaline dönüşür. Ortamda bulunan AsA bir yandan H_2O_2 'yi detoksifiye ederken, diğer yandan α -tokoferol radikalini yeniden α -tokoferole dönüştürür [179].

Işığın yakalanması ve fotokorumada temel role sahip olan ve tüm fotosentetik organizmalar tarafından üretilen karotenoidler; bir diğer enzimatik olmayan antioksidandır [180]. Yaygın olarak bulunan çift bağlar sayesinde ışığı absorbe edebilen karotenoidler; fotosentez esnasında meydana gelen Chl^* , 1O_2 ve diğer serbest radikalleri detoksifiye ederek fotosentetik aparatları korur. Ayrıca yapısal rolü ile de fotosistemlerin bütünlüğü, ışık toplayıcı kompleks proteinlerinin kararlılığı ile tilakoid zar stabilizasyonu için de önemlidir [150]. Karotenoidler; fotosentez mekanizmasını, lipid peroksidasyonuna ve aşırı eksitasyona karşı korurken karotenoid radikallerine dönüşür. Sentezlenen bu radikaller; α -tokoferoller ve AsA tarafından tekrar indirgenerek antioksidan özeliğe sahip karotenoidler yeniden sentezlenebilir [181].

Bitkilerde ikincil metabolitlerin büyük bir kısmını temsil eden fenolik bileşikler (çoklufenoller); bir veya daha fazla hidroksil grubu taşıyan en az bir aromatik halka (C6) ile karakterizedir [182]. Sinnamik asitten sentezlenen fenolik bileşikler fenolik asitler, flavonoidler ve taninler olarak sınıflandırılır [183]. Fenolik bileşikler bitkilerde doku ve hücre tipine özgün olarak sentezlenir ve fitoaleksinleri oluşturma, UV'ye karşı koruma, sinyal molekülü olma ve önemli yapısal bileşenleri oluşturma gibi görevlere sahiptirler [184]. Flavonoidler içerisinde yer alan antosiyaninler ise doğrudan AOT'lerin yok edilmesinde görev alır ve AsA ile α -tokoferollere göre 4 kat daha fazla AOT detoksifikasyon kapasitesine sahiptir [185].

2.3. Bitkilerde Kuraklık Stresine Karşı Geliştirilen Dayanıklılık Mekanizmaları

Bitkiler kuraklık gibi streslere karşı adaptasyon stratejilerini büyüme, gelişme, hücresel ve moleküler aktiviteleri ayarlayarak düzenler [186]. Kuraklık stresine karşı verilen erken tepkiler, genellikle bitkinin bir süre hayatta kalmasına yardımcı olur. Bitkinin kuraklığa alışması ise; stres koşullarında fonksiyonlarını iyileştirmek için yapısal kapasite ile ilişkili bazı yeni metabolitlerin birikimine bağlıdır. Bitkilerin su stresine karşı verdiği cevaplar ile ilgili esas görüşler; homeostasin korunması (iyon dengesi ve osmotik ayarlamalar); AOT'lerin detoksifikasyonu gibi hızlı tamir mekanizmalarının devreye sokulması ve oluşabilecek hasarların engellenmesi;

oksidatif stresin azaltılması ve büyümenin düzenlenmesi ile iyileşmeyi içermektedir [80]. Bitkilerin kuraklığa karşı geliştirdiği dayanıklılık mekanizmaları; organizmanın gözlemlenebilir etkisinden gen aktivitesine doğru; morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal (antioksidanlar; bitki büyüme düzenleyicileri, çözünebilir bileşikler ve osmotik düzenleyiciler) ve moleküler düzeylerde incelenebilir.

2.3.1. Morfolojik Mekanizma

Bitkiler; morfolojik olarak farklı şekillerde kuraklığa karşı tolerans mekanizmaları geliştirmiştir [187]. Sürgün ve kök kuraklıktan en fazla etkilenen yapılar olup her ikisi de kuraklığa adaptasyonda bitkinin temel organlarıdır. Kuraklık stresi altında bitkiler yaprak genişlemesinin inhibisyonu ile fotosentez sonucu sentezlenen asimilatların kök sistemlerine taşınımını artırır. Bu durum kökün büyümesi, yoğunluğu, yayılımı ve alanını artırarak strese karşı dayanıklılık kazanılmasını sağlar [77]. Şiddetli kuraklık koşullarında bitkiler; yaprak yüzeyine oranla iletim demetleri ile birim yaprak alanı başına stoma sayısını artırır. Ayrıca bitkiler; küçük yaprak boyutu ve yaprak kıvrılması; tüy yoğunluğunun artması ve epidermal duvar ile kutikulanın kalınlaşması gibi adaptif özelliklere sahip olma eğilimindedir [74, 83, 188].

2.3.2. Fizyolojik Mekanizma

Su; hücre genişlemesi ve büyümesi ile otsu bitki formunun korunması için gerekli olan turgorun sürdürülmesinde esas gerekli bileşendir. Bitkiler, stres koşullarında turgorun korunması için osmotik potansiyeli düşürerek hücrelere su girişini sağlayacak osmotik düzenleyici bileşikler sentezler. Yaprakta su durumunun düzenlenmesi; osmotik ayarlamalar ve/veya hücre çeper elastikiyetinin değiştirilmesi ile sağlanır. Bu durum kuraklık süresince fizyolojik aktivitenin devamlılığı açısından gerekli bir özelliktir [77].

Kuraklıkta yaprak alanının azalması, stomaların kapanması ve kutikula kalınlığının artması transpirasyon oranını (su alımı/su kaybı) azaltır [74, 109, 187]. Bitkilerin daha küçük çaplı kökler geliştirmesi, emici yüzeyleri en üst düzeye çıkarması ve su ile besin alınımını arttırması kuraklık koşullarında geliştirdiği dayanıklılık stratejilerdir. Ayrıca köklerde aşırı kuraklık koşullarında hücre çeperinde suberinleşmenin artması da kökten geçebilecek suyun ters akışını engellemektedir [189].

2.3.3. Biyokimyasal Mekanizma

2.3.3.1. Antioksidan Savunma Sistemleri

Bu kısım “2.2.4.2. AOT’lerin detoksifikasyonu” başlığı altında anlatılmıştır.

2.3.3.2. Bitki Büyüme Düzenleyicileri

Bitkisel hormonlar bitkilerin büyüme ve gelişmesi için besin maddelerinin dağılımı ile kaynak/havuz geçişlerine aracılık ederek değişen ortam koşullarına uyum yeteneğinde merkezi role sahiptir [190]. Kuraklık stresinde oksin, giberellin ve sitokininin hormonlarının içsel ifadesi azalırken; ABA ve etilenin ifadeleri artar [77].

Stomanın kapanması gibi birçok hücrel işlevde görev alan ABA, kuraklık koşullarında su dengesinin ve osmotik stres toleransının düzenlenmesinde erken uyarı sinyali olarak işlev görür [152, 191]. ABA bitkilerdeki bu işlevleri; osmotik koruyucuların birikimini tetikleyerek osmotik ayarlama, fotosentetik proteinlerin degregasyonunda ve stoma yoğunluğu ile hacmi, yaprak alanı ve kök gelişimi gibi değişimlerin düzenlenmesinde görev alarak gerçekleştirir [89].

Bitki gelişiminin düzenlenmesine görev alan ve doğal olarak indol-3-asetik asit (IAA) formunda sentezlenen oksin hormonun orta şiddetteki su stresinde kök ucuna oksin taşınımının arttığını bildirmiştir [192]. Oksin taşınımının artışı, kök ucunda H⁺-ATPaz’lar aracılığıyla proton salınımını artırır ve orta şiddette kuraklık altında bu proton salınımı, primer kökün oluşumu ve korunması ile kök tüyleri gelişimini sağlar. Kuraklığın algılanması veya çevresel etkiler (dışsal oksin uygulanması veya oksine dayanıklılık genine sahip mutantlar gibi) ile ortaya çıkan oksin sinyal iletimindeki aksaklıklar; yan kök gelişimini, hücre genişlemesi, yan kök primordiumlarının oluşumu, büyümesi ve oryantasyonunu içeren her bir basamağın aktivitesini azaltarak etkiler [193, 194]. Kuraklık stresi süresinde oksin dengesinin korunması, yan kök oluşumu için gereklidir ve yapılan çalışmalar bu cevapların oksin ile ABA gibi diğer hormonların etkileşimine bağlı olduğunu göstermektedir [195]. Diterpenoid bitki hormonlarının büyük bir sınıfını oluşturan giberellinlerin (GA) kuraklık koşullarında katabolizmasının arttığı, aktivitesinin baskılandığı ve bu durumun olumsuz koşullara adaptasyonda oldukça etkili bir mekanizmanın parçası olduğu bildirilmiştir [196]. Bitki büyüme hormonu olan GA ile ABA’nın sinyal iletim yollarının belirli noktalarda kesişmesi, GA’nın bitkide hücrel stres ağı ve gelişimsel sinyal yolunun düzenleyici fonksiyonunda anahtar role sahip olduğunu göstermektedir [197].

Hücre bölünmesinde önemli role sahip olan sitokin hormonunun sentezinde görev alan enzimleri [sitokin sentaz, adenosin fosfat ve izopentenil-transferazı (IPT)] kodlayan genlerin aktivitesi kuraklık gibi çevresel stres koşullarında azalırken; sitokin oksidazı kodlayan genlerin aktivitesinin artmasına bağlı olarak sitokin düzeyi azalır ve bu durum yaprak senesensini tetikler [195]. Bitkilerde köklerin uzamasını engelleyen sitokin hormonunun kuraklık koşullarında azalması; kuraklık toleransının düzenlenmesine katkıda bulunan kök büyümesinin artışına neden olur [198].

Etilen bitki dokularında bulunan gaz formundaki hormon olup öncülü olan 1-amino siklopropan-1-karboksilik asitten (ACC) sentezlenir. Stres koşullarında, etilenin sentezi artar ve kök ile sürgün büyümesinin azalmasını tetikleyerek bitkinin homeostazını düzenler [76]. Kuraklığın beraberinde ortaya çıkan ikincil stresler olan yüksek sıcaklık ve osmotik stres de etilen üretiminin artmasına neden olur. Ayrıca kökte ABA aracılı olarak etilenin öncülü olan ACC sentezlenir ve bu öncül yapraklarda absisyona neden olan etilene dönüştürülür [109, 199]. Bunlara ek olarak etilenin stoma kapanmasında da görev aldığı düşünülmektedir [152].

Salisilik asit (SA), bitkilerde doğal olarak bulunan fenolik bileşiklerdendir. Hücresel işlevlerde sinyal molekülü olarak görev alan SA'nın sentezi çoğunlukla fenilalanin yolu ile gerçekleştirilir [200]. SA'nın bitki büyümesi ve gelişimi ile diğer organizmalarla etkileşimi ve çevresel streslere cevapta önemli rol oynadığı bulunmuştur [201]. Kuraklık stresi altında dışsal SA uygulanarak bitkilerin kuraklık toleransının artırıldığını gösteren bir çok çalışma mevcuttur [201-204]. Dışsal SA uygulaması; fotosentetik etkinliği, membran geçirgenliğini, yaprak su potansiyelini, klorofil içeriğini, nitrat redüktaz ve karbonik anhidraz enzim aktivitelerini, kuru madde birikimini ve antioksidan enzim aktivitelerini indükleyerek bitkilerin kuraklığa toleransını artırır [195].

Jasmonatlar (JA) olarak bilinen jasmonik asit ve türevleri çevresel stres toleransını artıran hormon grubundadır. JA lipidden türetilmiş sinyal molekülleri olup, lipid peroksidasyon yolunda allen oksidaz sentaz enzimi aracılığıyla sentezlenir [205]. Bitkilerde JA'dan sorumlu genlerin ifadesinin stres koşullarında arttığı ve toleransa katkıda bulunduğu bildirilmiştir [206]. Ayrıca, JA'ların antioksidan enzim aktivitelerini artırarak, kuraklıkla ortaya çıkan oksidatif etkileri hafiflettiğini bildiren birçok çalışma bulunmaktadır [206-209]. Kuraklık stresinin şiddetinin artışı ile

birlikte JA konsantrasyon artışının ABA ile benzer cevaplar verdiği ve stoma kapanmasını pozitif yönde etkilediği bildirilmiştir [210].

2.3.3.3. Osmotik Düzenleyiciler

Osmotik düzenleme mekanizması; osmotik düzenleyicilerin sentezi sonucu hücresel turgorun korunması ile osmotik ve iyonik dengenin düzenlenmesini içerir [90]. Osmotik düzenlemede görev alan osmolitler, su stresine cevapta ve dayanıklılıkta önemli role sahiptir. Bu bileşiklerin birincil fonksiyonu, hücrelere gradiyent boyunca su girişinin devamlılığını sağlayarak hücrelerden su kaybını önleme ve turgorun korunmasıdır [80]. Buna ek olarak osmolitler; AOT'lerin neden olabileceği hasarları azaltma, membran hasarlarını önleme, protein ile enzimlerin stabilizasyonu ve stomaların açılıp kapanma mekanizmalarının düzenlenmesinde de görev alırlar [77, 211, 212].

Kuraklık stresi altında bitkilerde osmotik düzenleme aşağıda özetlenmiştir [213];

- Osmotik düzenlemede, bitki su durumunun aktif organik veya inorganik çözünen birikimi için gerekli sinyali verebilecek düzeye düşmesi gerekir. Genotipe bağlı olarak, bitkilerde osmolit birikimi, su miktarının azalması ile orantılı olarak gerçekleşir.
- Osmotik düzenlemeler zaman gerektiren uyum işlevleridir. Hızlı su kaybı durumlarında osmotik düzenlemeler gerçekleşemez.
- Kuraklık nedeniyle büyümenin azaldığı ve fotosentezin çok fazla etkilenmediği durumlarda, fotosentez ürünleri (şekerler vb.) osmotik düzenleme için biriktirilebilir. İnorganik çözünenler de (örn; K^+) osmotik düzenlemede etkin olarak görev alırlar.
- Kuraklıkta osmotik düzenleme ile hücre çeperinin elastikiyeti ayarlanarak turgor düzenlenir. Genellikle küçük hücreler büyük hücrelere göre osmotik düzenlemeler için daha uygundur.
- Osmotik düzenleme ile bitkide tamamıyla turgor kaybolmayacak şekilde su potansiyeli azaltılır.

Osmotik düzenlemede görev alan osmolitler, düşük molekül ağırlıklı bileşikler olup yüksek konsantrasyonda dahi toksik olmayan, hücre metabolizmasına zarar vermeyen, yüksek oranlarda çözünebilen ve molar konsantrasyonlarda biriken nötral maddelerdir [211, 214]. Osmolitlerin bir kısmını vakuolde biriken K^+ gibi

temel iyonlar, diğerk kısmını ise organik osmolitler oluşturur ve bunların çoğuş organeller başta olmak üzere sitoplazmada biriktirilirler [215, 216]. Organik osmolitler; amonyum içeren bileşikler (poliaminler ve betainler); şeker ve şeker alkoller (karbohidrat şekerler ve şeker alkoller) ile aminoasitler (prolin) şeklinde sınıflandırılabilir (Çizelge 2.3).

2.3.4. Moleküler Mekanizmalar

Bitkilerin kuraklık stresi gibi çevresel streslere adaptasyonları; stresin algılanması, sinyal iletimi ve stresle ilgili gen ve metabolit ifadelerinin düzenlenmesini içeren moleküler mekanizmaya ait aşamaların aktivasyonuna bağlıdır [217]. Kuraklıkta gen ifadelerindeki değışimleri, ikincil stres olarak ortaya çıkan oksidatif ve osmotik stres de düzenler. Bu faktörlerin ortak etkisiyle ortaya çıkan cevaplar ise kuraklığın oldukça kompleks bir olay olduğunu ortaya koymaktadır [77].

2.3.4.1. Gen İfadesi Düzeyindeki Değışimler

Bitkilerde kuraklık hücre çeperi ya da membranda yer alan sensör veya reseptörlerin uyarılması ile algılanır (Şekil 2.6). Histidin kinaz reseptörü (ATHK), lösince zengin protein RPK1, SPK1 ve ABA reseptörü (PYR1/PYL/RCAR'ler) kuraklık sinyali ile uyarılır ve sinyal mekanizmasını aktive eder [218, 219]. Algılanan hücre dışı sinyaller, Ca^{+2} , inositol fosfat ve AOT'ler gibi ikincil haberciler yoluyla hücre içine aktarılır. İkincil haberciler sinyal iletimini içeren sinyal yolunu başlatır. Bu sinyal iletim yolunda protein fosforilasyonu ve defosforilasyonunda görev alan protein kinazlar [mitojen aktive eden protein kinazlar (MAPK'lar) ve kalsiyum bağı protein kinazlar (CDPK'lar)] ve fosfatazlar görev alır. Sinyal iletimi sonunda ise protein kinazlar ve fosfatazlar tarafından moleküler mekanizmanın düzenlenmesinde görev alan ve bir diğerk protein grubu olan transkripsiyon faktörleri (TF)'nin ifadesi düzenlenir (aktive edilir veya baskılanır). Daha sonra TF'lerde stresten sorumlu genlerin promotor bölgesindeki cis-acting elemente bağlanarak bu genlerin transkripsiyonunu düzenler [223, 224]. Kuraklık nedeniyle içsel düzeyi artan ABA da su stresi cevabında yer alan gen ifadelerini düzenlemektedir. Yapılan moleküler çalışmalar, kuraklığa bağı olarak gen ifadesi düzenlemelerinin ABA-bağımlı veya ABA-bağımsız yol aracılığı ile gerçekleştirildiğini ortaya koymuştur [225]. ABA bağımlı yolda AREB/ABF (bZIP), MYB/MYC, NAC, WRKY'ler ve NF-Y transkripsiyon faktörleri bulunurken; ABA

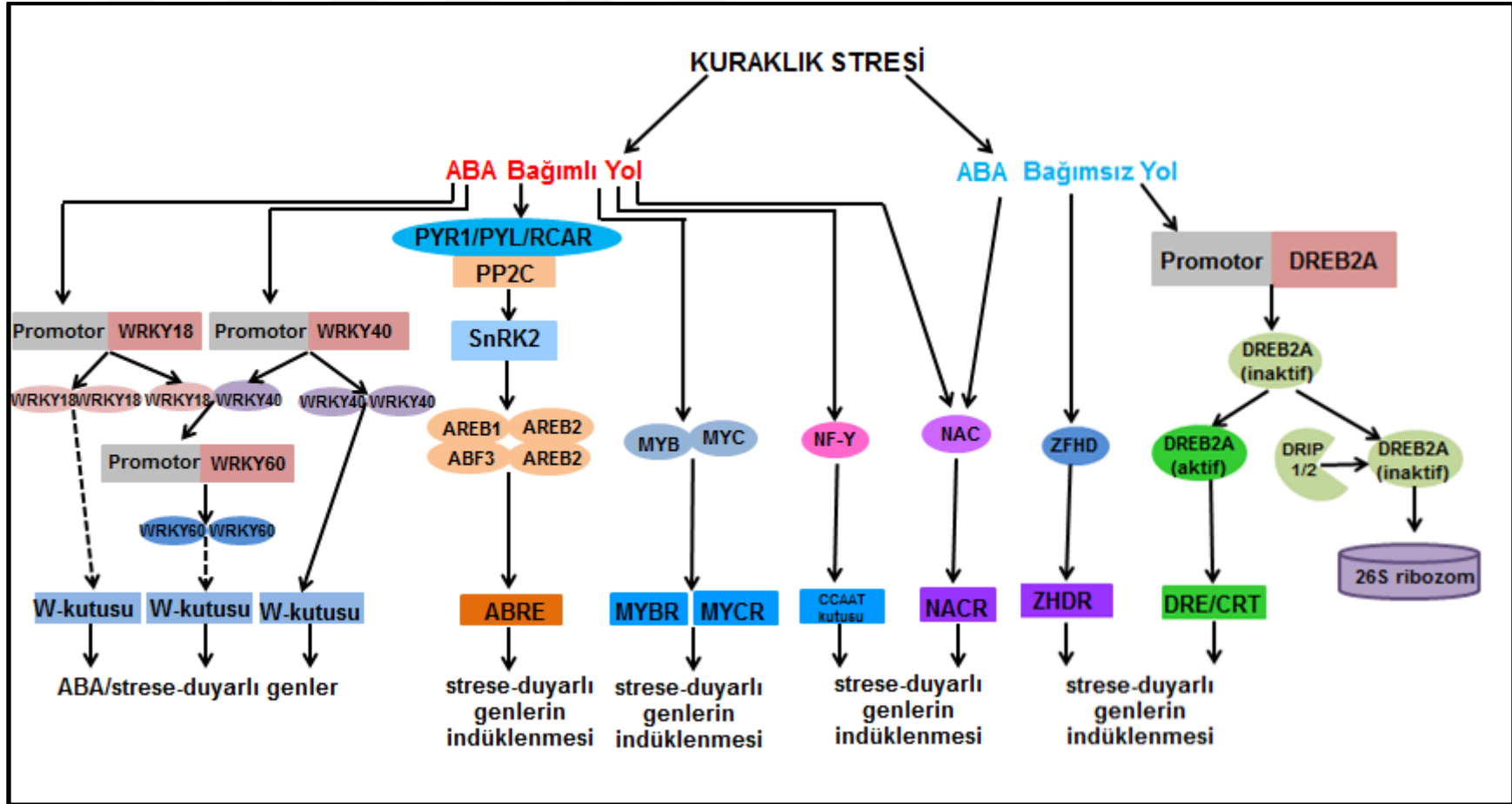
Çizelge 2.3. Bitkilerde kuraklık toleransını artıran önemli osmotik düzenleyici bileşikler [80, 120, 152, 211, 212, 220-222].

Osmotik koruyucu		Sentezlenmesi ve fonksiyonları	
Amonyum içeren bileşikler	Poliaminler	Hidrofilik özellikleri sayesinde ortam pH'sının korunmasını sağlarlar. Putresin, spermin ve spermidin en yaygın olanlarıdır. Bu osmotik koyucular serbest olarak bulunabildikleri gibi, küçük (fenolik bileşikler) veya büyük (nükleik asit ve proteinler) moleküllere kovalent bağ ile bağlanabilirler. Stres koşullarında artan serbest radikal detoksifikasyonunda osmotik koruyucu olarak rol oynarlar.	
	Betaïinler	Glisin betaïin	Sentezi kloroplastta, ışığa bağımlı olarak kolin monooksijenaz (CMO) ve betaïin aldehit dehidrogeaz (BADH) enzimleri aracılığıyla gerçekleşir. Osmotik ayarlama ve tilakoid membranlar ile Rubisko ve OEC gibi fotosentetik mekanizmada yer alan komplekslerin korunmasında görev alarak fotosentetik etkinliğin korunmasını sağlar. Ayrıca moleküler şaperonlar gibi enzimlerin katlanmasını önleyerek stabilizasyonunun korunması, AOT'lerin detoksifikasyonu ile membran geçirgenliğinin sağlanmasında da görev alır.
	GABA	γ-amino butirik asit (GABA) protein olmayan aminoasitlerdir. Esas olarak sitozolde glutamattan glutamat dekarboksilaz (GAD) aracılığıyla sentezlenir. Stres koşulları altında GABA metabolizması; karbon-azot metabolizması ve AOT'lerin detoksifikasyonu ile ilişkili olup stres toleransına katkıda bulunur.	
Şeker ve şeker alkoller	Karbhidrat	Fruktan: Osmotik ayarlamalar, membran ve protein stabilizasyonu ve AOT'lerin detoksifikasyonunda görev alır.	
		Trehaloz: İndirgenmemiş disakkarit şekerlerdir. Bitkilerde genellikle stres koşullarında trihaloz-6-fosfat sentaz (TPS) ve trehaloz-6-fosfat fosfataz (TPP) enzimleri tarafından sentezlenir. Hücre özsuyunun osmotik potansiyelini düşürerek suyun hücre dışına çıkışını önler, proteinlerin ve membranların stabilizasyonunu ile karbon metabolizmasının düzenlenmesine katkı sağlar.	
	Şeker Alkoller	Mannitol: Osmotik ayarlama, AOT'lerin detoksifikasyonu ve makromoleküllerin stabilizasyonunda görev alır.	
Sorbitol : Birincil fotosentetik ürün olup osmotik düzenleyici gibi davranır ve sorbitolün fruktoza oksidasyonunu katalizler.			
		D-ononitol: Osmotik koruyucu olarak bitkilerden su kaybını önler, enzimlerin korunmasını sağlar ve membranların OH ⁻ tarafından zarar görmesini engeller.	
Amino asitler	Prolin	Birikimi düşük su potansiyeline karşılık genel bir cevaptır ve konsantrasyonu kontrol koşullarına göre 100 kata kadar artabilir. Sitoplazmada veya kloroplastta glutamattan prolin-5-karboksilaz sentetaz ve prolin-5-karboksilaz redüktaz enzimleri ile sentezlenir. Ayrıca prolin alternatif bir yol olarak ornitinden, ornitin-delta-aminotransferaz (OAT) aracılığıyla da sentezlenir. Düzeyi; sentez ve degregasyonu arasındaki dengeye bağlıdır. Stres koşullarında birikim nedeni ise sentezinin artıp degregasyonunun azalmasıdır. Membran, enzim ve diğer proteinlerin korunması (moleküler şaperonlar gibi davranma), osmotik düzenleme; serbest radikallerin yakalanması, sitozolik pH ile hücresel redoks potansiyelinin korunması, spesifik gen ifadelerinin aktivasyonu (protein kinazların aktivasyonu), sinyal molekülü olarak mitokondrial fonksiyonların düzenlenmesi ile hücre proliferasyonu veya hücre ölümlerinin düzenlenmesinde görev alır.	

bağımsız yolda DREB2A, NAC ve ZFHD transkripsiyon faktörleri bulunur. ABA-bağımlı yolda yer alan AREB (ABA sorumlu element bağlanma protein) / ABF (ABRE bağlanma faktörü) TF'si, ABA'ya duyarlı genlerin aktivitesini promotör bölgesindeki ABRE'ye bağlanarak düzenler. ABRE, esas olarak ACGT dizisine sahip, 8 baz çifti uzunluğundaki bir cis-acting elementtir (PyACGTGG/TC). AREB/ABF TF'leri, bZIP (basic leucine zipper) ailesinin alt üyelerindedir ve bZIP domainine ek olarak 4 korunan domain (AREB1, AREB2, ABF1, ABF3) içerirler [226]. ABRE ise RD29B ve RD20A genlerinin promotör bölgesindeki ABRE motifine bağlanarak aktivitelerini düzenler [227]. Ayrıca ABRE'nin tek bir kopyası, ABA'ya bağımlı gen ifadesinin düzenlenmesi için yeterli değildir. Aktif bir cis-acting element olarak işlev görebilmek için ABRE'nin, başka kopyaları veya başka bir spesifik cis-acting element ile ilişki kurması gerekir [116].

ABA birikimi ile aktivitesi artan diğer protein grubu ise MYB/MYC proteinleridir [228]. MYB proteinlerinin birçok üyeleri R2R3-MYB alt ailesine aittir. C terminal alanlarındaki DNA bağlama domainleri ile amino asit motiflerinin korunmasına bağlı olarak bu alt aile üyesi sınıflandırılmış ve 23 alt gruba ayrılmıştır. R2R3-MYB TF'leri, birincil ve ikincil metabolizma, hücrenin durumu, gelişimi, abiyotik ve biyotik strese cevabını içeren bitkiye özel süreçlerin kontrolünde merkezi rol oynar [229]. MYC TF'leri ise bHLH (basic-helix-loop-helix) domainleri içeren bHLH transkripsiyon faktörleri ailesine dâhildir. MYC TF'lerinin, ABA sinyalinde olduğu gibi jasmonik asit sinyal cevaplarında da görev aldığı çalışmalarda bildirilmiştir [230-232]. MYB ve MYC TF'leri stres koşullarında işbirliği yapar ve beraber RD22 geninin promotör bölgesine bağlanarak genin aktivasyonunu sağlar [227].

Kuraklık cevaplarında yer alan ve ABA-bağımlı yola dahil olan bir diğer TF ise WRKY TF'dir. WRKY TF'leri genlerin W-kutusu denilen korunmuş dizilerine bağlanarak aktivitelerini düzenler. Kuraklıkla aktivitesi artan WRKY'ler; WRKY18, WRKY40 ve WRKY60'dır. ABA sinyalinde WRKY18 ve WRKY60 pozitif düzenleyici olarak görev alırken; WRKY40 negatif düzenleyici olarak rol oynar. ABA sinyali algılandığında WRKY18 ve WRKY40 aktive olur. Bunların ürünleri ise WRKY60'ın promotör bölgesinde yer alan W-kutusuna bağlanır ve bu TF'yi indüklerler [226]. WRKY TF'leri, gelişmeden çeşitli biyotik ve abiyotik streslere kadar hormon aracılı yollardan oluşan çeşitli süreçleri düzenler [233].



Şekil 2.6. Kuraklık stresinde yer alan başlıca transkripsiyon faktörleri [226'den modifiye edilmiştir].

Bu TF'lere ek olarak NF-Y(nükleer faktör-Y)'de ABA bağımlı yolda görev alan bir diğeri önemli TF'dir. Hedef genin promotordaki CCAAT bölgesine bağlanan ve heterodimerik bir protein olan NF-Y'lerin; azot fikse eden bitkilerde nodul oluşumu ile azot asimilasyonunda görev aldığı gibi kuraklık stresine cevap ile toleransta da rol oynadığı bildirilmektedir [226].

Hem ABA bağımlı hem ABA bağımsız yolda görev alan NAC gen ailesi en büyük TF grubunu oluşturur [234]. NAC TF'si ABA bağımlı yolda ve jasmonik asit gen ifadesinde RD26 geninin; ABA bağımsız yolda ise ERD1 geninin ifadesini düzenler [227]. NAC proteinleri bitki gelişimi, korunma ve biyotik stres cevapları ile kuraklık gibi abiyotik stres cevaplarında rol oynar [233]. Ayrıca ERD1 geninin aktivitesinin düzenlenmesinde NAC ile birlikte ZFHD proteini de görev alır. ABA bağımsız yolda görev alan ZFHD (zinc-finger home domain) TF; 14 baz çifti içeren rps1 site1-like dizisini (CACTAAATTGTCAC) tanır, bağlanır ve transkripsiyonel aktivatör olarak işlev görür [235].

DREB2 proteinleri, bitki spesifik transkripsiyon faktörleri olup AP2 (Apetala2) / ERF (etilenden sorumlu element bağlayıcı faktör) ailesinin üyesidir. DREB2 TF'leri, hedef gen olan RD29A'nın promotor bölgesindeki yüksek oranda korunmuş AP2/ERF domainlerindeki GCC kutusuna ve/veya DRE (Dehidrasyondan sorumlu element) / CRT (C-tekrarlı element) cis-acting elementine bağlanır [224]. Arabidopsis'te tanımlanan 8 adet DREB2 geni arasında DREB2A ve DREB2B; kuraklık, yüksek tuzluluk ve sıcaklık streslerinde yüksek oranda indüklenir ve ABA'dan bağımsız yolda transkripsiyonel indükleyici olarak işlev görür. DREB2A'nın amino asit dizisinde yer alan negatif düzenleyici bölge, protein stabilitesinde görev alır [236]. Normal şartlarda DREB2A proteinlerinin yıkılması DRIP1 ve homoloğu DRIP2 aracılığıyla gerçekleştirilir. DRIP1 ve DRIP2'ler, kuraklığa cevapta yer alan genlerin ifadesinde özgün düzenleyiciler olarak DREB2A proteinlerinin 26S'lik proteozomda proteolizinin gerçekleşmesini sağlar [186].

2.3.4.2. Proteom Düzeyindeki Değişimler

Proteomik; genomun tamamlayıcısı olan proteomun sistematik analizini ortaya koyan teknoloji olarak tanımlanır. Bu teknoloji ile proteinlerin belirli zaman noktalarında yapıları, yerleşimleri, miktarları, translasyon sonrası modifikasyonları, doku ve hücrelerdeki işlevleri ile diğer proteinler ve makro moleküllerle olan

etkileşimleri incelenebilmektedir [237-239]. Bir hücrede belirli bir zamanda bulunan tüm proteinleri ifade eden proteom kelimesi “genOM tamamlayıcı PROTein”den türetilerek, ilk kez 1994 yılında, Siena’da “İki yönlü elektroforez” toplantısında Avustralyalı araştırmacı Marc Wilkins tarafından önerilmiş ve kabul edilmiştir [240, 241].

Proteomik yaklaşım, bitkilerin strese karşı verdiği tepkileri ve biyokimyasal süreçlerin karmaşıklığını araştırmak için kullanılanılabilecek en ideal yöntemdir. Bu uygulamalar; stres koşullarına karşı transkripsiyonel değişimlerin belirlenmesini sağlayarak bitkilerin olumsuz koşullar ile nasıl başa çıktığı konusunda ipuçları elde etmemizi sağlar. Ayrıca gelişmiş biyoinformatik analizlerde, yeni proteinleri belirlemeye, karakterize etmeye ve açıklamaya yardımcı olmuştur. Bu nedenle bitki stres proteomiği, bitkilerin strese karşı dayanıklılık kazanması için kullanılabilir olası aday genleri tanımlama olanağı sunmaktadır. Ayrıca bitki proteinlerin glikozilasyon, fosforilasyon ve metilasyon gibi translasyonel ve post-translasyonel modifikasyonlar ile protein yapısında meydana gelen değişiklikler hakkında bilgimizi arttırmaktadır. Bu değişikliklerin bir sonucu olarak, farklı moleküler ağırlık ve/veya protein yükü olan proteinlerin izoformlarını gözlemlemek son derece mümkündür [242-244].

Protein ifadesi ve metabolizması bitkilerin su stresine adaptasyonunda önemli rol oynamaktadır [245]. Kuraklığa duyarlılığı belirlenen proteinlerin ifade düzeyleri (artış veya azalışları); bitki türü, incelenen doku veya organ, stresin şiddeti, süresi ve fazı (başlangıç, alıştırma, savunma, tükenme veya iyileşme fazları) ile örneklem zamanına (erken yada geç cevaplarla ilgili değişimler) bağlı olarak değişmektedir [246, 247]. Bununla birlikte kuraklık stresine osmotik ve oksidatif stresinde eşlik etmesi; kuraklık stres cevaplarına farklı metabolik yollardaki proteinlerinde katılmasını da tetiklemektedir [242].

Son yıllarda yapılan proteomik çalışmalar, stres koşullarında bitkilerin proteom yapısında meydana gelen değişimleri ve stres koşulları tarafından uyarılan moleküler mekanizmaları aydınlatmaya yardımcı olmaktadır [245, 248-251]. Kuraklıkla ilgili olan proteomik çalışmalarda tanımlanan proteinlerin; enerji, karbohidrat ve solunum metabolizması; fotosentez; protein metabolizması (sentezi ve yıkımı), strese karşı savunma metabolizması, sinyal iletimi, transkripsiyon/translasyon ve taşıma ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [251-257].

Kuraklıkla ilgili proteomik çalışmaların bir kısmında bitkilerin organları arasında proteom açısından meydana gelen değişimler incelenmiş olmasına rağmen [249, 254, 258]; çoğunluğunda kuraklığa karşı farklı duyarlılık düzeyine sahip genotiplerin proteomları analiz edilmiş ve karşılaştırılmıştır [245, 251, 256, 259, 260]. Farklı hassasiyete sahip genotiplerin karşılaştırılmasıyla yüksek düzeyde ifade olan proteinlerin toleranslı genotiplerdeki dayanıklılık mekanizmaları üzerine etkisini anlamak için önemlidir [261].

Fizyolojik düzeyde, fotosentez aktivitesinin düzenlenmesi, kuraklık dönemlerinde bitkinin aklimizasyonu (uyumlanması) ve hayatta kalmasında anahtar bir faktördür. Stoma kaynaklı veya stomal olmayan nedenlerle fotosentez aktivitesinin azalması, bitkiler için kuraklığa karşı özgün cevaplardandır [262]. Birçok çalışmada kuraklıktan sorumlu proteinlerin önemli bir kısmını fotosentezin hem ışık reaksiyonlarında (ışık toplayıcı kompleksler, fotosistemler, elektron taşıyıcılar ve ATP sentaz) hem de Calvin döngüsünde (RuBisCO büyük ve küçük alt birimi ile diğer Calvin döngüsü enzimleri) görev alan proteinlerin oluşturduğu bildirilmektedir (Çizelge 2.4) [256, 257, 263-265]. Fotosentez aktivitesinin kuraklığa bağlı olarak sınırlandırılması, kloroplastlarda foton absorblanması ve kullanımı ile PSII tarafından bu enerjinin elektron olarak çevrilmesi arasındaki dengenin bozulması ve dolayısıyla AOT üretiminin artmasına neden olur [156, 266]. Bu duruma maruz kalan bitkiler, AOT üretimi ile ilişkili olan oksidatif stresle başa çıkmaya çalışırlar. Bu oksidatif strese karşı verilen proteomik yanıtlar; ağırlıklı olarak AOT üretiminin başlıca gerçekleştiği kloroplastlar, mitokondri ve peroksizomlarda meydana gelir [267]. Proteom çalışmalarında kuraklık koşullarında bitkilerin AOT detoksifikasyonu ile ilgili olarak SOD (Zn/Cu SOD-MnSOD), APX, peroksiredoksin, tiyoredoksin, glutatyon-S-transferaz ve dehidrogenazlar gibi korunmada görev alan proteinlerin ifadelerinin önemli düzeyde değiştiği bildirilmektedir (Çizelge 2.4). Detoksifikasyon enzimlerine ek olarak ısı şok grubu proteinleri de (Hsp'ler) savunmada görev alan önemli bir protein grubudur. Protein katlanması, bağlanması, translokasyonu ve degradasyonundan sorumlu olan Hsp'ler; proteinleri işlevsel konformasyonlarında tutarlar ve sinyal iletim ağı ile hücrel döngüyü kontrol ederler [268].

Bitkilerde en bol bulunan metabolitler olan karbohidratlar; enerji kaynağı, osmotik düzenleme ve sinyal molekülü olarak işlev görür ve bitkilerin abiyotik stres

toleransında önemli rol oynar. Calvin döngüsü, glikoliz ve TCA döngüsünü kapsayan karbohidrat metabolizmasında görev alan proteinlerin kuraklık stresi ile ifadesinin değiştiği bir çok çalışmada bildirilmiştir [254, 262, 266, 269, 270].

Bunların dışında sinyal iletimi, protein metabolizması (protein sentez, korunumu, katlanması ve degregasyonu), enerji ve solunum metabolizması, taşıma, hücre çeper gelişimi ve hormon metabolizması gibi hücresel işlevlerde görev alan proteinlerin ifadelerinin kuraklık uygulamasında önemli düzeyde değiştiği son yıllardaki ilgili çalışmalar Çizelge 2.4'de özetlenmiştir.



Çizelge 2.4. Kuraklık uygulanmış bitkilerin yaprak dokularında proteomik analizlerle ortaya konulan ve ifadesi değişen proteinler ile yer aldıkları ilgili metabolizmaları gösteren son yıllarda yapılan çalışmaların genel değerlendirilmesi

Bitki Adı	Kuraklık uygulama koşulu	İfadesi Değişen Proteinler	Kaynak
Buğday (<i>Triticum aestivum</i> L.)	5 farklı PEG6000 konsantrasyonu (0, 15%, 20%, 25% ve 30%) 48 saat kuraklık uygulaması	Stres, korunma ve detoksifikasyon: Fibrilin- benzeri proteini, SOD, APX, DHAR, 2-Cys peroksiredoksin BAS1 Fotosentez ve solunum: RuBisCO-İlgili protein, Fosforibulolinaz, Triozfosfat izomeraz (sitozolik), Rubiloz-bisfosfat karboksilaz aktivaz, Oksijen oluşumunu artırıcı protein Karbohidrat metabolizması: Fosfogliserat mutaz, Enolaz, NADP-bağımlı malik enzim, Sitozolik akonitaz Protein katlanma: HSP 70, RubisCO büyük alt birim bağlanma proteini altbirim alfa, RubisCO büyük alt birim bağlanma proteini altbirim beta, Peptidil-proli- cis-trans izomeraz Diğer metabolizmalar (enerji, aminoasit, transkripsiyon /translasyon): Vakuol tipi proton-ATPaz altbirim A, Metionin sentaz, Lösin aminopeptidaz, cp31BHv (kloroplast RNA-bağlanma proteini)	[270]
Çalı meşesi (<i>Quercus ilex</i> subsp. <i>ballota</i> [Desf.] Samp.)	Torf ve perlit karışımı (3:1 v/v) Sulamaksızın 28 gün kuraklık uygulaması	Fotosentez ve karbohidrat metabolizması: Oksijen oluşumunu artırıcı kompleks 1 ve 2, PSII oksijen-oluşum kompleks protein 2, LHCII tip I klorofil a/b, Kloroplastik ATP sentaz β alt birim, RuBisCO aktivaz, Trioz fosfat izomeraz-benzeri protein, Sitozolik fosfogliserat kinaz Stres, korunma ve detoksifikasyon: 2-Cys peroksiredoksin BAS, Peroksiredoksin, 2-Cys peroksiredoksin- benzeri protein, β-1,3-glukonaz Aminoasit metabolizması: Sitozolik glutamin sentetaz β 2, S-adonozil-L-metionin sentaz	[266]
Tütün (<i>Nicotiana tabacum</i> cv. Petit Havana)	Doku kültürü (MS ortamı) 12 gün kuraklık- su içeriği %20	Karbohidrat ve enerji metabolizması: Fruktoz bisfosfat aldolaz, Gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz- fosfogliserat kinaz ve mutaz, 6-fosfoglukonolaktonaz, ATP sentaz kompleks alfa alt birimi, NADH dehidrogenaz 1 alfa alt kompleks, Karbonik anhidraz, Piridoksin biyosentez proteini Oksidatif stres: GST, SOD, Patojenle ilgili protein 10, Kuraklığın indüklediği kloroplastik stres proteini, S-formilglutayon hidrolaz Protein metabolizması: Ökaryotik translasyon başlama faktörü 5A, Isı şok proteini (Hsp), Prolin-tRNA sentetaz, Disülfid izomeraz-benzeri protein, Sitozolik glutamin sentetaz, Sistein sentaz Fotosentez: Ferrodoksin-NADP(H) redüktaz	[263]

Bitki Adı	Kuraklık uygulama koşulu	İfadesi Değişen Proteinler	Kaynak
Buğday (<i>Triticum aestivum</i> L.)	Su kültürü- PEG6000 12-24 ve 48 saat kuraklık	Korunma ve detoksifikasyon: Isı şok proteinleri (HSP70/HSP90, HSP60, HSP70, HSP90,HSP104), POD, DHAR, Poliamin oksidaz Sinyal iletimi: 14-3-3 proteini, Kalsitran-benzeri protein Karbohidrat ve enerji metabolizması: Ketol-asit redüktoizomeraz, Kafeoyl-CoA Ometiltransferaz, Oksijen oluşumunu artırıcı kompleks 2 Diğer metabolizmalar: Tübilin, Tek sarmallı nükleik asit bağlama proteini, Vakuol tipi ATPaz (V-ATPaz)	[254]
Darı (<i>Sorghum bicolor</i>)	% 50 kil,% 25 kum ve % 25 humus 7 gün kuraklık-bitkiler toparlanana kadar iyileşme	Protein metabolizması: Metionin sentaz, S-adonozil-L-metionin sentaz, P- (S) - hidroksimandelonitril liyaz Enerji metabolizması: Muhtemel C4 fosfoenol piruvat karboksilaz, Akonitat hidrataz, Kloroplast NADP bağımlı malik enzim, Fruktoz bisfosfat aldolaz, Gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz, Piruvat fosfat dkinaz Transkripsiyon: RNA bağlanma proteini, 40S ribozomal protein Protein metabolizması: Uzama faktörü alfa, Nükleoredoksin, Hsp'ler, Aspartat proteaz	[259]
Pirinç (<i>Oryza sativa</i> L. ssp. indica)	Toprak kültürü 20 gün sulamaksızın kuraklık	Karbohidrat metabolizması: Ortofosfat dkinaz, Muhtemel glisin dehidrogenaz, RuBisCO büyük zincir, Muhtemel glisin hidroksimetiltransferaz, Muhtemel transketolaz, RuBisCO aktivaz Enerji metabolizması: ATP sentaz CF1 alt birimi, Mitokondrial F1-ATP sentaz beta alt birimi Antioksidan ve detoksifikasyon: DHAR, SOD	[269]
Yer fıstığı (<i>Arachis hypogaea</i> L.)	Toprak kültürü 15 gün sulamaksızın kuraklık	Fotosentez: RuBisCO büyük alt birim, Sedoheptulaz bisfosfat, Gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz, RuBisCO karboksilaz aktivaz izoform 1, RuBisCO aktivaz, Muhtemel PSII stabilite proteini, PSII oksijen oluşum kompleks protein 1 ve 2, Klorofil a/b-bağlanma proteini, Riboz-5-fosfat izomeraz, Klorofil a/b-bağlanma proteini tip III, PSII tip II klorofil a/b-bağlanma proteini, RuBisCO küçük zincir Protein metabolizması: Metionin sentaz, RNA bağlanma proteini, 14-3-3 proteini Karbohidrat metabolizması: Muhtemel kinon oksidoredüktaz, Karbonik anhidraz, Glisin dehidrogenaz, Fruktoz bisfosfat aldolaz, Triozfosfat izomeraz, Transketolaz Taşıyım: Mitokondrial ve kloroplastik ATP sentaz ve alt birimleri, Sitokrom c oksidaz 6B-1 altbirimi	[256, 271]

Bitki Adı	Kuraklık uygulama koşulu	İfadesi Değişen Proteinler	Kaynak
Buğday (<i>Triticum aestivum</i> L.)	Toprak kültürü 7 gün sulamaksızın kuraklık	Enerji metabolizması: Fosforubilokinaz / uridin kinaz ailesi proteini, Eritronat-4-fosfat dehidrojenaz, Gliseraldehit-3-fosfat dehidrojenaz, ATP sentaz, Fruktoz-bisfosfat aldolaz, Trioz fosfat izomeraz, Serin hidroksimetil transferaz Fotosentez ve hücre iskeleti: Klorofil a/b bağlanma proteini, Pürivat fosfat dikinaz, PAP fibrilin, Aktin, RuBisCO, Oksijen oluşumunu artırıcı protein 1, 2Fe-2S demir-sülfür kümesi domaini içeren protein Aminoasit metabolizması: Glutamin sentetaz, S-adonozilmetionin sentetaz, Açıl-protein tioesteraz, RNA-bağlayıcı alanı-içeren protein, Uzama faktörü P, FtsH proteaz	[271]
Bermuda çimeni (<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Pers.)	Toprak kültürü 16 gün sulamaksızın kuraklık	Fotosentez ve glikoliz: RuBisCO ile ilgili protein, RuBisCO büyük altbirim, RuBisCO büyük altbirim bağlanma proteini alfa altbirim, RuBisCO küçük altbirim, Fosfoenolpürivat (PEP) karboksilaz, Fosforubilokinaz, Sitozolik 3- fosfogliserat kinaz, Gliseraldehit-3-fosfat dehidrojenaz, Malat dehidrojenaz, ATP sentaz, Sitokrom b6f kompleksi Fe-S birimi, Oksijen oluşumunu artırıcı protein 1, Ferrodoksin NADP redüktaz (FNR), NADH dehidrojenaz F altbirim Hücre organizasyonu ve uzama: Aktin-2-benzeri, Kloroplast translasyon uzama faktörü Tu Diğer metabolik yollarda yer alan proteinler: Hsp'ler, Kitinaz, 14-3-3- protein, Glisince zengin protein, Cu/Zn SOD, DHAR, Glutamin sentetaz, Flavonoid-benzeri kinon redüktaz, Adenilat kinaz, Fibrilin benzeri protein	[251]
Kolza (<i>Brassica napus</i> L.)	Toprak kültürü 28 gün sulamaksızın kuraklık	Protein metabolizması: Glutamin sentetaz, Nitrilaz 1, Alanin-2-oksoglutarat aminotransferaz 1, O-asetilserin (Thiol) liyaz oasB ATP dönüşümü: Kloroplastik ATP sentaz birleştirme faktörü; Vakuol Tipi ATPaz Karbohidrat ve enerji metabolizması: Sedoheptulaz-1,7-bisfosfataz, Fruktoz-1,6-bisfosfataz, Aldolaz, Rubiloz-5-fosfat izomeraz, Kloroplastik glikoz-1-fosfat adeniltransferaz küçük altbirim, Trioz fosfat izomeraz, Transketolaz benzeri protein, Malat dehidrojenaz, Fotosentez: LHCII tip III klorofil a/b bağlanma proteini, RuBisCO aktivaz, RuBisCo büyük altbirim-bağlanma proteini alfa alt birimi, Dışsal PSII proteinin 33kDa, Tilakoid rodanaz benzeri protein, RuBisCO büyük altbirim Redoks homeostazi, AOT ve sinyal: 2-Cys peroksiredoksin, Peroksiredoksin-2E, Gliksalaz, APX, FNR Stres ve korunma: Epithiospecifier protein, fibrillin, HSP 70, NAD(P)-binding Rossmann-fold-içeren protein, Peptidil protil cis-trans izomeraz CYP38, Germin benzeri protein Transkripsiyon, translasyon ve RNA işleme: Uzama faktörü G, kloroplastik uzama faktörü tub, Kloroplast stem-loop binding protein-41A	[261]

3. MATERYAL ve METOD

3.1. Bitki materyali

Bitki materyali olarak kullanılan aspir (*Carthamus tinctorius* L.) genotiplerine ait tohumlar Trakya Tarımsal Araştırmalar Enstitüsü Müdürlüğü'nden (T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı) temin edilmiştir. Bu tez kapsamında 4 çeşit ve 8 hat ve 1 yabancı aspir türü olmak üzere toplam 13 aspir genotipi kullanılmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan aspir genotipleri

Aspir Çeşitleri	1. Remzibey-05	Aspir Hatları	1. TRE-ASO 12/08	5. AÖVD-L/4
	2. Dinçer		2. AÖVD-L/1	6.AÖVD-L/11
	3. Balcı		3. AÖVD-L/2	7.AÖVD-L/12
	4. Linas		4. AÖVD-L/3	8.AÖVD-L/14
Yabancı Aspir Türü			<i>Carthamus oxyacantha</i>	

3.2. Bitki Yetiştirme Yöntemi

Yaklaşık aynı morfolojiye ve aynı büyüklüğe sahip, embriyosu zarar görmemiş ve testası çatlak olmayan tohumlar özenle seçilerek kabuk sterilizasyonu işlemine tabi tutulmuştur. Sterilizasyon işleminde, seçilen tohumlar %5'lik sodyum hipoklorit (NaOCl) ile 3 dk sterilize edilip ardından birkaç kez distile su ile yıkanmıştır ve iki saat distile suda şişmeye bırakılmıştır. 12 aspir genotipine ait 4'er adet tohum, her uygulamada üçer saksı olacak şekilde, her biri 1 kg toprak içeren 14 X 13 cm (üst çap X yükseklik) boyutundaki plastik saksılara ekilmiştir. Yetiştirme ortamı olarak kullanılan toprak Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Haymana tarım arazisi bölgesinden temin edilmiştir. Kullanılan deneme toprağının bazı fiziksel ve kimyasal analizleri Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bölümü, Toprak Analiz Laboratuvarı'nda yapılmış ve analiz sonuçları Çizelge 3.2'de verilmiştir. Yapılan toprak analizi sonuçlarına göre eksik elementler belirlenmiş ve saksılara gereken miktarda kimyasal gübre uygulaması yapılmıştır (100 ppm NH₄NO₃ ve 100 ppm KH₂PO₄). Ekimden uygulamaya kadar geçen süreçte her bir saksının günlük olarak ağırlıkları (dara+toprak) alınmış ve saksılar son ağırlıkları tarla kapasitesine gelecek şekilde sulanmıştır.

Çizelge 3.2. Deneme toprağının bazı fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları

Toprak Özellikleri

Fiziksel

Tekstür sınıfı	: Kil
Kil	: %60.11
Silt	: %19.46
Kum	: %20.43
Tarla kapasitesi	: %19.5
pH	: 7.52
Elektriksel iletkenlik (EC)	: 264 $\mu\text{S cm}^{-1}$

Kimyasal

Organik madde	: %1.55
Kireç	: %23.96
Azot (N)	: 1.54 g kg^{-1}
Potasyum (K)	: 475 mg kg^{-1}
Sodyum (Na)	: 41 mg kg^{-1}
Fosfor (P)	: 16.42 mg kg^{-1}
Çinko (Zn)	: 0.13 mg kg^{-1}
Bakır (Cu)	: 1.68 mg kg^{-1}
Demir (Fe)	: 5.87 mg/kg
Mangan (Mn)	: 10.7 mg kg^{-1}
Magnezyum (Mg)	: 660 mg kg^{-1}
Kalsiyum (Ca)	: 8520 mg kg^{-1}
Bor (B)	: 1.42 mg kg^{-1}
Klor (Cl)	: 130 mg kg^{-1}

Ekim yapılan saksılar $25\pm 1^\circ\text{C}$ sıcaklık ve % 40-50 nem koşullarının bulunduğu iklim odasında karanlık ortamda, ekimi izleyen 5 gün boyunca üstleri kapalı tutularak tohumların çimlenmesi sağlanmıştır. Ekimden sonraki 6. gün saksıların üstleri açılmış ve deneme süresi boyunca bitkiler; $25\pm 2^\circ\text{C}$ sıcaklık, % 40-50 nem, 16 saat ışık/8 saat karanlık periyodu ve $250 \mu\text{mol/m}^2.\text{s}^{-1}$ ışık şiddetinin bulunduğu kontrollü iklim odasında yetiştirilmişlerdir.

3.3. I. Aşama: Seleksiyon

3.3.1. Bitki Materyali

I. aşamada 4 çeşit ve 8 hat olmak üzere 12 aspir genotipi kullanılmıştır.

3.3.2. Uygulamalar

40 gün boyunca kontrollü koşullarda büyütülen aspir genotiplerine ait bitkiler orta (5 gün) ve şiddetli (7 gün) kuraklık uygulamalarına maruz bırakılmış ve devamında yeniden sulama periyodları (5 gün) uygulanmıştır (Şekil 3.1). Uygulama grubundaki bitkilere kuraklık uygulaması sulama yapılmaksızın, yeniden sulama uygulaması ise tekrardan sulama yapılarak gerçekleştirilmiştir. 40 günlük aspir genotiplerinin kuraklık uygulama grupları, yeniden sulama grupları ve bunların aynı yaştaki kontrol gruplarına ait rumuzların açıklaması sırası ile aşağıda verilmiştir.

K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler

K1: Orta şiddette kuraklığa maruz kalan (S1) stres grubuna ait 45 günlük kontrol bitkileri

S1: 40 gün kontrol koşulları + 5 gün kuraklığa (orta şiddette kuraklık) maruz kalan 45 günlük stres grubu bitkileri

K2: R1 grubunun 50 günlük kontrol bitkileri

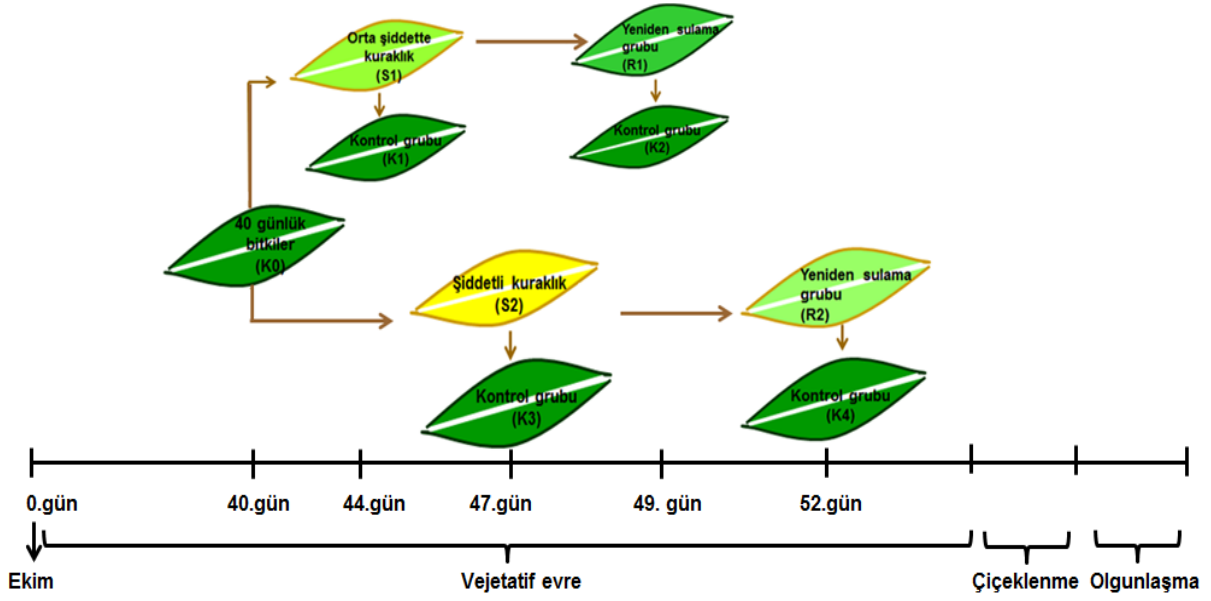
R1: S1 kuraklık uygulamasını takiben 5 gün tekrardan sulanan 50 günlük yeniden sulama grubu bitkileri

K3: Şiddetli kuraklığa maruz kalan (S2) stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri

S2: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa (şiddetli kuraklık) maruz kalan 47 günlük stres grubu bitkileri

K4: R2 grubunun 52 günlük kontrol bitkileri

R2: S2 kuraklık uygulamasını takiben 5 gün tekrardan sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri



Şekil 3.1. I. aşamaya ait deneme deseni

Ekimden sonraki 40. günde kuraklık uygulamasının başlatıldığı ilk kontrol grubunun (K0) hasadı yapılmıştır (Şekil 3.2). 40 günlük bitkiler kuraklık (orta ve şiddetli) ve bu uygulamalara ait yeniden sulama olmak üzere 4 farklı uygulamaya maruz bırakılmıştır. Birinci uygulamada yer alan bitkiler 5 gün boyunca sulamaksızın orta şiddetteki kuraklığa maruz bırakılmıştır ve 5. gün sonunda bu bitki grubu (S1) ile bu gruba ait kontrol grubu (K1) hasat edilmiştir. İkinci uygulamada yer alan bitkiler ise 7



Şekil 3.2. Bitkilerin yetiştirildiği kontrollü iklim odasına ait genel görünümler

gün boyunca sulamaksızın şiddetli kuraklığa maruz bırakılmıştır ve 7. gün sonunda bu bitki grubu (S2) ile bu gruba ait kontrol grubu (K3) hasat edilmiştir. Üçüncü uygulamadaki hasat işlemi ise orta şiddette kuraklığı takiben 5 günlük yeniden sulama uygulaması sonunda bu yeniden sulama grubu (R1) ile bu gruba ait kontrol grubunda (K2) gerçekleştirilmiştir. Son uygulama olan dördüncü uygulamayı da şiddetli kuraklığı takiben 5 gün yeniden sulanan yeniden sulama grubu bitkileri oluşturmaktadır ve bu uygulamada hasat işlemi 5 günlük yeniden sulama uygulamasının sonunda bu yeniden sulama grubu (R2) ile bu gruba ait kontrol grubunda (K4) gerçekleştirilmiştir.

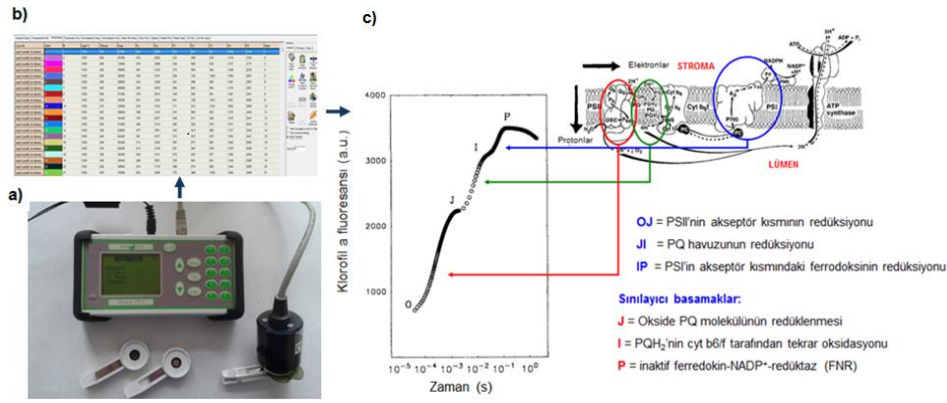
Tez çalışmasının bu basamağında aspir genotipleri iki farklı şiddette kuraklık stresine maruz bırakılmış ve bunları takip eden yeniden sulama periyodları uygulanmıştır. Her uygulama sonunda bu stres koşullarına karşı toleransları; polifazik klorofil *a* floresansı kinetikleri, yapraklardaki fotosentetik pigment içeriği, yaprak dokularındaki membran hasar analizleri ile yaprak ve toprak su potansiyel ölçümleriyle belirlenmiştir.

3.3.3. Ölçüm ve Analizler

3.3.3.1. Klorofil *a* Floresans Kinetikleri

Polifazik klorofil *a* floresans (OJIP transienleri) ölçümleri için Portatif Floresans Ölçüm Cihazı (HandyPEA, Hansatech Ltd.) kullanılmıştır. OJIP polifazik klorofil *a* floresans verileri, tilakoid zarlardaki enerji akışı teorisini temel alan JIP-Testi ile biyofiziksel parametrelere çevrilerek fotosistemlerin durumu, fonksiyonu ve yapısı hakkında oldukça detaylı bilgiler elde edilmesini sağlamaktadır (Şekil 3.3). Bu analiz fotosentezin biyofiziksel yönü ile floresans sinyalleri ve floresansın analitik ifadeleri arasındaki ilişkinin anlaşılmasına olanak sağlamaktadır. Enerji akışlarını ve bunların dağılımlarıyla birlikte etkinlik/verim olarak tanımlanan enerji akış oranlarını sunan JIP testinin şematik özeti Şekil 3.4'de verilmiştir [272].

Stres ve yeniden sulama grupları ile bunların kontrol grubundaki bitkilerden örneklenen yapraklar, yaprağa özel yaprak klipslerinin üstten tutturulmasıyla 30 dk karanlığa adapte edilmiştir ve 6 tekrarlı ölçüm yapılmıştır. Fluorometre, ışık reaksiyonları sürecini kırmızı ışıkla (maximum 650 nm'de emisyon) uyarır ve 685 nm üzerindeki floresansı algılar. Ölçümler; 3 adet düzenli ışık yayan diyodun ürettiği bir saniyelik tek güçlü ışık pulsu ($3000\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, tüm PSII reaksiyon merkezlerinin kapanması

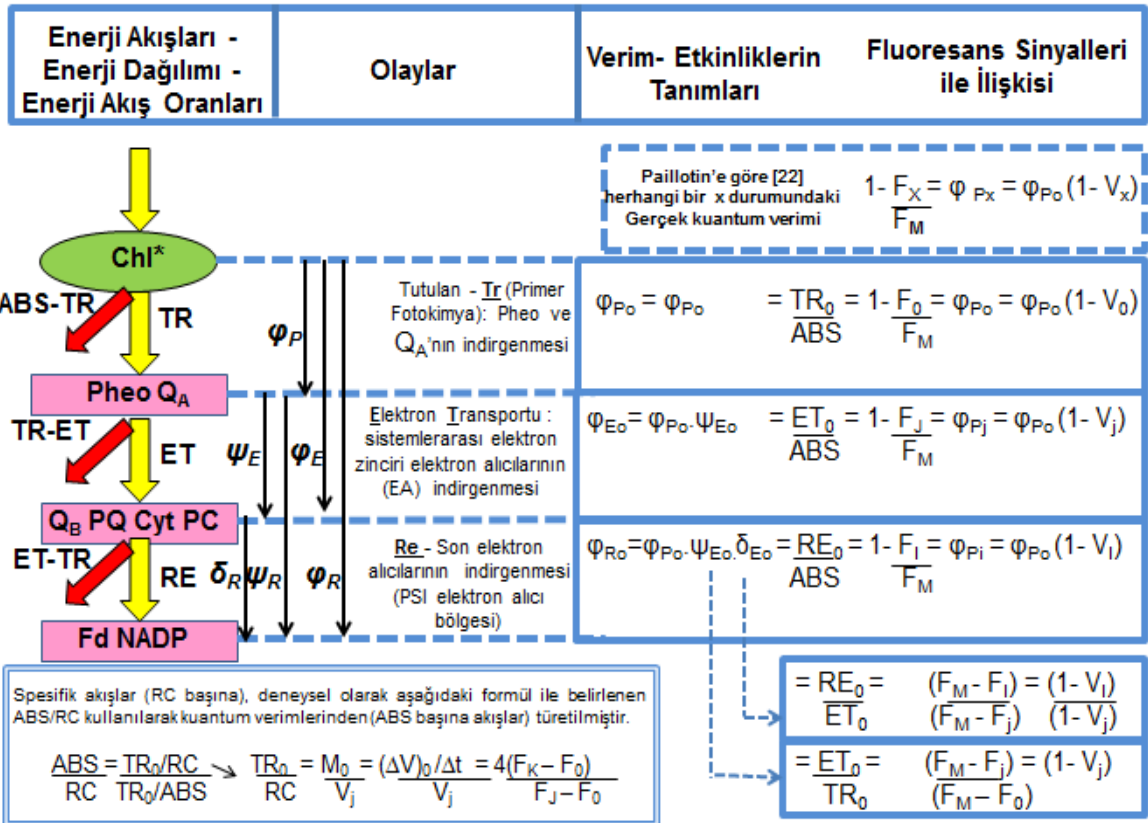


Şekil 3.3. a) HandyPEA cihazının genel görünümü, b) Biolyzer HP3 programı ile analiz görüntüsü ve c) Bitkiler tarafından sergilenen tipik polifazik klorofil a fluoresansı [273'den modifiye edilmiştir].

için yeterli olan eksitasyon şiddeti) ile 4 mm'lik yaprak alanında gerçekleştirilmiştir. Hızlı fluoresans kinetikleri (minimum fluoresans, F_o - maksimum fluoresans, F_M) 10 μ s'den 1 s'ye kadar kaydedilmektedir ve 20 μ s'de kaydedilen fluoresans şiddeti minimum fluoresans (F_o) olarak kabul edilmektedir [274]. Fotosentetik örneğin fizyolojik durumunu belirlemek için bir saniyelik ışıma sırasında belirlenen altı zaman noktasından elde edilen veriler, Biolyzer HP3 programı ile analiz edilmiştir. Analiz sonucunda elde edilen JIP-Testinin bazı parametreleri Çizelge 3.3'de verilmiştir.

Elde edilen fluoresans parametrelerine göre bitkilerin fizyolojik durumu ve canlılığı hakkında yararlı ve kantitatif bilgi veren ve PSI ile PSII'deki fotokimyasal olayları ifade eden fotosentetik performans indeksleri (PI_{abs} ve PI_{top}) hesaplanarak genotiplerin, kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarına verdikleri cevaplar belirlenmiştir.

PI_{abs} : Performans indeksi (PI_{abs}), bitkilerin fizyolojik durumu ve canlılığı hakkında yararlı ve kantitatif bilgi veren ve fotokimyasal olayları ifade eden bir klorofil fluoresans parametresidir $[\gamma RC / (1 - \gamma RC)] \times [\phi Po / (1 - \phi Po)] \times [\psi o / (1 - \psi o)]$. Performans indeksi (PI_{abs}), tek bir çoklu-parametrik ifadede fotosentetik aktivitenin üç ana fonksiyonel basamağı (ışık enerjisi absorpsiyonu, eksitasyon enerjisinin yakalanması ve eksitasyon enerjisinin elektron taşınımına dönüşümü) ile bir PSII reaksiyon merkezi kompleksini birleştirir [275, 276].



Şekil 3.4. JIP-Testinin ve enerji akışlarının şematik özeti: Alınan, tutulan ve sistemde depolanan ya da kaybolan enerji akışları (geniş oklar) gösterilmiştir. Enerji akış oranları olarak adlandırılan etkinlik/verim (çizgi oklar)'de gösterilmiştir ve bu oranlar sonrasında OJIP fluoresans geçişlerinden seçilen fluoresans sinyalleri ile ilişkilendirilmiştir. Etkinlikler, belirli fizyolojik koşullarda (örn; karanlığa adapte) fotosentetik örneğin başlangıç koşullarını (tüm reaksiyon merkezleri -RC- açık; alt simge '0') ifade eder. Şematik özette kuantum verimlerinden (absorbsiyon temelli etkinlik yani ABS başına akışlar) spesifik akışların (RC başına akışlar; başlangıç koşulları) türetilmesi de gösterilmiştir. Akışlar; absorpsiyonu (ABS), yakalamayı (TR_0) yani Pheo ve Q_A 'nın indirgenmesini, Q_A 'dan sistemler arası elektron alıcılarına elektron transportunu (ET_0) ve PSI'in elektron alıcı tarafında son elektron alıcısının indirgenmesini (RE_0) ifade eder [272].

PI_{top}: Performans indeksi (PI_{top}), bitkilerin fizyolojik durumu ve canlılığı hakkında yararlı ve kantitatif bilgi veren ve fotokimyasal olayları ifade eden bir klorofil fluoresans parametresidir. Performans indeksi (PI_{top}) $[\gamma RC / (1 - \gamma RC)] \times [\phi_{Po} / (1 - \phi_{Po})] \times [\psi_0 / (1 - \psi_0)] \times [(\delta R_0 / (1 - \delta R_0))]$, PSII tarafından absorblanan fotonlardan elde edilen enerjinin PSI son alıcılarının indirgenmesi için kullanımını ifade eder. Işık

enerjisi absorpsiyonu, eksitasyon enerjisinin yakalanması ve eksitasyon enerjisinin elektron taşınımına dönüşümü ile bu enerjinin PSI son alıcılarına iletimi hakkında bilgi verir [277].

PI_{abs} ve PI_{top} verileri kullanılarak kuraklık faktör indeksi (KFI) hesaplanmıştır [278, 279].

$$KFI = \log A + 2 \log B \quad (3.1)$$

Burada A orta derecedeki kuraklığa maruz kalan bitkilerin ortalama nispi performans indeksini (PI), B ise şiddetli kuraklığa maruz kalan bitkilerin ortalama nispi performans indeksini (PI) ifade etmektedir. Uzun süreli kuraklık (7 günlük, şiddetli) uygulaması daha kısa süreli (5 günlük, orta şiddetli) kuraklık uygulamasına göre daha şiddetli olduğu için burada 2 faktörü ile çarpılmıştır. Ortalama nispi PI değerleri; PI kuraklık/PI kontrol olarak hesaplanmıştır.

Strauss vd. [278] toleranslı genotiplerin, hassas genotiplere kıyasla, stres altında daha yüksek PI değerlerini koruyabileceğini kabul edilmektedir.

Ayrıca PI_{abs} ve PI_{top} verileri kullanılarak Strauss vd. [278] ve Oukarroum vd. [279]'nin kullandığı kuraklık faktör indeksinin modifikasyonu sonucu elde edilen iyileşme faktör indeksi (IFI) hesaplanmıştır.

$$IFI = \log A + 2 \log B \quad (3.2)$$

Burada A orta derecedeki kuraklığın devamında yeniden sulama uygulanan bitkilerin ortalama nispi performans indeksini (PI), B ise şiddetli kuraklığın devamında yeniden sulama uygulanan bitkilerin ortalama nispi performans indeksini (PI) ifade etmektedir. Uzun süreli kuraklığın devamında yeniden sulama (7 günlük şiddetli kuraklık + 5 gün yeniden sulama) uygulaması daha kısa süreli kuraklığın devamında yeniden sulama (5 günlük orta şiddette kuraklık + 5 gün yeniden sulama) uygulamasına göre daha şiddetli olduğu için burada 2 faktörü ile çarpılmıştır. Ortalama nispi PI değerleri; PI yeniden sulama/PI kontrol olarak hesaplanır.

Faktör indeksi hesaplamalarına göre; kuraklığa toleranslı genotiplerin fotosentetik performans indeksleri (PI) kontrol değerlerine daha yakın değerler sergilemektedir. Buradan KFI ve IFI değerlerine göre genotiplerin kuraklığa dayanım durumları belirlenmiştir.

Çizelge 3.3. JIP-testte kullanılan bazı terimlerin, tanımlamaların ve formüllerin özeti [272, 277, 281]

Teknik ve hesaplanan fluoresans parametreleri	
$F_0 \equiv F_{20\mu s}$	Minimum fluoresans intensitesi (O basamağı) ; PSII'nin tüm reaksiyon merkezleri açık
$F_L \equiv F_{150\mu s}$	150 μs 'deki fluoresans intensitesi
$F_K \equiv F_{300\mu s}$	300 μs 'deki fluoresans intensitesi
$F_J \equiv F_{2ms}$	2 ms'deki fluoresans intensitesi (J basamağı)
$F_I \equiv F_{30ms}$	30 ms'deki fluoresans intensitesi (I basamağı)
$F_P \equiv F_M$	Maksimum fluoresans intensitesi (P basamağı); PSII'nin tüm reaksiyon merkezleri kapalı
T_{FM}	Maksimum fluoresans intensitesi F_M 'e ulaşıldığı zaman
Area	Fluoresans eğrisinin F_0 ile F_M değeri üzerinde kalan ve Q_A^- 'nin tam indirgenmesi için transfer edilmesi gereken elektron sayısı hakkında bilgi sağlayan toplam alan
M_0 (dV/dt) ₀	$4(F_{300\mu s} - F_0)/(F_M - F_0)$ Relative değişken klorofil fluoresans eğrisi V_t ($F_0 \equiv F_{50\mu s}$ için)'nin tahmini başlangıç eğimi (ms ⁻¹ 'deki) veya fotokimyanın başlangıç hızı
V_J	$(F_J - F_0)/(F_M - F_0)$ Fluoresansın indüklediği eğride J basamağında relative değişken fluoresans
V_I	$(F_I - F_0)/(F_M - F_0)$ Fluoresansının indüklediği eğride I basamağında relative değişken fluoresans
S_M	Area / F_V OJIP transientlerin (eğri) üzerindeki toplam tamamlayıcı alanının normalizasyonu; her bir reaksiyon merkezi için toplam elektron taşıyıcıları
Kuantum etkinliği veya akış oranları	
$\phi_{P_0} = TR_0/ABS$	$F_V/F_M = [1 - (F_0/F_M)]$ t=0'da primer fotokimyanın maksimum kuantum verimi
$\psi_0 = ET_0/TR_0$	$(1 - V_J)$ t=0'da tutulan eksitonun Q_A^- 'dan elektron transport zincirine bir elektronu hareket ettirme etkinliği
$PHI(E_0) = ET_0/ABS = \phi_{E_0}$	$[1 - (F_0/F_M)] \psi_0$ t=0'da elektron transportunun maksimum verimi
$\delta R_0 = RE_0/ET_0$	$(1 - V_I)/(1 - V_J)$ İndirgenmiş sistemler arası elektron alıcılarının bir elektronu, PSI son elektron alıcılarına hareket ettirme etkinliği

$\phi R_0 = RE_0/ABS$	$\phi_{P_0} \cdot \psi_0 \cdot \delta R_0 Q_A^-$ dan PSI son elektron alıcılarına elektron transportun kuantum verimi
$RC/ABS = (ABS/RC)-1$	$\gamma RC/(1-\gamma RC) = \phi P_0 (V_J/M_0) =$ PSII anten klorofilleri başına reaksiyon merkezleinin indirgediği Q_A^- miktarı (ABS/RC'nin karşıtı)
Spesifik akışlar- Her bir reaksiyon merkezi başına enerji akışları	
ABS/RC	$M_0 (1/V_J) (1/\phi_{P_0})$ Reaksiyon merkezi (RC) başına absorpsiyon akışı (PSII anten klorofilleri için); t= 0'da absorplanan enerji akışı veya ortalama anten büyüklüğü
TR_0/RC	$M_0 (1/V_J)$ t= 0'da yakalanan enerji akışı (reaksiyon merkezi başına)
ET_0/RC	$M_0 (1/V_J) \psi_0$ t= 0'da elektron transportu (reaksiyon merkezi başına)
DI_0/RC	$(ABS/RC) - (TR_0/RC)$ t= 0'da yayılan enerji akışı (reaksiyon merkezi başına); Fotokimya dışında kaybedilen enerji
Fenomenolojik akışlar - Ölçüm yapılan yaprak alanı bazında enerji akışları	
$ABS/CS_0 \approx F_0$	t= 0'da absorblanan enerji akışı
TR_0/CS_0	$\phi P_0 \cdot (ABS/CS_0)$ t= 0'da yakalanan enerji akışı
ET_0/CS_0	$\phi P_0 \cdot \psi_0 \cdot (ABS/CS_0)$ t= 0'da elektron transportu
DI_0/CS_0	$(ABS/CS_0) - (TR_0/CS_0)$ Bir PSII'de fotokimya dışında kaybedilen enerji
RC/CS_0	$\phi_{P_0} \cdot (V_J/M_0) \cdot F_0$ t= t _{FM} 'da aktif PSII reaksiyon merkezleri miktarı
Performans indeksleri	
PI_{abs}	$[\gamma RC/(1 - \gamma RC)] \times [\phi P_0/(1 - \phi P_0)] \times [\psi_0/(1 - \psi_0)]$ PSII tarafından foton absorpsiyonundan sistemler arası elektron alıcılarının indirgenmesine kadarki enerji korunumunun performans indeksi (Potansiyel)
PI_{top}	$[\gamma RC/(1 - \gamma RC)] \times [\phi P_0/(1 - \phi P_0)] \times [\psi_0/(1 - \psi_0)] \times [(\delta R_0/(1-\delta R_0))]$ Toplam performans indeksi, PSI'in son elektron alıcısına kadar olan performans

3.3.3.2. Fizyolojik Ölçümler

3.3.3.2.1. Yaprak Nispi Su İçeriğinin (NSİ) Belirlenmesi

Stres ve yeniden sulama grupları ile bunların kontrol grubu bitkilerinin yaprak dokularındaki nispi su içeriğini (NSİ) belirlemek için aspir genotiplerine ait bitkilerden 3 tekrarlı ve her tekrardan iki bitki olmak üzere 6 adet bitkiden (n=6) yaprak diskleri (R=0.5 cm) çıkartılmıştır ve tartılmıştır (taze ağırlık). Tartılan diskler 5 ml distile su içeren falkon tüplere konulmuş ve tüpler çalkalayıcıda 100 rpm'de 24 saat çalkalanmıştır. Bu süre sonunda hidrate hale gelen yaprak diskleri tekrar tartılarak turgor durumundaki ağırlıkları saptanmıştır. Daha sonra bu yaprak diskleri 80°C'lik etüvde 48 saat kurutulmuş ve ağırlıkları yeniden tartılarak kuru ağırlıkları belirlenmiştir. Yaprak dokularındaki nispi su içeriği (NSİ) Farrant [280]'a göre hesaplanmıştır.

$$NSİ (\%) = (TA-KA) / (HA-KA) \times 100 \quad (3.3)$$

Burada TA, taze ağırlığı; HA, hidrate ağırlığı ve KA, kuru ağırlığı ifade etmektedir.

3.3.3.2.2. Yaprak Su Potansiyelinin Belirlenmesi

Stres ve yeniden sulama grupları ile bunların kontrol grubundaki aspir yapraklarının su potansiyel değerleri WP4 Dewpoint Potential Meter cihazı (WP4-T/Operator's Manual Version 2.2, Decagon Devices, Inc.) kullanılarak ölçülmüştür (Şekil 3.5). Aspir bitkisinden örneklenen yapraklar, ölçüm kaplarına konularak cihazının örnek okuma bölmesine yerleştirilmiş ve ölçümler 3 tekrarlı olarak yapılmıştır (n=3). Soğutulmuş-ayna çığ noktası tekniğini (chilled-mirror dewpoint technique) kullanan WP4-T cihazı, örneklerin 0 ile -300 MPa aralığındaki su potansiyellerini ± 0.1 MPa hata payı ile ölçmektedir. Cihazda, örneklerin konulduğu bölmenin kapalı üst haznesinde yer alan aynadaki yoğunlaşma ile su potansiyelleri belirlenmektedir. Örnek ile ortam su potansiyelleri arasındaki dengeleme esnasına kadar olan sıcaklık ve su potansiyel değişimleri cihaz üzerinde yer alan ekranda görüntülenmektedir. Denge durumunda kabin ortam havasının su potansiyeli ile örneğin su potansiyeli birbirine eşittir. Ayrıca cihazda aynanın sıcaklığı termoelektrik soğutucu tarafından kontrol edilmektedir ve kabin içerisindeki hava sirkülasyonunu sağlayan içsel fan sayesinde dengeleme süresi kısaltılmaktadır.

3.3.3.2.3. Toprak Su Potansiyelinin Belirlenmesi

Stres ve yeniden sulama grupları ile bunların kontrol grubundaki aspir fidelerinin yetiştirildiği toprakların su potansiyeli değerleri WP4 Dewpoint Potential Meter cihazı

(WP4-T/ Operator's Manual Version 2.2, Decagon Devices, Inc.) kullanılarak ölçülmüştür (Şekil 3.5). Toprak örnekleri, ölçüm kaplarına konularak cihazın örnek okuma bölgesine yerleştirilmiş ve ölçümler 3 tekrarlı olarak yapılmıştır (n=3).



Şekil 3.5. WP4 Dewpoint Potential Meter cihazının genel görünümü

3.3.3.3. Biyokimyasal Ölçümler

3.3.3.3.1. Yapraklardaki Fotosentetik Pigment İçeriklerinin Belirlenmesi

Stres ve yeniden sulama grupları ile bunların kontrol grubundaki bitkilerin yaprak dokularındaki toplam klorofil (a+b) ve karotenoid (ksantofil+β-karoten) miktarları (mg ml⁻¹cm⁻²) Lichtenthaler [282]'a göre belirlenmiştir. Yaprak dokularındaki toplam klorofil ve karotenoid içeriklerinin belirlenmesi için stres ve yeniden sulama grupları ile bunların kontrol gruplarındaki bitkilerden 3 tekrarlı olmak üzere çıkartılan yaprak diskleri (R=0.6 cm) kullanılmıştır. Bitkilerin yaprak dokularından alınan diskler ependorf tüplere konulmuş ve toplam klorofil (a+b) ve karotenoid (x+c) içeriğini belirlemek amacıyla tüplere 1 ml, %100'lük aseton eklenmiştir. Örnekler, pigmentlerin yaprak dokusundan asetona geçmesi için 1 hafta buzdolabında (+4°C), karanlıkta bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda örneklerin absorbansları spektrofotometrede (Spectro UV-Vis Double Beam PC) 470, 644.8 ve 661.6 nm dalga boylarında okunmuştur.

3.3.3.3.2. Yapraklardaki İyon Sızıntısı Oranının Belirlenmesi

Stres ve yeniden sulama grupları ile bunların kontrol grubundaki bitkilerin yaprak dokularındaki iyon sızıntısı oranı Redmann vd. [283]'nin modifiye edilmiş metoduna göre analiz edilmiştir. Her uygulama için 3 tekrarlı olmak üzere 2'şer bitki örneğinden (n=6) alınan yaprak kesitleri (4 cm en, 1 cm boy) 5 ml distile su içeren falkon tüplere konulmuştur. Tüpler çalkalayıcıda, 24 saat 100 rpm'de çalkalandıktan sonra çıkarılan yaprak diskleri sıvı azota konulmuştur. Tüplerden alınan sıvı örneklerinin spektrofotometrede (Spekro UV-Vis Double Beam PC) 280 nm dalga boyunda absorbans değerleri okunmuştur (A280). Okumadan sonra yaprak diskleri tekrar ilgili

tüplere konularak 24 saat aynı rpm'de çalkalanmıştır ve 24 saat sonunda diskler tüplerden çıkartılıp tüpte kalan sıvı örneklerin absorbans değerleri spektrofotometrede 280 nm dalga boyunda okunmuştur (A'280).

$$\text{İyon Sızıntısı Oranı} = A_{280}/A'_{280} \quad (3.4)$$

Aspir genotiplerinde iyon sızıntısına ait tüm uygulamalardaki ortalamalar hesaplanmıştır ve her bir uygulamada stres ve yeniden sulama değerleri, kontrol bitkileri değerleri 1 olacak şekilde normalize edilmiştir.

3.3.4. Puanlama

Genotiplerde puanlama PI_{abs} ve PI_{top} değerlerinden hesaplanan KFI ve IFI'ler ile; toplam klorofil (a+b), karotenoid, iyon sızıntısı, yaprak nispi su içeriği ile yaprak ve toprak su potansiyelleri değerlerinden ise hesaplanan hasar indeksi (%) ve iyileşme derecesi(%)'leriyle belirlenmiştir. Hasar indeksi (%) ve iyileşme derecesi (%) aşağıdaki formüllere göre hesaplanmıştır.

Hasar İndeksi (%):

$$(\text{Kuraklık stresi} - \text{Kontrol}) / [1 - (\text{Kontrol}/100)] \times 100 \quad (3.5)$$

Kuraklık stresi: S1, S2 Kuraklık gruplarının kontrolleri: K1, K3

Bu hesaplama Glerum [284]'dan modifiye edilerek alınmıştır.

İyileşme Derecesi (%):

$$[(\text{İyileşme} - \text{Kuraklık stresi}) / (\text{Kontrol} - \text{Kuraklık stresi})] \times 100 \quad (3.6)$$

Yeniden sulama: R1, R2 Yeniden sulama gruplarının kontrolleri: K2, K4

Bu hesaplama Blumenthal vd. [285]'den modifiye edilerek alınmıştır.

Yapılan hasar indeksi (%) ve iyileşme derecesi (%) hesaplamaları genotiplerin kendi kontrollerine göre ayrı ayrı hesaplanmıştır.

Hesaplamalarda seçilen parametrelerden stresle azalanlar için (PI_{abs} , PI_{top} , pigment içeriği, yaprak nispi su içeriği ile yaprak ve toprak su potansiyeli) parametre değeri en yüksek olan çeşide en düşük puan (1 puan) stresle artan parametre (iyon sızıntısı) için ise, parametre değeri en yüksek olan çeşide en yüksek puan (12 puan) verilmiştir. Genotiplerde her bir stres ve yeniden sulama uygulaması için hasar indeksi ve iyileşme dereceleri hesaplanmış ve bu iki hesaplamadan elde edilen değerler toplanarak puanlar belirlenmiştir. Son olarak tüm puanlar bir araya getirilerek toplam puan hesaplanmıştır ve buna göre genotipler sınıflandırılmıştır. Yapılan

sınıflandırmada en düşük puanı alan ilk 4 genotip (1-4) kuraklığa dayanıklı, en yüksek puanı alan son 4 genotip (9-12) kuraklığa hassas ve diğer genotipler (5-8) kuraklığa orta derece dayanıklı olarak belirlenmiştir.

3.4. II. Aşama: Karakterizasyon

3.4.1. Bitki Materyali

II. aşamada, I. aşama sonuçlarına göre belirlenen kuraklığa dayanıklı çeşit (Remzibey-05) ve hat (AÖVD-L/14) ile kuraklığa hassas çeşit (Linac) ve hatla (AÖVD-L/12) birlikte yabancı aspir türü *Carthamus oxyacantha* kullanılmıştır.

3.4.2. Uygulamalar

40 gün boyunca kontrollü koşullarda büyütülen aspir genotiplerine ait bitkiler -şiddetli- (7 gün) kuraklığa maruz bırakılmış ve bunun devamında yeniden sulama periyodu (5 gün) uygulanmıştır (Şekil 3.6). Uygulama grubundaki bitkilere kuraklık stresi sulama yapılmaksızın gerçekleştirilmiştir. 40 günlük aspir genotiplerinin kuraklık uygulama grubu, yeniden sulama grubu ve bunların aynı yaştaki kontrol gruplarına ait rumuzların açıklaması sırası ile aşağıda verilmiştir;

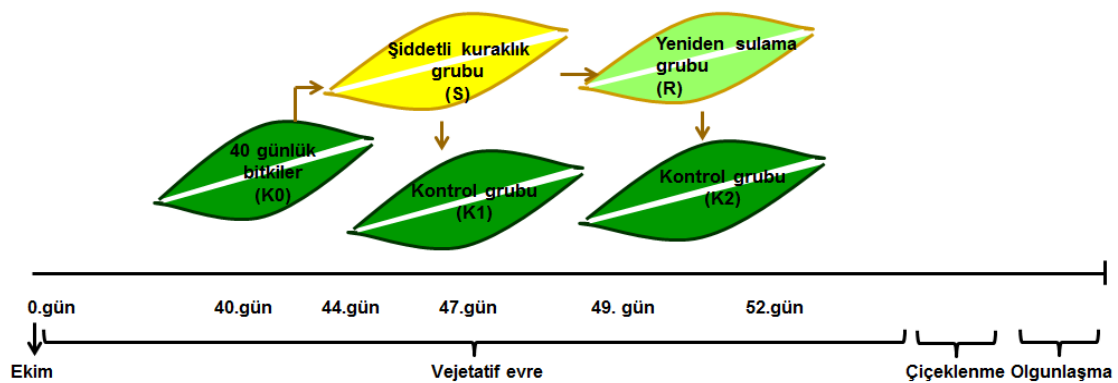
K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler

K1: 7 gün kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri

S: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa maruz kalan 47 günlük stres grubu bitkileri

K2: Kuraklık uygulamasını takiben 5 gün tekrardan sulanan yeniden sulama grubuna ait 52 günlük kontrol bitkileri

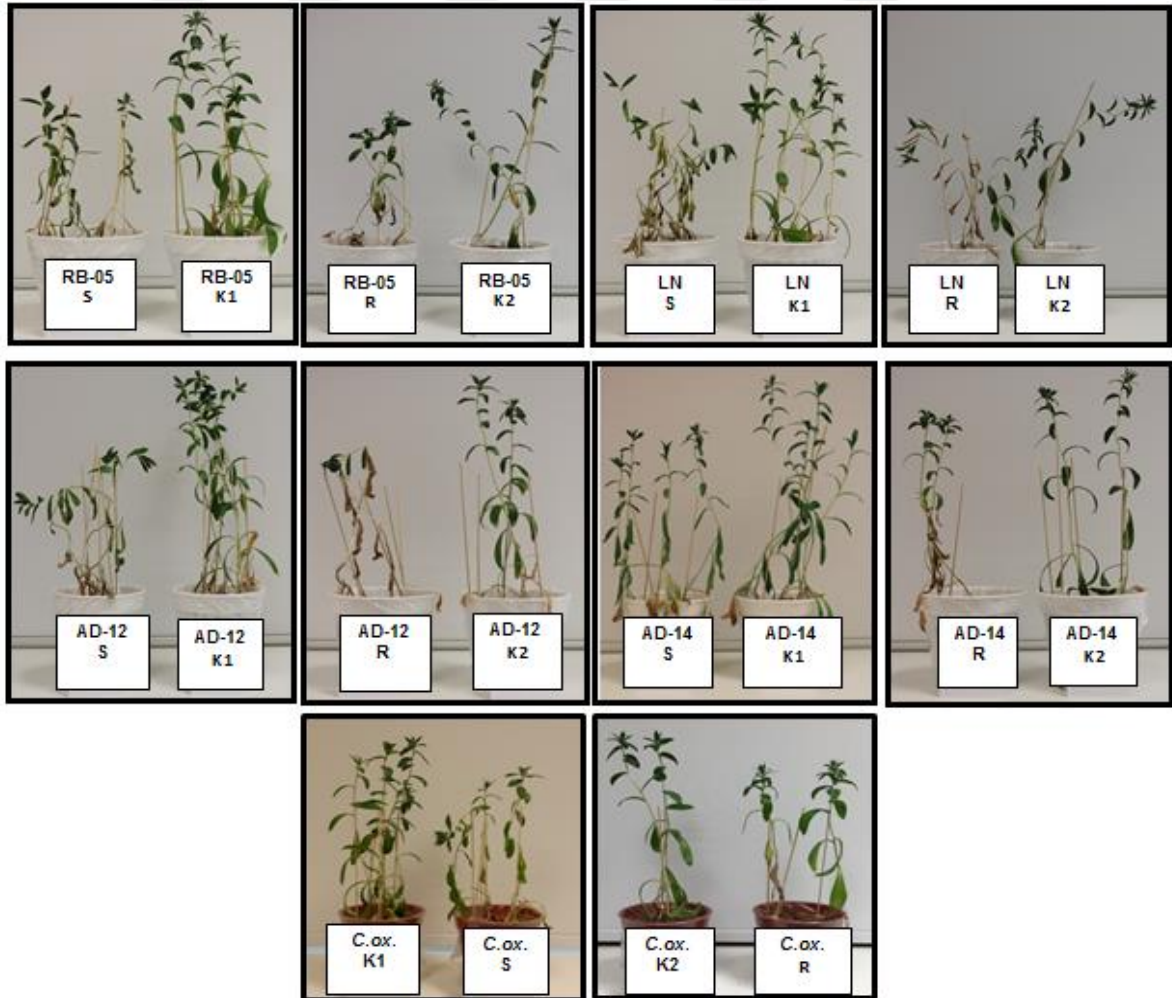
R: Kuraklık uygulamasını takiben 5 gün tekrardan sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri



Şekil 3.6. II. aşamaya ait deneme deseni

Ekimden sonraki 40. günde kuraklık uygulamasının başlatıldığı ilk kontrol grubunun (K0) hasadı yapılmıştır. 40 günlük bitkiler kuraklık ve yeniden sulama olmak üzere 2 farklı uygulamaya maruz bırakılmıştır. Birinci uygulamada yer alan bitkiler 7 gün boyunca sulamaksızın kuraklığa maruz bırakılmıştır ve 7. gün sonunda bu bitki grubu (S) ile bu gruba ait kontrol grubu (K1) hasat edilmiştir. İkinci uygulamayı, kuraklığı takiben 5 gün yeniden sulanan bitkilerin grubu oluşturmaktadır ve bu uygulamada hasat işlemi, 5 günlük yeniden sulama uygulamasının sonunda bu yeniden sulama grubu (R) ile bu gruba ait kontrol grubunda (K2) gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.7).

Tezin bu basamağında I. aşamaya göre seçilmiş aspir genotipleri 7 gün kuraklık stresine maruz bırakılmıştır ve bunu takip eden yeniden sulama periyodu uygulanmıştır. Her uygulama sonunda dayanıklı ve hassas genotiplerde kuraklık ve yeniden sulama koşullarının etkisi; morfolojik (bitki boyu, yaprak sayısı, ağırlık



Şekil 3.7. Kuraklık ve yeniden sulama uygulanan aspir genotiplerinin hasat günlerine ait fotoğrafları

değişimleri), fizyolojik (yaprak nispi su içeriği), fotosentetik (fotokimyasal ölçümler), biyokimyasal [klorofil içeriği ve stabilite indeksi ile karotenoid içeriği; lipid peroksidasyonu, hidrojen peroksit, osmotik koruyucu (prolin) miktarları ile antosiyanin ve flavonoid içeriği] ve antioksidan enzim aktiviteleri (SOD, APX, GR, POD, CAT, ALR) ölçümleriyle incelenmiştir. Bu sayede kuraklığın fotosentetik performans üzerine etkisi ile kuraklık stresine toleransta antioksidan savunma sistemlerinin rolü ortaya konulmaya çalışılmıştır.

3.4.3. Ölçüm ve Analizler

3.4.3.1. Morfolojik Ölçümler

3.4.3.1.1. Bitki Boyu ve Yaprak Sayısı Ölçümleri

Kontrol ve uygulama grubundaki aspir fidelerinin toprak hizasından sürgün ucuna kadar olan uzunlukları belirlenerek bitki boyu (mm. bitki⁻¹) ölçülmüş ve yaprak sayıları (√adet bitki⁻¹) belirlenmiştir. Ayrıca elde edilen bu verilere göre bitki boyu tolerans indeksi (BBTI-%) ve iyileşme performansı (IP-%) hesaplanmıştır [285, 286]

$$\text{BBTI (\%)} = (\text{Strese maruz kalan bitkilerin boyu} / \text{Kontrol bitkilerinin boyu}) \times 100 \quad (3.7)$$

$$\text{IP (\%)} = (\text{Yeniden sulama uygulanan bitkilerin boyu} - \text{Strese maruz kalan bitkilerin boyu}) / (\text{Kontrol bitkilerinin boyu} - \text{Strese maruz kalan bitkilerin boyu}) \times 100 \quad (3.8)$$

3.4.3.1.2. Taze ve Kuru Ağırlık Ölçümleri

Aspir çeşitlerine ait bitkilerin toprak üstü aksamı 3 tekrarlı (n=3) olacak şekilde tartılarak fidelerin yaş ağırlıkları (gr. bitki⁻¹), yaş ağırlığı belirlenen bitkilerin, 80°C'lik etüvde 48 saat kurutulup yeniden tartılmasıyla kuru ağırlıkları (gr.bitki⁻¹) belirlenmiştir. Elde edilen bu verilere göre, taze ağırlık tolerans indeksi (TATI) ve kuru ağırlık tolerans indeksi (KATI-%) ve iyileşme potansiyeli (IP-%) hesaplanmıştır [285, 286].

$$\text{TATI (\%)} = (\text{Strese maruz kalan bitkilerin taze ağırlığı} / \text{Kontrol bitkilerinin taze ağırlığı}) \times 100 \quad (3.9)$$

$$\text{KATI (\%)} = (\text{Strese maruz kalan bitkilerin kuru ağırlığı} / \text{Kontrol bitkilerinin kuru ağırlığı}) \times 100 \quad (3.10)$$

$$\text{IP (\%)} = (\text{Yeniden sulama uygulanan bitkilerin taze/kuru ağırlığı} - \text{Strese maruz kalan bitkilerin taze/kuru ağırlığı}) / (\text{Kontrol bitkilerinin taze/kuru ağırlığı} - \text{Strese maruz kalan bitkilerin taze/kuru ağırlığı}) \times 100 \quad (3.11)$$

3.4.3.2.Fizyolojik Ölçümler

3.4.3.2.1. Nispi Su İçeriğinin Belirlenmesi

Stres ve yeniden sulama grupları ile bunların kontrol grubu bitkilerinin yaprak dokularındaki nispi su içeriği (NSİ) Farrant [280]'ın yöntemine göre belirlenmiştir. Bu metod, tezin I. aşamada açıklanmıştır.

3.4.3.3.Fotosentetik Ölçümler

3.4.3.3.1.Fotokimyasal Ölçümler

Klorofil *a* floresans ölçümleri için, taşınabilir, Modüle Floresans Ölçüm Sistemi (FMS-2, Hansatech Ltd.) kullanılmıştır. Modüle floresans sisteminden alınan klorofil *a* floresans sinyalleri uygun paket programına transfer edilerek, klorofil floresans parametreleri hesaplanmıştır. 30 dk karanlık adaptasyonundan sonra, $0.2 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ışık şiddetinde çok düşük ışık pulsu kullanılarak minimum floresans (F_0) belirlenmiştir. Daha sonra doymuş ışık pulsu ($7500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) verilerek karanlıkta adapte edilmiş durumdaki maksimum floresans (F_M) değeri belirlenmiştir. Karanlıkla adapte edilmiş, yapraklarda PSII'nin potansiyel fotokimyasal etkinliği ($\Phi P_{0=F_V/F_M}$), değişken floresansın (F_V), maksimum floresansa oranı olarak ifade edilir ve $F_V/F_M = (F_M - F_0)/F_M$ formülünden hesaplanmıştır [287]. Ayrıca PSII'nin donör (verici) kısmındaki O_2 oluşturan kompleksin etkinliğini ifade eden F_V/F_0 , $[(F_M - F_0)/F_0]$ formülünden hesaplanmıştır. Karanlıkta adapte edilmiş yaprak ölçümünden sonra, aktinik ışık ($250 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) aydınlatılmasını takiben klorofil *a* floresansındaki ışık ile teşvik edilen değişiklikler F_0' (ışık ile doymuş durumdaki minimum klorofil *a* floresans) ve F_M' (ışık ile doymuş durumda maksimum floresans) belirlenmiştir. Işık ile adapte edilmiş durumdaki yapraklarda, PSII'nin gerçek fotokimyasal etkinliği $\Phi_{PSII} = (F_M' - F_S)/F_M'$ formülünden Genty vd. [288]'ne göre hesaplanmıştır. Buradaki F_S ışıkla adapte edilmiş yapraklardaki dinamik denge durumundaki floresansı ifade etmektedir. Bunun yanı sıra, PSII'nin eksitasyon enerjisini yakalama etkinliği $\Phi_{exc} = F_V'/F_M'$ [$F_V'/F_M' = (F_M' - F_0')/F_M'$] de Genty vd. [288]'ne göre hesaplanmıştır. Aktinik ışık kapatılıp, kırmızı ötesi ışık ($7 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) verilip PSI uyarılmış ve sistemin elektron taşıma hızı (ETH), $[(F_M' - F_S)/F_M'] \times \text{PAR} \times 0.84 \times 0.5$] formülünden hesaplanmıştır. Burada PAR (fotosentetik aktif radyasyon), 0.84 (yaprak absorpsiyonu için ortalama faktör) ve 0.5 katsayısı ise iki fotosistem (PSI ve PSII) arasındaki absorbe edilen fotonların teorik olarak eşit paylaşıldığını ifade eder. Tüm sistemdeki, fotokimyasal kullanım [$q_P = (F_M' - F_S)/F_M' - F_0'$] ve fotokimyasal olmayan kullanım [$NPQ = (F_M - F_M')/F_M'$] da Genty vd. [288]'ne göre hesaplanmıştır.

3.4.3.4. Biyokimyasal Ölçümler

3.4.3.4.1. Klorofil a ve Klorofil b Miktarları, Klorofil a/b Oranı ile Toplam Klorofil ve Karotenoid Miktarı ile klorofil Stabilite İndeksinin Belirlenmesi

Stres ve yeniden sulama grupları ile bunların kontrol grubundaki bitkilerin yaprak dokularındaki klorofil a, klorofil b, toplam klorofil (a+b) ve karotenoid (ksantofil+β-karoten) miktarları ($\text{mg ml}^{-1}\text{cm}^{-2}$) Lichtenthaler [282]'a göre belirlenmiştir. Elde edilen bu verilere göre, klorofil a/b oranı hesaplanırken, klorofil stabilite indeksi (KSI) Sairam vd. [289]'ne, iyileşme potansiyeli (IP) ise Blumental vd. [285]'ne göre belirlenmiştir.

$$\text{KSI (\%)} = \frac{\text{Strese maruz kalan bitkilerin toplam klorofil içeriği}}{\text{Kontrol bitkilerinin toplam klorofil içeriği}} \times 100 \quad (3.12)$$

$$\text{IP (\%)} = \frac{\text{Yeniden sulama uygulanan bitkilerin toplam klorofil miktarı} - \text{Strese maruz kalan bitkilerin toplam klorofil miktarı}}{\text{Kontrol bitkilerinin toplam klorofil miktarı} - \text{Strese maruz kalan bitkilerin toplam klorofil miktarı}} \times 100 \quad (3.13)$$

3.4.3.4.2. Malondialdehit (MDA) ve Hidrojen peroksit (H_2O_2) Miktarının Belirlenmesi

Yaprak dokularındaki membran hasarının son ürünü olan malondialdehit (MDA) miktarı ile oksidatif stres sonucu oluşan ve bir aktif oksijen çeşidi olan hidrojen peroksit (H_2O_2)'in miktarı Esterbauer ve Cheeseman [290]'in metodu kullanılarak belirlenmiştir. Kontrol ve stres grubundaki bitkilerden alınan 0.1 g yaprak örneği 4 ml %0.1 trikloroasetik asit (TCA) ile 4°C 'de homojenize edilmiştir. Homojenat 10000 rpm'de 15 dk santrifüj edilmiştir ve elde edilen süpernatandan aşağıda belirtilen yöntemler izlenerek MDA ve H_2O_2 miktarı belirlenmiştir:

MDA miktarını belirlemek için cam tüpe alınan 0.5 ml süpernatanın üzerine 1 ml TCA-TBA-HCl (%15 trikloroasetik asit, %0.375 tiobarbitürik asit, 0.25 N HCl) çözeltisi ve 0,5 ml pH'sı 7.6 olan 0.1 M tris/HCl tamponunundan eklenmiştir. Reaksiyon karışımı, 97°C 'lik su banyosunda 45 dk reaksiyona sokulmuştur ve buradan çıkarılan tüpler buz banyosuna konularak reaksiyon durdurulmuştur. Bu işlemden sonra reaksiyon karışımı 10000 rpm'de 5 dk santrifüjlenip spektrofotometrede (Spektr UV-Vis Double Beam PC) 532 ve 600 nm dalga boylarında absorbans değerleri okunmuştur. Yaprak dokularındaki MDA miktarı nmol g T.A.^{-1} olarak belirlenmiştir.

H_2O_2 miktarını belirlemek için cam tüpe alınan 0.5 ml süpernatanın üzerine 0.5 ml pH'sı 7.6 olan 0.1 M tris/HCl tamponu ve 1 ml 1 M KI eklenmiştir. Reaksiyon karışımı 90 dk karanlıkta bekletilmiştir ve spektrofotometrede (Spektr UV-Vis Double Beam PC) 390 nm dalga boyunda absorbans değerleri okunmuştur. Yaprak dokularındaki H_2O_2 miktarı $\mu\text{mol g T.A.}^{-1}$ olarak belirlenmiştir.

3.4.3.4.3. Prolin Miktarının Belirlenmesi

Yaprak dokularındaki prolin miktarı Bates vd. [291]'nin metoduna göre belirlenmiştir. Kontrol ve stres grubundaki bitkilerden alınan 0.5 gr taze yaprak örneği 10 ml %3'lük sülfosalisilik asit ile homojenize edilmiştir. Homojenat çift katlı filtre kâğıdı ile süzülmüştür. Elde edilen filtratın 2 ml'si cam tüpe alınmıştır ve üzerine 2 ml asit-ninhidrin ve 2 ml glacial asetik asit eklenmiştir. Reaksiyon karışımı, 100°C'lik su banyosunda 60 dk tutulmuştur ve buradan çıkarılan tüpler buz banyosuna konularak reaksiyon durdurulmuştur. Reaksiyon karışımının sıcaklığı oda sıcaklığına ulaşınca her bir tüpe 4 ml toluen eklenmiştir ve 15-20 sn vorteklenmiştir. Bir süre bekledikten sonra üst kısımda kalan ve toluen içeren sıvı fazdan örnekler alınmıştır ve spektrofotometrede (Spektrö UV-Vis Double Beam PC) 520 nm dalga boyunda absorbans değerleri okunmuştur. Yaprak dokularındaki prolin miktarı $\mu\text{mol g T.A.}^{-1}$ olarak belirlenmiştir.

3.4.3.4.4. Antosiyanin ve Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi

Kuraklık ve yeniden sulama grupları ile bunların kontrol gruplarındaki aspir genotiplerine ait bitkilerin yaprak dokularındaki antosiyanin içeriği Mancinelli [292]'ye, flavonoid içeriği ise Mirecki ve Teramura [293]'ya göre belirlenmiştir. Her iki yöntemle göre 0.1 gr taze yaprak örneği 6 ml %79 metanol, %20 distile su ve %1 HCl'den oluşan çözelti eklenerek homojenize edilmiştir. Homojenat +4°C'de 10000 rpm'de 20 dk santrifüjlenmiştir ve elde edilen süpernatandan aşağıda belirtilen yöntemler izlenerek antosiyanin ve flavonoid içeriği belirlenmiştir:

Antosiyanin içeriğini belirleyebilmek için, elde edilen süpernatanın spektrofotometrede (Spektrö UV-Vis Double Beam PC) 530 ve 657 nm dalga boylarında absorbans değerleri okunmuştur. Yaprak dokularındaki antosiyanin miktarları ($\text{mg ml}^{-1} \text{gTA}^{-1}$) aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$\text{Antosiyanin} = A_{530} - (A_{657}/3) \quad (3.14)$$

Flavonoid içeriğini belirleyebilmek için, elde edilen süpernatanın spektrofotometrede (Spektrö UV-Vis Double Beam PC) 300 nm dalga boyunda absorbans değerleri okunmuştur. Yaprak dokularındaki flavonoid miktarı kontrole göre yüzde olarak hesaplanmıştır.

3.4.3.5. Antioksidan Enzim Aktiviteleri Ölçümleri

3.4.3.5.1. Protein İçeriğinin Belirlenmesi

Kontrol ve stres grubundaki aspir genotiplerine ait yaprak örneklerinin protein konsantrasyonları, Bradford [294] metoduna göre sığır serum albümini (BSA) standardı kullanılarak belirlenmiştir. 20 µl örnek çözelti ile 480 µl distile su karıştırıldıktan sonra, karışıma 5 ml Bradford çözeltisi eklenmiştir. Bu karışım vortekslelendikten sonra oda sıcaklığında 10 dk bekletilmiştir. Çözeltinin absorbans değerleri spektrofotometrede (Spekro UV-Vis Double Beam PC) 595 nm dalga boyunda üç tekrarlı olacak şekilde okunmuştur.

3.4.3.5.2. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Belirlenmesi

Süperoksit dismutaz (SOD; EC 1.15.1.1) enzim aktivitesi, nitrobluetetrazolyum'un (NBT) fotokimyasal indirgenmesini esas alan yöntemle göre spektrofotometrik olarak belirlenmiştir [295]. Kontrol ve stres gruplarına ait bitkilerden alınan 0.5 g taze yaprak örneği sıvı azot ile öğütüldükten sonra 100 mM potasyum fosfat (pH 7.0) ve 1 mM Na₂EDTA içeren 1.5 ml'lik çözelti eklenmiştir. Bu karışım +4°C'de 14000 rpm'de 20 dk santrifüjlenmiştir ve enzimi içeren süpernatant kısmı ayrılmıştır. 50 mM fosfat tamponu (pH 7.8), 9.9 mM L-metiyonin, 57 µM NBT ve %1 triton X-100 ile karıştırılmıştır ve bu karışımdan alınan 1 ml çözeltiye 20 µl süpernatant eklenmiştir. Örneğin konulmasını takiben reaksiyonu başlatmak için üzerine 10µl riboflavin ilave edilmiştir. Karıştırma işleminden sonra tüpler 375 µmol.m⁻².s⁻¹ ışık yoğunluğunda floresan ışığına maruz bırakılmıştır ve absorbans değerler köre karşı spektrofotometrede (Spekro UV-Vis Double Beam PC) 560 nm dalga boyunda okunmuştur. Toplam SOD aktivitesi ünite mg protein⁻¹ olarak hesaplanmıştır. Bir enzim ünitesinin aktivitesi, NBT indirgenmesinde %50'lik bir inhibisyon yaratmak için gereken SOD miktarı olarak tanımlanmıştır.

3.4.3.5.3. Askorbat Peroksidaz (APX) Aktivitesinin Belirlenmesi

Askorbat peroksidaz (APX; EC 1.11.1.11) enzim aktivitesi Wang vd. [296]'nin metoduna göre belirlenmiştir. Kontrol ve stres gruplarına ait bitkilerden alınan taze yapraklar (0.5 g) sıvı azot ile öğütüldükten sonra üzerine 50 mM Tris-HCl (pH 7.2), 1 mM Na₂EDTA ve 2 mM askorbat içeren 1.5 ml'lik çözelti eklenmiştir. Bu karışım +4°C'de 12000 rpm'de 20 dk santrifüjlendikten sonra 75 µg protein içeren enzime 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 6.6), 2.5 mM askorbat ve 10 mM H₂O₂ ile son hacim 1 ml olacak şekilde ilave edilmiştir. H₂O₂'nin eklenmesi ile reaksiyon

başlatılmıştır. Askorbatın okside olması nedeniyle askorbat konsantrasyonunda azalma görülmektedir. Bu azalma spektrofotometrik olarak 290 nm dalga boyundaki absorpsiyon değerlerinin enzim içermeyen reaksiyon çözeltisine karşılık kaydedilmesiyle değerlendirilmiştir. Toplam APX enzim aktivitesi, askorbatın ekstinksiyon katsayısı (2.8 mM.cm^{-1}) kullanılarak başlangıç hızından ($\text{nmol askorbat dak}^{-1} \text{ mg protein}^{-1}$) hesaplanmıştır.

3.4.3.5.4. Glutasyon Redüktaz (GR) Aktivitesinin Belirlenmesi

Glutasyon redüktaz (GR; EC 1.6.4.2) enzim aktivitesi Rao vd. [297]'nin metodu ile belirlenmiştir. Kontrol ve stres gruplarına ait bitkilerden alınan 0.5 g taze yaprak örneği sıvı azot ile ezildikten sonra üzerine 100 mM potasyum fosfat (pH 7.0) ve 1 mM Na_2EDTA içeren 1.5 ml'lik çözelti eklenmiştir. Bu karışım $14000 \text{ g } +4^\circ\text{C}$ 'de 20 dk santrifüjlenmiştir. Süpernatant enzim ölçümü için ayrılmıştır. 100 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7.8), 2 mM Na_2EDTA , 0.5 mM GSSG, 0.2 mM NADPH ve 100 μg protein içeren enzim ekstraktı son hacim 1 ml olacak şekilde hazırlanmıştır. Reaksiyon, ortama NADPH'in eklenmesiyle başlamıştır. Örneklerin absorpsiyon spektrofotometrede 340 nm'de okunmuştur. NADPH'in enzimatik olmayan oksidasyonu için 340 nm dalga boyunda GSSG eklenmeyerek kaydedilen azalışla düzeltme yapılmıştır. Toplam GR enzim aktivitesi, NADPH'in ekstinksiyon katsayısı (6.2 mM.cm^{-1}) kullanılarak enzimatik olmayan oksidasyon çıkarıldıktan sonra reaksiyon başlangıç hızından ($\text{nmol NADPH dak}^{-1} \text{ mg protein}^{-1}$) hesaplanmıştır.

3.4.3.5.5. Peroksidaz (POD) Aktivitesinin Belirlenmesi

Peroksidaz (POD; EC 1.11.1.7) enzim aktivitesi Bergmeyer [298]'e göre belirlenmiştir. Reaksiyon karışımı 3 ml olup 100 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7.0), 20.1 mM guaiakol, 12.3 mM H_2O_2 ve enzim özütü içermektedir. Reaksiyon, enzim özütünün ilavesiyle başlatılmıştır ve 10 dk'lık süre içerisinde izlenmiştir. Toplam POD enzim aktivitesi, guaiakol'ün ekstinksiyon katsayısı (6.39 mM.cm^{-1} , 436 nm) kullanılarak reaksiyon başlangıç hızından ($\text{nmol } \text{H}_2\text{O}_2 \text{ dak}^{-1} \text{ mg protein}^{-1}$) hesaplanmıştır.

3.4.3.5.6. Katalaz (CAT) Aktivitesinin Belirlenmesi

Katalaz (CAT; EC 1.11.1.6) enzim aktivitesi Chance ve Maehly [299]'nin metodu ile belirlenmiştir. Kontrol ve stres gruplarına ait bitkilerden alınan 0.5 g taze yaprak örneği sıvı azot ile ezildikten sonra 50 mM tris-HCl (pH 7.8) içeren 1 ml'lik çözelti eklenmiştir. Bu karışım 14000 g ve $+4^\circ\text{C}$ 'de 20 dk santrifüjlenmiştir. Süpernatant

enzim ölçümü için ayrılmıştır. 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7.0), 100 mM H₂O₂ çözeltisi ve 100 µg protein içeren enzim ekstraktı hazırlanmıştır. Reaksiyon, H₂O₂'nin ortama eklenmesiyle başlamıştır. Örneklerin absorbansı spektrofotometrede 240 nm'de okunmuştur. Toplam CAT enzim aktivitesi, H₂O₂'nin ekstinksiyon katsayısı (40 mM cm⁻¹; 240 nm) kullanılarak reaksiyon başlangıç hızından (nmol H₂O₂ dak⁻¹ mg protein⁻¹) hesaplanmıştır.

3.4.3.5.7. Aldoz Redüktaz (ALR) Aktivitesinin Belirlenmesi

Aldoz redüktaz (ALR; EC 1.1.1.21) enzim aktivitesi Mundree vd. [300]'nin modifiye metoduna göre analiz edilmiştir. Bitkilerden alınan taze yapraklara (0.5 g) eşit miktarda PVP eklenerek sıvı azot ile ekstrakte edildikten sonra, dokuya oranı 1/20 olacak şekilde tampon çözeltisi [20 mM KH₂PO₄ (pH 7.5), 0.5mM EDTA, 1 mM fenilmetilsülfonil florid (PMSF) ve 0,5 mM DTT] eklenmiştir. Homojenat 10000 rpm'de +4°C'de 10 dk santrifüjlendikten sonra sırasıyla %40 ve %100 satürasyon için amonyum sülfat ile doyurulmuştur. Çökelen proteinler, ekstraksiyon tamponu ile çözdürülmüştür ve Sephadex-G25 kolonundan geçirilerek tuzlarından arındırılmıştır. 100 mM KH₂PO₄ (pH 6.9), 0.15 mM NADPH, 50 mM gliseraldehit ve 100 µg protein içeren enzim ekstraktı son hacim 1 ml olacak şekilde hazırlanmıştır. Reaksiyon, gliseraldehit'in ortama eklenmesiyle başlatılmıştır ve örneklerin absorbansı spektrofotometrik olarak 340 nm'de okunmuştur. ALR enzim aktivitesi, NADPH'ın ekstinksiyon katsayısı (6.2 mM.cm⁻¹) kullanılarak enzimatik olmayan oksidasyon çıkarıldıktan sonra reaksiyon başlangıç hızından (nmol NADPH dak⁻¹ mg protein⁻¹) hesaplanmıştır.

3.5. III. Aşama: Proteomik

3.5.1. Bitki Materyali

Bu aşamada, II. aşama sonuçlarına göre seçilen tescilli genotiplerle [kuraklığa dayanıklı (Remzibey-05) ve hassas (Linas) çeşitler] birlikte yabani aspir türü *Carthamus oxyacantha* kullanılmıştır.

3.5.2. Uygulamalar

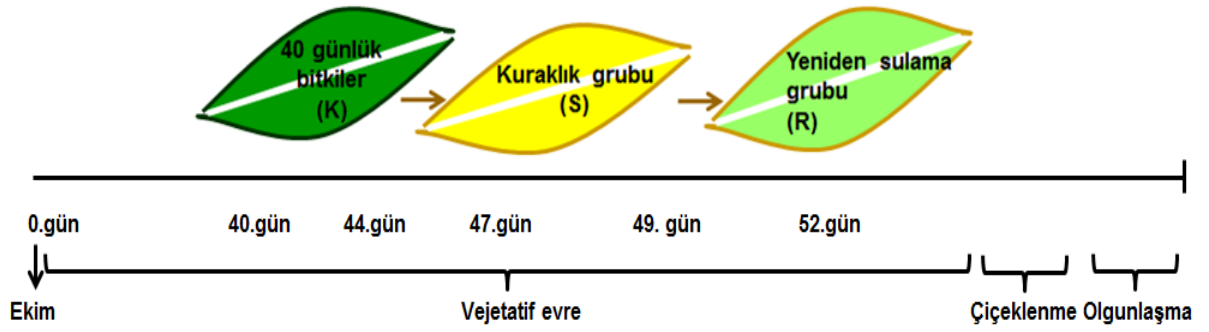
40 gün boyunca kontrollü koşullarda büyütülen aspir genotiplerine ait bitkiler şiddetli (7 gün) kuraklık uygulaması ile bunun devamında yeniden sulama periyoduna (5 gün) maruz bırakılmıştır (Şekil 3.8). Uygulama grubundaki bitkilere kuraklık stresi uygulaması sulama yapılmaksızın gerçekleştirilmiştir. 40 günlük aspir genotiplerinin

kuraklık uygulama grubu, yeniden sulama grubu ve bunların aynı yaştaki kontrol gruplarına ait rumuzların açıklaması sırası ile aşağıda verilmiştir.

K: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler

S: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa maruz kalan 47 günlük stres grubu bitkileri

R: Kuraklık uygulamasını takiben 5 gün tekrardan sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri



Şekil 3.8. III. aşamaya ait deneme deseni

Ekimden sonraki 40. günde kuraklık uygulamasının başlatıldığı kontrol grubunun (K) hasatı yapılmıştır. 40 günlük bitkiler kuraklık ve yeniden sulama olmak üzere 2 farklı uygulamaya maruz bırakılmıştır. Birinci uygulamada yer alan bitkiler 7 gün boyunca sulamaksızın kuraklığa maruz bırakılmıştır ve 7. gün sonunda bu bitki grubu (S) hasat edilmiştir. İkinci uygulamayı, kuraklığı takiben 5 gün sulanan yeniden sulama grubu bitkileri oluşturmaktadır ve bu uygulamada hasat işlemi, 5 günlük yeniden sulama uygulamasının sonunda bu bitki grubunda (R) gerçekleştirilmiştir.

Çalışmanın bu basamağında II. aşamaya göre seçilmiş aspir genotiplerine 7 gün kuraklık stresi ile bunu takip eden yeniden sulama periyodu uygulanmıştır. Uygulamalar sonunda dayanıklı ve hassas genotiplerde kuraklığın ve yeniden sulama koşullarının etkisi; proteom değişimi ile belirlenmeye çalışılmıştır. Aspir genotiplerine ait yaprak dokularından proteinler izole edilmiştir ve 2-D yöntemi kullanılarak hem izoelektrik noktalarına hem de moleküler ağırlıklarına göre ayrıştırılmıştır. Tüm aspir genotiplerinden (Remzibey-05, Linas ve *Carthamus oxyacantha*) her uygulamaya ait 3 tekrarlı jeller elde edilmiştir ve proteinlerin tanımlanması işlemleri gerçekleştirilmiştir (boyama, görüntüleme, spot analizi, kesim,

kütle spektrometresi ile analiz). Bu sayede kuraklığın bitki yaprak proteomu üzerine etkisi belirlenerek protein ifadelerindeki değişimler ortaya konulmaya çalışılmıştır.

3.5.3. Proteomik Analizler

3.5.3.1. Toplam Protein Ekstraksiyonu

Aspir bitkilerinin yapraklarından protein ekstraksiyonu Hurkman ve Tanaka [301] ile Ahsan ve Komatsu [302]'dan modifiye edilen fenol ekstraksiyon metoduna göre yapılmıştır. Kuraklık ve yeniden sulama grupları ile bunların kontrol gruplarındaki bitkilerin yapraklarından alınan 2 gr taze yaprak örneği sıvı azotla öğütülmüştür ve 8 ml soğuk Mg/NP-40 ekstraksiyon tamponuyla [0.5 M Trisma-HCl (pH 8.3), 0.7 M sukroz, 20mM MgCl₂, %2 NP-40, %2 β-merkaptotanol (β-ME) ve 1mM PMSF] homojenize edilmiştir. 10 dk buz üzerinde inkübe edilen homojenata Tris-HCl ile doyurulmuş fenolden (pH 8.0) eşit miktarda eklenmiştir. Homojenat 10 dk oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra 15 dk 5300 rpm'de +4°C'de santrifüj edilmiştir. Santrifüjün ardından proteinlerin toplandığı üstteki fenol faz ayrı bir tüpe alınmıştır ve üzerine 5.5 ml soğuk Mg/NP-40 ekstraksiyon tamponu eklenmiştir. Homojenat tekrar oda sıcaklığında 10 dk inkübe edildikten sonra santrifüj edilmiştir (15 dk, 5300 rpm, +4°C). Ayrı bir tüpe alınan fenolik fazdaki proteinlerin üzerine çözeltilinin 4 katı hacminde 0.1 M amonyum asetat içeren soğuk metanol eklenerek bir gece boyunca -20°C'de çöktürülmüştür. Ertesi gün çökelen proteinleri toplamak için tüpler 10 dk 12000 rpm'de +4°C'de santrifüj edilmiştir ve sonrasında süpernatant kısmı atılmıştır. Tüpte kalan protein pellet kısmı 3 kez 0.1 M amonyum asetat içeren soğuk metanolle çöktürülmüştür ve iki kez de soğuk aseton ile yıkanmıştır. Her çöktürme ve yıkama sonrasında protein pelleti 10 dk 12000 rpm'de +4°C'de santrifüj edilmiştir. İşlemler sona erdiğinde protein pelleti oda sıcaklığında kurutulmuştur ve kullanılabildiği kadar -20°C'de saklanmıştır.

3.5.3.2. Proteinlerin Çözdürülmesi ve Toplam Protein Miktarının Tayini

-20°C'den alınan protein pelletlere 500 µl rehidrasyon tamponu [7 M Üre, 2 M Thioüre, %4 CHAPS, 65 mM DTT, %0.2'lik Amfolit (pH 3-10/pH5-8)] ilave edilmiştir ve proteinler 5 dk vorteksledikten sonra 7 dk ultrasonikasyonlu su banyosunda tutularak çözdürülmüştür. Çözünmeyen parçacıkların atılması için örnekler 10000 rpm'de 5 dk +4°C'de santrifüj edilmiştir ve süpernatant yeni bir ependorf tüpe aktarılmıştır. Aktarma işleminden sonra toplam protein konsantrasyonu Ramagli ve Rodriguez [303] metodu ile belirlenmiştir.

3.5.3.3. İki-yönlü poliakrilamid jel elektroforezi (2-D)

Proteom içeriğindeki değişimler iki-yönlü (2-D) poliakrilamid jel elektroforezi [İzoelektrik fokuslama(IEF)+Sodyum dedosil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE)] tekniği kullanılarak belirlenmiştir. IEF öncesinde 500 µg protein içeren 300 µl'lik rehidrasyon tamponu ile pH 3-10/pH 5-8 gradiyentine sahip 17 cm'lik doğrusal immobilize pH gradiyent (IPG) stripleri (ReadyStrip, Bio-Rad, USA) laboratuvar koşullarında 16 saat süresince pasif olarak rehidrate edilmiştir. Rehidrasyondan sonra IEF işlemi, PROTEAN® i12™ IEF Cell (Bio-Rad, USA) cihazında 30 dk 250 V; 2 saat 10.000 V ve sonrasında toplamda 70.000 V olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Stripler ikinci ayırma kadar -80°C'de saklanmıştır.

İkinci ayırım aşamasında IPG stripleri 15'er dk boyunca sırasıyla dengeleme tamponu I (6 M urea, 1.5 M Tris-HCl, %2 SDS, %20 gliserol ve %2 DTT) ve dengeleme tamponu II (6 M urea, 1.5 M Tris-HCl, %2 SDS, %20 gliserol ve %2.5 iyodoasetamid) ile çalkalanarak dengelenmiştir. Dengeleme aşamasından sonra ikinci ayırım için, stripler 1.5 mm kalınlığında %12'lik SDS poliakrilamid jellere [%30 akrilamid/bisakrilamid, 1.5 M Tris-HCl tamponu pH 8.8, %10 SDS, %10 amonyum persülfat ve TEMED [304]] transfer edilmiştir ve kuyucuğun üzeri bromfenol mavisini içeren %5'lik overlay agoroz ile doldurulmuştur. Protein standartı olarak 10-250 kDa aralığında yüksek bant netliğine sahip boyanmayan doğal protein standartı (Precision Plus Protein™ Unstained Standards, Biorad) kullanılmıştır. Elektroforetik yürüme PROTEAN II XL Cell (Bio-Rad, USA) sisteminde (jel başına başlangıçta 20 mA 30 dk; sonrasında 35 mA yaklaşık 7 saat; 16°C'de) bromfenol mavisinin çizgisi jelin en altına ulaşana kadar gerçekleştirilmiştir. Kuraklık ve yeniden sulama grupları ile bunların kontrol gruplarındaki her bir örnek için 3 tekrar olacak şekilde 3'er adet 2-D jel hazırlanmıştır.

3.5.3.4. Jellerin Boyanması ve Görüntü Analizi

2-D ayrımı yapılan proteinlere ait jeller; kütle spektrometre analizleri için hazırlayıcı, yüksek duyarlılığa ve daha kısa uygulama süresine sahip Oriole™ Fluorescent Gel Stain boyası (Bio-Rad, USA) ile 90 dk karanlık koşullarda çalkalayıcı üzerinde (60 rpm/dk) muamele edilmiştir.

Proteomik analizler için hazır hale getirilen jellerin daha sonraki işlemleri Kocaeli Üniversitesi DEKART Protein Araştırmaları ve Proteom Bilimi Laboratuvarı'nda çalışılarak gerçekleştirilmiştir.

Boyanan jeller VersaDoc sistemi (BioRad, USA) ile uygun ışık kaynağı ve filtreler kullanılarak görüntülenmiştir. Jellerin analiz için uygun boyutlarda görüntüleri QuantityOne programı (BioRad, USA) kullanılarak elde edilmiştir. Protein spotlarının analizi ve jellerin karşılaştırması PDQuest Advanced programı (versiyon 8.0.1, BioRad, USA) ile yapılmıştır. Bu aşamada jellerdeki spotların genotip içi ve genotipler arasındaki varlıkları tespit edilmiştir ve spot hacmindeki değişimler program aracılığıyla normalizasyonu yapılarak belirlenmiştir.

3.5.3.5. Jeldeki Proteinlerin Tripsin ile Kesimi

Belirlenen protein spotları jellerden EXQuest Spot Cutter (Bio-Rad) cihazı ile 1,5 mm'lik otomatize uçlar kullanarak kesilmiştir. Elde edilen spotlar 96 kuyucuklu plaka içerisine konulmuştur.

Protein spotlarının triptik kesimi için In-Gel Tryptic Digestion Kiti (Thermo Scientific) kullanılmıştır. Plakalarda tüplere aktarılan jel parçaları 2 g/L amonyum bikarbonat içeren %50'lik asetonitril (ACN) çözeltisi ile 37°C'de 30 dk muamele edilmiştir (Boya uzaklaştırılma basamağı). Jel parçalarının üzerindeki sıvı faz uzaklaştırıldıktan sonra tüplerde 50 mM Tris(2-karboksietil)fosfin çözeltisi içeren 2 g/L amonyum bikarbonat çözeltisi eklenmiştir ve 60°C'de 10 dk muamele edilmiştir (İndirgenme basamağı). İşlem sonunda jel üzerindeki sıvı faz uzaklaştırılmıştır ve proteinleri alkilemek için jel parçacıkları 100 mM iodoasetamid ile oda sıcaklığında 1 saat inkübe edilmiştir (alkilasyon basamağı).

İnkübasyon sonunda tekrardan sıvı faz uzaklaştırılmıştır ve jel parçaları öncelikle 2 g/L amonyum bikarbonat içeren %50 ACN çözeltisi ile 37°C'de 15 dk; sonrasında ise konsantre ACN ile oda sıcaklığında 15 dk inkübe edilmiştir. Çözeltinin uzaklaştırılmasından sonra jel parçaları oda sıcaklığında kurutulmuştur ve üzerine aktive edilmiş tripsin (10ng/μL) eklenerek 37°C'de gece boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda tüplerin içerisindeki çözelti yeni bir tüpe alınmıştır ve vakum konsantratör (Eppendorf concentrator plus, Germany) ile kurutulmuştur. Kurutulan örnekler 10 μL %0.1'lik trifloroasetik asit (TFA) eklenerek kütle spektrometre analizleri için hazır hale getirilmiştir.

3.5.3.6. Kütle Spektrometresi Analizleri

Kütle spektrometresi analizlerinde; %0.1'lik TFA'da çözünmüş peptidler ZipTip C18 (Millipore, USA) kullanılarak konsantre hale getirilmiştir ve matriks çözeltisi (%50 ACN ve %0.1 TFA ile doyurulmuş 10 mg L⁻¹ α-siyano-4-hidroksisinnamik asit) ile

kariştirilmiştir. Daha sonra 2 µL çözeltili MALDI plakasına yerleştirilmiştir ve kurumasi beklenmiştir. Kütle spektrometresi analizleri, AB Sciex TOF/TOF 5800 kütle spektrometresi cihazı (Applied Biosystems, Framingham, 69 MA, USA) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. MALDI kalibrasyonu eksternal (dışsal) veya internal (içsel) kalibrant kullanılarak yapılmıştır ve her bir spektrum için ortalama 200 lazer vuruşu kullanılmıştır. Elde edilen tüm spektrumlar (m/z), MASCOT bilgi bankasında analiz edilmiştir.

Kütle spektrumu (m/z 800–3000) pozitif iyon reflektör modunda elde edilmiştir. Bir protein spotu için MS modundan elde edilen 10 pik, MS/MS fragmentasyonu için seçilmiştir. MS/MS modu 1 kV'lık çarpışma (collision) enerjisi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çarpışma teşvikli fragmentasyon için çarpışma gazı olarak hava kullanılmıştır. Öncü MS spektrumları için internal kalibrasyon olarak otolitik tripsin peptidleri kullanılmıştır. Glu-Fib fragmentleri ile elde edilen eksternal kalibrasyon ise MS/MS spektrumlarına uygulanmıştır. MS verileri GPS Explorer (Applied Biosystem) ve MASCOT (Matrix Science, London, UK) yazılımları kullanılarak veri tabanlarına karşı taranmıştır.

3.5.3.7. Biyoinformatik Analizler

Genotiplerde tanımlanan ortak proteinleri belirlemek için Venny 2.1.0 programı (<http://bioinfo.gp.cnb.csic.es/tools/venny/>) kullanılmıştır. Tanımlanmış proteinleri fonksiyonlarına göre sınıflandırmak için Panther analizi kullanılırken (<http://pantherdb.org/>); birbirleri ile etkileşimini belirleyebilmek için STRING analizi yapılmıştır (<https://string-db.org/>). Ayrıca fotosentez ve karbon metabolizması ile ilişkili proteinlerin metabolik yollardaki yerleri KEGG metabolik yolu programı kullanılarak elde edilmiştir (<http://www.genome.jp/kegg/pathway.html>).

3.6. İstatistiksel Analizler

Denemeler, rasgele deneme deseninde, 3 tekrarlı ve her bir tekrarda da 4 bitki (n=12) olmak üzere 9 deneme tekrarı olacak şekilde düzenlenmiştir. Her bir değişken için farklı sayıda kullanılan örneklem sayısı (n=) ilgili şekil altında verilmiştir. Denemelerden elde edilen verilere, istatistik paket programı (MiniTab 16) kullanılarak istatistiki varyans analizi (ANOVA) yapılmıştır. Analizlerden ölçülebilen değerler doğrudan, sayı değerleri de karekök dönüşümleri yapılarak analiz edilmiştir. Her bir değişken için uygulamalar ile genotipler arasındaki farkın önem kontrolü Anlamlı Önemli Fark (AÖF) %5 düzeyinde hesaplanmıştır.

4. BULGULAR

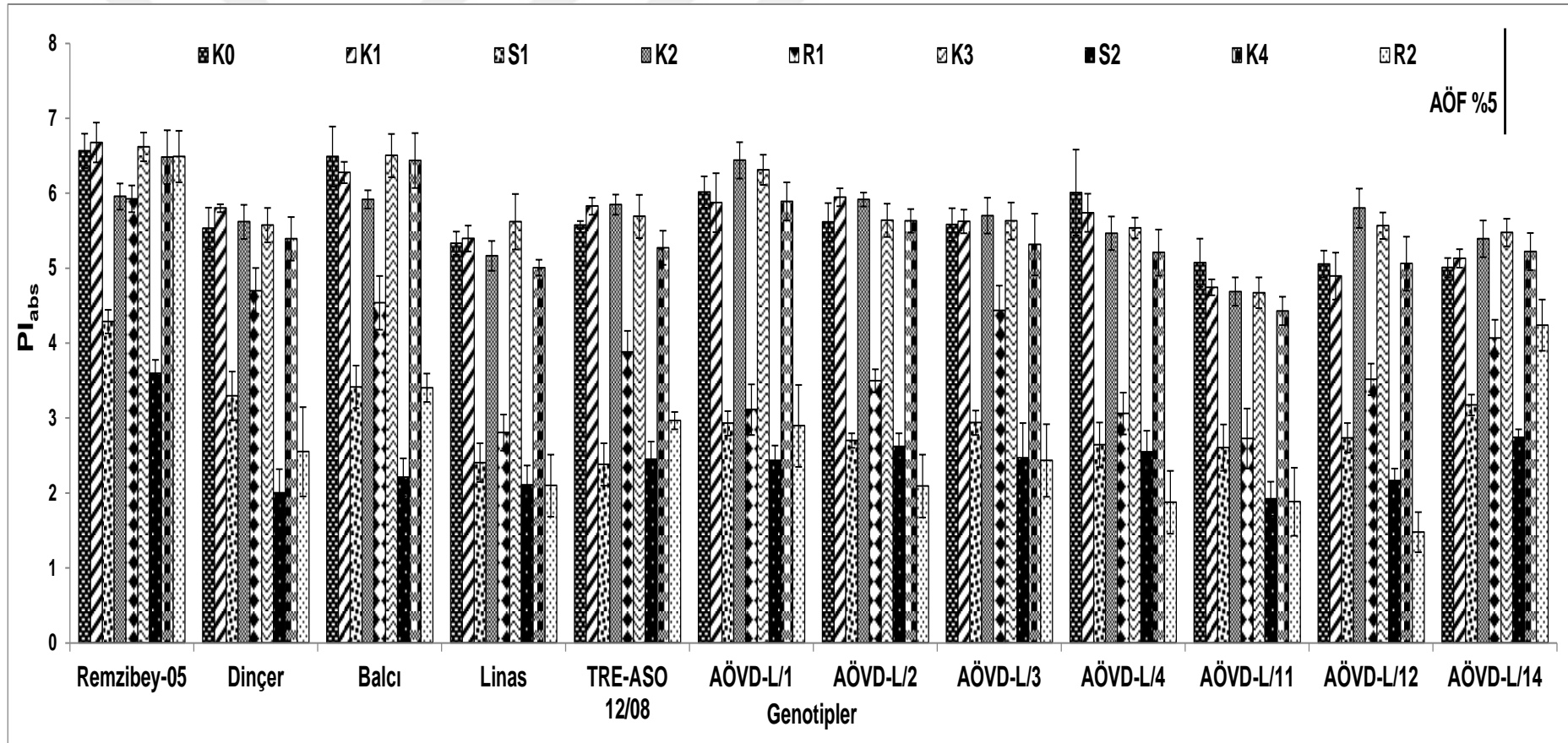
4.1. Seleksiyon Aşamasında Elde Edilen Bulgular

4.1.1. Kuraklık ve Yeniden Sulama Uygulamalarında Genotiplerin Fotokimyasal Etkinliği

4.1.1.1. Kuraklık ve Yeniden Sulama Uygulamalarında Genotiplerde Fotosentetik PI_{abs} (Performans indeksi)

Kuraklığın genotiplerin yapraklarındaki PI_{abs} (Performans indeksi) değerleri üzerine etkisi incelendiğinde (Şekil 4.1); kontrol grupları (K0, K1, K2, K3 ve K4) arasında zamana bağlı olarak önemli bir değişim meydana gelmemiştir. Orta ve şiddetli kuraklık (S1 ve S2) uygulamasında bitkilerdeki PI_{abs} değerleri kendi kontrol gruplarına (K1 ve K3) göre tüm genotiplerde önemli düzeyde azalmıştır ve en fazla S1 uygulamasında K1 uygulamasına göre TRE-ASO 12/08 (%59)'da, S2 uygulamasında ise K3 uygulamasına göre Balcı (%66)'da meydana gelmiştir. Orta şiddette kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan (R1) bitkilerin PI_{abs} değerlerinde S1 uygulamasına göre meydana gelen artış önemli bulunmamıştır. Ayrıca PI_{abs} değerlerinin R1 uygulamasında kendi kontrol grubuna (K2) göre Linas (%46), TRE-ASO 12/08 (%34), AÖVD-L/1 (%52), AÖVD-L/2 (%41), AÖVD-L/4 (%44), AÖVD-L/11 (%41) ve AÖVD-L/12 (%39)'de önemli düzeyde düşük olduğu belirlenmiştir. Şiddetli kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan (R2) bitkilerin S2 uygulamasına göre PI_{abs} değerinin sadece Remzibey-05'de (%81) önemli düzeyde arttığı belirlenmiştir. R2 uygulamasındaki bitkilerin PI_{abs} değerlerinin, kendi kontrol grubuna (K4) göre Remzibey-05 ve AÖVD-14 hariç diğer genotiplerde istatistiksel olarak önemli düzeyde düşük olduğu belirlenmiştir ve en fazla düşüş %71 ile AÖVD-L/12'de tespit edilmiştir. Ayrıca, S2 uygulamasında S1 uygulamasına göre PI_{abs} değerinde meydana gelen azalışlar önemli bulunmazken, R2 uygulamasında ise R1'e göre bu değer Dinçer (%46), AÖVD-L/3 (%45) ve AÖVD-L/12 (%58)'de önemli düzeyde azalmıştır. Stres ve yeniden sulama uygulamalarında PI_{abs} değerlerine göre kendini en iyi şekilde kurtarak iyileşme sağlayabilen genotipin Remzibey-05'in olduğu belirlenmiştir.

Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarına ait tüm kontrol gruplarının (K0, K1, K2, K3 ve K4) PI_{abs} değerleri incelendiğinde (Şekil 4.1); orta şiddette kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait kontrol grubunda (K1) Remzibey-05 ile AÖVD-L/11 ve AÖVD-L/12 arasındaki fark, orta şiddette kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden



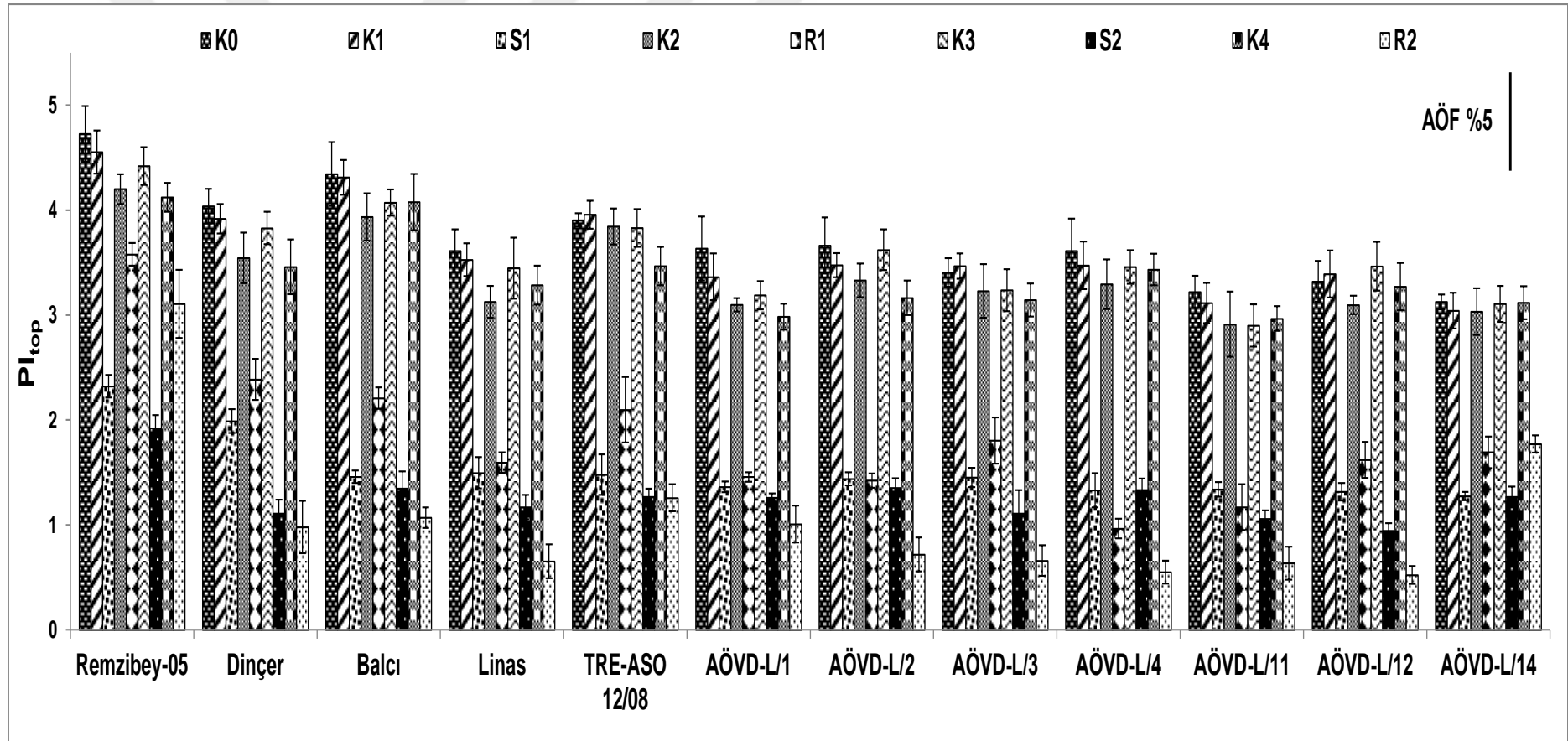
Şekil 4.1. Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarında aspir genotiplerinin fotosentetik performans indeksi (PI_{abs}) (n=6)

(K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, K1: Orta şiddete kuraklığa maruz kalan S1 stres grubuna ait 45 günlük kontrol bitkileri, S1: 40 gün kontrol koşulları + 5 gün kuraklığa (orta şiddette kuraklık) maruz kalmış 45 günlük stres grubu bitkileri, K2: R1 grubunun 50 günlük kontrol bitkileri, R1: S1 kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 50 günlük yeniden sulama grubu bitkileri, K3: Şiddetli kuraklığa maruz kalan S2 stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri, S2: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa (şiddetli kuraklık) maruz kalmış 47 günlük stres grubu bitkileri, K4: R2 grubunun 52 günlük kontrol bitkileri, R2: S2 kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri)

sulanan yeniden sulama grubuna ait kontrol grubunda (K2) AÖVD-L/1 ile AÖVD-L/11 arasındaki fark ve şiddetli kuraklık ile şiddetli kuraklığı takiben 5 gün yeniden sulanan yeniden sulama gruplarına ait kontrol gruplarında (K3 ve K4) Remzibey-05 ile AÖVD-L/11 arasındaki arasındaki değişimler sadece Remzibey-05 ile Linas, TRE-ASO 12/08 ve AÖVD-L/11 arasında istatistiksel açıdan önemlidir. R1 uygulamasında genotiplerin PI_{abs} değerleri incelendiğinde; Remzibey-05 için Dinçer ve Balcı genotipleri hariç diğer genotiplerle arasındaki farklılık ile Dinçer ve Balcı ile AÖVD-L/11 arasındaki farklar istatistiksel olarak önemlidir. S2 uygulamasında ise PI_{abs} değerlerinde genotipler arasındaki farklılıklar sadece Remzibey-05 ile AÖVD-L/11 arasında istatistiksel açıdan önemlidir. Ayrıca R2 uygulamasında PI_{abs} değerleri incelendiğinde; Remzibey-05 ile diğer tüm genotipler arasındaki fark, Balcı ile AÖVD-L/12 arasındaki fark ve AÖVD-L/14 ile Dinçer, Linas, AÖVD-L/2, AÖVD-L/3, AÖVD-L/4, AÖVD-L/11 ve AÖVD-L/12 arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir.

4.1.1.2. Kuraklık ve Yeniden Sulama Uygulamalarında Genotiplerde Fotosentetik PI_{top} (Toplam performans indeksi)

Kuraklık ve yeniden sulama koşullarında PI_{top} değerleri incelendiğinde (Şekil 4.2); genotiplerde kontrol grupları (K0, K1, K2, K3 ve K4) arasında zamana bağlı olarak önemli bir değişim meydana gelmezken; PI_{top} değerleri orta ve şiddetli kuraklık (S1 ve S2) uygulamasında kendi kontrol gruplarına (K1 ve K3) göre tüm genotiplerde istatistiksel olarak önemli düzeyde azalmıştır ve en fazla azalış S1 uygulamasında K1 grubuna göre Balcı (%66), TRE-ASO12/08 (%63), AÖVD-L/4 (%62) ve AÖVD-L/12 (%61)'de, S2 uygulamasında ise K3 grubuna göre Dinçer (%71) ve AÖVD-L/12 (%73)'de meydana gelmiştir. Hem orta şiddette kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan (R1) bitkilerde S1 uygulamasına göre hem de şiddetli kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan (R2) bitkilerde S2 uygulamasına göre PI_{top} değerleri sadece Remzibey-05'de ve AÖVD-L/14'de önemli düzeyde artmıştır ve bu artışlar sırasıyla Remzibey-05'de %54 ve %62 iken AÖVD-L/14'de %33 ve %40'dır. Ayrıca, her iki kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan (R1 ve R2) bitkilerde PI_{top} değerleri kontrol gruplarına (K2 ve K4) göre Remzibey-05 hariç diğer genotiplerde önemli düzeyde düşüktür. S2 uygulamasında S1 uygulamasına göre genotiplerde PI_{top} değerlerindeki azalış istatistiksel yönden önemli bulunmazken, R2 uygulamasında ise R1 uygulamasına göre PI_{top} değerleri Dinçer (%59), Balcı (%52), AÖVD-L/3 (%63) ve AÖVD-L/12 (%68)'de önemli düzeyde azalmıştır.



Şekil 4.2. Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarında aspir genotiplerinin fotosentetik toplam performans indeksi (PI_{top}) (n=6)

(K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, K1: Orta şiddete kuraklığa maruz kalan S1 stres grubuna ait 45 günlük kontrol bitkileri, S1: 40 gün kontrol koşulları + 5 gün kuraklığa (orta şiddette kuraklık) maruz kalmış 45 günlük stres grubu bitkileri, K2: R1 grubunun 50 günlük kontrol bitkileri, R1: S1 kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 50 günlük yeniden sulama grubu bitkileri, K3: Şiddetli kuraklığa maruz kalan S2 stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri, S2: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa (şiddetli kuraklık) maruz kalmış 47 günlük stres grubu bitkileri, K4: R2 grubunun 52 günlük kontrol bitkileri, R2: S2 kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri)

Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarına ait tüm kontrol gruplarının (K0, K1, K2, K3 ve K4) PI_{top} değerleri incelendiğinde (Şekil 4.2); Remzibey-05 ile AÖVD-L/1 ve AÖVD-L/11 arasındaki fark tüm kontrol gruplarında önemli düzeydedir. Bununla birlikte PI_{top} değerlerine göre kuraklık uygulamasının başlatıldığı kontrol gruplarında (K0) Remzibey-05 ile Linas, AÖVD-L/3, AÖVD-L/4, AÖVD-L/12 ve AÖVD-L/14 arasındaki fark ile Balcı ile AÖVD-L/11 ve AÖVD-L/14 arasındaki fark; orta şiddette kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait kontrol grubunda (K1) ise Remzibey-05 ile AÖVD-L/2, AÖVD-L/3, AÖVD-L/4, AÖVD-L/12 ve AÖVD-L/14 arasındaki fark ile Balcı ile AÖVD-L/11 ve AÖVD-L/14 arasındaki fark; orta şiddetteki kuraklığı takiben 5 gün yeniden sulanan yeniden sulama gruplarına ait kontrol grubunda (K2) da Remzibey-05 ile Linas, AÖVD-L/12 ve AÖVD-L/14 arasındaki fark; şiddetli kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait kontrol grubunda (K3) Remzibey-05 ile AÖVD-L/3 ve AÖVD-L/14 arasındaki fark ve şiddetli kuraklığı takiben 5 gün yeniden sulanan yeniden sulama gruplarına ait kontrol grubunda (K4) Balcı ile AÖVD-L/1 ve AÖVD-L/11 arasındaki farklar önemli düzeydir. Kuraklık uygulamalarında (S1 ve S2) PI_{top} değerlerinde genotipler arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önemli düzeyde değildir. Yeniden sulama uygulamalarında (R1 ve R2) genotiplerin PI_{top} değerleri incelendiğinde; Remzibey-05 ile diğer genotipler arasındaki farklılık her iki uygulamada da önemli bulunmuştur ve R1 uygulamasında Dinçer ile AVD-L/4 ve AÖVD-L/11 arasındaki fark ile R2 uygulamasında ise AÖVDL-14 ile Linas, AÖVD-L/3, AÖVD-L/4, AÖVD-L/11 ve AÖVD-L/12 arasındaki farkın önemli olduğu belirlenmiştir.

4.1.1.3. Kuraklık ve Yeniden Sulama Uygulamalarında Genotiplerdeki Fotosentetik Etkinliği Ortaya Koyan Bazı JIP Testi Parametreleri

Genotiplerde reaksiyon merkezi başına fotokimya dışında kaybedilen enerji (DI_0/RC) miktarına bakıldığında (Şekil 4.3A); DI_0/RC değerleri, Remzibey-05 için R1 ve R2 uygulaması ile TRE-ASO12/08 için R1 uygulaması hariç her iki kuraklık (S1 ve S2) ve yeniden sulama uygulamalarında (R1 ve R2) tüm aspir genotiplerinde kendi kontrollerine göre artmıştır. Ayrıca R1 uygulamasında S1 uygulamasına göre DI_0/RC değeri AÖVD-L/11'de değişmezken; diğer genotiplerde azalmıştır. R2 uygulamasında ise S2 uygulamasına göre Linas, AÖVD-L/2, AÖVD-L/3, AÖVD-L/4 ve AÖVD-L/12'de sırasıyla %17, %15, %12, %10 ve %24 oranında artış tespit edilmiştir. S2 uygulamasında S1 uygulamasına göre tüm genotiplerde DI_0/RC değerleri artmıştır ve

en fazla artış %43 oran ile Dinçer'de meydana gelmiştir. DI_0/RC değeri R2 grubunda R1 grubuna göre Remzibey-05 ve AÖVD-L/1 hariç diğer genotiplerde artmıştır ve en fazla artış %92 oran ile Dinçer'de belirlenmiştir.

Her bir reaksiyon merkezi için toplam elektron taşıyıcılarını ifade eden S_M değeri (Şekil 4.3B); kontrol gruplarına göre S1 uygulamasında tüm genotiplerde R1 uygulamasında ise Linas, TRE-ASO 12/08 ve AÖVD-L/3 hariç diğer genotiplerinde azalmıştır. Genotiplerde S2 uygulamasında S_M değeri Remzibey-05, Dinçer, Balcı, Linas, AÖVD-L/1, AÖVD-L/4 ve AÖVD-L/11 genotiplerinde kontrol grubuna (K3) göre sırasıyla %5, %10, %35, %17, %24, %4 ve %10 oranlarında artarken; R2 uygulamasında tüm genotiplerde azalmıştır ve en fazla azalış % 40 oranı ile AÖVD-L/12'de belirlenmiştir. R1 uygulamasında ise S1 uygulamasına göre S_M değerlerinde değişimler incelendiğinde en fazla azalış %20 oranında AÖVD-L/4'de, en fazla artış ise %21 oranı ile AÖVD-L/3'de tespit edilmiştir. Ayrıca tüm genotiplerde S_M değeri R2 uygulamasında S2 uygulamasına göre azalmıştır ve en fazla azalış %42 oranı ile Balcı'da belirlenmiştir. Şiddetli kuraklıkta (S2) orta şiddette kuraklık uygulamasına (S1) göre genotiplerde S_M değerleri TRE-ASO 12/08 ve AÖVD-L/12 hariç diğer genotiplerde %10'dan daha fazla oranda artmıştır ve en fazla artış %71 oranı ile Balcı'da belirlenmiştir. R2 grubunda ise R1 grubuna göre S_M değeri AÖVD-L/4 ile AÖVD-L/14 hariç diğer genotiplerde azalmıştır ve en fazla azalış %36 oranı ile AÖVD-L/12'de meydana gelmiştir.

Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarında tüm reaksiyon merkezlerinin açık olmasını ifade eden F_0 (minimum fluoresans) değerleri incelendiğinde (Şekil 4.3C); bu değer her iki kuraklık uygulaması (S1 ve S2) ile orta şiddetteki kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulama uygulamasında (R1) tüm genotiplerde kontrollerine (K1, K2 ve K3) göre artmıştır ve en fazla artışlar S1 uygulamasında Dinçer (%23) ve AÖVD-L/1 (%25)'de, S2 uygulamasında Dinçer (%44)'de ve R1 uygulamasında ise AÖVD-L/1(%17)'de belirlenmiştir. F_0 değeri şiddetli kuraklık uygulaması takiben 5 gün yeniden sulama uygulamasında (R2) ise Dinçer, TRE-ASO 12/08, AÖVD-L/3, AÖVD-L/12 ve AÖVD-L/14'de kendi kontrollerine göre (K4) sırasıyla %11, %4, %4, %3 ve %5 oranlarında artmıştır. Ayrıca F_0 değeri R1 uygulamasında S1 uygulamasına göre tüm genotiplerde azalmıştır ve en fazla azalışlar %18 ile Dinçer'de tespit edilmiştir. Ayrıca R2 uygulamasında S2 uygulamasına göre F_0 değeri AÖVD-L/3'de değişmezken; diğer genotiplerde

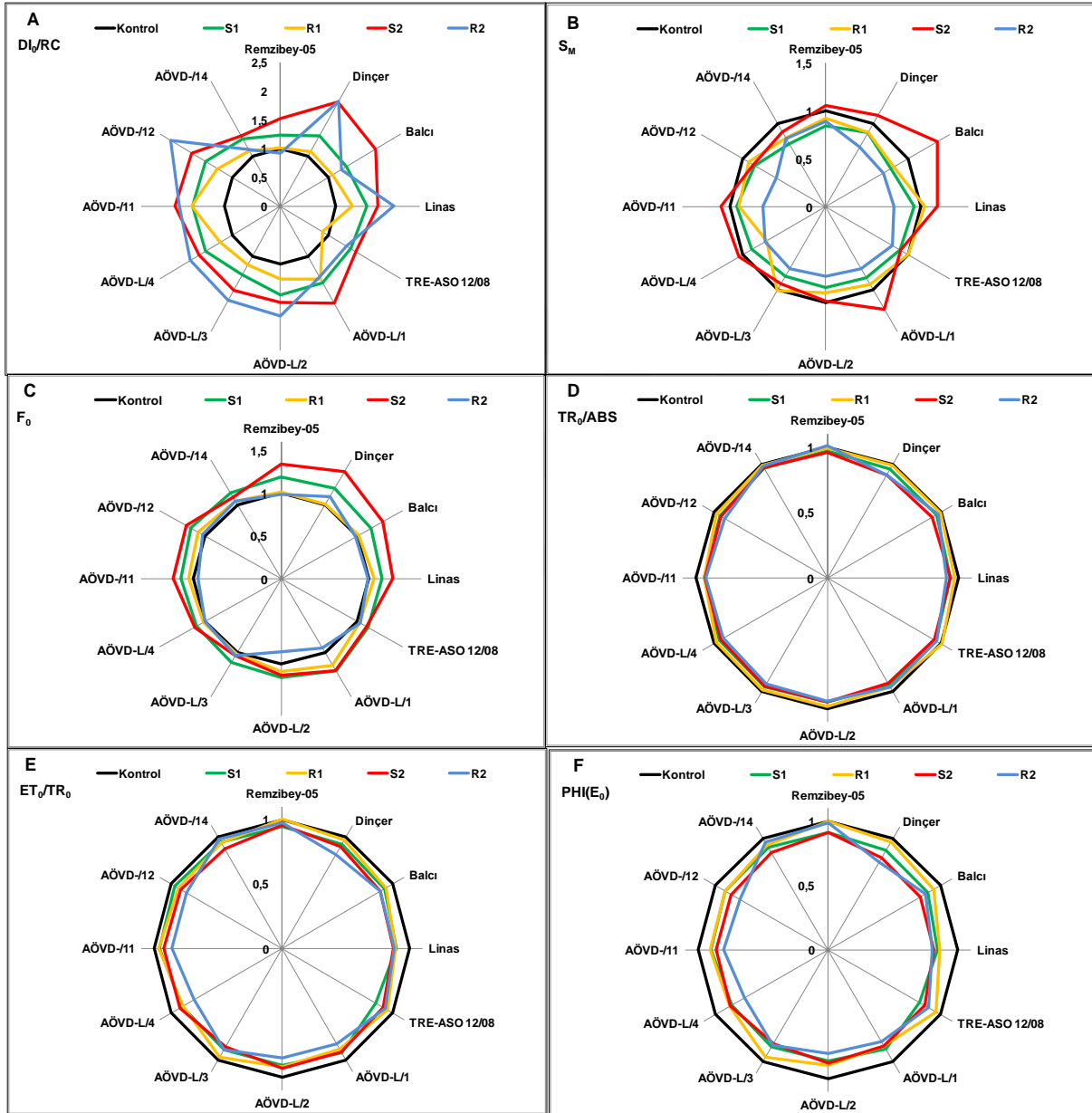
azalmıştır ve en fazla azalışlar Balcı (%27) ve Remzibey-05(%26,5)'de belirlenmiştir. F_0 değerleri S2 uygulamasında S1 uygulamasına göre TRE-ASO 12/08 (%2), AÖVD-L/1 (%1), AÖVD-L/2 (%2), AÖVD-L/3 (%8) ve AÖVD-L/14 (%5,5) azalırken; diğer genotiplerde artmıştır. R2 grubunda ise R1 grubuna göre F_0 değerleri Dinçer, TRE-ASO 12/08, AÖVD-L/3 ve AÖVD-L/14 hariç diğer genotiplerde azalmıştır ve en fazla azalış AÖVD-L/1 (%21) ve AÖVD-L/2 (%20)'de belirlenmiştir.

Primer fotokimyanın maksimum kuantum verimini ifade eden $TR_0/ABS (F_v/F_m - \phi_{P_0})$ değerlerinde (Şekil 4.3D), genotiplerde kuraklık (S1 ve S2) ve yeniden sulama (R1 ve R2) uygulamalarında kontrol gruplarına göre değişimlerin %10'dan daha az olduğu belirlenmiştir. Tüm genotiplerde TR_0/ABS değerlerinin yeniden sulama uygulamalarında kuraklık uygulamalarına (R1'de S1'e göre ve R2'de S2'ye göre) göre meydana gelen değişimlerin %6'dan daha az olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca TR_0/ABS değerlerinin hem S2 uygulamasında S1 uygulamasına göre hem de R2 uygulamasında R1 uygulamasına göre değişimlerin %10'dan az olduğu saptanmıştır.

Tutulan eksitonun Q_A^- 'den elektron transport zincirine bir elektronu hareket ettirme etkinliğini ifade eden $ET_0/TR_0 (\Psi_0)$ değerleri (Şekil 4.3E), tüm kuraklık (S1 ve S2) ve yeniden sulama (R1 ve R2) uygulamalarında kontrol gruplarına göre %21'den daha az oranda azalmıştır. Ayrıca ET_0/TR_0 değerlerinin R1 uygulamasında S1 uygulamasına göre TRE-ASO 12/08'de %12 oranında arttığı; R2 uygulamasında ise S2 uygulamasına göre AÖVD-L/4'de %14 oranında azaldığı tespit edilirken; diğer genotiplerde yeniden sulama uygulamalarında (R1 ve R2) kuraklık uygulamalarına (S1 ve S2) göre ET_0/TR_0 değerlerinin %10'dan daha az değiştiği belirlenmiştir. S2'de S1 uygulamasına göre ET_0/TR_0 değerlerindeki değişim %6'dan daha azdır. Bununla birlikte; R2 grubunda R1 grubuna göre ET_0/TR_0 değerleri tüm genotiplerde azalmıştır ve en fazla azalış %14 oranı ile Dinçer'de belirlenmiştir.

Elektron transportunun maksimum verimini ifade eden $PHI(E_0) (ET_0/ABS - \phi_{E_0})$ değeri (Şekil 4.3F), kuraklık uygulamalarında (S1 ve S2) kontrol gruplarına (K1 ve K3) göre azalmıştır ve S1 uygulamasında en fazla azalış %19 ile TRE-ASO 12/08'de, S2 uygulamasında ise %18 azalış ile Balcı ve Linas'da belirlenmiştir. R1 uygulamasında Remzibey-05 hariç, $PHI(E_0)$ değeri yeniden sulama uygulamalarında (R1 ve R2) kontrol gruplarına göre (K2 ve K4) tüm genotiplerde azalmıştır ve en fazla azalış R1'de K2'ye göre %14 oranı ile Linas ve AÖVD-L/1'de; R2'de K4'e göre ise %26 oranı ile AÖVD-L/4'de belirlenmiştir. $PHI(E_0)$ değeri R1'de S1 uygulamasına

göre AÖVD-L/1'de azalırken (%3); AÖVD-L/11 ve AÖVD-L/12'de değişmemiştir; diğer genotiplerde ise artmıştır ve en fazla artış %18 ile TRE-ASO 12/08'de meydana gelmiştir. R2'de ise S2 uygulamasına göre Remzibey-05'de %8, Balcı'da % 6, TRE-ASO 12/08'de %4, AÖVD-L/3'de %2 ve AÖVD-L/14'de %11 oranında artarken; diğer genotiplerde azalmıştır. S2 uygulamasında S1 uygulamasına göre $PHI(E_0)$ değerindeki değişimlerin %10'dan daha az olduğu belirlenirken, R2 grubunda R1



Şekil 4.3. Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarında aspir genotiplerinin yapraklarından ölçülen DI_0/RC , (A); S_M , (B); F_0 , (C); TR_0/ABS , (D); ET_0/TR_0 , (E) ve $PHI(E_0)$, (F) parametrelerinin radar grafiği ile gösterimi (n=6)

grubuna göre $PHI(E_0)$ değerleri AÖVD-L/14 hariç diğer genotiplerde azalmıştır ve en fazla azalış %19 oranı ile Dinçer'de belirlenmiştir.

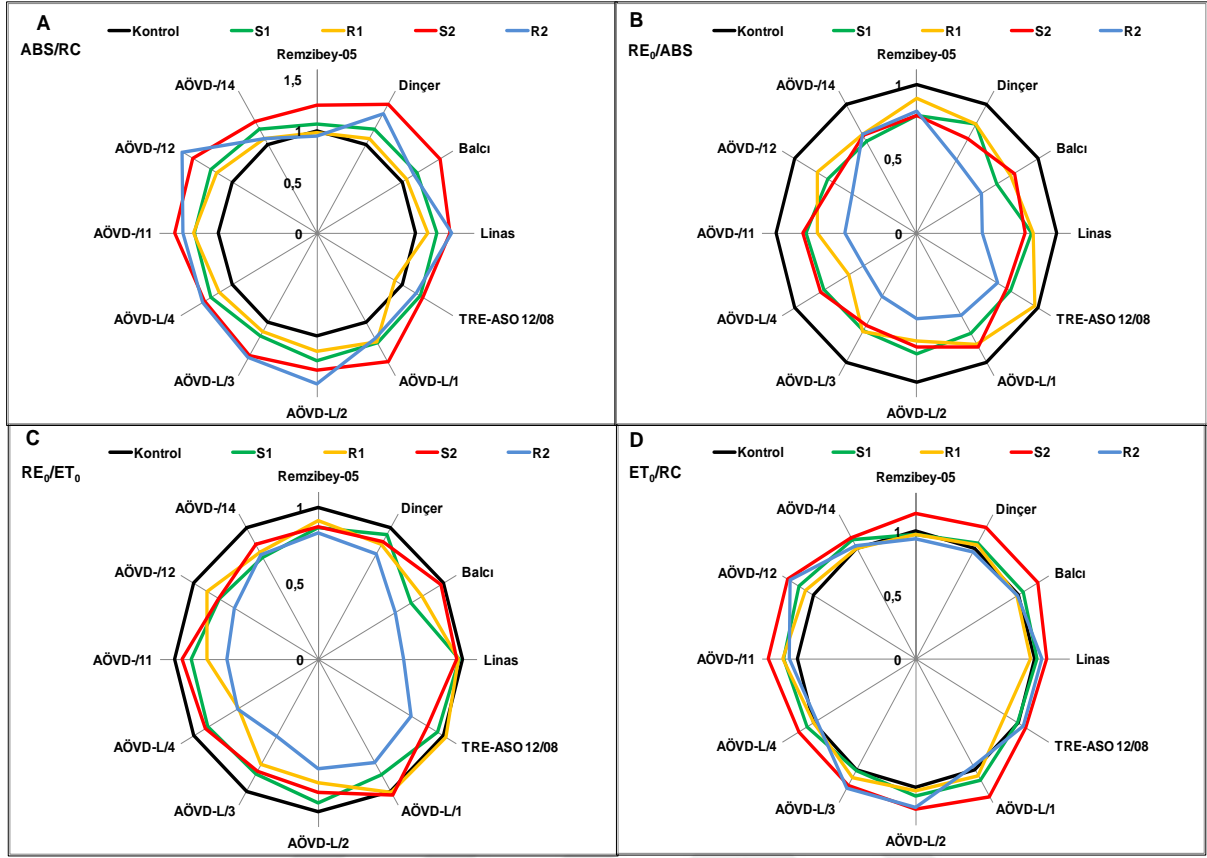
Genotiplerde aktif reaksiyon merkezindeki etkin anten büyüklüğünü ifade eden **ABS/RC** düzeyine bakıldığında (Şekil 4.4A); tüm genotiplerde kontrol gruplarına (K1 ve K3) göre orta şiddette kuraklık uygulamasında (S1) Remzibey-05 hariç diğer genotiplerde %15'den, şiddetli kuraklık uygulamasında (S2) ise tüm genotiplerde %25'den fazla artış olduğu belirlenmiştir ve en fazla artış S1 uygulamasında AÖVD-L/4 (%25)'de belirlenirken, S2 uygulamasında AÖVD-L/12 (%46)'de tespit edilmiştir. ABS/RC değeri orta şiddetteki kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulama uygulamasında (R1) kontrol grubuna göre (K2) Remzibey-05 ve TRE-ASO 12/08 hariç diğer genotiplerde artmıştır ve en fazla artış %25 ile AÖVD-L/11'de meydana gelmiştir. Şiddetli kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulama uygulamasında (R2) ise kontrol grubuna göre (K4) Remzibey-05 hariç diğer genotiplerde artmıştır ve en fazla artış %58 ile AÖVD-L/12'de belirlenmiştir. Ayrıca ABS/RC değerleri R1 uygulamasında S1 uygulamasına göre AÖVD-L/1 ve AÖVD-L/11 hariç diğer genotiplerde azalmıştır ve en fazla azalış %25 oranı ile TRE-ASO 12/08'de tespit edilmiştir. R2 uygulamasında ise S2 uygulamasına göre ABS/RC değerleri Linas'da %1 ve AÖVD-L/3 ve AÖVD-L/4'de %2, AÖVD-L/2'de %10 ve AÖVD-L/12'de %8 oranlarında artarken; diğer genotiplerde azalmıştır. S2'de S1 uygulamasına göre ABS/RC değerleri tüm genotiplerde artmıştır ve en fazla artışın %23.2 ile Dinçer'de ve %23.5 ile Balcı'da olduğu belirlenmiştir R2 grubunda ise R1 grubuna göre ABS/RC değerleri Remzibey-05, AÖVD-L/1 ve AÖVD-L/4 hariç diğer genotiplerde artmıştır ve en fazla artış %34 oranı ile AÖVD-L/12'de tespit edilmiştir

Q_A^- 'dan PSI son elektron alıcılarına (Ferrodoxin) elektron transportunun kuantum verimini ifade eden **RE_0/ABS (ϕR_0)** değerlerine bakıldığında (Şekil 4.4B); RE_0/ABS 'nin tüm genotiplerde kuraklık (S1 ve S2) ve yeniden sulama (R1 ve R2) uygulamalarında kontrollerine göre azaldığı belirlenmiştir ve en fazla azalış S1 uygulamasında Balcı (%34)'da, S2 uygulamasında AÖVD-L/12 (%32)'de ve her iki yeniden sulama uygulamasında (R1 ve R2) AÖVD-L/4 (R1'de %44, R2'de %56)'de belirlenmiştir. RE_0/ABS değeri R1 uygulamasında S1 uygulamasına göre Remzibey-05'de %15, Balcı'da %17, Linas'da %2, TRE-ASO 12/08'de %26, AÖVD-L/1 ile AÖVD-L/12'de %12, AÖVD-L/3'de %1 ve AÖVD-L/14'de %8 oranında artmıştır. Ayrıca tüm genotiplerde RE_0/ABS değerinin R2 uygulamasında S2 uygulamasına

göre Remzibey-05'de %3 ve AÖVD-L/14'de %1 oranında arttığı, diğer genotiplerde ise azaldığı belirlenmiştir ve en fazla azalış AÖVD-L/4 (%44)'de belirlenmiştir. S2'de S1 uygulamasına göre RE_0/ABS değerleri Balcı (%22 artış), AÖVD-L/1 (%14 artış), AÖVD-L/4 (%4 artış), AÖVD-L/11 (%3 artış) ve AÖVD-L/14 (%7 artış) hariç diğer genotiplerde azalmıştır. R2'de R1 grubuna göre RE_0/ABS değerleri AÖVD-L/14 hariç diğer genotiplerde azalmıştır ve en fazla azalış %43 ile Linas'da belirlenmiştir.

Genotiplerde indirgenmiş sistemler arası elektron alıcılarının bir elektronu, PSI son elektron alıcılarına hareket ettirme etkinliğini ifade eden RE_0/ET_0 (δR_0) değerleri incelendiğinde (Şekil 4.4C); Dinçer, Linas, TRE-ASO 12/08 ve AÖVD-L/2 hariç diğer genotiplerde S1 uygulamasında kontrol grubuna (K1) göre %10'dan daha fazla oranda azalmıştır ve en fazla azalış Balcı (%26) ve AÖVD-L/14 (%22)'de belirlenmiştir. RE_0/ET_0 değeri kontrol gruplarına göre R1 uygulamasında TRE-ASO 12/08 (%2) ve AÖVD-L/1(%1)'de, S2 uygulamasında ise AÖVD-L/1(%3)'de artarken, her iki uygulamada (R1 ve S2) diğer tüm genotiplerde azalmıştır ve en fazla azalışlar sırasıyla %36 ile AÖVD-L/4 (R1'de) ve %20 ile AÖVD-L/12'de (S2'de) meydana gelmiştir. Bununla birlikte R2 uygulamasında tüm genotiplerde kontrol grubuna (K4) göre RE_0/ET_0 değerleri %15'den daha fazla oranda azalmıştır ve en fazla azalma Linas (%41) ile AÖVD-L/3 (%42)'de belirlenmiştir. Ayrıca RE_0/ET_0 değeri R1'de S1 uygulamasına göre Remzibey-05'de %5, Balcı'da % 12, TRE-ASO 12/08'de %7, AÖVD-L/1'de %15, AÖVD-L/12'de %12 ve AÖVD-L/14'de %5 oranlarında artarken; diğer genotiplerde azalmıştır. R2'de ise S2 uygulamasına göre tüm genotiplerde RE_0/ET_0 değerinin azaldığı belirlenmiştir ve en fazla azalışlar %38 oranı ile Balcı ve Linas'da meydana gelmiştir. S2'de S1 uygulamasına göre RE_0/ET_0 değerleri Remzibey-05 ve AÖVD-L/12'de değişmezken; Balcı (%32), AÖVD-L/1 (%18), AÖVD-L/4 (%2), AÖVD-L/11 (%7) ve AÖVD-L/14 (%13)'de artmıştır. Ayrıca R2 grubunda R1 grubuna göre RE_0/ET_0 değerleri AÖVD-L/4 hariç diğer genotiplerde azalmıştır ve en fazla azalış %39 ile Linas'da belirlenmiştir.

Reaksiyon merkezi başına elektron transportu (ET_0/RC) incelendiğinde (Şekil 4.4D); AÖVD-L/11 ve AÖVD-L/12 (sırasıyla %12 ve %14 artış) hariç diğer genotiplerde orta şiddetteki kuraklık uygulamasında (S1) kontrol grubuna (K1) göre %10'dan daha az bir farklılık olduğu belirlenmiştir. ET_0/RC değerlerindeki değişim kontrollerine göre şiddetli kuraklık uygulamasında (S2) Dinçer (%19 artış), Balcı (%19 artış), AÖVD-L/1 (%25 artış), AÖVD-L/2 (%17 artış), AÖVD-L/11(%25 artış) ve AÖVD-L/12 (%25 artış)



Şekil 4.4. Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarında aspir genotiplerinin yapraklarından ölçülen ABS/RC, (A); RE_0/ABS , (B); RE_0/ET_0 , (C) ve ET_0/RC , (D) parametrelerinin radar grafiği ile gösterimi (n=6)

hariç diğer genotipler ile orta şiddetteki kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulama uygulamasında (R1) tüm genotiplerde %15'den daha azdır. Bununla birlikte ET_0/RC değerleri şiddetli kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulama uygulamasında (R2) ise kontrol grubuna (K4) göre AÖVD-L/2 (%16 artış), AÖVD-L/3 (%17 artış) ve AÖVD-L/12 (%23 artış) hariç diğer genotiplerdeki değişim %10'dan azdır. Ayrıca ET_0/RC değeri R1 uygulamasında S1 uygulamasına göre AÖVD-L/3'de %6 ve AÖVD-L /11'de %1 oranında artarken; diğer genotiplerde azalmıştır. R2'de ise S2 uygulamasına göre ET_0/RC değerlerinin AÖVD-L/3 hariç diğer genotiplerde azaldığı belirlenmiştir. ET_0/RC değerlerinde S2'de S1 uygulamasına göre Remzibey-05 (%17 artış) hariç; R2'de R1 grubuna göre ise TRE-ASO 12/08 (%20 artış) hariç diğer genotiplerdeki değişimin %15'den daha az olduğu tespit edilmiştir.

4.1.1.4. Kuraklık Faktör İndeksi (KFI)

4.1.1.4.1. PI_{abs} için KFI

Orta şiddete ve şiddetli kuraklık uygulanan genotiplerde PI_{abs} verilerine göre hesaplanan kuraklık faktör indeksi (KFI) değerleri incelendiğinde (Çizelge 4.1); en yüksek KFI değerleri Remzibey-05 ve AÖVD-L/14'de belirlenirken; en düşük KFI değerleri Balcı ve Linas'da tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1. Kuraklık ve yeniden sulama uygulanan aspir genotiplerinde PI_{abs} verilerine göre hesaplanan kuraklık faktör indeksleri (KFI)

Genotipler	Kısaltmalar	PI_{abs} -KFI	Sıralama
Remzibey-05	RB-05	-0,72	1
AÖVD-L/14	AD-/14	-0,73	2
AÖVD-L/2	AD-L/2	-1,01	3
AÖVD-L/3	AD-L/3	-1,01	4
AÖVD-L/4	AD-L/4	-1,03	5
AÖVD-L/12	AD-L/12	-1,07	6
AÖVD-L/11	AD-L/11	-1,08	7
TRE-ASO 12/08	TRE	-1,12	8
AÖVD-L/1	AD-L/1	-1,13	9
Dinçer	DE	-1,14	10
Balcı	BC	-1,20	11
Linas	LN	-1,20	12

4.1.1.4.2. PI_{top} için KFI

Orta şiddete ve şiddetli kuraklık uygulanan genotiplerde PI_{top} verilerine göre hesaplanan kuraklık faktör indeksi (KFI) değerleri incelendiğinde (Çizelge 4.2); en yüksek KFI değerleri Remzibey-05 ve AÖVD-L/14'de belirlenirken; en düşük KFI değerleri Balcı ve AÖVD-L/12'de tespit edilmiştir.

Çizelge 4.2. Kuraklık ve yeniden sulama uygulanan aspir genotiplerinde PI_{top} verilerine göre hesaplanan kuraklık faktör indeksleri (KFI)

Genotipler	Kısaltmalar	PI_{top} -KFI	Sıralama
Remzibey-05	RB-05	-1,02	1
AÖVD-L/14	AD-/14	-1,16	2
AÖVD-L/1	AD-L/1	-1,20	3
AÖVD-L/4	AD-L/4	-1,23	4
AÖVD-L/2	AD-L/2	-1,24	5
AÖVD-L/11	AD-L/11	-1,25	6
AÖVD-L/3	AD-L/3	-1,31	7
Linas	LN	-1,31	8
Dinçer	DE	-1,37	9
TRE-ASO 12/08	TRE	-1,39	10
Balcı	BC	-1,43	11
AÖVD-L/12	AD-L/12	-1,54	12

4.1.1.5. İyileşme Faktör İndeksi (IFI)

4.1.1.5.1. PI_{abs} için IFI

Orta şiddete ve şiddetli kuraklık uygulanan genotiplerde PI_{abs} verilerine göre hesaplanan iyileşme faktör indeksi (IFI) değerleri incelendiğinde (Çizelge 4.3); en yüksek IFI değerleri Remzibey-05 ve AÖVD-L/14'de belirlenirken; en düşük IFI değerleri AÖVD-L/4 ve AÖVD-L/12'de tespit edilmiştir.

Çizelge 4.3. Kuraklık ve yeniden sulama uygulanan aspir genotiplerinde PI_{abs} verilerine göre hesaplanan iyileşme faktör indeksleri (IFI)

Genotipler	Kısaltmalar	PI_{abs} -IFI	Sıralama
Remzibey-05	RB-05	-0,07	1
AÖVD-L/14	AD-/14	-0,32	2
Balcı	BC	-0,70	3
TRE-ASO 12/08	TRE	-0,74	4
Diğer	DE	-0,77	5
AÖVD-L/3	AD-L/3	-0,83	6
AÖVD-L/1	AD-L/1	-0,95	7
AÖVD-L/11	AD-L/11	-1,03	8
AÖVD-L/2	AD-L/2	-1,09	9
Linac	LN	-1,14	10
AÖVD-L/4	AD-L/4	-1,21	11
AÖVD-L/12	AD-L/12	-1,30	12

4.1.1.5.2. PI_{top} için IFI

Orta şiddete ve şiddetli kuraklık uygulanan genotiplerde PI_{top} verilerine göre hesaplanan iyileşme faktör indeksi (IFI) değerleri incelendiğinde (Çizelge 4.4); en yüksek IFI değeri Remzibey-05 ve AÖVD-L/14'de belirlenirken; en düşük IFI değerleri AÖVD-L/4 ve AÖVD-L/12'de tespit edilmiştir.

Bu çalışmada aspir genotiplerin kuraklık stres toleranslarına göre sınıflandırılmasında PI_{abs} ve PI_{top} verileri kullanılarak KFI hesaplanmış olmasının yanı sıra KFI parametresi ile benzer şekilde türetilen IFI ile genotipler yeniden sulama cevaplarına göre de sıralanmıştır. Performans indeksleri kullanılarak hesaplanan KFI ve IFI sıralamasına göre en dayanıklı aspir genotipleri Remzibey-05 ve AÖVD-L/14; en duyarlı genotipler ise AÖVD-L/12 ve Linac olarak belirlenmiştir.

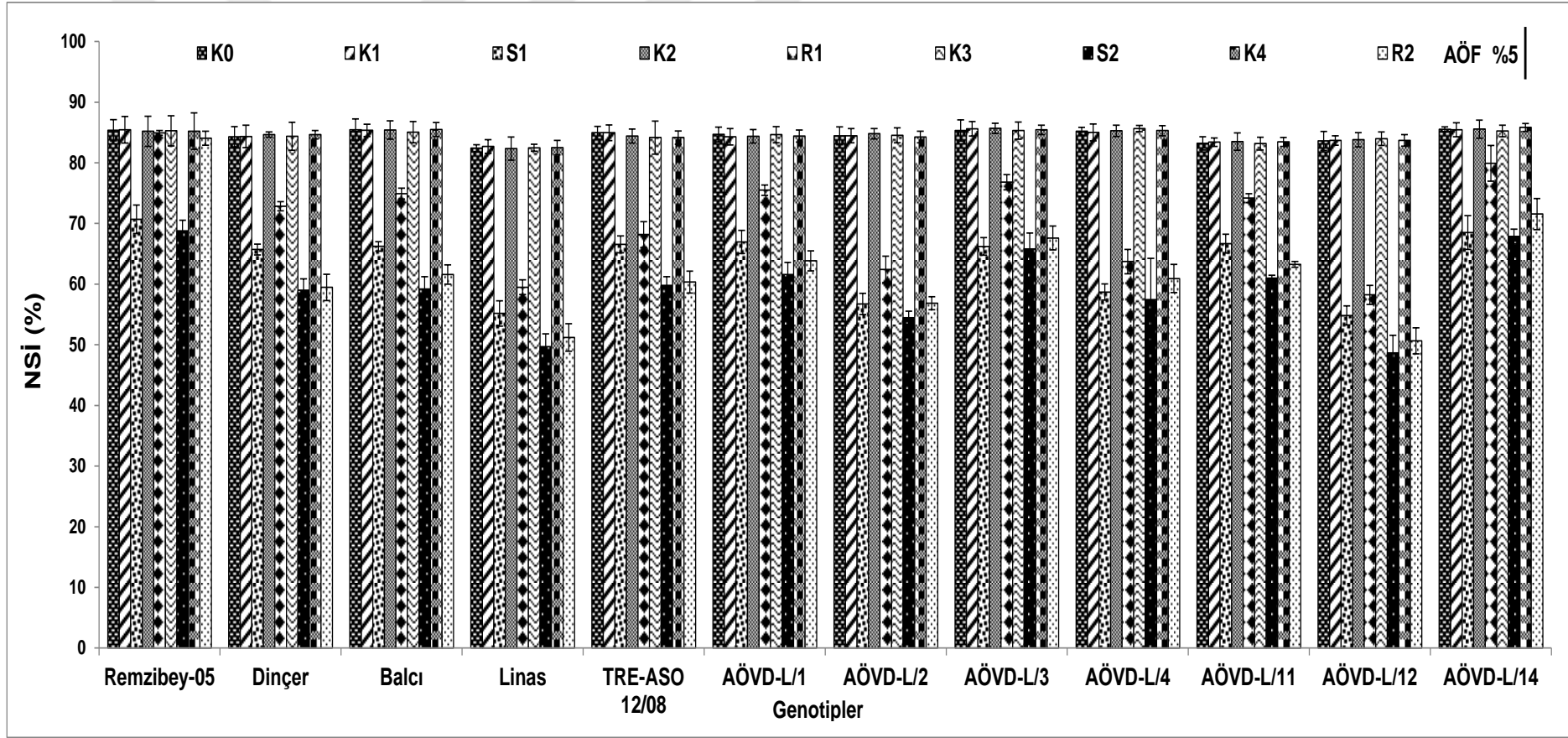
Çizelge 4.4. Kuraklık ve yeniden sulama uygulanan aspir genotiplerinde PI_{top} verilerine göre hesaplanan iyileşme faktör indeksleri (IFI)

Genotipler	Kısaltmalar	Plabs-IFI	Sıralama
Remzibey-05	RB-05	0,45	1
AÖVD-L/14	AD-/14	0,40	2
AÖVD-L/1	AD-L/1	-0,12	3
Balcı	BC	-0,13	4
AÖVD-L/3	AD-L/3	-0,14	5
TRE-ASO 12/08	TRE	-0,23	6
Dinçer	DE	-0,27	7
AÖVD-L/11	AD-L/11	-0,43	8
AÖVD-L/2	AD-L/2	-0,47	9
Linac	LN	-0,53	10
AÖVD-L/4	AD-L/4	-0,59	11
AÖVD-L/12	AD-L/12	-0,72	12

4.1.2. Kuraklık ve Yeniden Sulama Uygulamalarında Genotiplerindeki Fizyolojik Ölçümler

4.1.2.1. Kuraklık ve Yeniden Sulama Uygulamalarında Genotiplerin Yaprak Nispi Su (NSİ) İçeriği

Genotiplerde yapraklarındaki su düzeyi hakkında bilgi veren NSİ değerlerinde kontrol grupları (K0, K1, K2, K3 ve K4) arasında zamana bağlı olarak önemli bir değişim meydana gelmemiştir (Şekil 4.5). Orta ve şiddetli kuraklık (S1 ve S2) uygulamasında bitkilerdeki NSİ değerleri kendi kontrol gruplarına (K1 ve K3) göre tüm genotiplerde istatistiksel olarak önemli düzeyde azalmıştır ve en fazla azalış S1'de K1 grubuna göre %33 oranıyla Linac ve AÖVD-L/2 genotipleri ile %34 oranında azalışla AÖVD-L/12'de; S2'de ise K3 grubuna göre %40 ile Linac, %36 ile AÖVD-L/2 ve %42 ile AÖVD-L/12'de meydana gelmiştir. NSİ değerleri orta şiddette kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan (R1) bitkilerde S1 uygulamasına göre Remzibey-05 (%20), AÖVD-L/3 (%16) ve AÖVD-L/14 (%17)'de önemli düzeyde artarken; şiddetli kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan (R2) bitkilerde S2 uygulamasına göre sadece Remzibey-05 (%22)'de istatistiksel olarak önemli düzeyde artmıştır. Ayrıca, R1 uygulamasında kontrol grubuna (K2) göre NSİ değerleri Remzibey-05, AÖVD-L/1, AÖVD-L/3, AÖVD-L/11 ve AÖVD-L/14 hariç diğer genotiplerde; R2 uygulamasında ise kontrol grubuna (K4) göre Remzibey-05 hariç diğer genotiplerde önemli düzeyde düşmüştür. S2'de S1 uygulamasına göre genotiplerde NSİ değerlerindeki azalış istatistiksel yönden önemli



Şekil 4.5. Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarında aspir genotiplerinin yaprak nispi su içeriği (NSİ) (n=6)

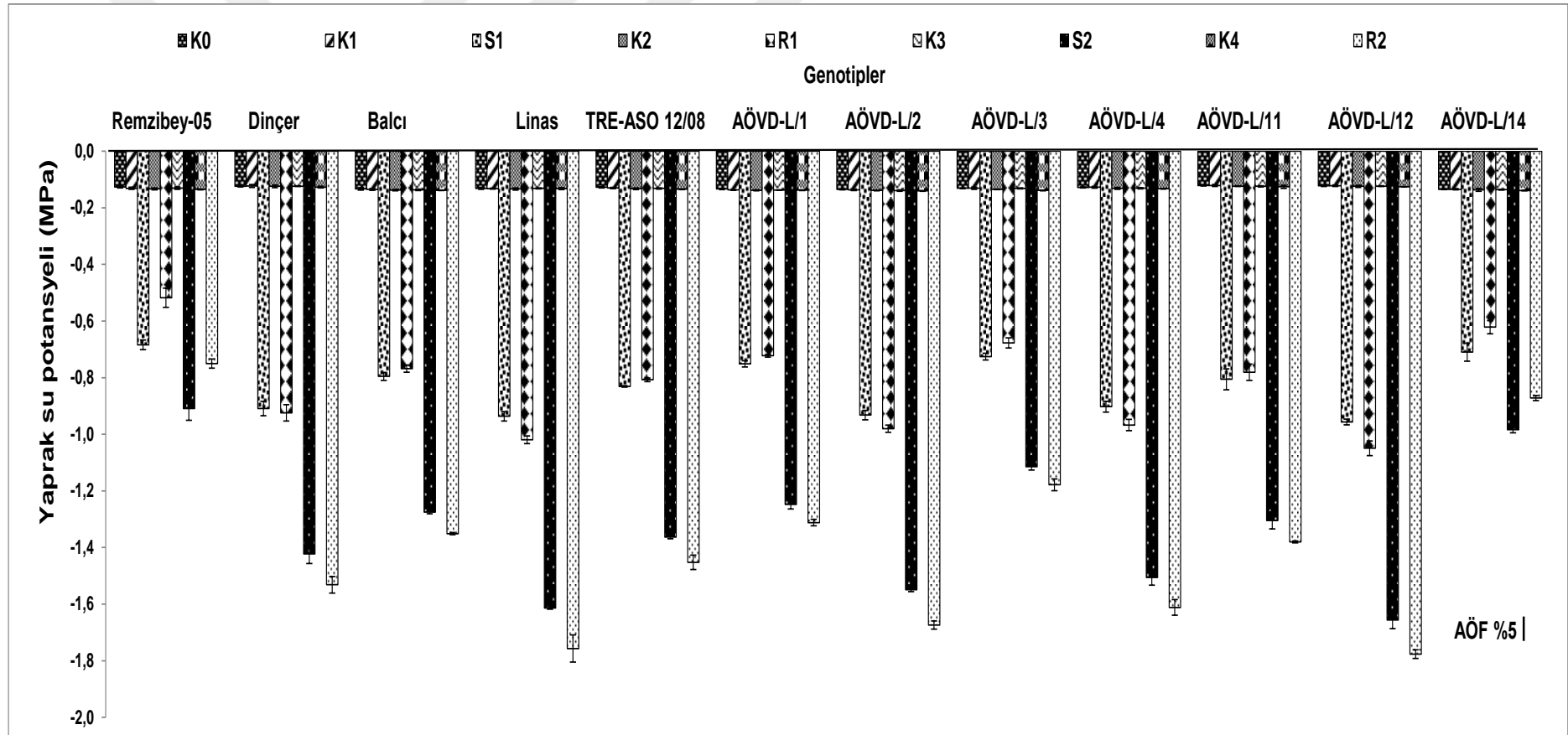
(K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, K1: Orta şiddete kuraklığa maruz kalan S1 stres grubuna ait 45 günlük kontrol bitkileri, S1: 40 gün kontrol koşulları + 5 gün kuraklığa (orta şiddette kuraklık) maruz kalmış 45 günlük stres grubu bitkileri, K2: R1 grubunun 50 günlük kontrol bitkileri, R1: S1 kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 50 günlük yeniden sulama grubu bitkileri, K3: Şiddetli kuraklığa maruz kalan S2 stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri, S2: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa (şiddetli kuraklık) maruz kalmış 47 günlük stres grubu bitkileri, K4: R2 grubunun 52 günlük kontrol bitkileri, R2: S2 kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri)

bulunmazken, R2'de ise R1 grubuna göre NSİ değerleri %18 oranıyla Dinçer ve Balcı ile %15 oranıyla AÖVD-L/1 ve AÖVD-L/11'de önemli düzeyde azalmıştır.

Tüm kontrol gruplarının (K0, K1, K2, K3 ve K4) NSİ değerleri incelendiğinde (Şekil 4.5); genotipler arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılığın olmadığı tespit edilmiştir. NSİ değerleri açısından; S1 uygulamasında Remzibey-05 ile Linas, AVÖD-L/2, AVÖD-L/4 ve AVÖD-L/12 arasındaki farklar ile Linas ve AVÖD-L/12 ile AVÖD-L/2 ve AVÖD-L/4 hariç diğer genotipler ile arasındaki önemli olduğu belirlenmiş; S2 uygulamasında ise Remzibey-05, AÖVD-L/3 ve AÖVD-L/14 ile Linas, AÖVD-L/2, AÖVD-L/4 ve AÖVD-L/12 arasındaki farkların önemli olduğu tespit edilmiştir. R1 uygulamasında da NSİ değerleri bakımından Remzibey-05 ile Dinçer, Linas, TRE-ASO 12/08, AÖVD-L/2, AÖVD-L/4, AÖVD-L/11 ve AÖVD-L/12 arasındaki farklar; Balcı ile Linas, AÖVD-L/2, AÖVD-L/4 ve AÖVD-L/12 arasındaki farklar; Linas ile AÖVD-L/1, AÖVD-L/3, AÖVD-L/11 ve AÖVD-L/14 arasındaki farklar; AÖVD-L/1 ile AÖVD-L/2, AÖVD-L/4 ve AÖVD-L/12 arasındaki farklar; AÖVD-L/2 ile AÖVD-L/3, AÖVD-L/11 ve AÖVD-L/14 arasındaki fark; AÖVD-L/3 ile AÖVD-L/4 ve AÖVD-L/12 arasındaki farklar ile AÖVD-L/4 ve AÖVD-L/11 ile AÖVD-L/12 arasındaki farkların önemli düzeyde olduğu saptanmıştır. Ayrıca R2 uygulamasında genotiplerin NSİ değerleri incelendiğinde; Remzibey-05 ile diğer tüm genotipler arasındaki farklar; Linas ve AÖVD-L/2 ile AÖVD-L/3 ve AÖVD-L/11 arasındaki farklar; AÖVD-L/12 ile Balcı, AÖVD-L/1 ve AÖVD-L/3 arasındaki farklar; AÖVD-L/14 ile Dinçer, Linas, AÖVD-L/2, AÖVD-L/4 ve AÖVD-L/12 arasındaki farkların önemli olduğu belirlenmiştir.

4.1.2.2. Kuraklık ve Yeniden Sulama Uygulamalarında Genotiplerin Yaprak Su Potansiyelleri

Yapraklardaki su içeriği hakkında bilgi veren bir diğer parametre yaprak su potansiyeli (Ψ_w)'dir ve Ψ_w değerleri incelendiğinde (Şekil 4.6); kontrol grupları (K0, K1, K2, K3 ve K4) arasında zamana bağlı olarak önemli bir değişim meydana gelmemiştir. Her iki kuraklık uygulaması (S1 ve S2) ile her iki yeniden sulama uygulamasında (R1 ve R2) kontrol gruplarına (K1, K2, K3 ve K4) göre yaprak su potansiyelindeki azalış tüm genotiplerde istatistiksel yönden önemlidir. Hem S1 uygulamasında K1 grubuna göre hem S2 uygulamasında K3 grubuna göre en fazla azalış AÖVD-L/12'de (S1'de K1'e göre 7.84 kat; S2'de K3'e göre 13.40 kat azalış)



Şekil 4.6. Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarında aspir genotiplerinin yaprak su potansiyeli (n=3)

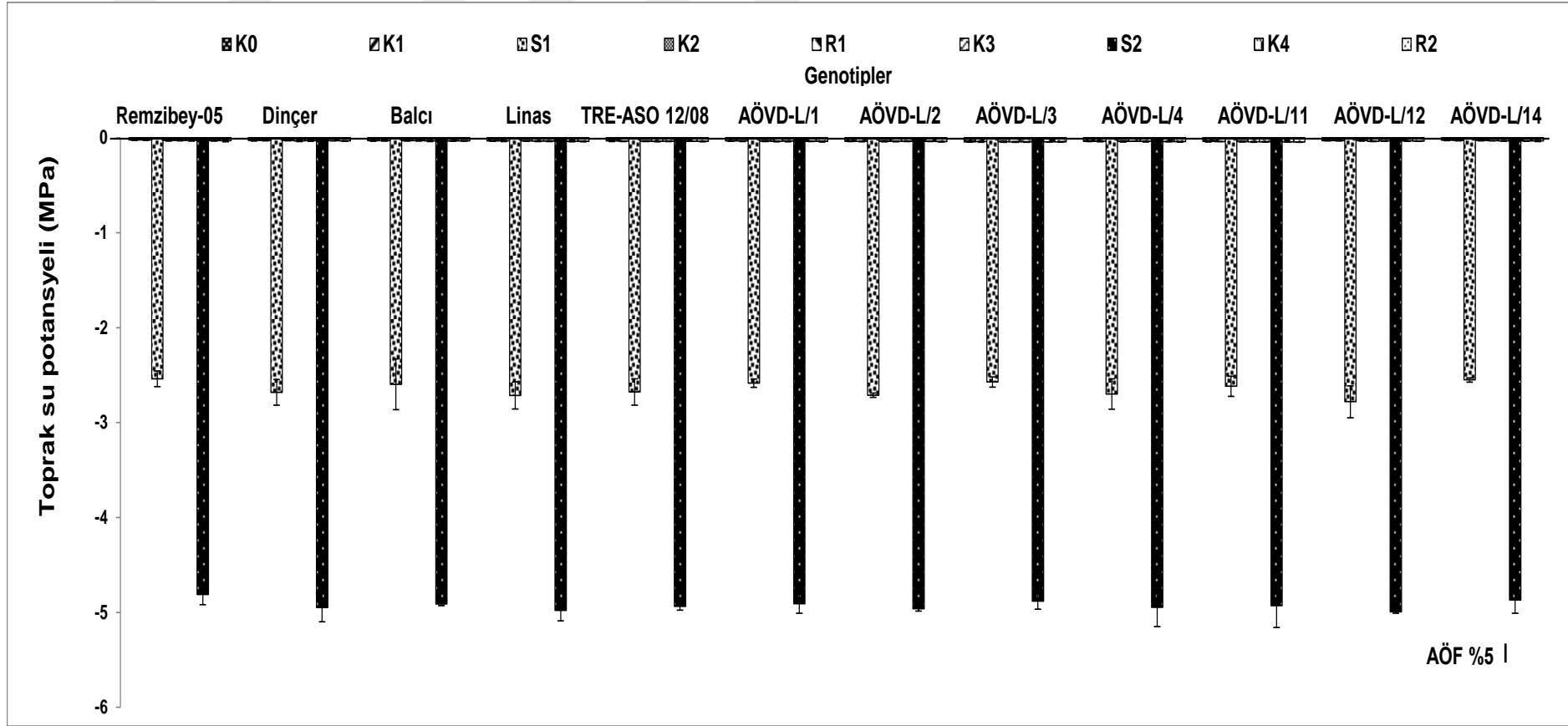
(K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, K1: Orta şiddette kuraklığa maruz kalan S1 stres grubuna ait 45 günlük kontrol bitkileri, S1: 40 gün kontrol koşulları + 5 gün kuraklığa (orta şiddette kuraklık) maruz kalmış 45 günlük stres grubu bitkileri, K2: R1 grubunun 50 günlük kontrol bitkileri, R1: S1 kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 50 günlük yeniden sulama grubu bitkileri, K3: Şiddetli kuraklığa maruz kalan S2 stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri, S2: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa (şiddetli kuraklık) maruz kalmış 47 günlük stres grubu bitkileri, K4: R2 grubunun 52 günlük kontrol bitkileri, R2: S2 kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri)

belirlenirken; her iki yeniden sulama uygulamasında (R1 ve R2) kontrol gruplarına (K2 ve K4) göre en fazla azalış Linas (R1'de K2'ye göre 7.65 kat, R2'de K4'e göre 13.24 kat azalış) ve AÖVD-L/12'de (R1'de K2'ye göre 8.44 kat, R2'de K4'e göre 14.1 kat azalış) tespit edilmiştir. R1'de S1 uygulamasına göre yaprak su potansiyelinin sadece Remzibey-5 (%24 artış) ile AÖVD-L/12'de (%10 azalış) önemli düzeyde değiştiği belirlenmiştir. Ayrıca R2'de S2 uygulamasına göre TRE-ASO 12/08, AÖVD-L/1, AÖVD-L/3 ve AÖVD-L/11 hariç diğer tüm genotiplerdeki değişimlerin istatistiksel açıdan önemli olduğu tespit edilmiş olup; yaprak su potansiyeli R2'de S2'ye göre sadece Remzibey-05 (%17) ile AÖVD-L/14'de (%11) artarken, diğer tüm genotiplerde azalmıştır ve en fazla azalış %9 ile Linas ve %8 ile Dinçer ile AÖVD-L/2'de belirlenmiştir. Yaprak su potansiyeli S2'de S1 uygulamasına göre hem de R2'de R1 grubuna göre tüm genotiplerde önemli düzeyde azalmıştır ve en fazla azalışlar S2'de S1'e göre Linas (%72) ve AÖVD-L/12 (%73)'de; R2'de R1'e göre TRE-ASO 12/08 (%80) ve AÖVD-L/1'de (%82) tespit edilmiştir.

Genotiplerin yaprak su potansiyelindeki farklar incelendiğinde (Şekil 4.6); kontrol grupları arasında istatistiksel açıdan önemli bir farkın olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca, kuraklık uygulamalarında (S1ve S2) Remzibey-05 ve AÖVD-L/14 ile diğer genotipler arasındaki farklar ile yeniden sulama uygulamalarında (R1ve R2) Remzibey-05 ile diğer genotipler arasındaki farkların istatistiksel açıdan önemli olduğu tespit edilmiştir. Genel olarak, hem kuraklık (S1 ve S2) hem de yeniden sulama (R1 ve R2) uygulamalarında yaprak su potansiyeli açısından genotipler arasındaki farklar istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur.

4.1.2.3. Kuraklık ve Yeniden Sulama Uygulamalarında Genotiplerin Yetiştirildiği Toprağın Su Potansiyeli

Toprağın su düzeyi hakkında bilgi veren toprak su potansiyeli (Ψ_w) verileri değerlendirildiğinde (Şekil 4.7); genotiplerin kontrol gruplarının (K0, K1, K2, K3 ve K4) yetiştirildiği toprağın su potansiyeli değerleri arasında zamana bağlı olarak önemli bir değişim meydana gelmemiştir. Genotiplerin yetiştirildiği toprakların su potansiyel değerleri 5 gün sulamaksızın uygulanan kuraklık ile yaklaşık -2.65 MPa'a; 7 gün sulamaksızın uygulanan kuraklık ile de yaklaşık -4.95 MPa'a düşmüştür. Tüm genotiplerin yetiştirildiği saksı topraklarının su potansiyel değerlerinin benzer düzeyde azalması, sulamaksızın uygulanan kuraklığın etkin ve homojen şekilde gerçekleştirildiğini ortaya koymuştur.



Şekil 4.7. Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarında aspir genotiplerinin yetiştirildiği saksılardaki toprak su potansiyeli (n=3)

(K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, K1: Orta şiddete kuraklığa maruz kalan S1 stres grubuna ait 45 günlük kontrol bitkileri, S1: 40 gün kontrol koşulları + 5 gün kuraklığa (orta şiddette kuraklık) maruz kalmış 45 günlük stres grubu bitkileri, K2: R1 grubunun 50 günlük kontrol bitkileri, R1: S1 kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 50 günlük yeniden sulama grubu bitkileri, K3: Şiddetli kuraklığa maruz kalan S2 stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri, S2: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa (şiddetli kuraklık) maruz kalmış 47 günlük stres grubu bitkileri, K4: R2 grubunun 52 günlük kontrol bitkileri, R2: S2 kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri)

4.1.3. Kuraklık ve Yeniden Sulama Uygulamalarında Genotiplerindeki Biyokimyasal Ölçümler

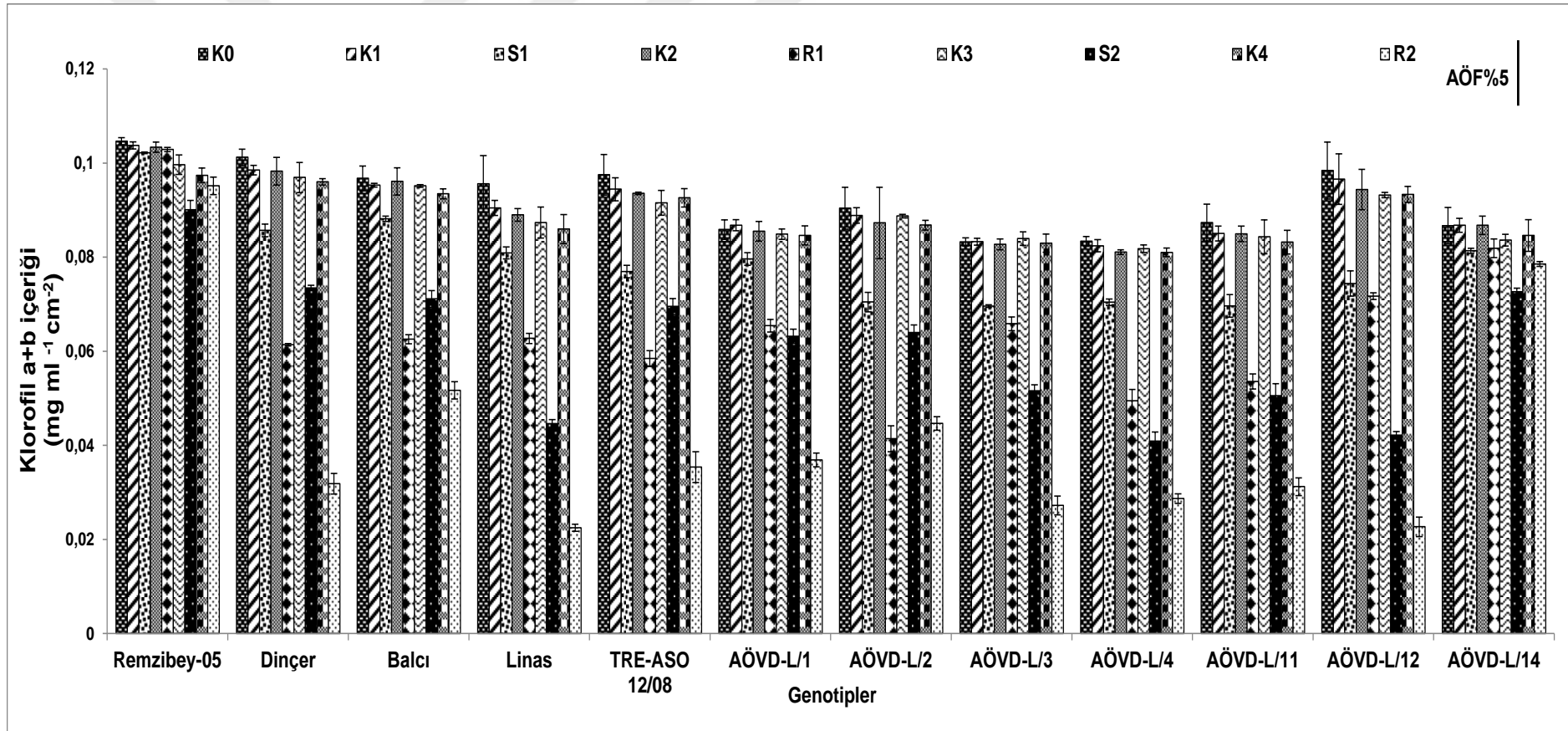
4.1.3.1. Kuraklık ve Yeniden Sulama Uygulamalarında Genotiplerin Yapraklarındaki Fotosentetik Pigment İçeriği

4.1.3.1.1. Kuraklık ve Yeniden Sulama Uygulamalarında Genotiplerin Yapraklarındaki Toplam Klorofil (a+b) İçeriği

Genotiplerin yapraklarındaki toplam klorofil (a+b) içeriğinin kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarındaki değişimi incelendiğinde (Şekil 4.8); genotiplerde kontrol grupları (K0, K1, K2, K3 ve K4) arasında zamana bağlı olarak önemli bir değişim meydana gelmemiştir. Toplam klorofil (a+b) içeriği; orta şiddette kuraklık uygulamasında (S1) kontrol grubuna (K1) göre TRE-ASO 12/08 (%19) AÖVD-L/2 (%21), AÖVD-L/11 (%18) ve AÖVD-L/12 (%23)'de; şiddetli kuraklık uygulamasında (S2) ise kontrol grubuna (K3) göre Remzibey-05 ve AÖVD-L/14 hariç diğer tüm genotiplerde istatistiksel açıdan önemli düzeyde azalmıştır ve bu azalış en fazla %55 oranında AÖVD-L/12'de belirlenmiştir. Her iki yeniden sulama uygulamasında (R1 ve R2) kontrol gruplarına (K2 ve K4) göre toplam klorofil (a+b) içeriğindeki azalış Remzibey-05 ve AÖVD-L/14 hariç diğer genotiplerde istatistiksel yönden önemlidir ve R1'de kontrol grubuna göre (K2) en fazla azalış %41 oranında AÖVD-L/2'de, R2'de ise kontrol grubuna göre (K4) en fazla azalış %74 ile Linas ve %76 ile AÖVD-L/12'de belirlenmiştir. R1 uygulamasında S1 uygulamasına göre toplam klorofil (a+b) içeriğinin Dinçer (%28), Balcı(%29), Linas (%22), TRE-ASO 12/08(%24), AÖVD-L/1 (%18), AÖVD-L/2 (%41), AÖVD-L/4 (%30) ve AÖVD-L/11 (%23) genotiplerinde önemli düzeyde azaldığı belirlenmiştir. Ayrıca R2 uygulamasında S2 uygulamasına göre Remzibey-05 ve AÖVD-L/14 hariç diğer tüm genotiplerdeki azalmanın istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiştir ve en fazla azalış %57 ile Dinçer'de meydana gelmiştir. Toplam klorofil (a+b) içeriği S2'de S1 uygulamasına göre Balcı (%19), Linas (%45), AÖVD-L/1 (%21), AÖVD-L/3 (%26), AÖVD-L/4 (%42), AÖVD-L/11 (%27) ve AÖVD-L/12 (%43)'de; R2'de ise R1 grubuna göre Dinçer (%48), Linas (%64), TRE-ASO 12/08 (%39), AÖVD-L/1 (%44), AÖVD-L/3 (%59), AÖVD-L/4 (%42), AÖVD-L/11 (%42) ve AÖVD-L/12 (%68) önemli bir azalış göstermiştir.

Kuraklık uygulamasının başlatıldığı kontrol gruplarında (K0) toplam klorofil (a+b) içeriğindeki farklılık incelendiğinde (Şekil 4.8); sadece Remzibey-05 ile AÖVD-L/1, AÖVD-L/3, AÖVD-L/4 ve AÖVD-L/14 arasındaki farkın önemli düzeyde olduğu belirlenmiştir. Orta şiddette kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait kontrol grubunda (K1) Remzibey-05 ile AÖVD-L/1, AÖVD-L/2, AÖVD-L/3, AÖVD-L/4, AÖVD-L/11,

AÖVD-L/12 ve AÖVD-L/14 arasındaki fark ile AÖVD-L/4 ile Dinçer ve AÖVD-L/12 arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir. Orta şiddette kuraklığı takiben 5 gün yeniden sulanan yeniden sulama gruplarına ait kontrol grubunda (K2) Remzibey-05 ile Linas, AÖVD-L/1, AÖVD-L/2, AÖVD-L/3, AÖVD-L/4, AÖVD-L/11 ve AÖVD-L/14 arasındaki fark, Dinçer ile AÖVD-L/3 ve AÖVD-L/4 arasındaki fark ile Balcı ile AÖVD-L/4 arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli düzeydedir. Şiddetli kuraklığa ait kontrol grubu bitkilerinde (K3) Remzibey-05 ile AÖVD-L/1, AÖVD-L/3, AÖVD-L/4 ve AÖVD-L/11 arasındaki fark ile Dinçer ile AÖVD-L/4 arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir. Bununla birlikte şiddetli kuraklığı takiben 5 gün yeniden sulanan yeniden sulama gruplarına ait kontrol grubunda (K4) Remzibey-05 ile AÖVD-L/3, AÖVD-L/4 ve AÖVD-L/11, arasındaki fark ile AÖVD-L/4 ile Dinçer ve AÖVD-L/11 arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli düzeydedir. Ayrıca kuraklık (S1 ve S2) ve yeniden sulama (R1 ve R2) uygulamalarında toplam klorofil (a+b) içeriği bakımından Remzibey-05 ile diğer genotipler arasında istatistiksel yönden önemli bir fark vardır. S1 uygulamasında Dinçer ve Balcı ile AÖVD-L/2, AÖVD-L/3, AÖVD-L/4 ve AÖVD-L/11 arasındaki fark önemli iken; R1 uygulamasında AÖVD-L/2 ile Dinçer, Balcı, Linas, TRE-ASO 12/08, AÖVD-L/1, AÖVD-L/3, AÖVD-L/12 ve AÖVD-L/14 arasındaki fark, AÖVD-L/3 ile AÖVD-L/4 ve AÖVD-L/14 arasındaki fark, AÖVD-L/12 ile AÖVD-L/4 ve AÖVD-L/11 arasındaki fark ile AÖVD-L/14 ile AÖVD-L/12 hariç diğer genotipler arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir. Ayrıca S2 uygulamasında Dinçer, Balcı, TRE-ASO 12/08 ve AÖVD-L/14 ile Linas, AÖVD-L/3, AÖVD-L/4, AÖVD-L/11 ve AÖVD-L/12 arasındaki fark, Linas ile AÖVD-L/1, AÖVD-L/2 ve AÖVD-L/11 arasındaki fark ile AÖVD-L/1 ve AÖVD-L/2 ile AÖVD-L/4 ve AÖVD-L/12 arasındaki fark önemlidir. R2 uygulamasında ise AÖVD-L/14 ile diğer genotipler arasındaki fark, Balcı ile Dinçer, arasındaki fark, Linas ile AÖVD-L/1 ve AÖVD-L/2 arasındaki fark, AÖVD-L/3 ve AÖVD-L/4 ile AÖVD-L/1, AÖVD-L/2 ve AÖVD-L/12 arasındaki fark ve AÖVD-L/12 ile AÖVD-L/1 ve AÖVD-L/2 arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir.



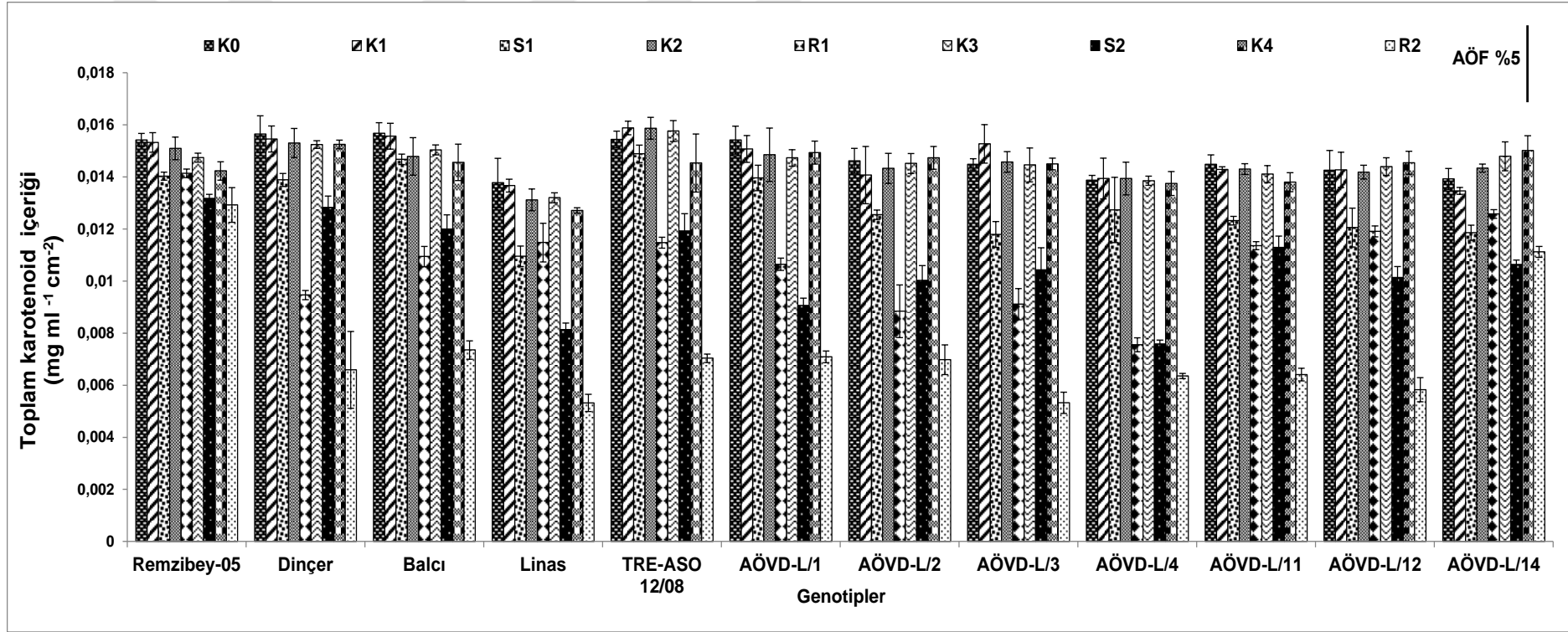
Şekil 4.8. Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarında aspir genotiplerinin yapraklarındaki toplam klorofil (a+b) içeriği (n=3)

(K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, K1: Orta şiddete kuraklığa maruz kalan S1 stres grubuna ait 45 günlük kontrol bitkileri, S1: 40 gün kontrol koşulları + 5 gün kuraklığa (orta şiddette kuraklık) maruz kalmış 45 günlük stres grubu bitkileri, K2: R1 grubunun 50 günlük kontrol bitkileri, R1: S1 kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 50 günlük yeniden sulama grubu bitkileri, K3: Şiddetli kuraklığa maruz kalan S2 stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri, S2: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa (şiddetli kuraklık) maruz kalmış 47 günlük stres grubu bitkileri, K4: R2 grubunun 52 günlük kontrol bitkileri, R2: S2 kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri)

4.1.3.1.2. Kuraklık ve Yeniden Sulama Uygulamalarında Genotiplerin Yapraklarındaki Karotenoid İçeriği

Uygulamalarda genotiplerin yapraklarındaki karotenoid içeriği incelendiğinde (Şekil 4.9); genotiplerde kontrol grupları (K0, K1, K2, K3 ve K4) arasında zamana bağlı olarak önemli bir değişim meydana gelmemiştir. Karotenoid içeriği orta şiddette kuraklık uygulamasında (S1) kontrol grubuna (K1) göre sadece AÖVD-L/3'de (%23) önemli düzeyde azalmıştır. Şiddetli kuraklık uygulamasında (S2) ise kontrol grubuna (K3) göre karotenoid içeriği Linas'da %38, TRE-ASO 12/08'de %24, AÖVD-L/1'de %38, AÖVD-L/2'de %31, AÖVD-L/3'de %28, AÖVD-L/4'de %45, AÖVD-L/12'de %30 ve AÖVD-L/14'de %28 oranında azalmıştır. Orta şiddette kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan (R1) bitkilerde kontrol grubuna göre (K2) karotenoid içeriği Dinçer (%38), Balcı(%26), TRE-ASO 12/08 (%28), AÖVD-L/1 (%28), AÖVD-L/2 (%38), AÖVD-L/3 (%37) ve AÖVD-L/4 (%46)'de; şiddetli kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan (R2) bitkilerde ise kontrol grubuna göre (K4) Remzibey-05 hariç diğer tüm genotiplerde istatistiksel açıdan önemli düzeyde azalmıştır ve en fazla azalışlar %63 ile AÖVD-L/3 ve % 60 ile AÖVD-L/12'de belirlenmiştir. Karotenoid içeriği R1'de S1 uygulamasına göre Dinçer (%32), Balcı (%25), TRE-ASO 12/08 (%23), AÖVD-L/1 (%24), AÖVD-L/2 (%30) ve AÖVD-L/4 (%41)'de; R2'de ise S2 uygulamasına göre Dinçer (%49), Balcı (%39), TRE-ASO12/08 (%41), AÖVD-L/3 (%49), AÖVD-L/11 (%43) ve AÖVD-L/12 (%43)'de önemli düzeyde azalmıştır. Ayrıca S2'de S1 uygulamasına göre karotenoid içeriği AÖVD-L/1'de %35 ve AÖVD-L/4'de %40 oranında önemli düzeyde bir azalış göstermiştir. R2'de ise R1 grubuna göre Linas (%54), TRE-ASO 12/08 (%39), AÖVD-L/1 (%33), AÖVD-L/3 (%42), AÖVD-L/11 (%44) ve AÖVD-L/12 (%51)'de istatistiksel yönden önemli bir azalış belirlenmiştir.

Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarına ait tüm kontrol gruplarının (K0, K1, K2, K3 ve K4) karotenoid içeriğine bakıldığında (Şekil 4.9); her bir kontrol grubu içinde genotipler arasındaki farklar önemli düzeyde bulunmamıştır. S1 uygulamasında Linas ile Balcı ve TRE-ASO 12/08 arasındaki fark; R1 uygulamasında ise Remzibey- 05 ile Dinçer, Balcı, AÖVD-L/1, AÖVD-L/2, AÖVD-L/3 ve AÖVD-L/4 arasındaki fark, AÖVD- açıdan önemlidir. Ayrıca S2 uygulamasında Remzibey-05 ile Linas, AÖVD-L/1, AÖVD-L/2 ve AÖVD-L/4 arasındaki fark ile Dinçer, Balcı, TRE-ASO 12/08 ve AÖVD-L/11 ile Linas ve AÖVD-L/4 arasındaki fark önemlilik göstermiştir. R2 uygulamasında



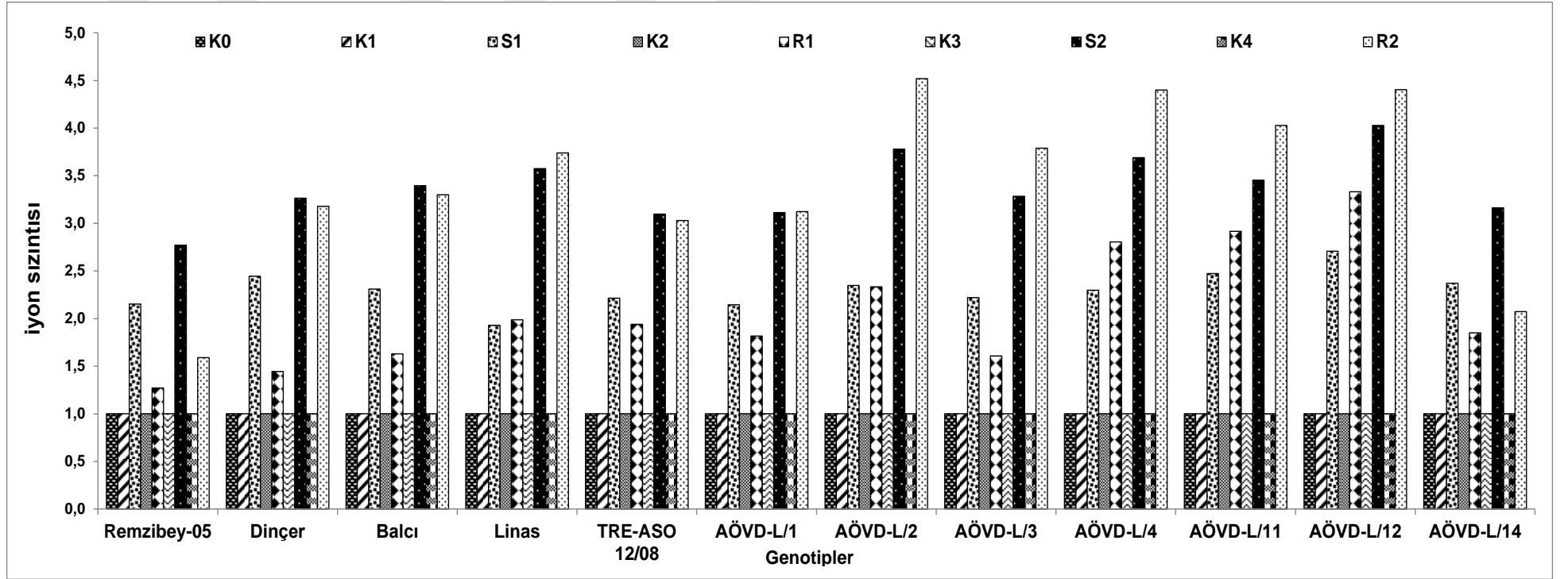
Şekil 4.9. Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarında aspir genotiplerinin yapraklarındaki karotenoid içeriği (n=3)

(K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, K1: Orta şiddete kuraklığa maruz kalan S1 stres grubuna ait 45 günlük kontrol bitkileri, S1: 40 gün kontrol koşulları + 5 gün kuraklığa (orta şiddette kuraklık) maruz kalmış 45 günlük stres grubu bitkileri, K2: R1 grubunun 50 günlük kontrol bitkileri, R1: S1 kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 50 günlük yeniden sulama grubu bitkileri, K3: Şiddetli kuraklığa maruz kalan S2 stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri, S2: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa (şiddetli kuraklık) maruz kalmış 47 günlük stres grubu bitkileri, K4: R2 grubunun 52 günlük kontrol bitkileri, R2: S2 kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri)

ise Remzibey-05 ve AÖVD-L/14 ile diğer genotipler arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir.

4.1.3.2. Kuraklık ve Yeniden Sulama Uygulamalarında Genotiplerin Yapraklarındaki İyon Sızıntısı

Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarında genotiplerin yapraklarındaki iyon sızıntısına bakıldığında (Şekil 4.10); genotiplerde kontrol grupları (K0, K1, K2, K3 ve K4) arasında zamana bağlı olarak önemli bir değişim belirlenmemiştir. Her iki kuraklık uygulamasında (S1 ve S2) kendi kontrollerine (K1 ve K3) göre yapraklarındaki iyon sızıntısı tüm genotiplerde önemli düzeyde artmıştır ve en fazla artış hem S1'de K1'e göre 2.71 kat ile hem de S2'de K3'e göre 4.03 kat ile AÖVD-L/12'de tespit edilmiştir. Orta şiddette kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan (R1) bitkilerde kontrol grubuna göre (K2) yapraklardaki iyon sızıntısındaki artış Remzibey-05 ve Dinçer hariç diğer genotiplerde önemli bulunmuştur ve en fazla artış 2.92 kat ile AÖVD-L/11 ve 3.33 kat ile AÖVD-L/12'de saptanmıştır. Şiddetli kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan (R2) bitkilerde ise kontrol grubuna göre (K4) iyon sızıntısındaki artış tüm genotiplerde istatistiksel olarak önemli düzeyde bulunmuştur ve en fazla artışlar Linas (3.74 kat), AÖVD-L/2 (4.52 kat), AÖVD-L/3 (3.79 kat), AÖVD-L/4 (4.40 kat) ile AÖVD-L/12 (4.40 kat)'de meydana gelmiştir. Yapraklardaki iyon sızıntısı, R1 uygulamasında S1 uygulamasına göre Remzibey-05 (%41), Dinçer (%40), Balcı (%29), AÖVD-L/3 (%25) ve AÖVD-L/14 (%21)'de önemli düzeyde azalırken; AÖVD-L/11 (%20) ve AÖVD-L/12 (%22)'de önemli düzeyde artmıştır. Bununla birlikte R2 uygulamasında S2 uygulamasına göre iyon sızıntısı Remzibey-05'de %41 ve AÖVD-L/14'de %33 oranında azalış gösterirken; AÖVD-L/2 (%22), AÖVD-L/4 (%15), AÖVD-L/11 (%19) ve AÖVD-L/12 (%13)'de önemli düzeyde artmıştır. Ayrıca S2'de S1 uygulamasına göre yapraklardaki iyon sızıntısı tüm genotiplerde önemli düzeyde artmıştır ve en fazla artış Linas'da (1.92 kat) saptanmıştır. R2'de ise R1 grubuna göre Remzibey-05 ve AÖVD-L/14 hariç diğer genotiplerde önemli düzeyde artmıştır ve en fazla artış 2.30 kat ile Dinçer ve AÖVD-L/3'de belirlenmiştir. Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarına ait tüm kontrol gruplarının (K0, K1, K2, K3 ve K4) yapraklardaki iyon sızıntısı incelendiğinde (Şekil 4.10); her bir kontrol grubu içinde genotipler arasındaki farklar önemli düzeyde bulunmamıştır. S1 uygulamasında AÖVD-L/12 ile Remzibey-05, Linas, AÖVD-L/1, AÖVD-L/3, AÖVD-L/4 ve AÖVD-L/14 arasındaki farklar; S2



Şekil 4.10. Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarında aspir genotiplerinin yapraklarındaki iyon sızıntısı. Aspir genotiplerinde tüm uygulamalarda ortalamalar hesaplanmıştır ve her bir uygulamada stres ve yeniden sulama değerleri kontrol bitkileri değerlerine (kontrol değeri 1 olarak alındı) göre normalize edilmiştir. (n=6)

(K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, K1: Orta şiddete kuraklığa maruz kalan S1 stres grubuna ait 45 günlük kontrol bitkileri, S1: 40 gün kontrol koşulları + 5 gün kuraklığa (orta şiddette kuraklık) maruz kalmış 45 günlük stres grubu bitkileri, K2: R1 grubunun 50 günlük kontrol bitkileri, R1: S1 kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 50 günlük yeniden sulama grubu bitkileri, K3: Şiddetli kuraklığa maruz kalan S2 stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri, S2: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa (şiddetli kuraklık) maruz kalmış 47 günlük stres grubu bitkileri, K4: R2 grubunun 52 günlük kontrol bitkileri, R2: S2 kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri)

uygulamasında ise Remzibey-05 ile Balcı, Linas, TRE-ASO 12/08, AÖVD-L/2, AÖVD-L/3, AÖVD-L/4, AÖVD-L/11 ve AÖVD-L/12 arasındaki fark; Dinçer, AÖVD-L/1 ve AÖVD-L/14 ile Linas arasındaki fark ve Linas ile Balcı, TRE-ASO 12/08, AÖVD-L/3, AÖVD-L/4 ve AÖVD-L/11 arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir. R1 uygulamasında Remzibey-05 ile Dinçer ve AÖVD-L/3 hariç diğer genotipler arasındaki fark; Dinçer, AÖVD-L/3, Balcı, AÖVD-L/1 ve AÖVD-L/14 ile Linas, AÖVD-L/2, AÖVD-L/4, AÖVD-L/11 ve AÖVD-L/12 arasındaki fark, AÖVD-L/11 ile AÖVD-L/4 ve AÖVD-L/12 hariç diğer genotipler arasındaki fark ve AÖVD-L/12 ile AÖVD-L/11 hariç diğer genotipler arasındaki farklar istatistiksel yönden önemlilik göstermiştir. R2 uygulamasında ise Remzibey-05 ile AÖVD-L/14 ile diğer genotipler arasındaki fark; AÖVD-L/4, AÖVD-L/11 ve AÖVD-L/12 ile Dinçer, Balcı, TRE-ASO 12/08 ve AÖVD-L/2 arasındaki fark; Dinçer ve TRE-ASO 12/08 ile Linas, AÖVD-L/2 ve AÖVD-L/3 arasındaki fark; AÖVD-L/1 ile Balcı, Linas, AÖVD-L/2 ve AÖVD-L/4 arasındaki fark ve Balcı ile Linas ve AÖVD-L/2 arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir.

4.1.4. Analiz Edilen Parametreler için Yapılan Puanlama

Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarında aspir genotiplerinin performans indekslerinden (PI_{abs} ve PI_{top}) hesaplanan KFI ve FI'ya göre puanlanması ve genotiplerin fotokimyasal etkinliğe ait toplam puanları Çizelge 4.5'de; yaprak nispi su içeriği ile yaprak ve toprak su potansiyellerinden hesaplanan hasar indeksi ve yeniden sulama derecelerine göre puanlanması ve genotiplerin fizyolojik ölçümlerine ait toplam puanları Çizelge 4.6'da; pigment içeriği ve iyon sızıntısından hesaplanan hasar indeksi ve iyileşme derecelerine göre puanlanması ve genotiplerin biyokimyasal ölçümlerine ait toplam puanları Çizelge 4.7 ile aspir genotiplerinin analiz edilen tüm parametreleri için ayrı ayrı ve toplam puanları ile kuraklığa tolerans sıralaması ise Çizelge 4.8'de verilmiştir. Hesaplamalarda parametrelerden stresle azalanlar için (PI_{abs} , PI_{top} , pigment içeriği, yaprak nispi su içeriği ile yaprak ve toprak su potansiyeli) parametre değeri en yüksek olan çeşide en düşük puan (1 puan) stresle artan parametre (iyon sızıntısı) için ise, parametre değeri en yüksek olan çeşide en yüksek puan (12 puan) verilmiştir.

Çizelge 4.5. Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarının aspir genotiplerinde performans indekslerinden (PI_{abs} ve PI_{top}) hesaplanan KFI ve IFI'ya göre puanlanması ve genotiplerin fotokimyasal etkinliğe ait toplam puanları

Genotipler	PI_{abs}		PI_{top}		Fotokimyasal etkinliğe ait toplam puan
	KFI	IFI	KFI	IFI	
Remzibey-05	1	1	1	1	4
Dinçer	10	5	9	7	31
Balcı	11	3	11	4	29
Linaz	12	10	8	10	40
TRE-ASO 12/08	8	4	10	6	28
AÖVD-L/1	9	7	3	3	22
AÖVD-L/2	3	9	5	9	26
AÖVD-L/3	4	6	7	5	22
AÖVD-L/4	5	11	4	11	31
AÖVD-L/11	7	8	6	8	29
AÖVD-L/12	6	12	12	12	42
AÖVD-L/14	2	2	2	2	8

Çizelge 4.6. Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarının aspir genotiplerinde yaprak su içeriği, yaprak su potansiyeli ve bitkinin yetiştirildiği toprak su potansiyellerinden hesaplanan hasar indeksi ve iyileşme derecelerine göre puanlanması ve genotiplerin fizyolojik ölçümlerine ait toplam puanları

Genotipler	Yaprak nispi su içeriği		Yaprak su potansiyeli		Toprak su potansiyeli		Fizyolojik ölçümlere ait toplam puan
	Hasar indeksi	İyileşme derecesi	Hasar indeksi	İyileşme derecesi	Hasar indeksi	İyileşme derecesi	
Remzibey-05	3	2	2	2	2	2	13
Dinçer	12	19	17	17	17	2	84
Balcı	15	12	10	10	10	2	59
Linaz	18	20	22	22	22	2	106
TRE-ASO 12/08	12	23	14	14	14	2	79
AÖVD-L/1	8	9	8	8	8	2	43
AÖVD-L/2	22	16	20	20	20	2	100
AÖVD-L/3	12	9	6	6	5	2	40
AÖVD-L/4	21	12	17	17	17	2	86
AÖVD-L/11	4	10	12	12	12	2	52
AÖVD-L/12	23	20	24	24	24	2	117
AÖVD-L/14	6	4	4	4	5	2	25

Çizelge 4.7. Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarının aspir genotiplerinde pigment içeriği ve iyon sızıntısından hesaplanan hasar indeksi ve iyileşme derecelerine göre puanlanması ve genotiplerin biyokimyasal ölçümlerine ait toplam puanları

Genotipler	Pigment İçeriği						Biyokimyasal ölçümlere ait toplam puan
	kloa+b		karotenoid		İyon Sızıntısı		
	Hasar indeksi	İyileşme derecesi	Hasar indeksi	İyileşme derecesi	Hasar indeksi	İyileşme derecesi	
Remzibey-05	2	2	6	6	4	2	22
Dinçer	12	20	9	20	15	7	83
Balcı	9	21	5	21	16	9	81
Linaz	16	15	21	7	13	16	88
TRE-ASO	14	17	7	19	10	10	77
AÖVD-L/1	7	21	14	14	5	10	71
AÖVD-L/2	18	15	15	13	19	20	100
AÖVD-L/3	16	11	18	14	10	13	82
AÖVD-L/4	16	12	16	13	14	21	92
AÖVD-L/11	18	11	12	16	18	23	98
AÖVD-L/12	24	7	18	11	23	18	101
AÖVD-L/14	4	4	15	2	9	7	41

Çizelge 4.8. Aspir genotiplerinin analiz edilen tüm parametreleri için ayrı ayrı ve toplam puanları ve kuraklığa dayanıklılık sıralaması

Sıralama	Genotipler	PUANLAR			Toplam
		Fotokimyasal etkinliğe ait toplam puan	Fizyolojik ölçümlere ait toplam puan	Biyokimyasal ölçümlere ait toplam puan	
1	Remzibey-05*	4	13	22	39
8	Dinçer	31	84	83	198
5	Balcı	29	59	81	169
11	Linaz**	40	106	88	234
7	TRE-ASO 12/08	28	79	77	184
4	AÖVD-L/1	22	43	71	136
10	AÖVD-L/2	26	100	100	226
3	AÖVD-L/3	22	40	82	144
9	AÖVD-L/4	31	86	92	209
6	AÖVD-L/11	29	52	98	179
12	AÖVD-L/12**	42	117	101	260
2	AÖVD-L/14*	8	25	41	74

* 2. aşama için seçilen kuraklığa dayanıklı genotipler

** 2. aşama için seçilen kuraklığa hassas genotipler

Çizelge 4.9. Aspir genotiplerinin analiz edilen tüm parametrelere ait toplam puanları ve kuraklığa dayanıklılık sıralaması

Toplam Puan	Sıralama ve Puanlama	
Kuraklığa dayanıklı	Remzibey-05*	39
	AÖVD-L/14*	74
Kuraklığa orta derecede dayanıklı	AÖVD-L/1	136
	AÖVD-L/3	144
	Balcı	169
	AÖVD-L/11	179
	TRE-ASO 12/08	184
	Dinçer	198
Kuraklığa hassas	AÖVD-L/4	209
	AÖVD-L/2	226
	Linaz**	234
	AÖVD-L/12**	260

* 2. aşama için seçilen kuraklığa dayanıklı genotipler

** 2. aşama için seçilen kuraklığa hassas genotipler

Tezin Kuraklığa Dayanıklılığın Karakterizasyonu aşamasında elde edilen, orta ve şiddetli kuraklık ile kuraklığı takiben yeniden sulama ile yeniden sulama uygulamalarına ait parametrelere göre bazı genotipler iyileşme gösterirken; bazılarında iyileşme gerçekleşmemiştir. Bu aşamadan elde edilen bulgularla yapılan analizler ve hesaplamalar sonucunda genotipler kuraklığa toleranslarına göre sınıflandırılmıştır. Tezin 1. aşamasında yapılan sınıflandırmaya göre seçilen genotipler 2. aşamada 7 gün kuraklık (şiddetli kuraklık) ile bunun akabinde 5 gün yeniden sulama ile yeniden sulama uygulanmasına tabii tutularak morfolojik, fizyolojik, fotokimyasal, biyokimyasal ve enzimatik antioksidan savunma sistemlerinin ayrıntılı olarak incelenmesi için biri dayanıklı biri hassas olmak üzere 2 çeşit ve 2 hat seçilmiştir.

Kuraklığa dayanıklı çeşit ve hat: Remzibey-05 ve AÖVD-L/14

Kuraklığa hassas çeşit ve hat: Linaz ve AÖVD-L/12

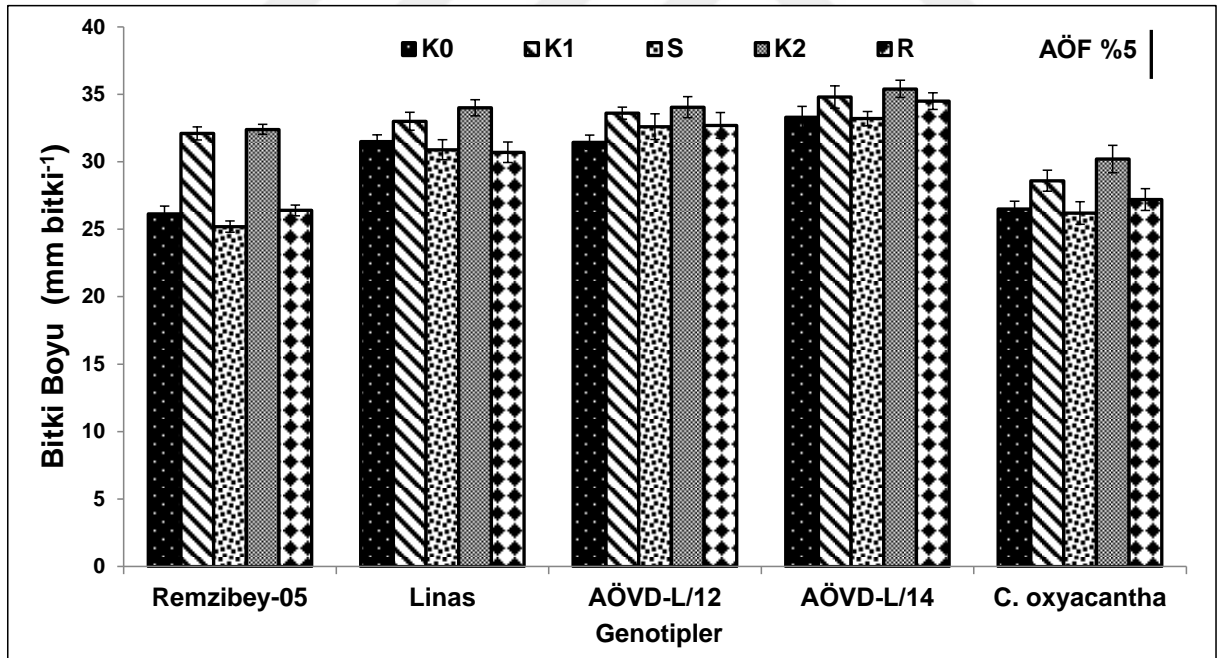
4.2. Karakterizasyon Aşamasından Elde Edilen Bulgular

4.2.1. Kuraklık ve Yeniden Sulama Sürecinin Genotiplerde Morfolojik Değişimler Üzerine Etkisi

4.2.1.1. Bitki Boyu ve Tolerans İndeksi (BBTI)

Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarında genotiplerin bitki boyları incelendiğinde (Şekil 4.11); kontrol grupları (K0= 40 günlük, K1= 47 günlük ve K2= 52 günlük) arasında Remzibey-05'de K1'de K0'a göre %23 ve K2'de ise K0'a göre %24 oranındaki; *C. oxyacantha*'da ise K2'de K0'a göre %14 oranındaki artış anlamlı bulunmuştur. Bitki boyunun stres ve yeniden sulama grubu bitkilerinde kendi kontrollerine göre sadece Remzibey-05'deki azalışı anlamlıdır. İyileşme grubu bitkilerinde ise stres grubu bitkilerine göre bitki boyundaki değişimler tüm genotiplerde istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır.

Kuraklık uygulamalarında genotiplerin bitki boyundaki değişimler karşılaştırıldığında (Şekil 4.11) K0'da Remzibey-05 ve *C. oxyacantha* ile diğer genotipler; K1 ve K2'de *C. oxyacantha* ile Linas, AÖVD-L/12 ile AÖVD-L/14 arasındaki farkların önemli olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, stres uygulamasında Remzibey-05 ve *C. oxyacantha* ile diğer

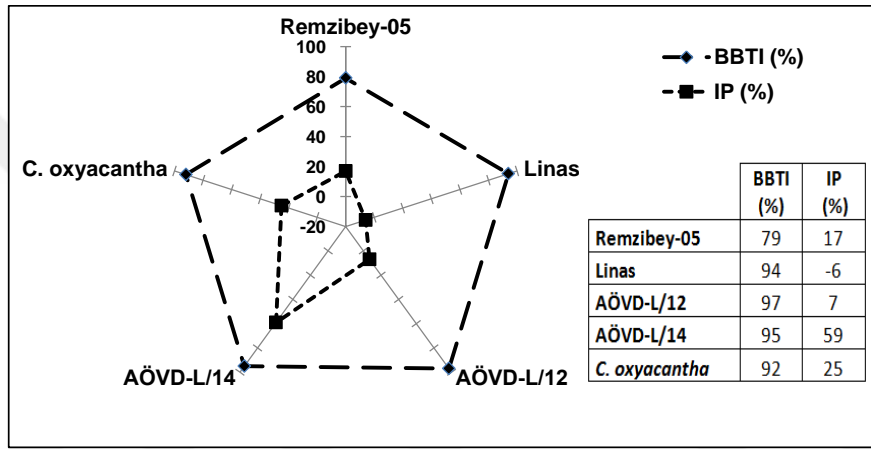


Şekil 4.11. Kuraklığın aspir genotiplerinde bitki boyu üzerine etkisi (n=9)

(K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, K1: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa maruz kalmış 47 günlük stres grubu bitkileri, K2: R grubunun 52 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri)

genotipler; yeniden sulama uygulamasında ise Remzibey-05 ile AÖVD-L/12 ve AÖVD-L/14; AÖVD-L/14 ile Linas ve *C. oxyacantha*; *C. oxyacantha* ile AÖVD-L/12 arasındaki farkların anlamlı olduğu belirlenmiştir.

Kuraklık ve yeniden sulama işlevinin, genotiplerin bitki boyları üzerine etkisini belirlemek için bitki boyu tolerans indeksleri (BBTI-%) ve iyileşme potansiyelleri (IP-%) hesaplanmıştır (Şekil 4.12). BBTI (%) değerleri en yüksekten en düşüğe doğru sırasıyla AÖVD-L/12, AÖVD-L/14, Linas, *C. oxyacantha* ve Remzibey-05'dir. IP (%) değerlerinde en yüksek değeri AÖVD-L/14, en düşük değeri ise Linas ve AÖVD-L/12 almıştır.

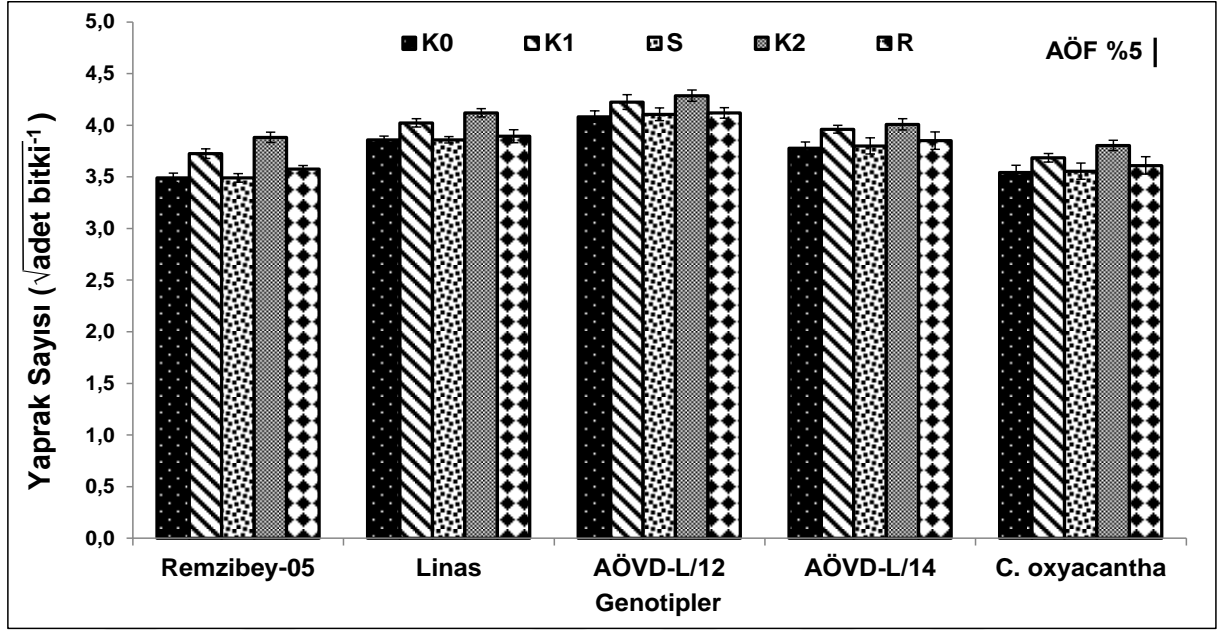


Şekil 4.12. Aspir genotiplerinde bitki boyu tolerans indeksleri ve iyileşme potansiyelleri

4.2.1.2. Yaprak Sayısı

Genotiplerin yaprak sayısı incelendiğinde (Şekil 4.13); kontroller arasında sadece Remzibey-05'de K2'de K0'a göre yaprak sayısı önemli düzeyde artmıştır (%11). Kuraklıkta aynı yaştaki kontrollerine göre tüm genotiplerde yaprak sayısındaki değişim önemli bulunmazken; yeniden sulama uygulamasında kendi kontrollerine göre yaprak sayısının sadece Remzibey-05'de önemli düzeyde azaldığı (%8) tespit edilmiştir.

K0 ve K1'de Remzibey-05 ve *C. oxyacantha* ile Linas ve AÖVD-L/12; ayrıca K0'da AÖVD-L/12 ile AÖVD-L/14'ün yaprak sayısındaki değişikliklerin önemli düzeyde olduğu saptanmıştır (Şekil 4.13). K2'de Remzibey-05 ile AÖVD-L/12; *C. oxyacantha* ile Linas ve AÖVD-L/12 arasındaki farklar istatistiksel olarak önemlidir. Bunun yanısıra, stres grubunda Remzibey-05 ile diğer genotipler, AÖVD-L/12 ile AÖVD-L/14'ün ve *C. oxyacantha* ile Linas ve AÖVD-L/12 arasında yaprak sayısındaki



Şekil 4.13. Kuraklığın aspir genotiplerinde yaprak sayısı üzerine etkisi (n=9)

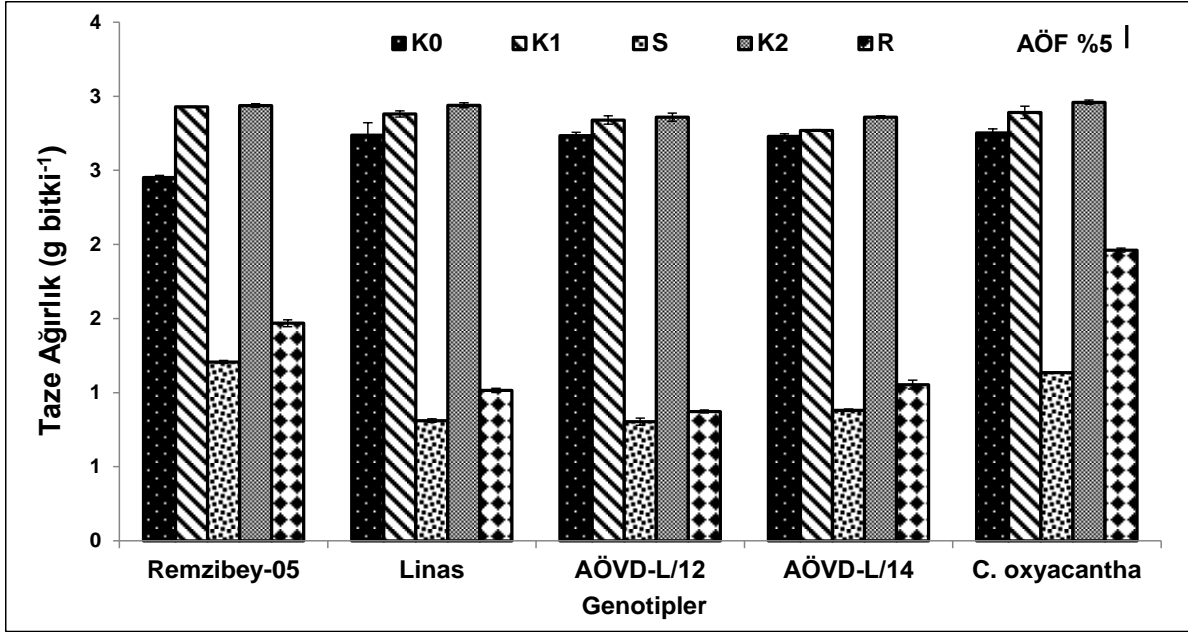
(K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, K1: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa maruz kalmış 47 günlük stres grubu bitkileri, K2: R grubunun 52 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri)

değişimler önemli bulunmuştur. Benzer etki yeniden sulama grubunda (R) Remzibey-05 ile Linas ve AÖVD-L/12 arasında da saptanmıştır.

4.2.1.3. Taze Ağırlık ve Tolerans İndeksi (TATI)

Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarında kontrol grupları arasında (Şekil 4.14) K1'de K0'a ve K2'de ise K0'a göre Remzibey-05 ve Linas'da yaşa bağlı olarak taze ağırlık önemli düzeyde artmıştır. Ayrıca K2'de ise K0'a göre *C. oxyacantha*'nın taze ağırlığındaki artış da önemli düzeydedir. Hem stres hem yeniden sulama uygulamalarında kontrollerine göre tüm genotiplerin taze ağırlığındaki azalış önemli düzeyde iken; yeniden sulamada strese göre taze ağırlıktaki artışlar AÖVD-L/12 hariç diğer genotiplerde anlamlı bulunmuştur.

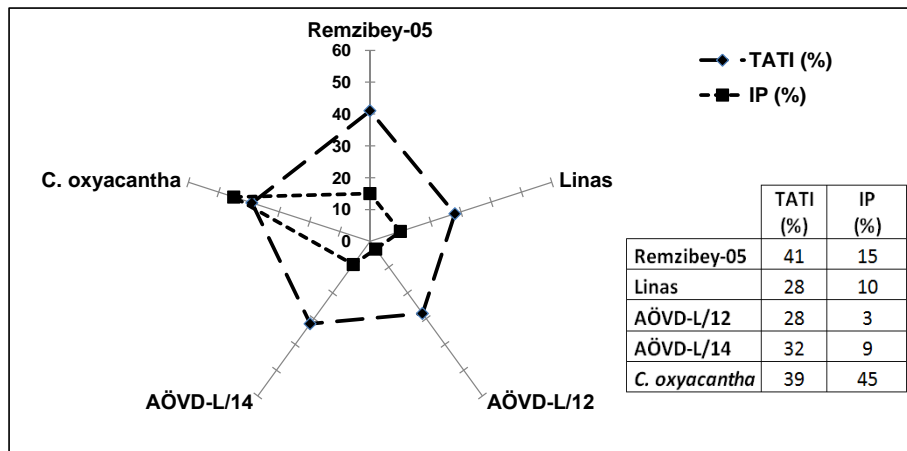
Kontrol gruplarında genotipler arasında taze ağırlık değişimleri dikkate alındığında; K0'da Remzibey-05 ile diğer genotiplere; K1'de Remzibey-05 ile AÖVD-L/14 arasındaki farkların önemli olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.14). Kuraklıkta, Remzibey-05 ve *C. oxyacantha* ile diğer genotipler, yeniden sulamada ise Remzibey-05 ile diğer genotipler; *C. oxyacantha* ile Linas, AÖVD-L/12 ve AÖVD-L/14; AÖVD-L/12 ile Linas ve AÖVD-L/14'ün arasındaki farkların anlamlı olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.14. Kuraklığın aspir genotiplerinde taze ağırlık üzerine etkisi (n=3)

(K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, K1: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa maruz kalmış 47 günlük stres grubu bitkileri, K2: R grubunun 52 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri)

Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarının, genotiplerin taze ağırlıkları üzerine etkisini belirlemek için taze ağırlık tolerans indeksleri (TATI-%) ve iyileşme potansiyelleri (IP-%) hesaplanmıştır (Şekil 4.15). Genotipler taze ağırlık tolerans indeklerine (%) göre en yüksekten en düşüğe doğru Remzibey-05, *C. oxyacantha*, AÖVD-L/14, AÖVD-L/12 ve Linas olarak sıralanmıştır. IP (%) değerlerinde ise en yüksek değer *C. oxyacantha*'da saptanırken, en düşük değer AÖVD-L/12'den elde edilmiştir.

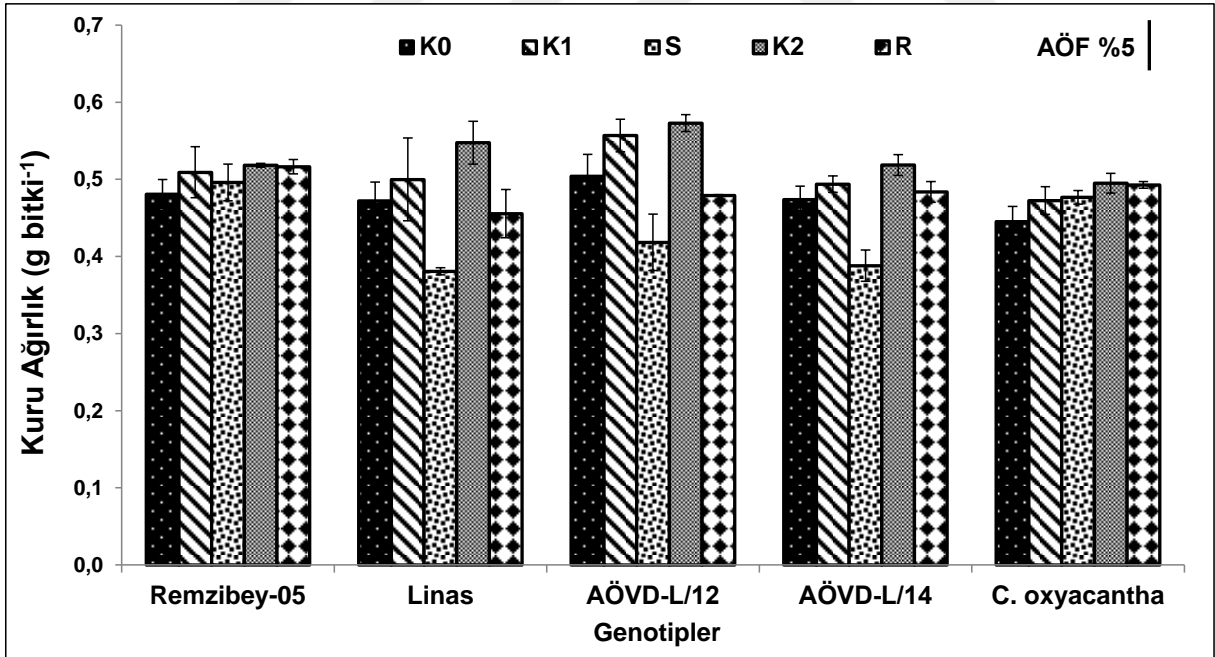


Şekil 4.15. Aspir genotiplerinde taze ağırlık tolerans indeksleri ve iyileşme potansiyelleri

4.2.1.4. Kuru Ağırlık ve Tolerans İndeksi (KATI)

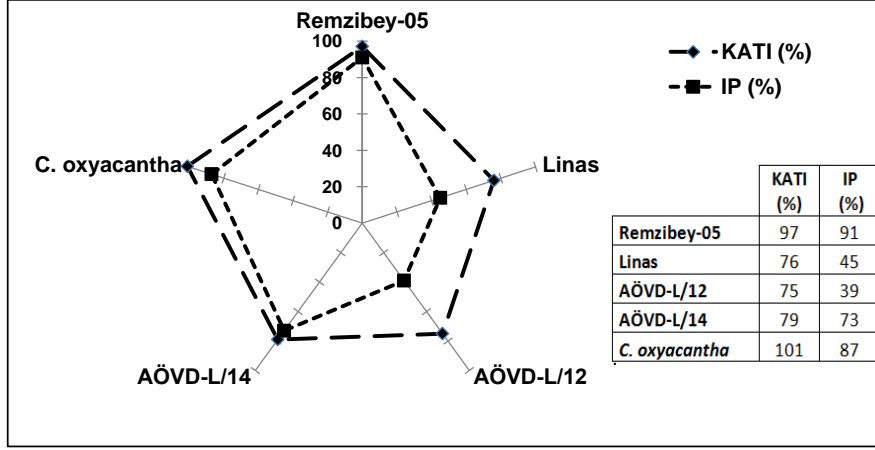
Genotiplerin kuru ağırlık değişimleri incelendiğinde; sadece K2'de K0'a göre Linas ve AÖVD-L/12'de önemli düzeyde artmıştır. Aynı yaştaki kendi kontrolüne göre stres uygulamasında Linas (%24), AÖVD-L/12 (%25) ve AÖVD-L/14'deki (%21) azalışlar ile yeniden sulama uygulamasında Linas (%17) ve AÖVD-L/12'deki (%16) azalışlar istatistiksel olarak anlamlıdır. Yeniden sulama periyodunda strese göre Linas (%20) ve AÖVD-L/14'deki (%25) artışlar önemli bulunmuştur (Şekil 4.16). Kontrol gruplarında genotipler arasındaki değişimler incelendiğinde; hem kontrol gruplarında hem de stres ve yeniden sulama uygulamalarında genotipler arasındaki farkların istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı saptanmıştır (Şekil 4.16).

Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarının, genotiplerin kuru ağırlıkları üzerine etkisini belirlemek için kuru ağırlık tolerans indeksleri (KATI-%) ve iyileşme potansiyelleri (IP-%) hesaplanmıştır (Şekil 4.17). Genotiplerin KATI (%) değerleri en yüksekten en düşüğe doğru *C. oxyacantha*, Remzibey-05, AÖVD-L/14, AÖVD-L/12 ve Linas olarak sıralanmıştır. IP (%) değerlerinde ise en yüksek değer *C. oxyacantha* ve Remzibey-05'de saptanırken, en düşük değer AÖVD-L/12'den elde edilmiştir.



Şekil 4.16. Kuraklığın aspir genotiplerinde kuru ağırlık üzerine etkisi (n=3)

(K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, K1: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa maruz kalmış 47 günlük stres grubu bitkileri, K2: R grubunun 52 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri)

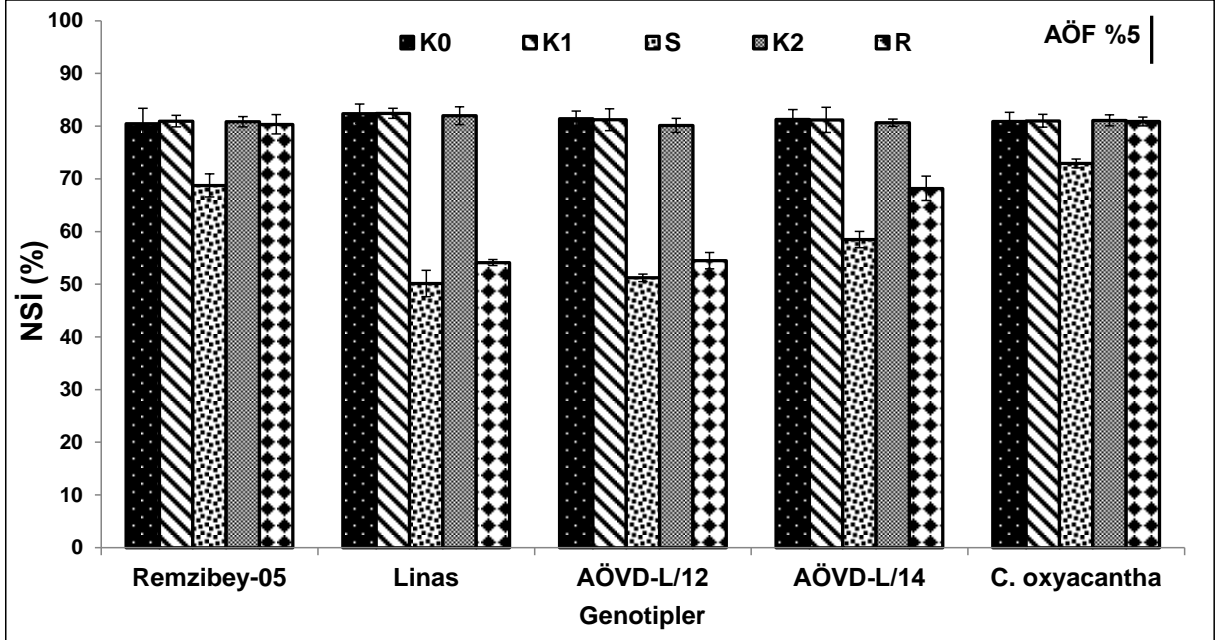


Şekil 4.17. Aspir genotiplerinde kuru ağırlık tolerans indeksleri ve iyileşme potansiyelleri

4.2.2. Kuraklık ve Yeniden Sulama Sürecinin Genotiplerde Fizyolojik Ölçümler Üzerine Etkisi

4.2.2.1. Nispi Su İçeriği

Genotiplerin yapraklarında nispi su içeriği (NSİ) bakımından kontrol grupları arasında (K0, K1 ve K2) önemli bir değişim belirlenmemiştir (Şekil 4.18). Stres grubunda kendi kontrolüne göre NSİ değerinin *C. oxyacantha* hariç diğer genotiplerde önemli



Şekil 4.18. Kuraklığın aspir genotiplerinde nispi su içeriği üzerine etkisi (n=6)

(K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, K1: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa maruz kalmış 47 günlük stres grubu bitkileri, K2: R grubunun 52 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri)

düzeyde azaldığı ve en fazla azalışların %39 ile Linas ve %37 ile AÖVD-L/12'de meydana geldiği belirlenmiştir. Ayrıca NSİ değerlerinin yeniden sulama grubu bitkilerinde kontrollerine göre *C. oxyacantha* ve Remzibey-05 hariç diğer genotiplerde önemli düzeyde azaldığı tespit edilmiştir. İyileşmede ise strese göre Remzibey-05 ve AÖVD-L/14'deki artış (%17) önemli düzeyde bulunmuştur.

Kontrol gruplarında genotiplerin NSİ değerlerindeki farklılıkların istatistiksel açıdan önemli olmadığı belirlenmiştir (Şekil 4.18). *C. oxyacantha* ile diğer genotipler arasındaki farkların stres grubunda; *C. oxyacantha* ve Remzibey-05 ile diğer genotipler, AÖVD-L/14 ile Linas ve AÖVD-L/12 arasındaki farkların ise yeniden sulama grubunda istatistiksel olarak önemli düzeyde olduğu saptanmıştır.

4.2.3. Kuraklık ve Yeniden Sulama Sürecinin Genotiplerin Fotokimyasal Etkinliği Üzerine Etkisi

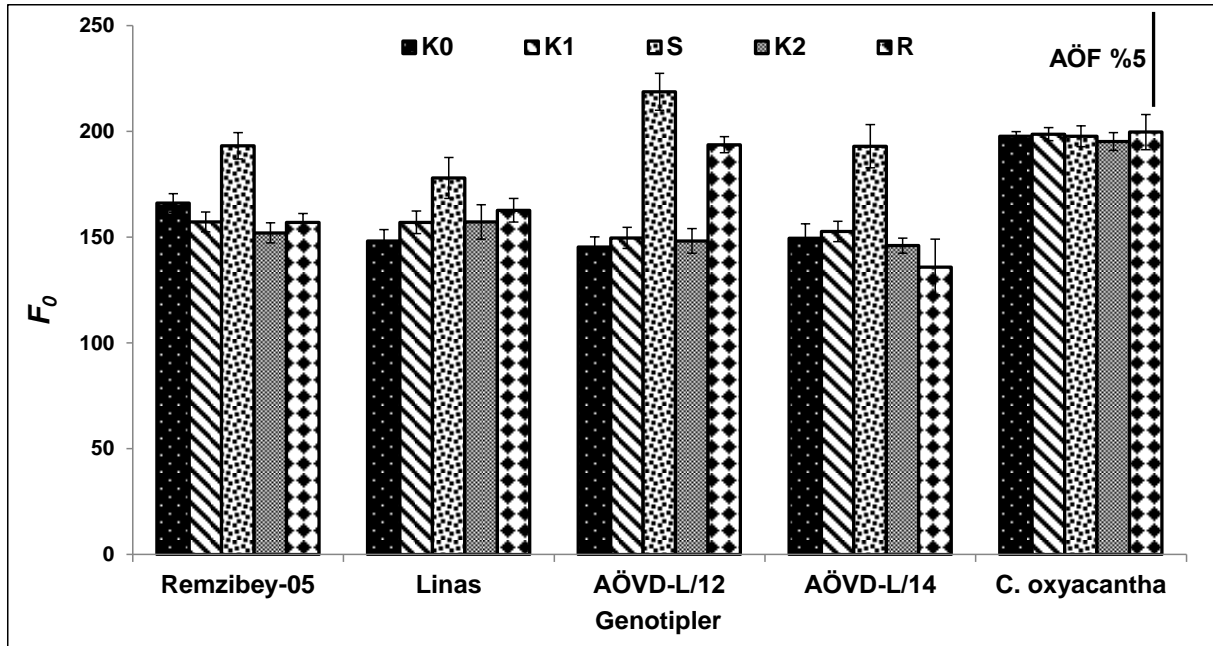
4.2.3.1. Minimum Floresans (F_0)

Minimum floresans (F_0), yaprakların, 30 dk karanlığa adapte edildikten sonra düşük ışık şiddetinde ($0.2 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) ışık uyarımı verilmesi ve bu uyarım altında PSII reaksiyon merkezinin açılmasıyla ölçülen bir floresans parametresidir. Genotiplerin kontrol grupları arasında (K0, K1 ve K2) F_0 'da önemli bir değişim meydana gelmemiştir (Şekil 4.19). Kuraklık uygulamasına ait stres grubunda kontrol grubuna göre genotiplerde belirlenen F_0 parametresindeki artış AÖVD-L/12 (%46) ile AÖVD-L/14'de (%26) istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. İyileşme grubu bitkilerinde ise kontrol grubuna göre genotiplerin F_0 parametresindeki değişimler önemli düzeyde bulunmazken, yeniden sulama grubu bitkilerinde stres grubu bitkilerine göre sadece AÖVD-L/14'deki (%26) azalışın istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır.

F_0 parametresi açısından genel olarak kontrol gruplarında *C. oxyacantha* ile diğer genotipler arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önemlidir (Şekil 4.19). Stres grubunda sadece Linas ile AÖVD-L/12 arasındaki fark önemli bulunmuştur. İyileşme grubunda ise Remzibey-05 ve *C. oxyacantha* ile AÖVD-L/12 ve AÖVD-L/14 arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

4.2.3.2. Maksimum Floresans (F_M)

Maksimum floresans (F_M) yaprakların, 30 dk karanlığa adapte edildikten sonra düşük ışık şiddetinin akabinde doygun ışık pulsunun ($7500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) verilerek Q_A 'nın maksimum düzeyde indirgenmesiyle elde edilen bir floresans parametresidir.

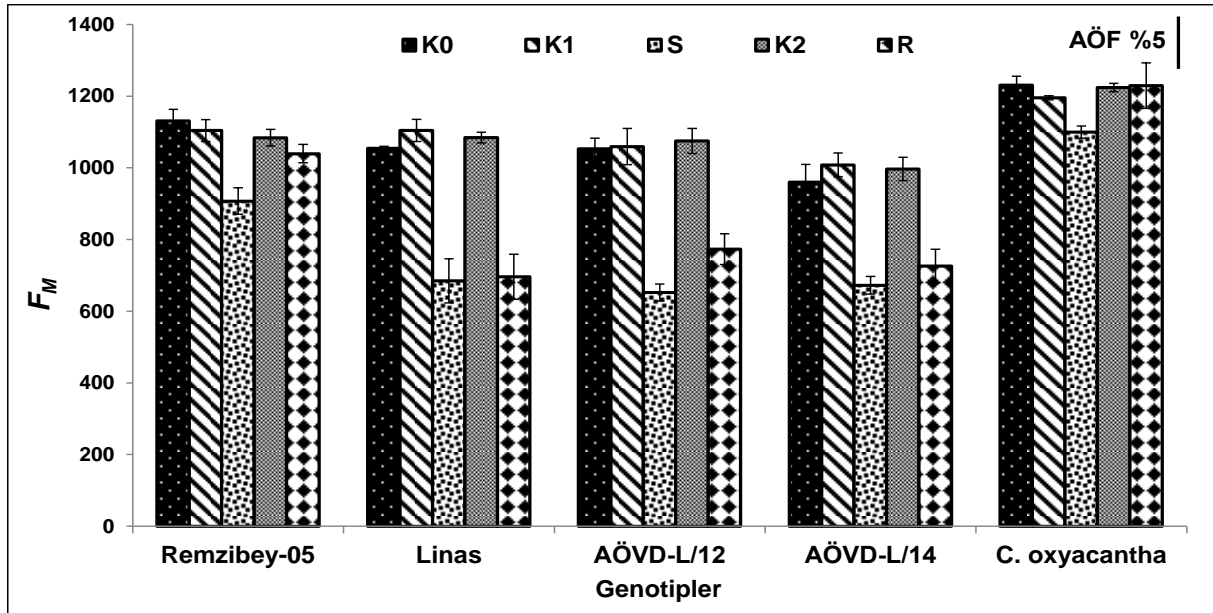


Şekil 4.19. Kuraklığın aspir genotiplerinde minimum fluoresans (F_0) üzerine etkisi (n=6)

(K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, K1: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa maruz kalmış 47 günlük stres grubu bitkileri, K2: R grubunun 52 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri)

Genotiplerin kontrol gruplarının (K0, K1 ve K2) F_M değerleri arasında önemli bir değişim meydana gelmemiştir (Şekil 4.20). F_M parametresindeki azalış stres grubunda kontrol grubuna göre *C. oxyacantha* hariç diğer tüm genotiplerde önemli düzeydedir (Remzibey-05'de %18, Linas ile AÖVD-L/12'de %38 ve AÖVD-L/14'de %33 oranında azalış). İyileşme grubu bitkilerinde ise kendi kontrol grubuna göre F_M parametresi Remzibey-05 ve *C. oxyacantha* hariç diğer genotiplerde önemli düzeyde azalmıştır (Linas %36, AÖVD-L/12'de %28 ve AÖVD-L/14'de %27 oranında azalış). Bununla birlikte yeniden sulama grubu bitkilerinde stres grubu bitkilerine göre F_M parametresindeki artışlar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır.

Genotiplerin kontrol gruplarında F_M parametresindeki değişim sadece *C. oxyacantha* ile AÖVD-L/14 arasında istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur (Şekil 4.20). Ayrıca stres grubunda Remzibey-05 ve diğer genotipler ile *C. oxyacantha* ve diğer genotipler arasındaki farklar ile yeniden sulama grubunda sadece Remzibey-05 ve *C. oxyacantha* ile diğer genotipler arasındaki farkların önemli olduğu tespit edilmiştir.



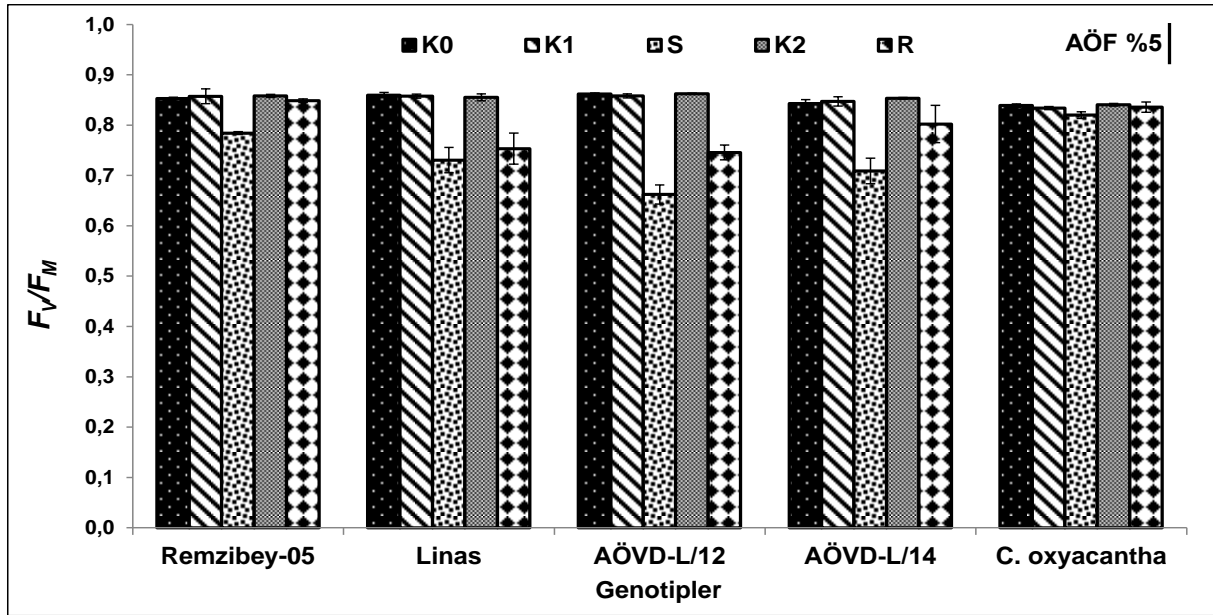
Şekil 4.20. Kuraklığın aspir genotiplerinde maksimum fluoresans (F_M) üzerine etkisi (n=6)

(K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, K1: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa maruz kalmış 47 günlük stres grubu bitkileri, K2: R grubunun 52 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri)

4.2.3.3. PSII'nin Potansiyel Fotokimyasal Etkinliği (F_V/F_M)

Karanlığa adapte edilmiş yapraklarda PSII'nin potansiyel fotokimyasal etkinliğini ifade eden F_V/F_M oranı, fotosentetik aparatın fizyolojik durumunun belirlenmesi açısından önemli bir parametredir. Genotiplerin kontrol gruplarında karanlığa adapte edilmiş yapraklarındaki PSII'nin potansiyel fotokimyasal etkinliği (F_V/F_M) incelendiğinde, önemli bir değişim meydana gelmemiştir (Şekil 4.21). F_V/F_M değerleri stres grubunda kontrol grubuna göre Remzibey-05 ve *C. oxyacantha* hariç diğer genotiplerde; yeniden sulama grubu bitkilerinde ise kontrol grubuna göre Linas (%12) ile AÖVD-L/12'de (%14) önemli düzeyde azalmıştır. İyileşme grubu bitkilerinde ise stres grubu bitkilerine göre AÖVD-L/12'de ve AÖVD-L/14'de F_V/F_M değerlerindeki %13 oranındaki iyileşmenin önemli olduğu tespit edilmiştir.

Genotiplerin kontrollerinde F_V/F_M değerleri arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılığın olmadığı belirlenmiştir (Şekil 4.21). Ayrıca streste Remzibey-05 ile AÖVD-L/12 ve AÖVD-L/14; *C. oxyacantha* ile Remzibey-05 hariç diğer genotipler arasındaki farklar önemli düzeyde bulunmuştur. Buna ek olarak, yeniden sulamada Remzibey-05 ve *C. oxyacantha* ile Linas ve AÖVD-L/12 arasında farklar önemli bulunmuştur.



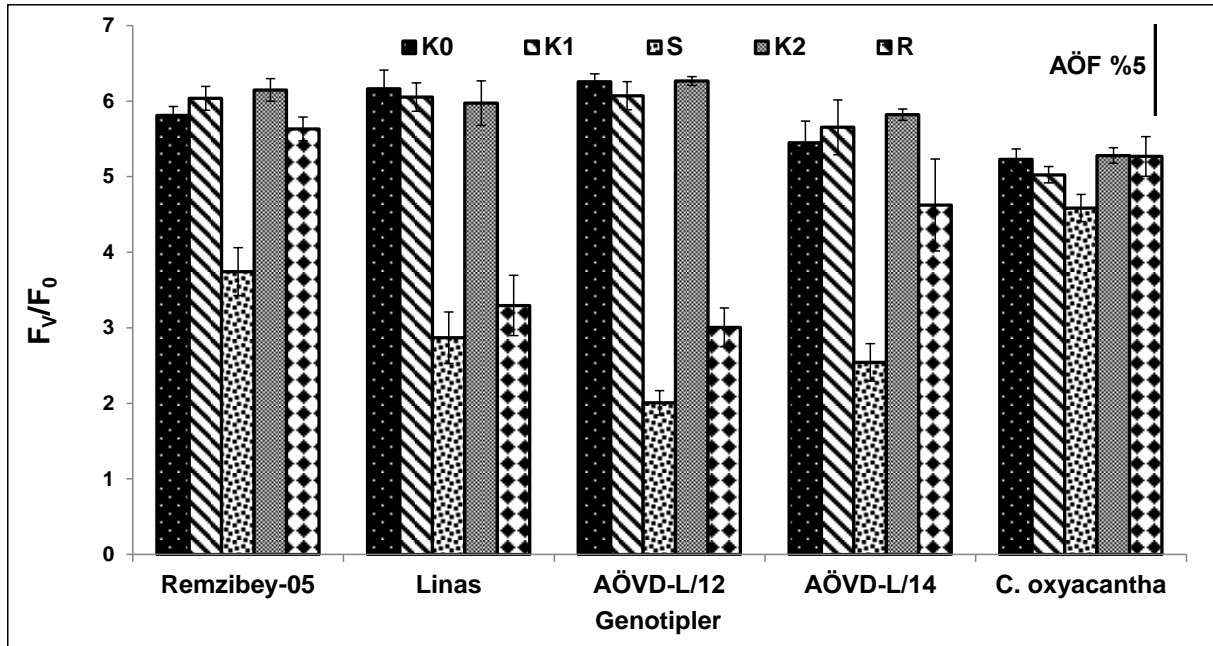
Şekil 4.21. Kuraklığın aspir genotiplerinin PSII potansiyel fotokimyasal etkinliği (F_V/F_M) üzerine etkisi (n=6)

(K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, K1: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa maruz kalmış 47 günlük stres grubu bitkileri, K2: R grubunun 52 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri)

4.2.3.4. PSII'de O₂ Oluşturan Kompleksin Etkinliği (F_V/F_0)

Genotiplerin karanlığa adapte edilmiş yapraklarındaki PSII'nin donör kısmındaki O₂ oluşturan kompleksin etkinliği (F_V/F_0) incelendiğinde (Şekil 4.22); kontrol grupları arasında önemli bir değişim meydana gelmemiştir. Stres grubunda kendi kontrollerine göre F_V/F_0 değerleri *C. oxyacantha* hariç diğer tüm genotiplerde önemli düzeyde azalmış ve en fazla azalış %67 oranı ile AÖVD-L/12'de belirlenirken, en az azalış %38 oranı ile Remzibey-05'de tespit edilmiştir. Bununla birlikte, yeniden sulama grubu bitkilerinde kendi kontrollerine göre F_V/F_0 değerlerindeki azalışlar Linas (%45) ile AÖVD-L/12'de (%52) önemli düzeydedir. Ayrıca yeniden sulama grubu bitkilerinde stres grubu bitkilerine göre F_V/F_0 değerlerindeki artışlar Remzibey-05 (%50) ile AÖVD-L/14'de (%82) önemli düzeyde bulunmuştur.

Genotiplerin kontrol gruplarında F_V/F_0 değerleri arasında önemli bir farklılığın olmadığı belirlenmiştir (Şekil 4.22). Ayrıca stres grubunda Remzibey-05 ile AÖVD-L/12 ve *C. oxyacantha* ile Remzibey-05 arasındaki farklar; yeniden sulamada ise Remzibey-05 ile *C. oxyacantha* ve Linas ile AÖVD-L/12 arasında farklar önemli bulunmuştur.



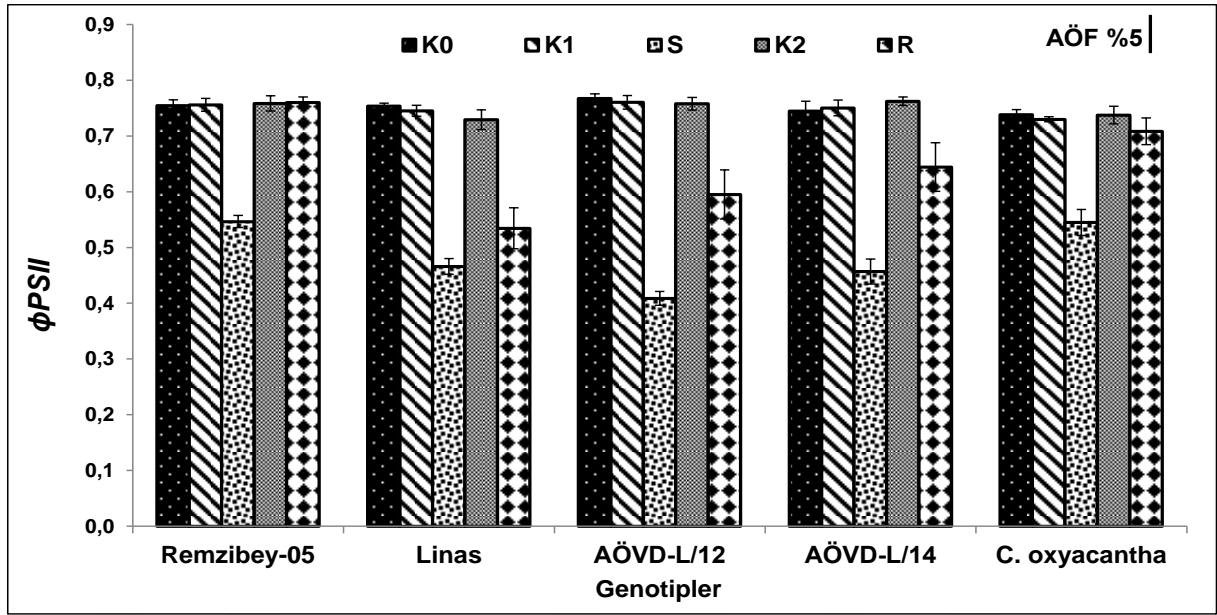
Şekil 4.22. Kuraklığın aspir genotiplerinin PSII'de O₂ oluşturan kompleksinin etkinliği (F_v/F_0) üzerine etkisi (n=6)

(K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, K1: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa maruz kalmış 47 günlük stres grubu bitkileri, K2: R grubunun 52 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri)

4.2.3.5. PSII'nin Gerçek Fotokimyasal Etkinliği (Φ_{PSII})

Genotiplerin kontrol grupları arasında ışığa adapte edilmiş yapraklarda PSII'nin gerçek fotokimyasal etkinliğini ifade eden Φ_{PSII} değerinde önemli bir değişim belirlenmemiştir (Şekil 4.23). Kuraklıkta aynı yaştaki kontrollerine göre Φ_{PSII} değerleri tüm genotiplerde önemli düzeyde azalmış ve en fazla azalış %46 ile AÖVD-L/12'de, en az azalış ise %25 ile *C. oxyacantha*'da meydana gelmiştir. İyileşme grubu bitkilerinde ise K2'ye göre Φ_{PSII} değerleri Remzibey-05 ve *C. oxyacantha* hariç diğer genotiplerde önemli düzeyde azalmıştır. Ayrıca Φ_{PSII} değerleri yeniden sulama grubunda stres grubuna göre Linas hariç diğer genotiplerde önemli düzeyde artmıştır (Remzibey-05'de %39, AÖVD-L/12'de %46, AÖVD-L/14'de %41 ve *C. oxyacantha*'da %30 oranında artış).

Kontrol gruplarında genotiplerin Φ_{PSII} değerlerindeki farklılıklar incelendiğinde (Şekil 4.23); genotipler arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılığın olmadığı saptanmıştır. Ayrıca kuraklıkta Remzibey-05 ve *C. oxyacantha* ile AÖVD-L/12 arasında farklar; yeniden sulanan yeniden sulama grubunda ise Remzibey-05 ile *C. oxyacantha* hariç diğer genotipler; *C. oxyacantha* ile Linas ve AÖVD-L/12; Linas ile AÖVD-L/14 arasındaki farklar anlamlı düzeydedir.



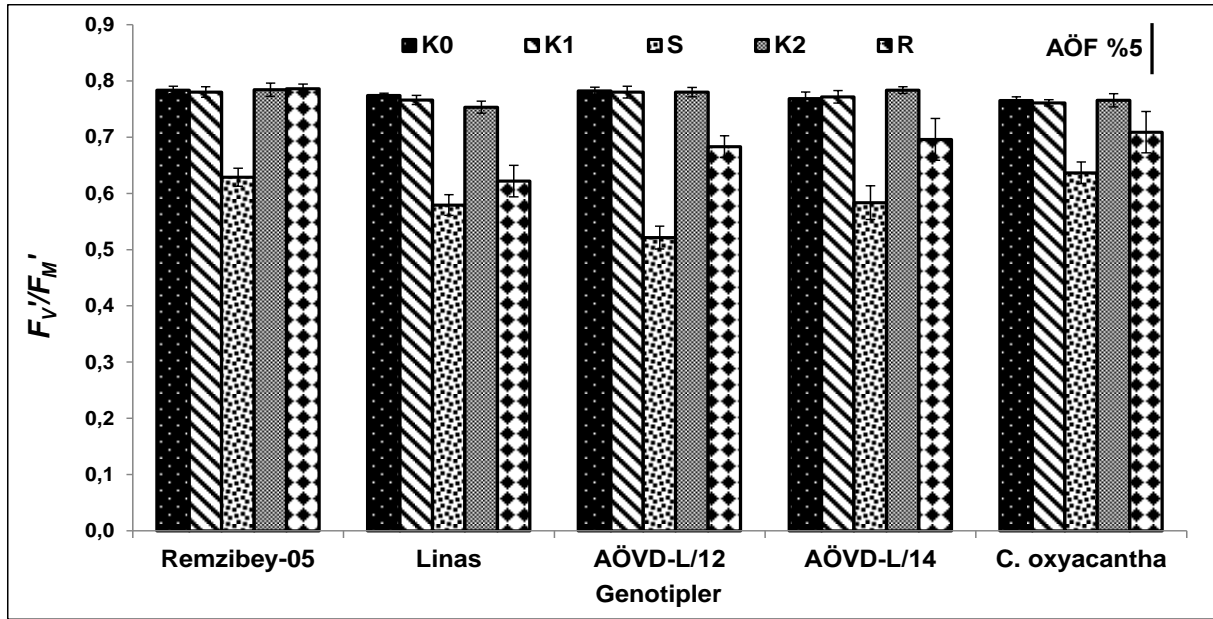
Şekil 4.23. Kuraklığın aspir genotiplerinde PSII'nin gerçek fotokimyasal etkinliği (Φ_{PSII}) üzerine etkisi (n=6)

(K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, K1: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa maruz kalmış 47 günlük stres grubu bitkileri, K2: R grubunun 52 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri)

4.2.3.6. PSII'nin Enerji Yakalama Etkinliği (F_V/F_M)

Genotiplerin ışığa adapte edilmiş yapraklardaki PSII'nin enerji yakalama etkinliği (F_V/F_M) incelendiğinde (Şekil 4.24); genotiplerin kontrol grupları arasında önemli bir değişim tespit edilmemiştir. F_V/F_M değerleri kendi kontrollerine göre, kuraklıkta tüm genotiplerde (en fazla azalış %33 ile AÖVD-L/12'de, en az azalış ise %16 ile *C. oxyacantha*'da); yeniden sulamada ise hassas genotiplerde önemli düzeyde azalmıştır. Buna karşın, yeniden sulama grubu bitkilerinde stres grubu bitkilerine göre F_V/F_M değerleri Linas ve *C. oxyacantha* hariç diğer genotiplerde önemli düzeyde artmıştır (Remzibey-05'de %25, AÖVD-L/12'de %31 ve AÖVD-L/14'de %19 oranında artış).

Kontrol gruplarında genotiplerin F_V/F_M değerleri arasındaki farklılıkların önemli olmadığı belirlenmiştir (Şekil 4.24). Ayrıca stres grubunda Remzibey-05 ve *C. oxyacantha* ile AÖVD-L/12 arasındaki farklar ile yeniden sulama grubunda Remzibey-05 ile Linas ve AÖVD-L/12 arasında farkların önemli düzeyde olduğu tespit edilmiştir.



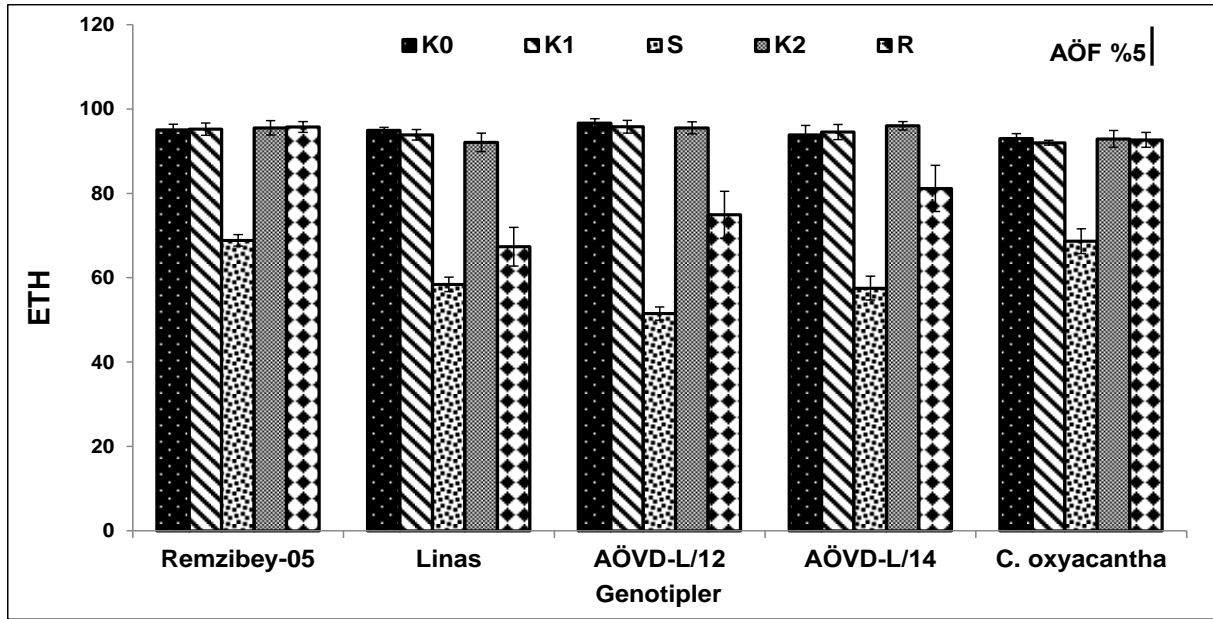
Şekil 4.24. Kuraklığın aspir genotiplerinde PSII'nin enerji yakalama etkinliği (F_V'/F_M') üzerine etkisi (n=6)

(K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, K1: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa maruz kalmış 47 günlük stres grubu bitkileri, K2: R grubunun 52 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri)

4.2.3.7. Elektron Taşıma Hızı (ETH)

Işığa adapte edilmiş yapraklardaki elektron taşınım hızı (ETH) üzerine kuraklığın etkileri değerlendirildiğinde (Şekil 4.25); genotiplerin kontrol grupları arasında önemli bir değişim tespit edilmemiştir. ETH değerleri kontrol gruplarına göre, stres grubunda tüm genotiplerde (Remzibey-05'de %28, Linas'da %38, AÖVD-L/12'de %46, AÖVD-L/14'de %39 ve *C. oxyacantha*'da %25 oranında azalış), yeniden sulama grubu bitkilerinde ise Remzibey-05 ve *C. oxyacantha* hariç diğer genotiplerde önemli düzeyde azalmıştır (Linas'da %27, AÖVD-L/12'de %22 ve AÖVD-L/14'de %15 oranında azalış). Buna karşın, yeniden sulama grubunda strese göre ETH değerleri Linas hariç diğer genotiplerde önemli düzeyde artmıştır (%34'den daha fazla artış).

Kuraklık stresine maruz kalan bitkilerde ETH değerleri açısından Remzibey-05 ve *C. oxyacantha* ile AÖVD-L/12 arasındaki değişimin önemli olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.25). Bunun yanısıra, yeniden sulama sürecinde Remzibey-05 ile *C. oxyacantha* hariç diğer genotipler; *C. oxyacantha* ile Linas ve AÖVD-L/12; Linas ile AÖVD-L/14 arasındaki farkların da önemli düzeyde olduğu saptanmıştır.



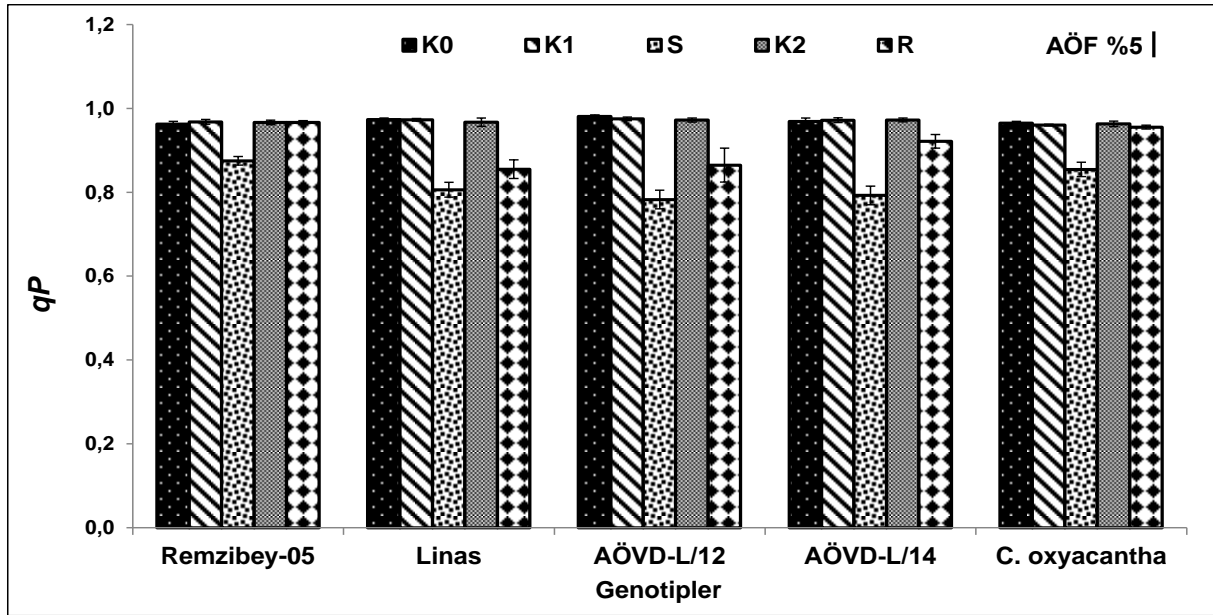
Şekil 4.25. Kuraklığın aspir genotiplerinde elektron taşıma hızı (ETH) üzerine etkisi (n=6)

(K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, K1: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa maruz kalmış 47 günlük stres grubu bitkileri, K2: R grubunun 52 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri)

4.2.3.8. Işık Enerjisinin Fotokimyasal Kullanımı (qP)

Işığın fotokimyasal kullanımı (qP), yapraklardaki açık PSII reaksiyon merkezi hakkında bilgi veren bir fluoresans parametresidir. qP değerleri genotiplerin kontrol grupları arasında önemli bir değişim göstermemiştir (Şekil 4.26). Kuraklık uygulamasında kontrollerine (K1) göre qP değerleri tüm genotiplerde önemli düzeyde azalmış ve S'de K1'e göre qP değerlerindeki azalış Remzibey-05'de %10, Linas'da %17, AÖVD-L/12'de %20, AÖVD-L/14'de %18 ve *C. oxyacantha*'da %11 oranındadır. İyileşme sürecinde ise kontrol grubuna (K2) göre qP değerleri Remzibey-05, AÖVD-L/14 ve *C. oxyacantha* hariç diğer genotiplerde önemli düzeyde azalmıştır (Linas'da %12 ve AÖVD-L/12'de %11 oranında azalış). Buna karşın, yeniden sulama grubu bitkilerinde stres grubu bitkilerine göre qP değerleri Linas hariç diğer genotiplerde önemli düzeyde artmıştır (%9'dan daha fazla artış).

Kuraklık uygulamasında qP değerinde Remzibey-05 ile AÖVD-L/12 ve AÖVD-L/14 arasında farkların ve *C. oxyacantha* ile AÖVD-L/12 arasındaki farkın önemli olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.26). İyileşme grubunda ise qP değerinde Remzibey-05 ve *C. oxyacantha* ile Linas ve AÖVD-L/12 arasında farkın önemli olduğu belirlenmiştir.



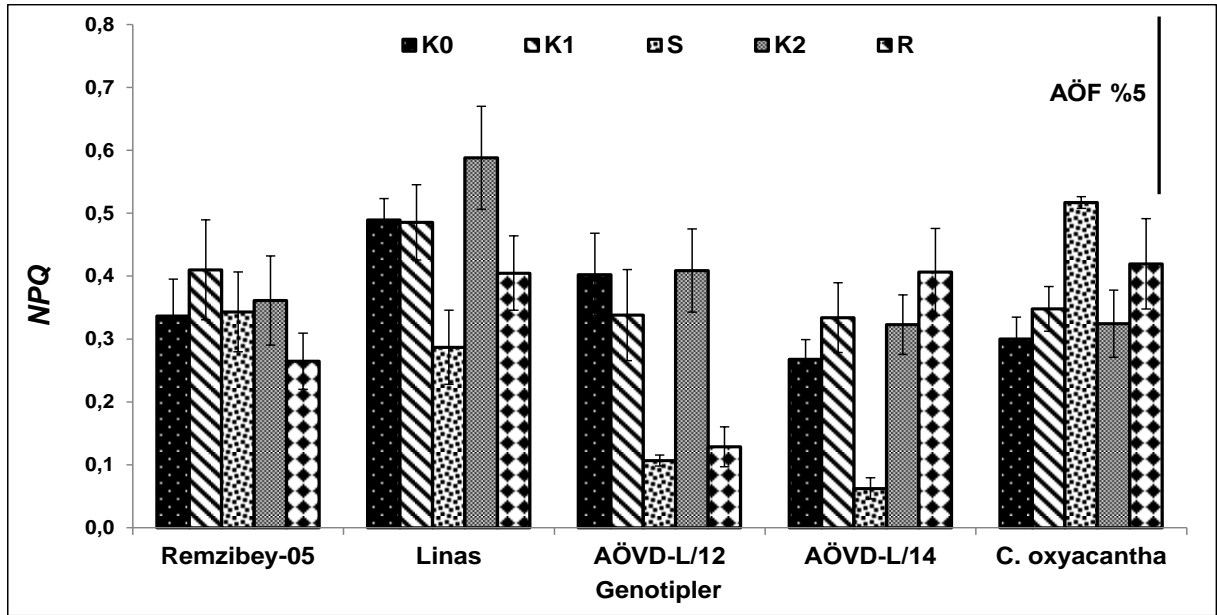
Şekil 4.26. Kuraklığın aspir genotiplerinde ışık enerjisinin fotokimyasal kullanımı (qP) üzerine etkisi ($n=6$)

(K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, K1: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa maruz kalmış 47 günlük stres grubu bitkileri, K2: R grubunun 52 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 52 günlük i yeniden sulama grubu bitkileri)

4.2.3.9. Işık Enerjisinin Fotokimyasal Olmayan Kullanımı (NPQ)

Stres koşullarında enerji kaybının düzeyini göstermede iyi bir indikatör olan ve ışık enerjisinin fotokimyasal olmayan kullanımı ifade eden NPQ , Q_A 'nın aşırı indirgenmesini önlenmesi için ışık toplayıcı kompleks sisteminde eksitasyon enerjisinin ısı şeklinde kayıp düzeyini gösteren oldukça önemli korunma cevaplarından biridir. Genotiplerin kontrol yapraklarındaki ışık enerjisinin fotokimyasal olmayan kullanımında (NPQ) önemli bir değişim tespit edilmemiştir (Şekil 4.27). Kontrollerine göre hem stres hem de yeniden sulama uygulamalarında NPQ değerlerinde tüm genotiplerdeki değişimler önemli bulunmamıştır. İyileşmede ise strese göre NPQ değerlerindeki değişim sadece AÖVD-L/14'de istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur (6.5 kat artış).

Kuraklık uygulamasına ait stres grubunda (S) *C. oxyacantha* ile AÖVD-L/12 ve AÖVD-L/14 arasında fotokimyasal olmayan kullanımındaki farkların önemli olduğu tespit edilirken; yeniden sulama grubunda (R) genotipler arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılığın olmadığı belirlenmiştir (Şekil 4.27).



Şekil 4.27. Kuraklığın aspir genotiplerinde ışık enerjisinin fotokimyasal olmayan kullanımı (NPQ) üzerine etkisi (n=6)

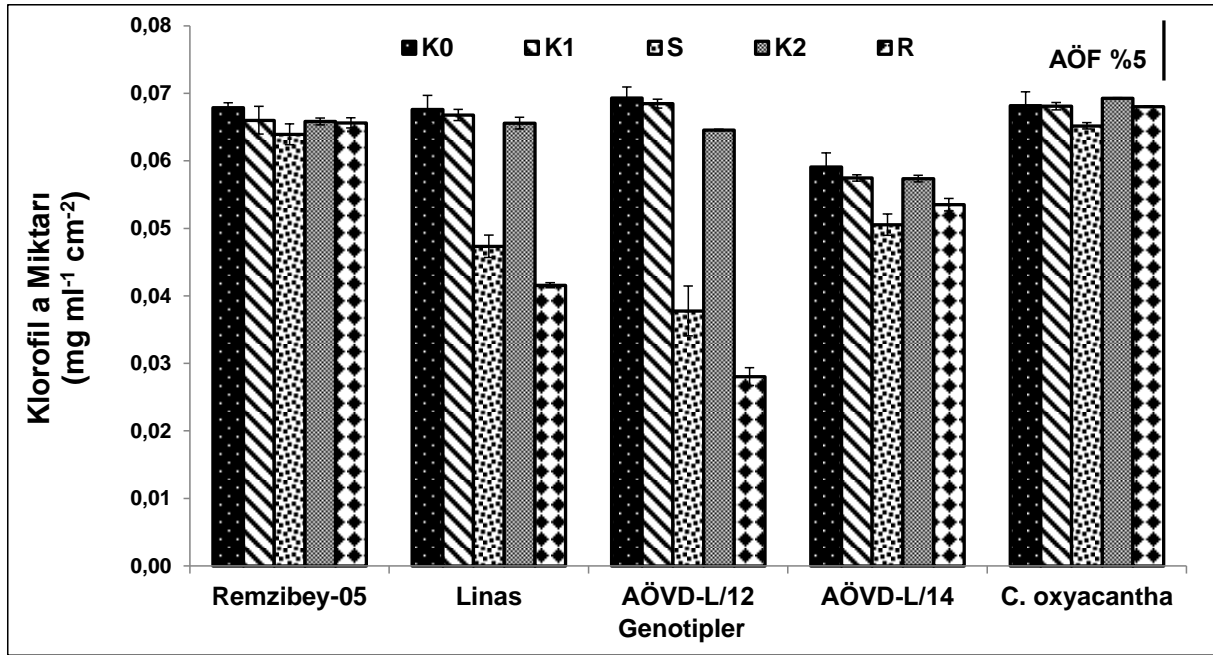
(K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, K1: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa maruz kalmış 47 günlük stres grubu bitkileri, K2: R grubunun 52 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri)

3.1.4. Kuraklık ve Yeniden Sulama Sürecinin Genotiplerin Yapraklarındaki Biyokimyasal Ölçümler Üzerine Etkisi

4.2.4.1. Klorofil a Miktarı

Genotiplerin kontrol gruplarında klorofil a miktarlarında önemli bir değişim tespit edilmemiştir (Şekil 4.28). Klorofil a miktarının hem kuraklık uygulamasına ait stres grubunda hem de yeniden sulanan yeniden sulama grubunda kontrol gruplarına (K1 ve K2) göre Linas (sırasıyla %29 ve %37) ve AÖVD-L/12 (sırasıyla %45 ve %57)'deki azalmalar önemli düzeyde bulunmuştur. İyileşme grubu bitkilerinde ise stres grubu bitkilerine göre sadece AÖVD-L/12 (%26)'deki azalışın istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiştir.

Kontrollerde klorofil a miktarındaki farklılıkların K0 ile K1'de AÖVD-L/14 ile diğer genotiplerde, K2'de ise AÖVD-L/14 ile AÖVD-L/12 hariç diğer genotipler istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.28). Ayrıca kuraklıkta Remzibey-05 ve *C. oxyacantha* ile diğer genotipler ile AÖVD-L/12 ile Linas ve AÖVD-L/14 arasındaki farkların önemli olduğu tespit edilmiştir. İyileşme sürecinde ise Remzibey-05 ve *C. oxyacantha* ile diğer genotipler ile Linas, AÖVD-L/12 ve AÖVD-L/14'ün birbirlerine göre farklarının istatistiksel açıdan önemli olduğu saptanmıştır.



Şekil 4.28. Kuraklığın aspir genotiplerinde klorofil a miktarı üzerine etkisi (n=3)

(K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, K1: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa maruz kalmış 47 günlük stres grubu bitkileri, K2: R grubunun 52 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri)

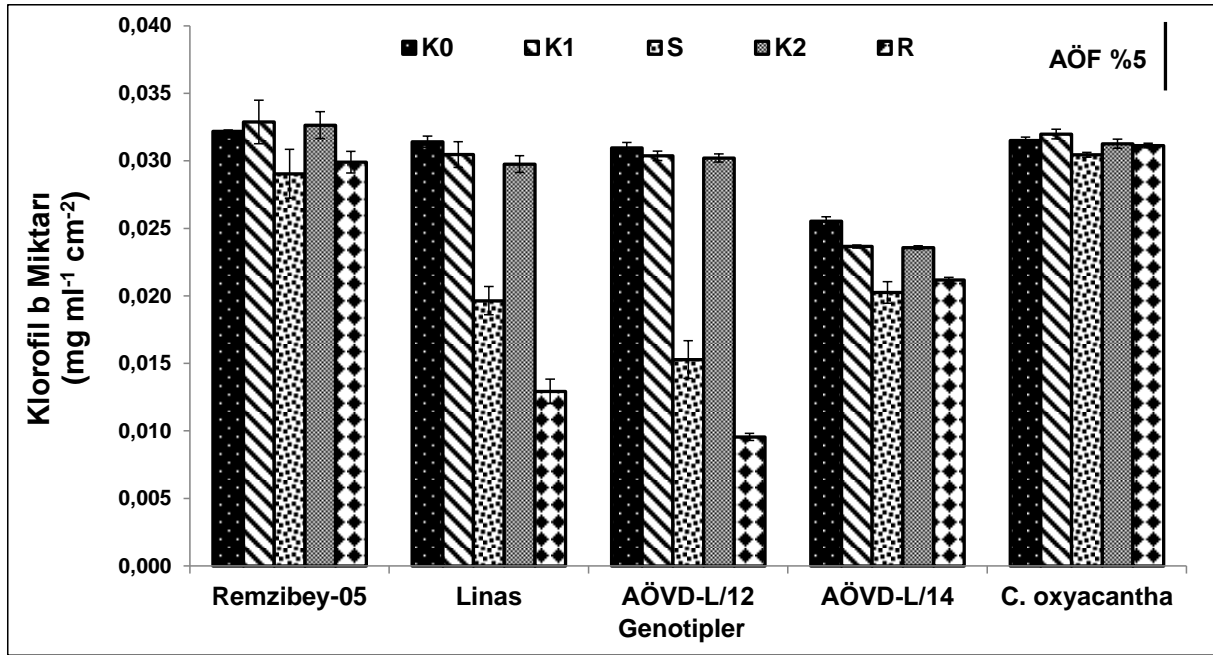
4.2.4.2. Klorofil b Miktarı

Tüm genotiplerin kontrolleri arasında klorofil b miktarındaki değişimler önemli bulunmamıştır (Şekil 4.29). Hem kuraklıkta hem de yeniden sulama sürecinde kontrol gruplarına (K1 ve K2) göre ve yeniden sulamada strese göre Linas (sırasıyla %36, %57 ve %34) ve AÖVD-L/12 (sırasıyla %50, %68 ve %27)'deki azalmaların istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiştir.

Genotiplerin klorofil b miktarındaki farklılıklar incelendiğinde (Şekil 4.29); tüm kontrol gruplarında AÖVD-L/14 ile diğer genotipler arasındaki farkların önemli olduğu saptanmıştır. Ayrıca kuraklık uygulamasına ait stres grubunda Remzibey-05 ve *C. oxyacantha* ile diğer genotipler ve AÖVD-L/12 ile Linas ve AÖVD-L/14 arasındaki fark; yeniden sulama uygulamasında ise Remzibey-05 ve *C. oxyacantha* ile diğer genotipler ve AÖVD-L/14 ile Linas ve AÖVD-L/12 arasındaki farkların istatistiksel açıdan önemli olduğu tespit edilmiştir.

4.2.4.3. Klorofil a/b Oranı

Genotiplerin klorofil a/b oranının hem kuraklık hem de yeniden sulama periyodunda kontrol gruplarına göre ve yeniden sulama grubunda ise stres bitkilerine göre hassas



Şekil 4.29. Kuraklığın aspir genotiplerinde klorofil b miktarı üzerine etkisi (n=3)

(K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, K1: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa maruz kalmış 47 günlük stres grubu bitkileri, K2: R grubunun 52 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri)

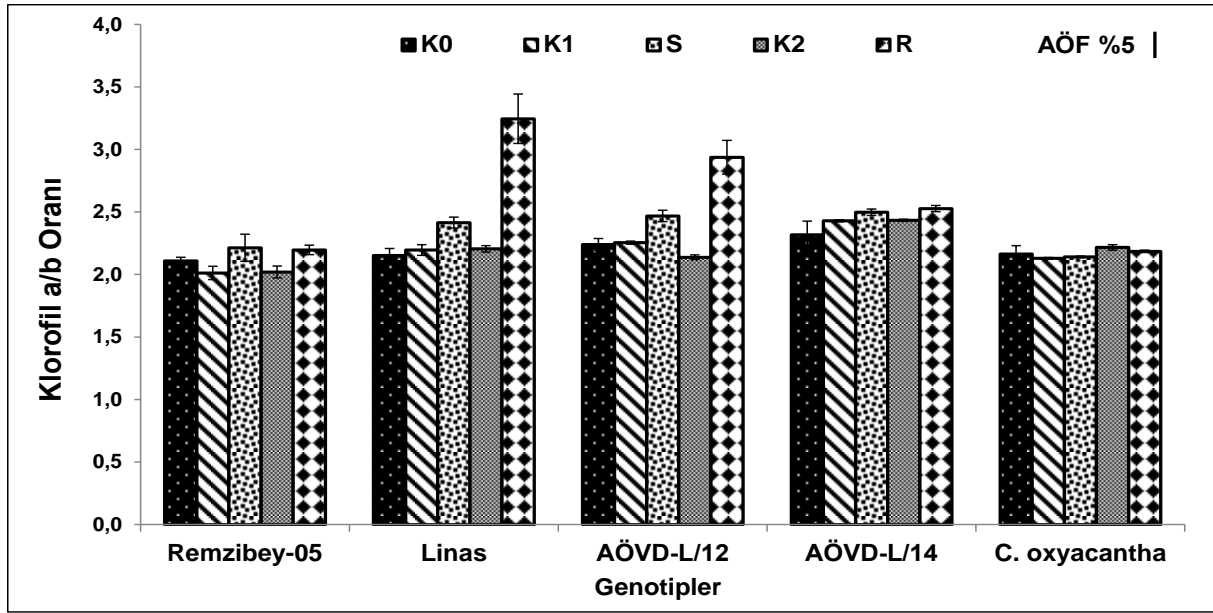
çeşit (Linas'da sırasıyla %10, %47 ve %34) ve hattaki (AÖVD-L/12'de sırasıyla %9, %37 ve %19) artışları istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Şekil 4.30).

K1 ve K2'de klorofil a/b oranının Remzibey-05 ile AÖVD-L/14 arasında farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.30). Stres grubunda genotipler arasındaki farklar istatistiksel açıdan önemli bulunmazken; yeniden sulama sürecinde Linas ve AÖVD-L/12 ile diğer genotipler arasındaki farkların önemli olduğu belirlenmiştir.

4.2.4.4. Toplam Klorofil Miktarı ve Stabilite İndeksi (KSI)

Hem kuraklık hem de yeniden sulama uygulamalarında aynı yaştaki kontrollerine göre yaprak dokularındaki toplam klorofil içeriğindeki azalış hassas genotipler olan Linas ve AÖVD-L/12'de anlamlıdır (Şekil 4.31). İyileşme sürecinde de toplam klorofil miktarındaki azalma eğilimi devam etmiştir (Linas'da S'de K1'e göre %31, R'de K2'ye göre %43 ve R'de S'ye göre %19; AÖVD-L/12'de S'de K1'e göre %46, R'de K2'ye göre %60 ve R'de S'ye göre %29).

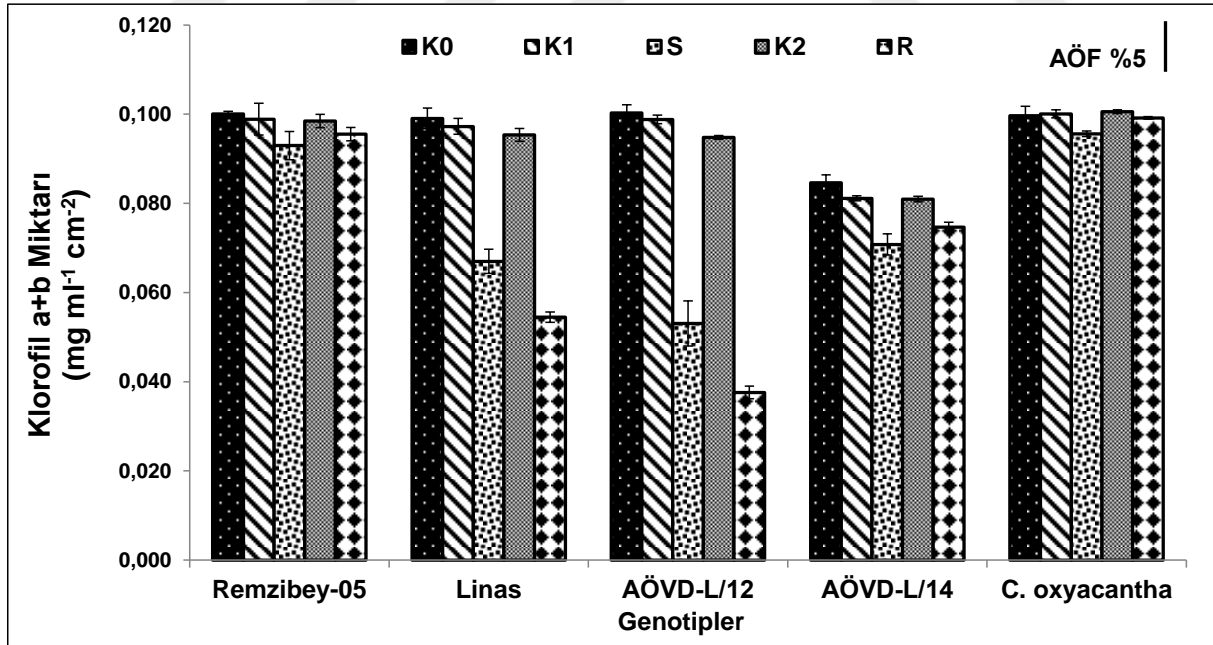
Tüm kuraklık uygulamalarında toplam klorofil miktarındaki farklılıklar sadece AÖVD-L/14 ve diğer genotipler arasında önemli bulunmuştur. Bu durum AÖVD-L/14'de



Şekil 4.30. Kuraklığın aspir genotiplerinde klorofil a/b oranı üzerine etkisi (n=3)

(K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, K1: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa maruz kalmış 47 günlük stres grubu bitkileri, K2: R grubunun 52 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri)

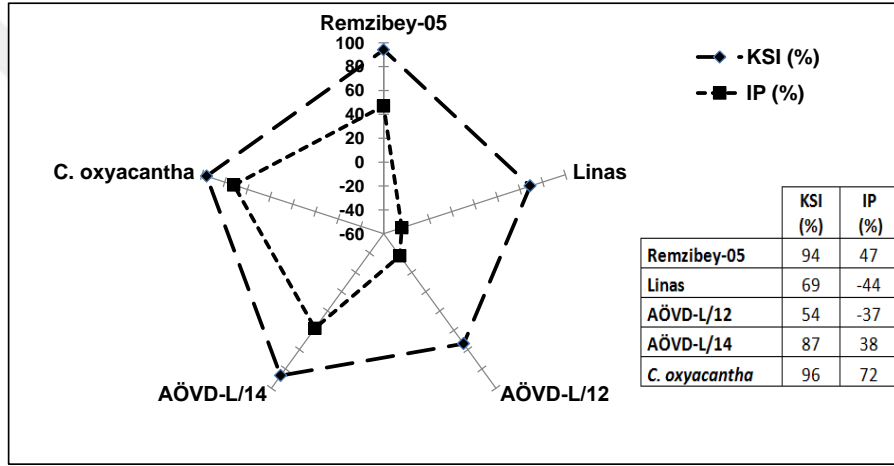
genetik olarak klorofil içeriğinin daha az olmasıyla ilişkilidir (Şekil 4.31). Stres koşullarında Remzibey-05 ve *C. oxyacantha* ile diğer genotipler; AÖVD-L/12 ile Linas



Şekil 4.31. Kuraklığın aspir genotiplerinde toplam klorofil miktarı üzerine etkisi (n=3)

(K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, K1: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa maruz kalmış 47 günlük stres grubu bitkileri, K2: R grubunun 52 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri)

ve AÖVD-L/14 arasındaki toplam klorofil içeriğindeki farklar ile; yeniden sulama koşullarında Remzibey-05 ve *C. oxyacantha* ile diğer genotipler; Linas, AÖVD-L/12 ve AÖVD-L/14'de birbirlerine göre farklarının anlamlı olduğu tespit edilmiştir. Kuraklık ve yeniden sulama periyotlarının, genotiplerin toplam klorofil miktarı üzerine etkisini belirlemek için klorofil stabilite indeksleri (KSI-%) ve iyileşme potansiyelleri (IP-%) hesaplanmıştır (Şekil 4.32). Genotipler KSI (%) değerlerine göre en yüksekten en düşüğe doğru *C. oxyacantha*, Remzibey-05, AÖVD-L/14, Linas ve AÖVD-L/12 olarak sıralanmıştır. IP (%) değerlerinde ise en yüksek değer *C. oxyacantha* ve Remzibey-05'de saptanırken, en düşük değerler hassas genotipler olan Linas ve AÖVD-L/12'den elde edilmiştir.

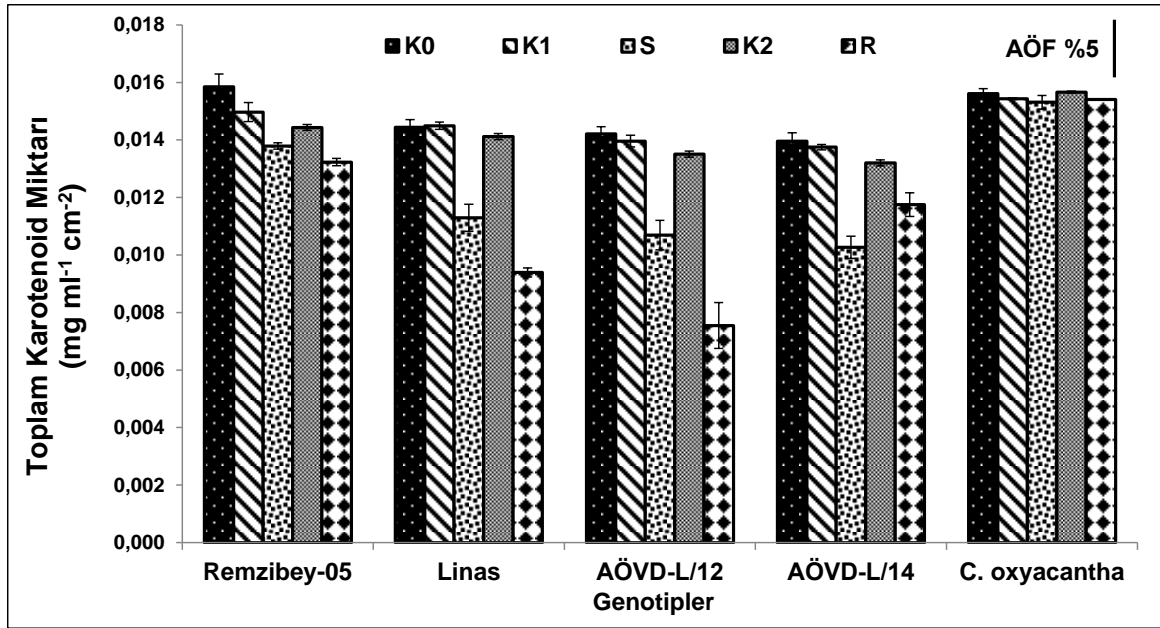


Şekil 4.32. Aspir genotiplerinde klorofil stabilite indeksleri ve iyileşme potansiyelleri

4.2.4.5. Toplam Karotenoid Miktarı

Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarının genotiplerin yaprak dokularındaki toplam karotenoid miktarları incelendiğinde (Şekil 4.33); hem stres hem de yeniden sulama bitkilerinde kendi kontrollerine göre karotenoid içeriği Linas (sırasıyla; %22 ve %33), AÖVD-L/12 (sırasıyla %23 ve %44) ve AÖVD-L/14'de (sırasıyla %25 ve %11) önemli düzeyde azalmıştır. İyileşme sürecinde ise stres uygulamasına göre karotenoid içeriğinde hassas genotiplerdeki azalış anlamlı bulunmuştur (Linas'da %17 ve AÖVD-L/12'de %29).

Tüm kuraklık uygulamalarında toplam karotenoid miktarındaki farklılıklar karşılaştırıldığında (Şekil 4.33); stres koşullarında Remzibey-05 ve *C. oxyacantha* ile diğer genotipler; yeniden sulama koşullarında ise Remzibey-05 ve AÖVD-L/14 ile



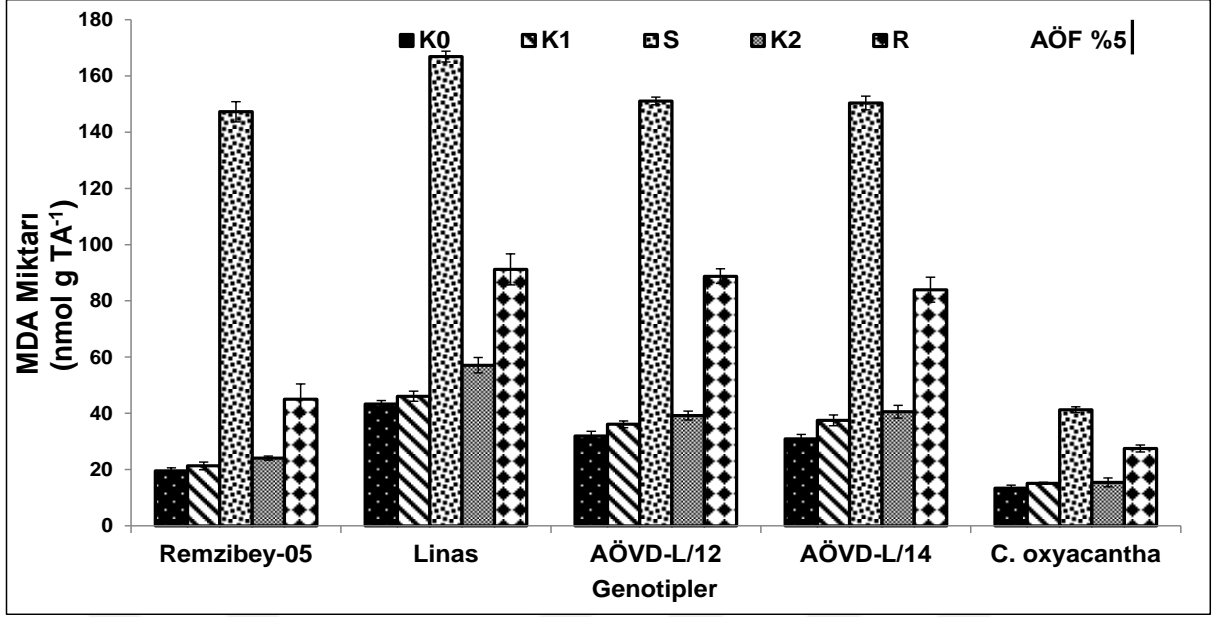
Şekil 4.33. Kuraklığın aspir genotiplerinde toplam karotenoid miktarı üzerine etkisi (n=3)

(K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, K1: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa maruz kalmış 47 günlük stres grubu bitkileri, K2: R grubunun 52 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri)

diğer genotipler; Linas, AÖVD-L/12 ve *C. oxyacantha*'da birbirlerine göre farkların istatistiksel açıdan anlamlı olduğu saptanmıştır.

4.2.4.6. Malondialdehit (MDA) Miktarı

Kontrol yapraklarındaki MDA miktarı yaşlanmaya (K0 ile K2 arasında 12 gün fark) bağlı olarak sadece Linas'da anlamlı olarak artmıştır (Şekil 4.34). Kuraklık uygulamasında kontrole göre tüm genotiplerde, yeniden sulama sürecinde ise kontrolüne göre *C. oxyacantha* hariç diğer genotiplerde MDA miktarı önemli düzeyde artmıştır. Streste kendi kontrolüne göre Remzibey-05'de 6.9, Linas'da 3.6, AÖVD-L/12'de 4.2, AÖVD-L/14'de 4 ve *C. oxyacantha*'da 2.7 kat; yeniden sulamada ise kendi kontrolüne göre Remzibey-05'de 1.9, Linas'da 1.6, AÖVD-L/12'de 2.3 ve AÖVD-L/14'de 2.1 kat MDA biriktirmiştir. Buna karşın, yeniden sulama uygulamasında genotipler MDA miktarını önemli düzeyde azaltarak iyileşme göstermiştir (Remzibey-05'de %69, Linas'da %45, AÖVD-L/12'de %41, AÖVD-L/14'de %44 ve *C. oxyacantha*'da %33 oranında azalış).



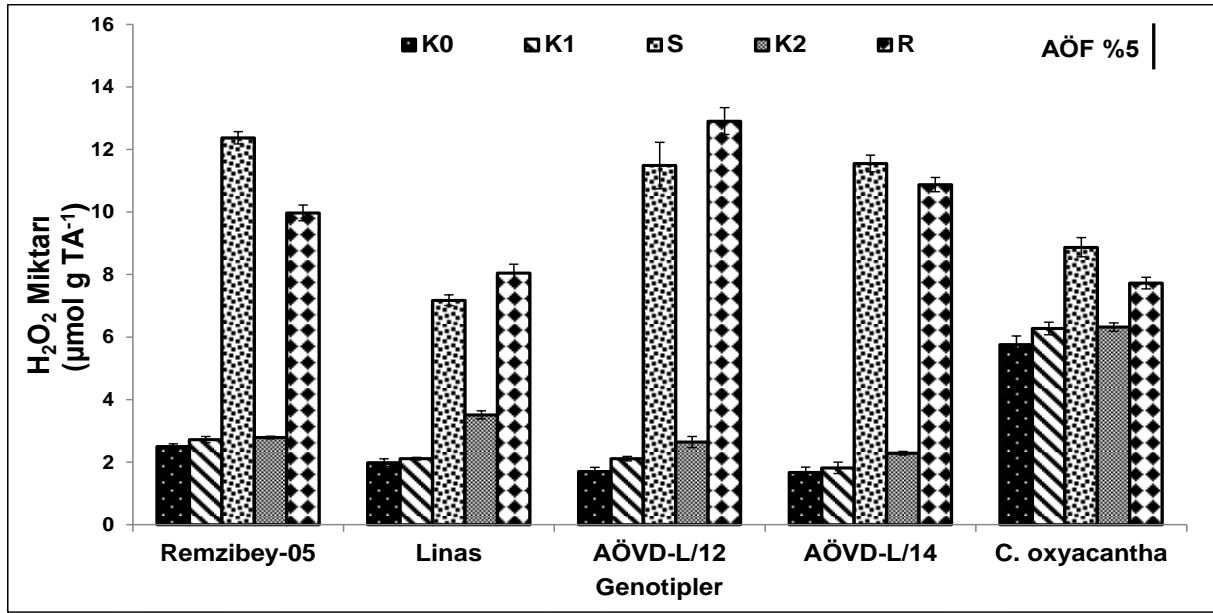
Şekil 4.34. Kuraklığın aspir genotiplerinde MDA miktarı üzerine etkisi (n=3)

(K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, K1: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa maruz kalmış 47 günlük stres grubu bitkileri, K2: R grubunun 52 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri)

Kontrol gruplarında genotiplerin MDA miktarındaki farklılıklar incelendiğinde (Şekil 4.34); K0 uygulamasında Remzibey-05 ile Linas; *C. oxyacantha* ile Remzibey-05 hariç diğer genotipler; K1 ve K2'de Remzibey-05 ve *C. oxyacantha* ile diğer genotipler; K2'de Linas ile AÖVD-L/12 ve AÖVD-L/14 arasındaki farklar istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. Stres grubunda Linas ile diğer genotipler ve *C. oxyacantha* ile diğer genotipler; yeniden sulanan grubunda Remzibey-05 ile diğer genotipler ve *C. oxyacantha* ile diğer genotipler arasındaki farkların önemli olduğu belirlenmiştir.

4.2.4.7. Hidrojen peroksit (H₂O₂) Miktarı

Genotiplerin kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarında yapraklardaki H₂O₂ miktarı karşılaştırıldığında hem kuraklıkta hem de yeniden sulama uygulamasında aynı yaştaki kontrollerine göre H₂O₂ tüm genotiplerde önemli düzeyde birikmiş ve S'de K1'e göre H₂O₂ miktarındaki artışlar Remzibey-05'de 4.5, Linas'da 3.4, AÖVD-L/12'de 5.5, AÖVD-L/14'de 6.4 ve *C. oxyacantha*'da 1.4 kat iken, R'de K2'ye göre Remzibey-05'de 3.6, Linas'da 2.3, AÖVD-L/12'de 4.9, AÖVD-L/14'de 4.8 ve *C. oxyacantha*'da 1.2 kattır (Şekil 4.35). İyileşme sürecinde strese göre H₂O₂ miktarı Remzibey-05'de anlamlı düzeyde azalırken (%19), AÖVD-L/12'de önemli düzeyde artmıştır (%12).



Şekil 4.35. Kuraklığın aspir genotiplerinde H₂O₂ miktarı üzerine etkisi (n=3)

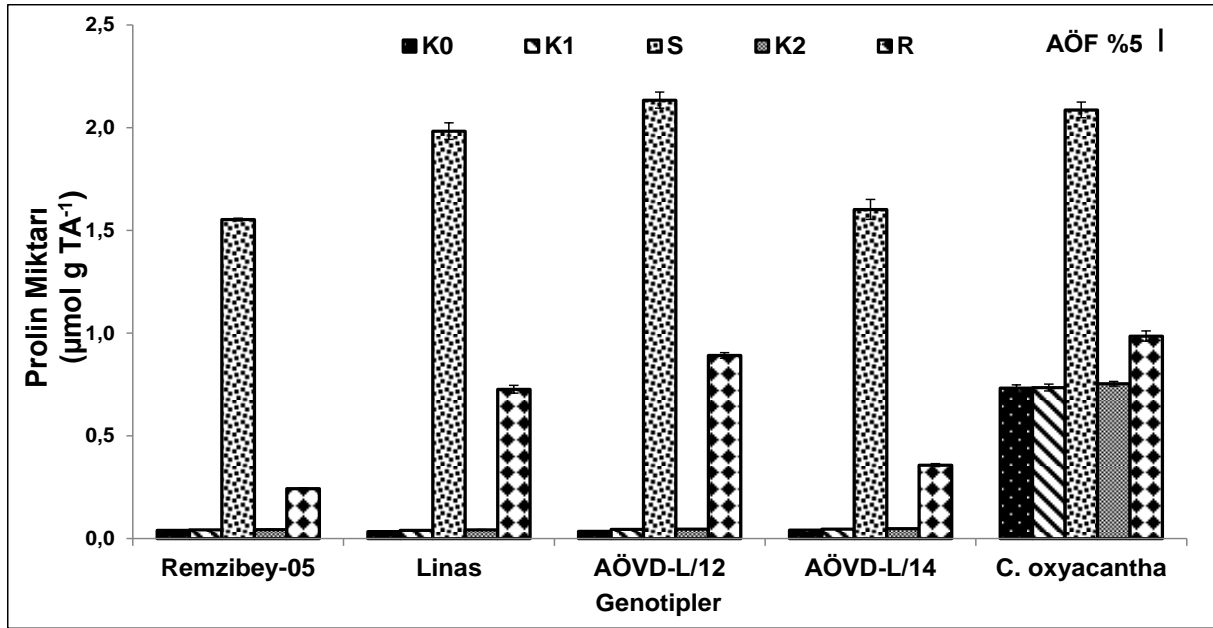
(K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, K1: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa maruz kalmış 47 günlük stres grubu bitkileri, K2: R grubunun 52 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri)

Tüm kontrol gruplarında *C. oxyacantha* ile diğer genotipler arasında H₂O₂ miktarındaki farklılığın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu tespit edilmiştir. Kuraklık uygulamasında Linas ile diğer genotipler ve *C. oxyacantha* ile diğer genotipler arasındaki farklılıkların önemli olduğu belirlenmiştir. İyileşme grubunda ise Remzibey-05 ve AÖVD-L/14 ile diğer genotipler, Linas ve *C. oxyacantha* ile diğer genotipler ve AÖVD-L/12 ile AÖVD-L/14 arasındaki farkların anlamlı olduğu saptanmıştır (Şekil 4.35).

4.2.4.8. Prolin Miktarı

Aynı yaştaki kontrol gruplarına göre, hem kuraklık hem de yeniden sulama uygulamalarında prolin düzeyi tüm genotiplerde önemli oranda artmıştır (Şekil 4.36). S'de K1'e göre prolin birikiminde en fazla artış 49.5 kat ile Linas'da, en az artış ise 2.8 kat ile *C. oxyacantha*'da saptanmıştır. R'de K2'ye göre prolin miktarındaki en fazla artış 19.1 kat ile AÖVD-L/12'de, en az artış ise 1.3 kat ile *C. oxyacantha*'da belirlenmiştir. Bununla birlikte, yeniden sulama sürecinde prolin miktarları tüm genotiplerde önemli düzeyde azalmıştır (Remzibey-05'de %84, Linas'da %63, AÖVD-L/12'de %58, AÖVD-L/14'de %78 ve *C. oxyacantha*'da %53 oranında azalış).

Tüm kontrol gruplarında prolin düzeyindeki değişimlerin *C. oxyacantha* ile diğer genotipler arasında istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir. Stres grubunda



Şekil 4.36. Kuraklığın aspir genotiplerinde prolin miktarı üzerine etkisi (n=3)

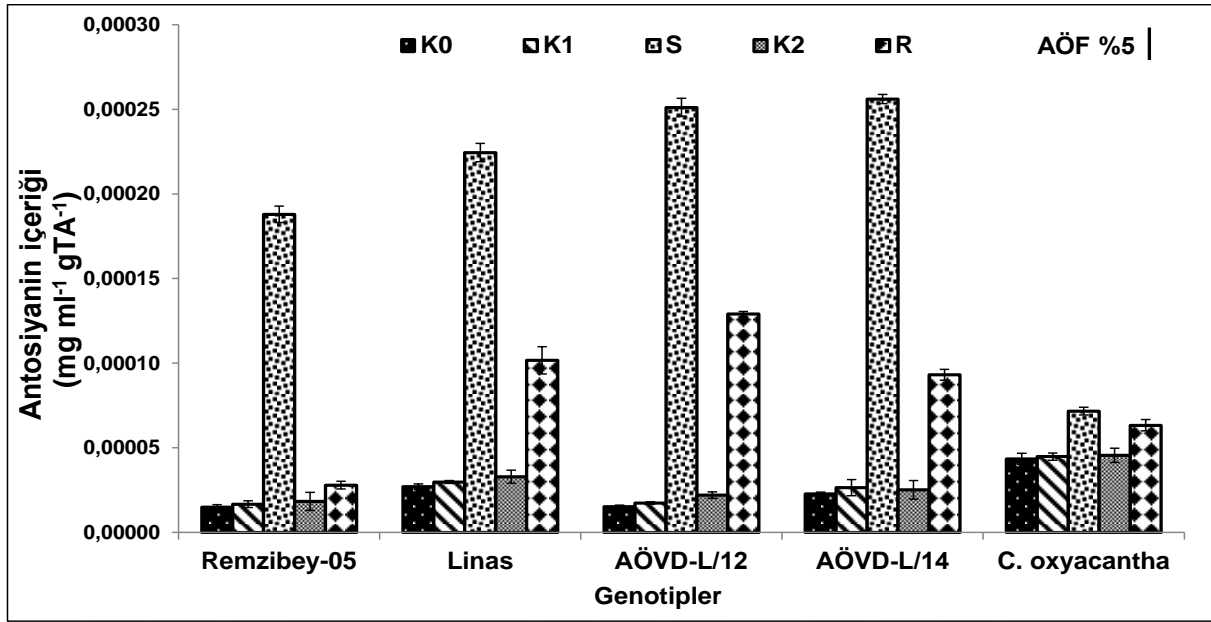
(K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, K1: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa maruz kalmış 47 günlük stres grubu bitkileri, K2: R grubunun 52 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri)

Remzibey-05 ve AÖVD-L/14 ile diğer genotipler, Linas ile AÖVD-L/12 ve *C. oxyacantha* ve AÖVD-L/14 ile *C. oxyacantha* arasındaki farkların önemli olduğu belirlenmiştir. Yeniden sulama uygulamasında ise AÖVD-L/12 ve *C. oxyacantha* ile diğer genotipler ve Remzibey-05, Linas ve AÖVD-L/14'nin birbirlerine göre arasındaki farkların önemli olduğu saptanmıştır (Şekil 4.36).

4.2.4.9. Antosiyanin İçeriği

Genotiplerin kuraklık uygulamasında kendi kontrollerine göre antosiyanin içeriği tüm genotiplerde önemli düzeyde artmış ve bu artışlar Remzibey-05'de 11.3 kat, Linas'da 7.5 kat, AÖVD-L/12'de 14.4 kat, AÖVD-L/14'de 9.7 ve *C. oxyacantha*'da 1.6 kattır (Şekil 4.37). İyileşme uygulamasında ise aynı yaştaki kontrollerine göre antosiyanin içeriği Remzibey-05 ve *C. oxyacantha* hariç diğer genotiplerde önemli düzeyde artmış ve en fazla artış 5.9 kat ile AÖVD-L/12'de saptanmıştır. Ayrıca, yeniden sulama sürecinde strese göre antosiyanin birikimindeki azalış *C. oxyacantha* hariç diğer genotipler için anlamlıdır (Remzibey-05'de %85, Linas'da %55, AÖVD-L/12'de %49 ve AÖVD-L/14'de %64 oranında azalış).

Tüm kontrol gruplarında genotiplerin antosiyanin içeriğindeki farklılıklar karşılaştırıldığında, *C. oxyacantha* ile Remzibey-05, AÖVD-L/12 ve AÖVD-L/14 arasındaki farklılığın istatistiksel açıdan önemli olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.37).



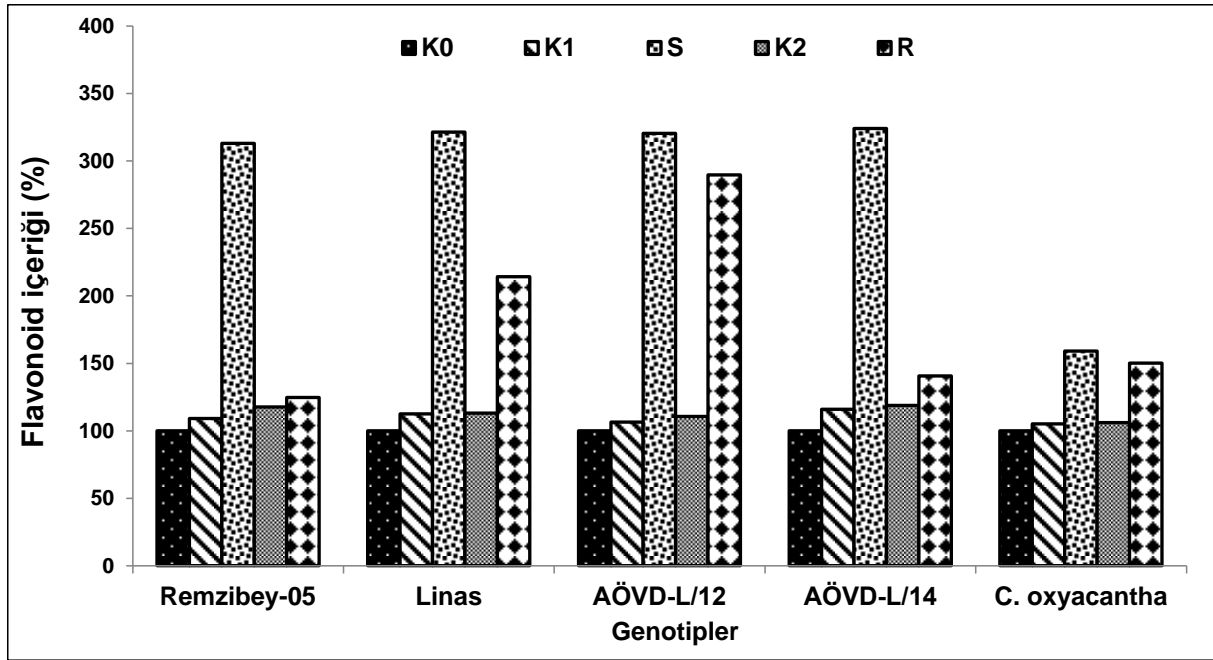
Şekil 4.37. Kuraklığın aspir genotiplerinde antosiyanin içeriği üzerine etkisi (n=3)

(K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, K1: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa maruz kalmış 47 günlük stres grubu bitkileri, K2: R grubunun 52 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri)

Kuraklıkta Remzibey-05 ile diğer genotipler, *C. oxyacantha* ile Linas, AÖVD-L/12 ve AÖVD-L/14 ve Linas ile AÖVD-L/12 ve AÖVD-L/14 arasındaki farklar önemli düzeydedir. İyileşme uygulamasında ise Remzibey-05 ile diğer genotipler, *C. oxyacantha* ile Linas, AÖVD-L/12 ve AÖVD-L/14 ve AÖVD-L/12 ile Linas ve AÖVD-L/14 arasındaki farklar istatistiksel açıdan önemlidir.

4.2.4.10. Flavonoid İçeriği

Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarında genotiplerin kontrol grupları (K0, K1 ve K2) arasında flavonoid içeriği zamana bağlı olarak artmıştır (Şekil 4.38). En fazla artış hem K1'de K0'a göre hem de K2'de K0'a göre AÖVD-L/14'de meydana gelmiştir (K1'de K0'a göre %16 artış, K2'de K0'a göre %19 artış). Stres grubu bitkilerinde kendi kontrolüne göre flavonoid içeriği Remzibey-05'de %187, Linas'da %186, AÖVD-L/12'de %201, AÖVD-L/14'de %179 ve *C. oxyacantha*'da %52 oranında artmıştır. Bu etki yeniden sulama grubu bitkilerinde ise Remzibey-05'de %6, Linas'da %89, AÖVD-L/12'de %162, AÖVD-L/14'de %18 ve *C. oxyacantha*'da %41 oranındadır. Ancak, yeniden sulama uygulamasında strese göre flavonoid içeriği tüm genotiplerde azalmış ve en fazla azalış %60 oranında Remzibey-05'de, en az azalış ise %6 oranında *C. oxyacantha*'da tespit edilmiştir.



Şekil 4.38. Kuraklığın aspir genotiplerinde flavonoid içeriği üzerine etkisi (n=3)

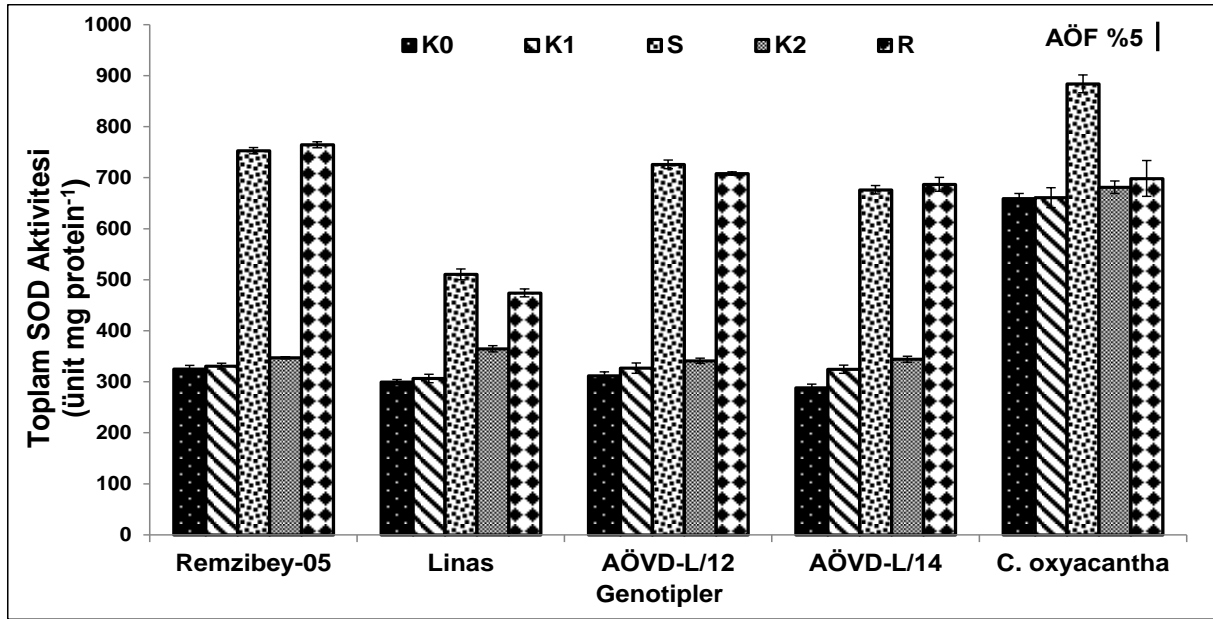
(K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, K1: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa maruz kalmış 47 günlük stres grubu bitkileri, K2: R grubunun 52 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri)

4.2.5. Kuraklık ve Yeniden Sulama Sürecinin Genotiplerin Yapraklarındaki Enzimatik Antioksidan Savunma Sistemleri Üzerine Etkisi

4.2.5.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi

Toplam SOD enzim aktivitesi kontroller arasında sadece Linas'da K2'de K0'a göre (%22 oranında artış); önemli düzeyde artmıştır (Şekil 4.39). Streste aynı yaştaki kontrolüne göre tüm genotiplerde; yeniden sulama uygulamasında ise kendi kontrolüne göre *C. oxyacantha* hariç diğer genotiplerde toplam SOD enzim aktivitesi önemli düzeyde artmış ve her iki grupta en fazla artış Remzibey-05'de tespit edilmiştir (S'de K1'e göre 2.3 kat, R'de K2'ye göre 2.2 kat artış). Ayrıca, yeniden sulama döneminde ise strese göre tüm genotiplerde toplam SOD enzim aktivitesindeki değişim sadece *C. oxyacantha*'da istatistiksel açıdan anlamlı düzeydedir (%21 oranında azalış).

Toplam SOD enzim aktivitesi bakımından tüm kontrol gruplarında genotipler arasındaki farklar karşılaştırıldığında; *C. oxyacantha* ile diğer genotipler arasındaki farklılığın istatistiksel açıdan önemli olduğu saptanmıştır (Şekil 4.39). Hem stres hem de yeniden sulama uygulamalarında Remzibey-05 ile Linas, AÖVD-L/14 ve *C. oxyacantha* ve Linas ile AÖVD-L/12, AÖVD-L/14 ve *C. oxyacantha* arasındaki farklar



Şekil 4.39. Kuraklığın aspir genotiplerinde toplam SOD enzim aktivitesi üzerine etkisi (n=3)

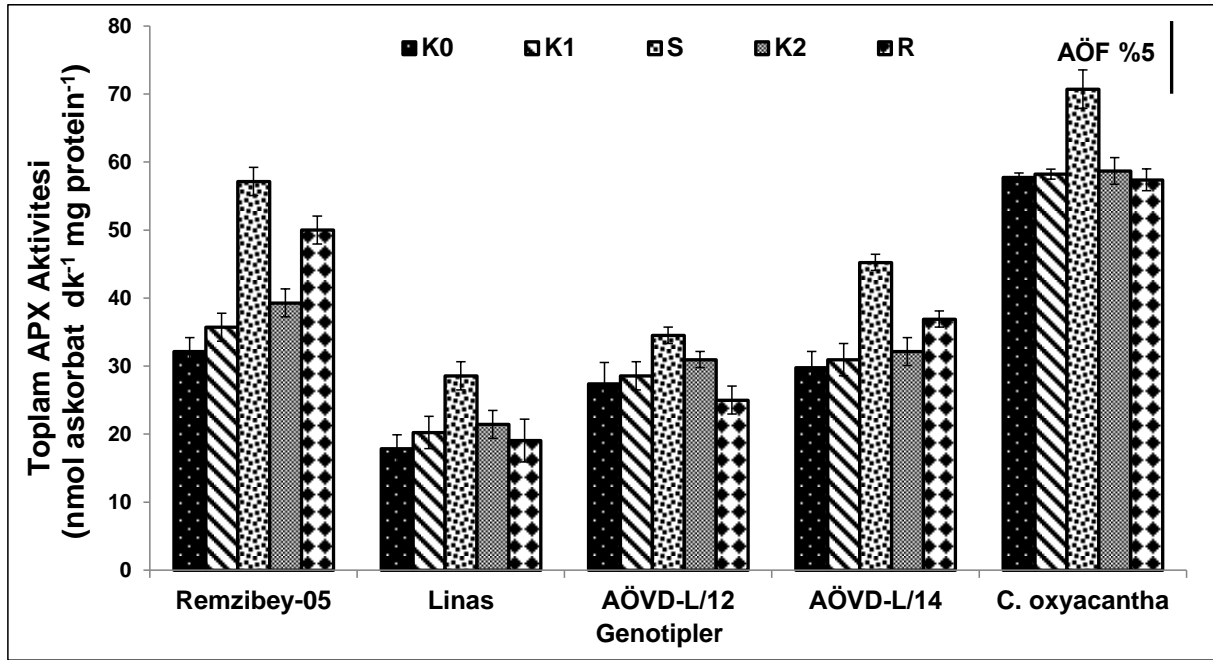
(K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, K1: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa maruz kalmış 47 günlük stres grubu bitkileri, K2: R grubunun 52 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri)

önemli düzeydedir. Bununla birlikte, streste *C. oxyacantha* ile AÖVD-L/12 ve AÖVD-L/14 arasındaki farkların da istatistiksel açıdan anlamlı olduğu belirlenmiştir.

4.2.5.2. Askorbat Peroksidaz (APX) Aktivitesi

Kuraklıkta kendi kontrol grubuna göre toplam APX enzim aktivitesinin Remzibey-05 (%60 oranında artış), AÖVD-L/14 (%46 oranında artış) ve *C. oxyacantha*'da (%21 oranında artış) önemli düzeyde arttığı belirlenmiştir. Bununla birlikte, yeniden sulama uygulamasında kendi kontrolüne göre tüm genotiplerde; strese göre ise *C. oxyacantha* hariç diğer genotiplerdeki değişimlerin önemli olmadığı saptanmıştır (Şekil 4.40).

Toplam APX enzim aktivitesi yönünden kontrol gruplarında genotipler arasındaki farklar incelendiğinde; *C. oxyacantha* ile diğer genotipler arasındaki fark ile Remzibey-05 ile Linas, arasındaki değişimler istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur (Şekil 4.40). Kuraklıkta Remzibey-05 ile diğer genotipler, *C. oxyacantha* ile Linas, AÖVD-L/12 ve AÖVD-L/14 ve Linas ile AÖVD-L/14 arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli düzeydedir. Bunun yanısıra, yeniden sulama periyodunda Remzibey-



Şekil 4.40. Kuraklığın aspir genotiplerinde toplam APX enzim aktivitesi üzerine etkisi (n=3)

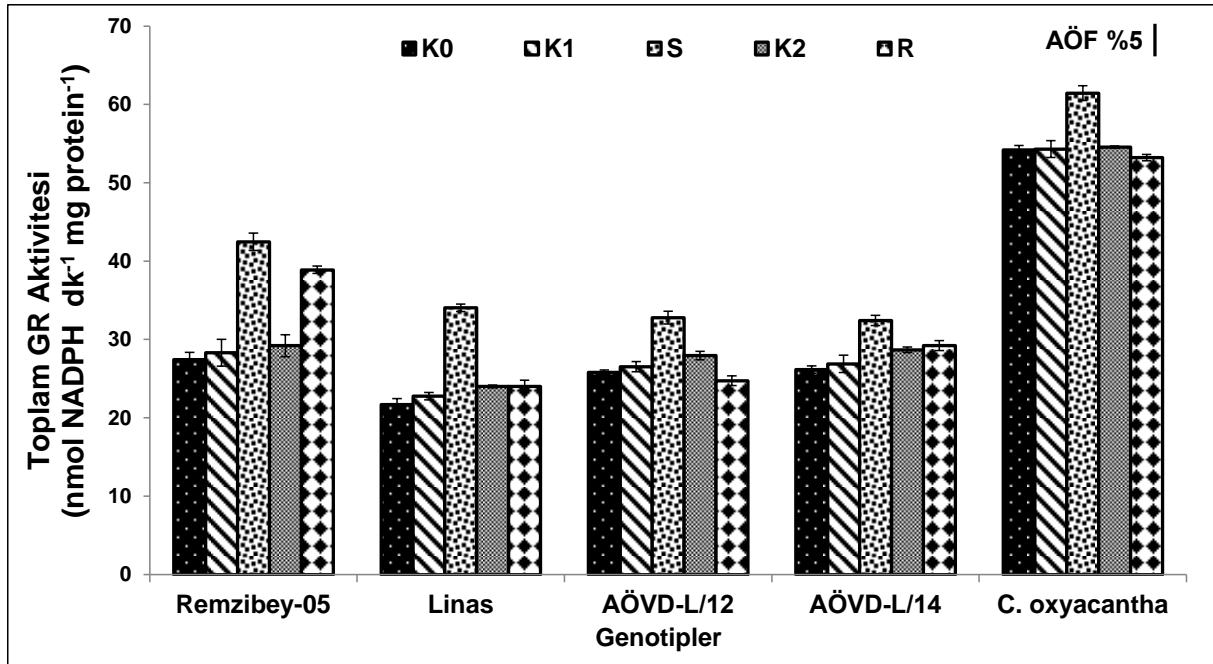
(K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, K1: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa maruz kalmış 47 günlük stres grubu bitkileri, K2: R grubunun 52 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri)

05 ve *C. oxyacantha* ile Linas, AÖVD-L/12 ve AÖVD-L/14, AÖVD-L/14 ile Linas ve AÖVD-L/12 arasındaki farklar istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur.

4.2.5.3. Glutasyon Redüktaz (GR) Aktivitesi

Toplam GR enzim aktivitesi stres uygulamasında aynı yaştaki kontrollerine göre Remzibey-05'de %50, Linas'da %50, AÖVD-L/12'de %24, AÖVD-L/14'de %21 ve *C. oxyacantha*'da %13 oranında artış göstermiştir (Şekil 4.41). Yeniden sulamada ise kendi kontrollerine göre toplam GR enzim aktivitesi sadece Remzibey-05'de önemli düzeyde artmıştır (%33). Ancak, toplam GR enzim aktivitesi yeniden sulamada strese göre Linas (%29), AÖVD-L/12 (%25) ve *C. oxyacantha* (%13)'da anlamlı düzeyde azalarak yaklaşık kontrol seviyesine gelmiştir.

Toplam GR enzim aktivitesi bakımından kontrol gruplarında genotipler arasındaki farklar incelendiğinde; tüm kontrol gruplarında *C. oxyacantha* ile diğer genotipler arasındaki fark ile K0'da Remzibey-05 ile Linas ve AÖVD-L/14; K1'de ise Remzibey-05 ile Linas arasındaki değişimler anlamlı bulunmuştur (Şekil 4.41). Hem stres hem de yeniden sulama uygulamalarında Remzibey-05 ile diğer genotipler; *C. oxyacantha* ile Linas, AÖVD-L/12 ve AÖVD-L/14 arasındaki farklar ile yeniden sulama



Şekil 4.41. Kuraklığın aspir genotiplerinde toplam GR enzim aktivitesi üzerine etkisi (n=3)

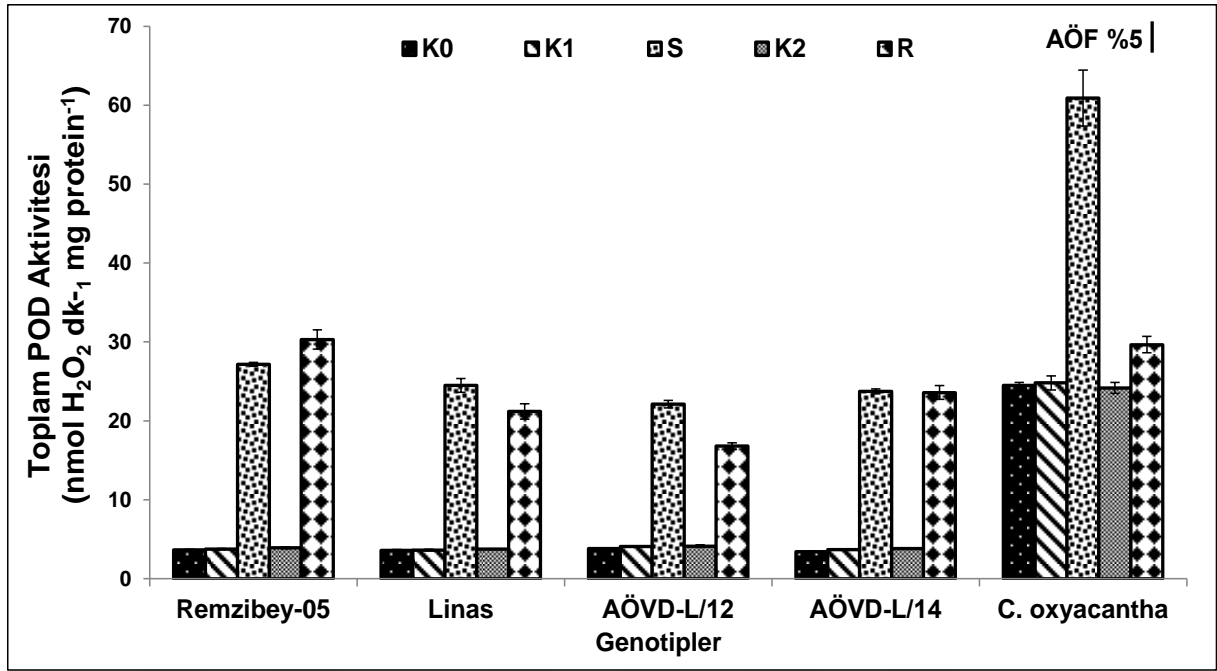
(K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, K1: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa maruz kalmış 47 günlük stres grubu bitkileri, K2: R grubunun 52 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri)

uygulamasında AÖVD-L/14 ile Linas ve AÖVD-L/12 arasındaki farkların da önemli olduğu tespit edilmiştir.

4.2.5.4. Peroksidaz (POD) Aktivitesi

Kontrol koşullarında (K0, K1 ve K2) *C. oxyacantha*'nın toplam POD aktivitesinin diğer genotiplerin POD aktivitesine göre çok daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Hem kuraklıkta hem de yeniden sulamada kendi kontrollerine göre toplam POD enzim aktivitesi tüm genotiplerde önemli düzeyde artmış ve en fazla artış Remzibey-05'de (S'de K1' göre 7.3 kat, R'de K2'ye göre 7.8 kat artış) belirlenmiştir. İyileşmede ise stres bitkilerine göre toplam POD enzim aktivitesindeki azalış AÖVD-L/12 (%24) ve *C. oxyacantha* (%51)'da anlamlı bulunmuştur (Şekil 4.42).

Tüm kontroller grupları ile kuraklık uygulamalarında genotiplerdeki toplam POD enzim aktivitesindeki farklar karşılaştırıldığında; *C. oxyacantha* ile diğer genotipler arasındaki farklılığın istatistiksel açıdan önemli olduğu saptanmıştır (Şekil 4.42). Ayrıca Kuraklık uygulamasına ait stres grubunda Remzibey-05 ile AÖVD-L/12 arasındaki farklar önemli bulunurken; yeniden sulama grubunda ise Remzibey-05 ve



Şekil 4.42. Kuraklığın aspir genotiplerinde toplam POD enzim aktivitesi üzerine etkisi (n=3)

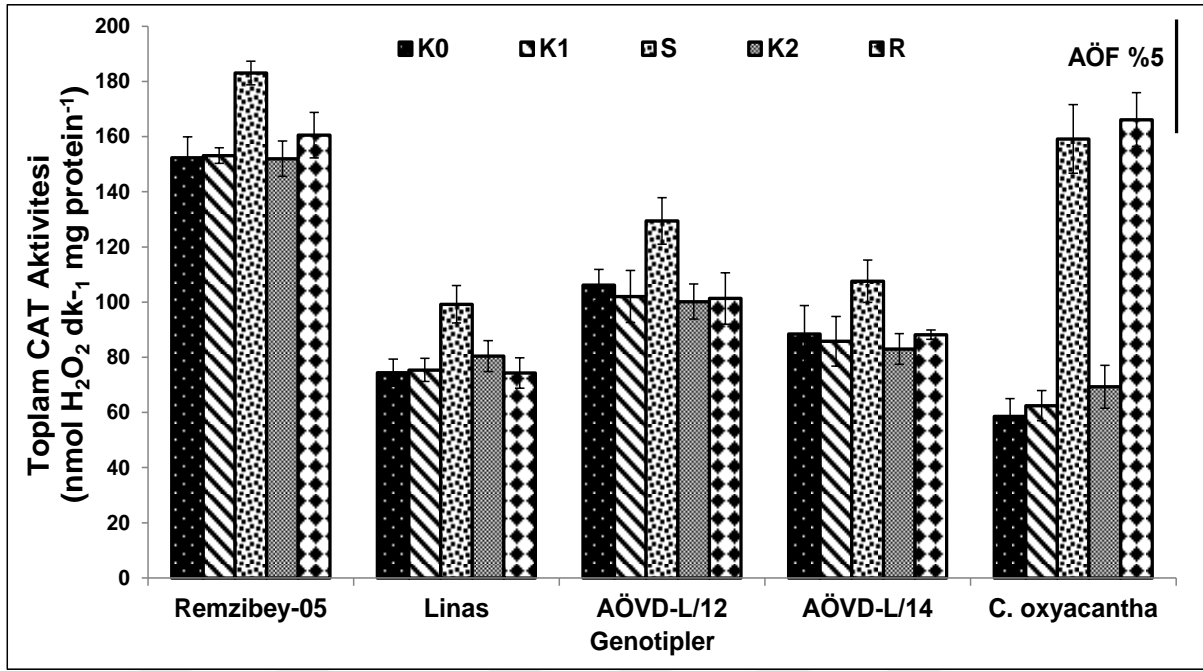
(K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, K1: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa maruz kalmış 47 günlük stres grubu bitkileri, K2: R grubunun 52 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri)

C. oxyacantha ile diğer genotipler; AÖVD-L/12 ile AÖVD-L/14 arasındaki farkların önemli olduğu belirlenmiştir.

4.2.5.5. Katalaz (CAT) Aktivitesi

Kendi kontrollerine göre hem stres hem de yeniden sulama grubunda toplam CAT enzim aktivitesi sadece *C. oxyacantha*'da (S'de K1'e göre 1.6 kat, R'de K2'ye göre 1.4 kat) istatistiksel olarak önemli düzeyde artmıştır. Yeniden sulamada kuraklığa göre tüm genotiplerde toplam CAT enzim aktivitesindeki değişimler istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (Şekil 4.43).

Toplam CAT enzim aktivitesi bakımından kontrol gruplarında genotipler arasındaki farklar incelendiğinde; tüm kontrol gruplarında Remzibey-05 ile diğer genotipler arasındaki CAT enzim aktivitesindeki farklar ile K1'de *C. oxyacantha* ile AÖVD-/12 arasındaki farklar önemli bulunmuştur (Şekil 4.43). Stres grubunda Remzibey-05 ile *C. oxyacantha* hariç diğer genotipler; *C. oxyacantha* ile Linas ve AÖVD-L/14 arasındaki farklar önemli bulunmuştur. İyileşme grubunda ise Remzibey-05 ve *C. oxyacantha* ile diğer genotipler arasındaki değişimlerin önemli olduğu saptanmıştır.



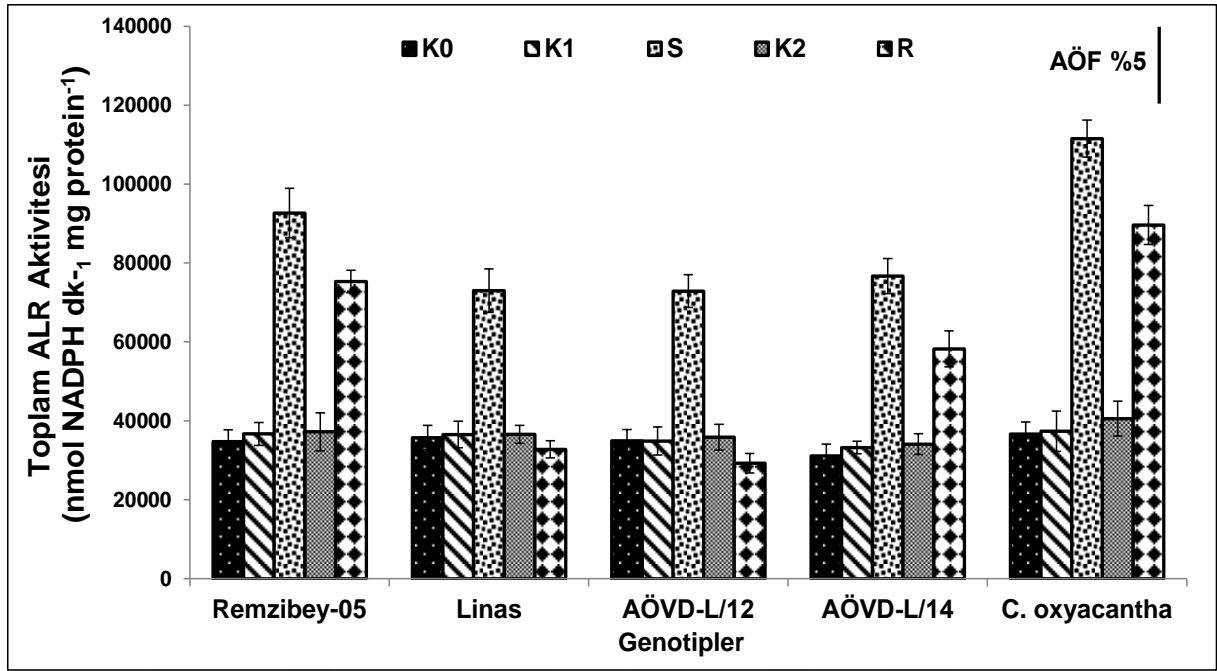
Şekil 4.43. Kuraklığın aspir genotiplerinde toplam CAT enzim aktivitesi üzerine etkisi (n=3)

(K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, K1: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa maruz kalmış 47 günlük stres grubu bitkileri, K2: R grubunun 52 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri)

4.2.5.6. Aldoz Redüktaz (ALR) Aktivitesi

ALR enzim aktivitesi kuraklıkta kendi kontrollerine göre Remzibey-05'de %153, Linas'da %100, AÖVD-L/12'de %109, AÖVD-L/14'de %131 ve *C. oxyacantha*'da %199 oranında olmak üzere önemli düzeyde artmıştır. Yeniden sulanan bitkilerde ise aynı yaştaki kontrollerine göre ALR enzim aktivitesi Remzibey-05 (%102), AÖVD-L/14 (%71) ve *C. oxyacantha* (%121)'da önemli düzeyde artarken; diğer 2 genotipte önemli düzeyde azalmıştır. Yeniden sulamada strese göre ALR enzim aktivitesindeki azalış Linas (%55), AÖVD-L/12 (%60) ve *C. oxyacantha* (%20)'da anlamlı bulunmuştur (Şekil 4.44).

Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarında genotiplerdeki toplam ALR enzim aktivitesindeki farklar karşılaştırıldığında; hem kuraklık hemde yeniden sulama koşullarında *C. oxyacantha* ile diğer genotipler arasındaki farkların önemli olduğu belirlenmiştir. Bunun yanısıra, yeniden sulama grubunda Remzibey-05 ve AÖVD-L/14 ile Linas ve AÖVD-L/12 arasındaki farklar önemlidir.



Şekil 4.44. Kuraklığın aspir genotiplerinde toplam ALR enzim aktivitesi üzerine etkisi (n=3)

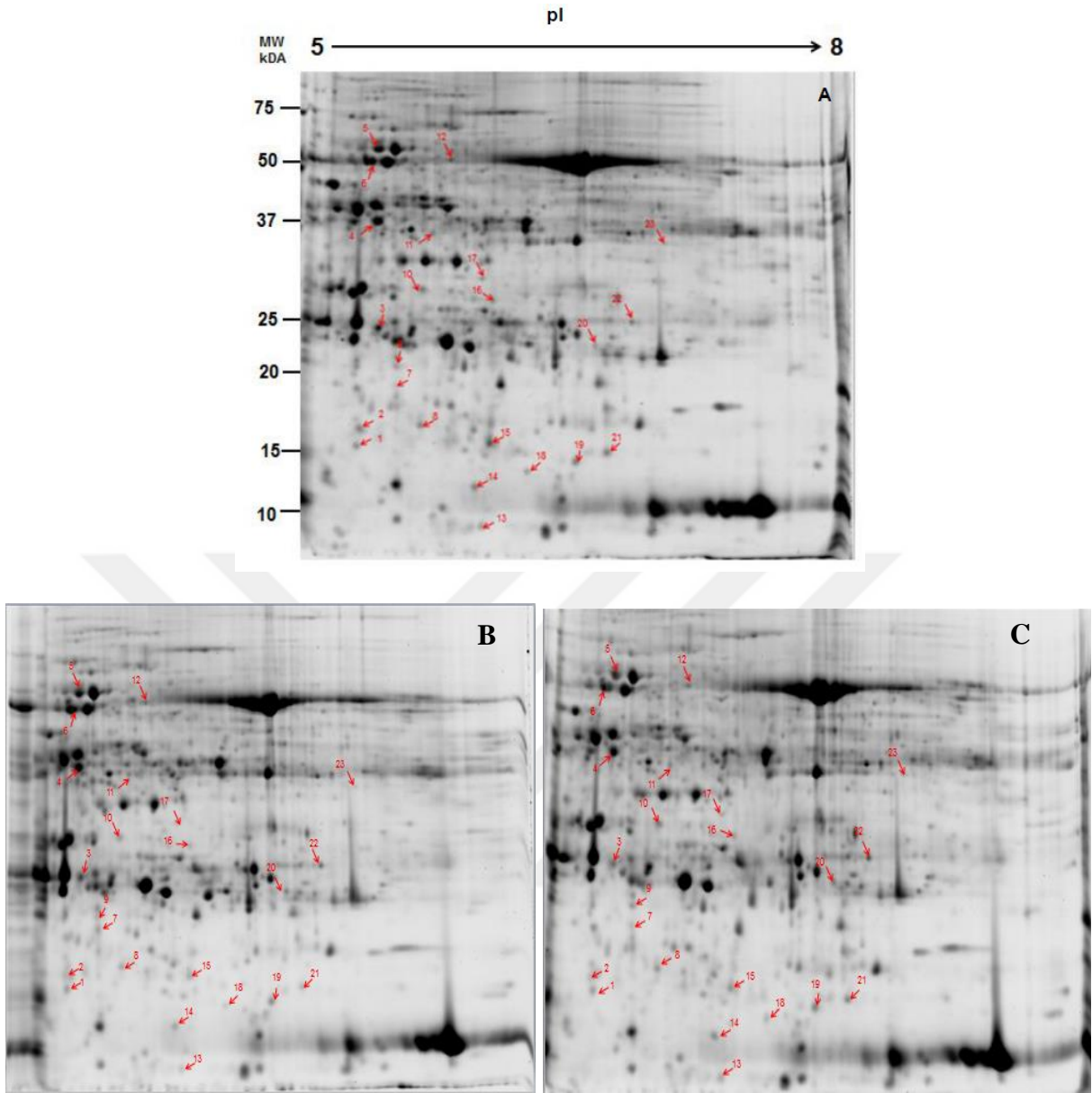
(K0: Kuraklık uygulamasının başlatıldığı 40 günlük bitkiler, K1: Kuraklığa maruz kalan stres grubuna ait 47 günlük kontrol bitkileri, S: 40 gün kontrol koşulları + 7 gün kuraklığa maruz kalmış 47 günlük stres grubu bitkileri, K2: R grubunun 52 günlük kontrol bitkileri, R: S kuraklık uygulamasını takiben 5 gün yeniden sulanan 52 günlük yeniden sulama grubu bitkileri)

Tezin bu aşamasında; kuraklığa dayanıklılığın karakterizasyonu, seleksiyon aşamasından seçilen genotipler ile yabancı aspir türü olan *Carthamus oxyacantha*'da şiddetli kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarının etkisi morfolojik, fizyolojik, fotosentetik, biyokimyasal ve antioksidan enzim aktiviteleri analizleri ile ortaya konulmuştur.

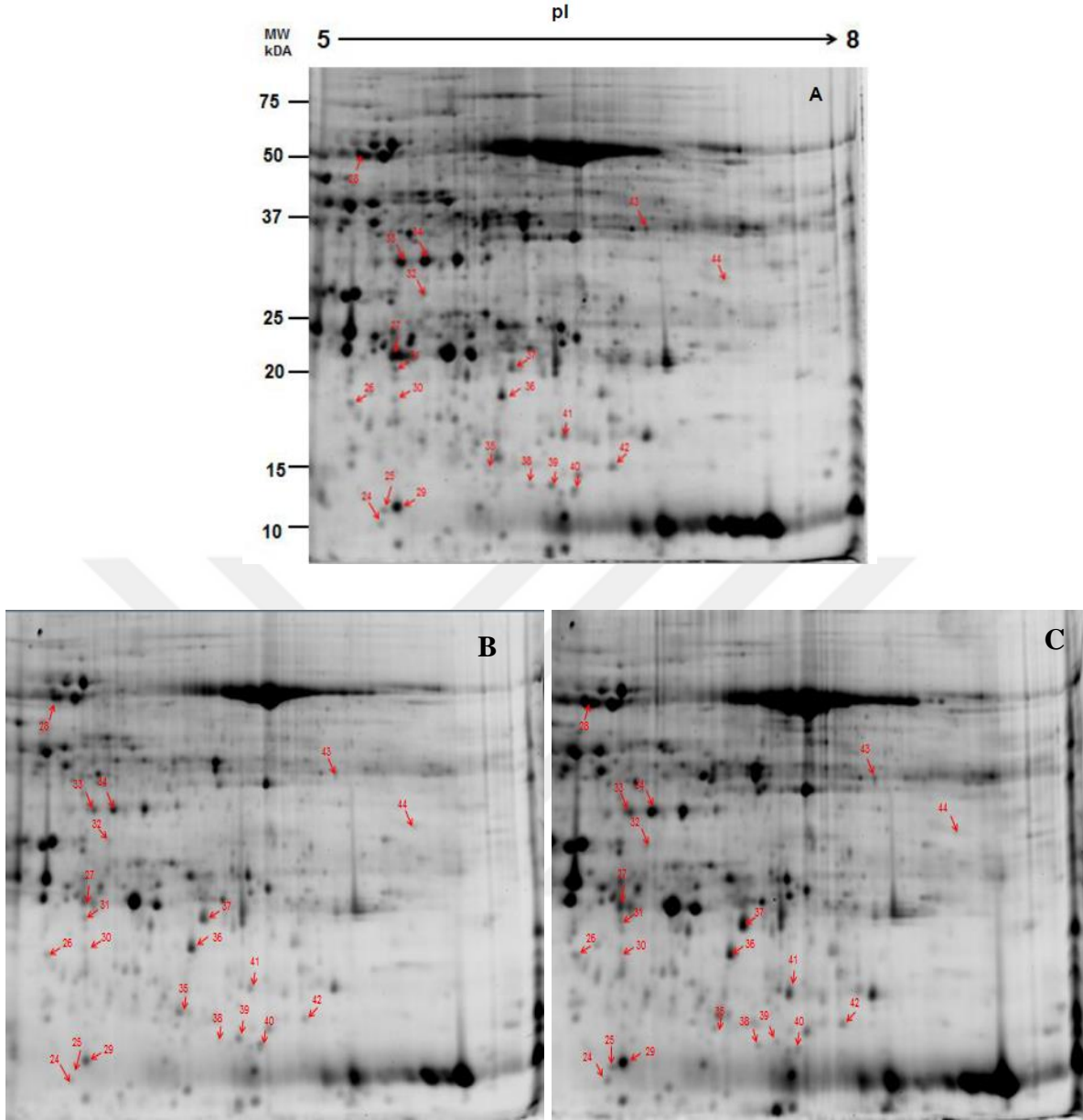
Genotiplerde kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarında meydana gelen değişimlerin ayrıntılı analizleriyle elde edilen bulgulara göre; yabancı aspir türü dışındaki diğer genotipler arasında en dayanıklı genotip Remzibey-05, dayanıklı genotip AÖVD-L/14, hassas genotipler ise Linas ve AÖVD-L/12 olarak karakterize edilmiştir. Bir sonraki aşamada proteomik analizlerinin yapılması için *Carthamus oxyacantha* ile birlikte bir dayanıklı (Remzibey-05) ve bir hassas genotip (Linas) belirlenmiştir.

4.3. Proteomik Aşamasından Elde Edilen Bulgular

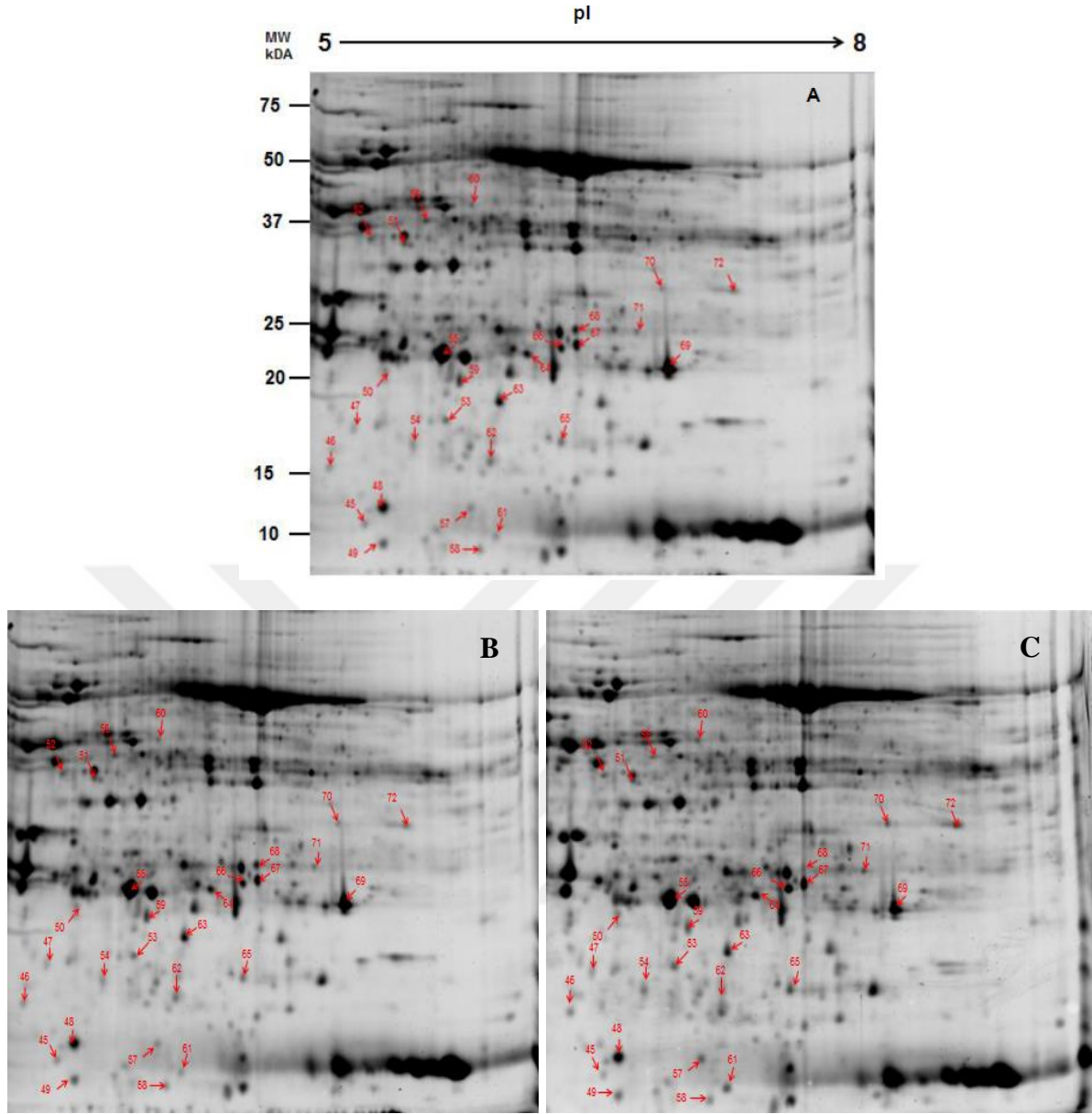
Karakterizasyon aşaması sonuçlarına göre seçilen Remzibey-05 ve Linas çeşitleri ile yabancı aspir türünde (*Carthamus oxyacantha*); kontrol, kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarına ait bitkilerinin yaprak dokularından elde edilen proteinler, 2-D elektroforez (IEF/SDS-PAGE) yöntemi ile analiz edilmiştir. Jellerde; PDQuest Advanced (versiyon 8.0.1, BioRad, USA) yazılımı kullanılarak her üç genotipte 650 ± 30 adet spot tespit edilmiştir. Belirlenen spotların tanımlanmasında genellikle ifadesi 1.5-4 kat arasında değişim gösteren spotların tanımlanması esas alınmaktadır. Bu nedenle çalışmada uygulamalar arasında kendi kontrollerine göre ifade seviyesi en az 2 kat veya daha fazla değişim gösteren protein spotlarının tanımlanması esas alınmıştır. Remzibey-05, Linas ve *C. oxyacantha* genotiplerinde değişim gösteren sırasıyla 23, 21 ve 28 adet protein spotu belirlenmiştir (Şekil 4.45; 4.46; 4.47). Genotiplerde farklı şekilde ifade olan 72 proteinden 47 tanesi MALDI-TOF/TOF MS/MS kütle spektrometresi analizleri ve veri tabanı (Uni-Prot ve Swiss-Prot) taraması ile başarılı bir şekilde tanımlanmıştır (Çizelge 4.10 - 4.13). Tanımlanan 47 protein fonksiyonlarına göre; fotosentez ve karbohidrat metabolizması, solunum, nükleotid, protein ve azot metabolizması; savunma mekanizması ve hücre çeper biyogenezinde yer alan proteinler olmak üzere farklı kategorilere ayrılmıştır. Bununla birlikte, 2-D jellerdeki bazı protein spotlarının genotipler arasında özdeş olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.48).



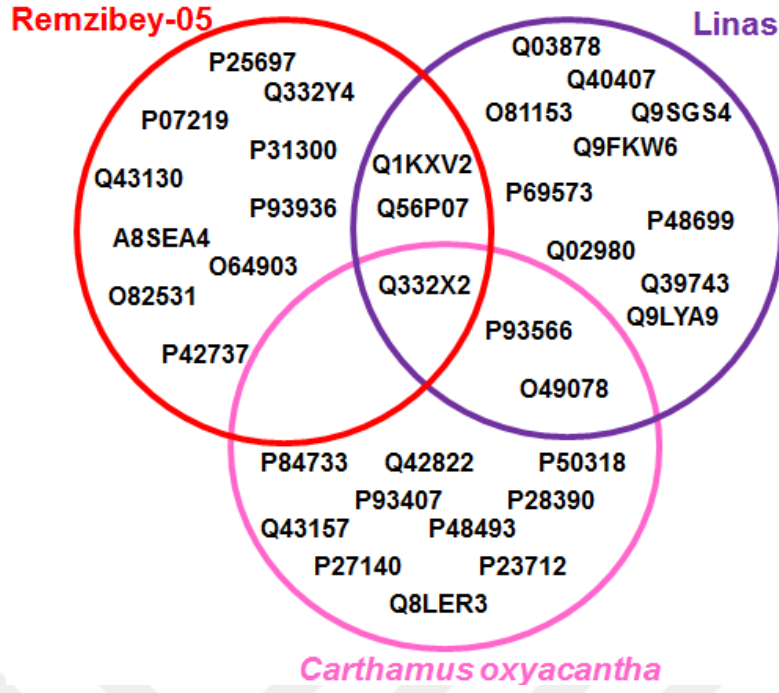
Şekil 4.45. Remzibey-05 çeşidinin yaprak dokusunda kontrol (A), kuraklık (B) ve yeniden sulama (C) uygulamalarında farklı şekilde ifade olan 23 proteinin 2-D elektroforetik jellerdeki gösterimi



Şekil 4.46. Linas çeşidinin yaprak dokusunda kontrol (A), kuraklık (B) ve yeniden sulama (C) uygulamalarında farklı şekilde ifade olan 21 proteinin 2-D elektroforetik jellerdeki gösterimi



Şekil 4.47. *Carthamus oxyacantha* genotipinin yaprak dokusunda kontrol (A), kuraklık (B) ve yeniden sulama (C) uygulamalarında farklı şekilde ifade olan 28 proteinin 2-D elektroforetik jellerdeki gösterimi



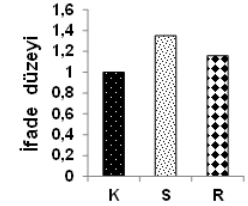
Şekil 4.48. Kuraklık ve yeniden sulama koşullarında aspir genotiplerinin yaprak dokusundan ortak/veya farklı ifade düzeylerine göre tanımlanmış proteinlerin venn diagramı ile gösterimi. Tanımlanan her bir protein bu diagramda aksesyon numaraları ile temsil edilmiştir.

4.3.1. Solunum Metabolizması

Kuraklık ve yeniden sulama uygulanan aspir genotiplerinin yaprak dokusundan tanımlanan proteinlerin %13'ü solunum metabolizmasında yer almaktadır (Şekil 4.49) ve bu metabolizma ile ilişkili olan 6 protein spotu (spot no: 50, 52, 53, 54, 59, 64) (Çizelge 4.10) özdeş tek bir proteini ifade etmektedir. Sadece *C. oxyacantha*'da tanımlanan muhtemel sitokrom c oksidaz alt birimi II PS17 proteinin tanımlandığı spotlardaki ifade düzeyleri kuraklık ve yeniden sulama koşullarında birbirlerinden farklıdır. Kuraklık uygulamasında kontrole göre muhtemel sitokrom c oksidaz alt birimi II PS17 proteinin ifade düzeyi spot 52 (%38), 53 (%27), 54 (%28) ve 59 (%62)'dan tanımlananlarda azalırken; spot 50 (%20) ve 64 (%35)'de tanımlananlarda artmıştır. Bununla birlikte; bu proteinin ifadesi yeniden sulama koşullarında kuraklığa göre sadece spot 64'de tanımlananda azalırken (%14 azalış); diğer spotlardan tanımlananlarda artmıştır. Kontrol grubu ile yeniden sulama uygulamasındaki değişimi karşılaştırıldığında ise, spot 52'de tanımlanan proteinde ifade düzeyinin yeniden sulama koşullarında kontrole göre %25 oranında daha az iken; diğer spotlarda %15'den daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.10. Kuraklık uygulanan aspir genotiplerinin yaprak dokusunda MALDI-TOF/TOF MS/MS kütle spektrometresi kullanılarak tanımlanan solunum metabolizmasına ait proteinler

Spot no	Aksesyon numarası ^a	Protein ^b	Aspir Genotipi ^c	Organizma ^d	PI/MA (kDa) ^e	Skor ^f	BD ^g	EPS ^h	DE (%) ⁱ	İfade profili ⁱ
50	P84733	Muhtemel sitokrom c oksidaz alt birimi II PS17	C.ox.	<i>Pinus strobus</i>	7,4/83,1	63	0,014	4	100%	
52	P84733	Muhtemel sitokrom c oksidaz alt birimi II PS17	C.ox.	<i>Pinus strobus</i>	7,4/83,1	66	0,0074	4	100%	
53	P84733	Muhtemel sitokrom c oksidaz alt birimi II PS17	C.ox.	<i>Pinus strobus</i>	7,4/83,1	63	0,015	4	100%	
54	P84733	Muhtemel sitokrom c oksidaz alt birimi II PS17	C.ox.	<i>Pinus strobus</i>	7,4/83,1	61	0,022	4	100%	
59	P84733	Muhtemel sitokrom c oksidaz alt birimi II PS17	C.ox.	<i>Pinus strobus</i>	7,4/83,1	59	0,04	4	100%	

Spot no	Aksesyon numarası ^a	Protein ^b	Aspir Genotipi ^c	Organizma ^d	PI/MA (kDa) ^e	Skor ^f	BD ^g	EPS ^h	DE (%) ⁱ	İfade profili ^j
64	P84733	Muhtemel sitokrom c oksidaz alt birimi II PS17	C.ox.	<i>Pinus strobus</i>	7,4/83,1	62	0,02	4	100%	

^a SwissProt ve NCBI veri tabanlarına karşı yapılan MASCOT taramasının en iyi sonucuna göre belirlenen aksesyon numarasını ifade eder.

^b SwissProt ve NCBI veri tabanlarına karşı yapılan MASCOT taramasının en iyi sonucuna göre belirlenen proteini ifade eder.

^c Çalışmada kullanılan ve ilgili proteinin tanımlandığı aspir genotipini ifade eder.

^d SwissProt ve NCBI veri tabanlarına karşı yapılan MASCOT taramasının en iyi sonucuna göre belirlenen bitki türünü ifade eder.

^e Tanımlanan proteinin MALDI-TOF/TOF analizlerine göre izoelektrik noktası (pI) ve moleküler ağırlığı (MA, kDa) ifade eder

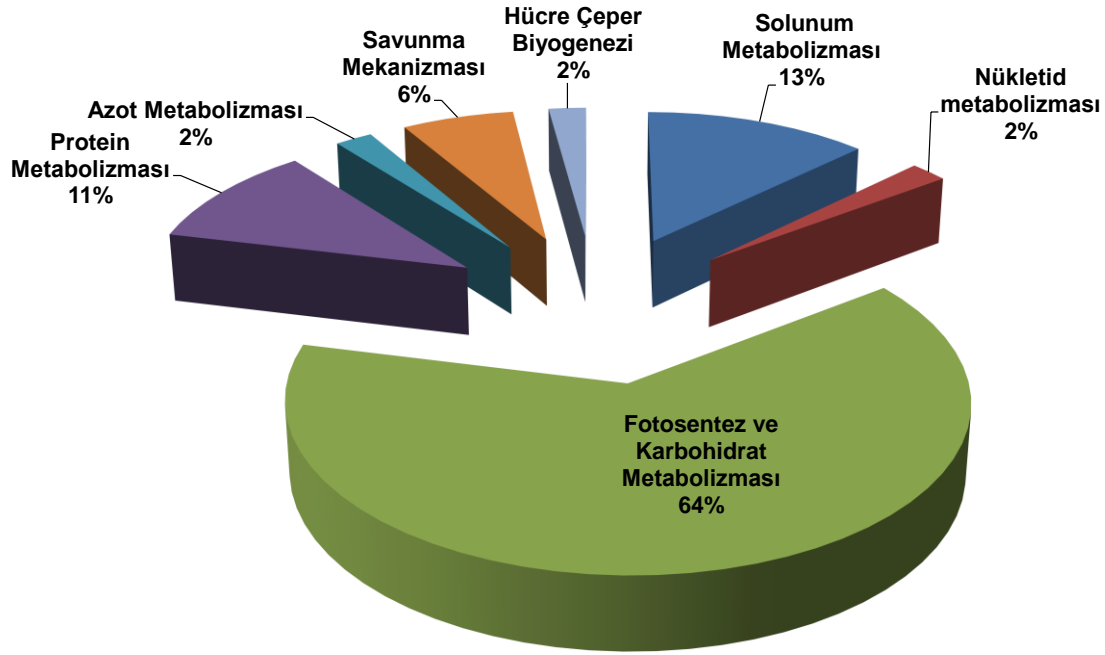
^f MS analizleri ve MASCOT taraması temelinde yapılan protein tanımlaması için olasılık skorunu ifade eder.

^g Beklenen değeri (BD) ifade eder.

^h Eşleşen peptid sayısını (EPS) ifade eder.

ⁱ Dizi eşleşme %'sini [DE(%)] ifade eder.

^j Genotiplerde kuraklık ve yeniden sulama koşullarında protein düzeyindeki değişimleri ifade eder.



Şekil 4.49. Kuraklık ve yeniden sulama koşullarında aspir genotiplerinin yaprak dokusunda protein skorları ile tanımlanmış proteinlerin fonksiyonlarına göre sınıflandırılması

.4.3.2. Fotosentez ve Karbohidrat Metabolizması

Aspir genotiplerinin kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarında yaprak dokusundan izole edilen ve ifade düzeyleri önemli ölçüde etkilenen proteinlerin %64'ünün fotosentez ve karbohidrat metabolizmasında görev aldığı belirlenmiştir (Şekil 4.49). Bu proteinlerden 18 tanesi (spot no: 5, 6, 14, 18, 21, 22, 27, 28, 29, 34, 37, 41, 42, 48, 55, 57, 65, 71) fotosentezin ışık reaksiyonlarında; 12 tanesi Calvin döngüsünde (spot no: 4, 16, 22, 35, 36, 39, 40, 60, 61, 63, 66, 71) ve 2 tanesi de glikolizde (spot no: 12 ve 67) görev almaktadır (Çizelge 4.11).

Suyun parçalanarak O_2 ve H^+ ne ayrışmasında görev alan oksijen oluşumunu artırıcı protein 2'nin ifadesi kuraklık uygulamasında Linas'da (spot no: 27, 37) artarken; *C. oxyacantha*'da (spot no: 55) azalmıştır. İyileşme uygulamasında strese göre bu proteinin ifadesi Linas'da spot 27'den tanımlananda azalırken; *C. oxyacantha*'da ise artarak kontrol düzeyine yaklaşmıştır. Fotosentezin ışık reaksiyonlarında elektron iletiminde görev alan sitokrom b6-f kompleksi demir-kükürt alt biriminin (spot no: 41,

65) ifadesi kuraklık uygulamasında kontrole göre Linas'da %7, *C. oxyacantha*'da %30 oranında azalırken; yeniden sulama koşullarında strese göre her iki genotipte sırasıyla 0.72 ve 1.2 kat artmıştır. Fotosentezin ışık reaksiyonlarında görev alan fotosistem I assembly (birleştirme) proteini *yfc3* (spot no: 18) Remzibey-05'de tanımlanmıştır ve bu proteinin ifade düzeyi stres uygulamasıyla %70 oranında azalırken; yeniden sulamada strese göre 3.61 kat artmıştır. Ayrıca, fotosistem I assembly proteini *yfc3*'ün ifadesinin yeniden sulamada kontrole göre %39 oranında daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Linas'da tanımlanan ve fotosentetik elektron taşıma zincirinin son elektron alıcı proteini ferrodoksin NADP redüktaz (FNR) enziminin (spot no: 34) ifade düzeyi kuraklıkla %25 oranında azalırken; yeniden sulama ile artarak tekrar kontrol düzeyine ulaşmıştır.

Fotosentezin ışık reaksiyonlarında elektron taşınımı esnasında oluşan pH farkı ile ATP'yi sentezleyen ve Calvin döngüsünde karbonun indirgenmesi için gerekli ATP enerjisini oluşturan ATP sentazın alt birimleri tüm aspir genotiplerinde tanımlanmıştır (spot no: 5, 6, 14, 21, 28, 29, 42, 48, 57). Remzibey-05'de ATP sentaz'ın alt birimlerinin ifadesi (spot no: 5, 6, 14, 21) kuraklık uygulamasında azalırken; yeniden sulama uygulamasında kuraklığa göre artmıştır ve yeniden sulama uygulamasında ATP sentaz alt birim alfa ile ATP sentaz epsilon zincirinin ifade düzeyinin kontrole göre sırasıyla %162 ve %7 oranında fazla olduğu belirlenmiştir. Linas'da kuraklık koşullarında ATP sentaz alt birim beta'nın (spot no: 28) ifadesi 1.14 kat artarken; ATP sentaz epsilon zinciri ile ATP sentaz alt birim b'nin (spot no: 29, 42) ifadeleri azalmıştır. İyileşme koşullarında ise sadece ATP sentaz epsilon zincirinin ifadesi artmıştır (%38). ATP sentaz epsilon zinciri *C. oxyacantha*'da tanımlandığı 2 spotta farklı düzeyde ifade olmuştur (spot no: 48 ve 57). ATP sentaz epsilon zincirinin ifadesi kuraklık koşullarında 48 nolu spottan tanımlananda %7 oranında artarken; spot 57'de tanımlanan da %86 oranında azalmıştır. Bununla birlikte; yeniden sulama koşullarında her iki spotta da ATP sentaz epsilon zincirinin ifadesi strese göre artmıştır ve bu düzeyin kontrole göre 48 ve 57 nolu spottan tanımlananlarda sırasıyla %79 ile %112 daha fazla olduğu saptanmıştır.

Ortamdan CO₂'yi alıp Calvin döngüsüne katılmasını sağlayan karbonik anhidraz enzimi Remzibey-05 ve *C. oxyacantha*'da tanımlanmıştır (spot no: 22 ve 71). Remzibey-05'de tanımlanan beta karbonik anhidraz 2 ile *C. oxyacantha*'da tanımlanan beta karbonik anhidraz'ın ifadesi kuraklıkta sırasıyla %28 ve %17 oranında azalırken; yeniden sulamada strese göre artmıştır ve beta karbonik

anhidraz 2'nin ifadesi kontrol düzeyine ulaşırken; beta karbonik anhidraz'ın %54 daha fazla oranda ifade olduğu tespit edilmiştir.

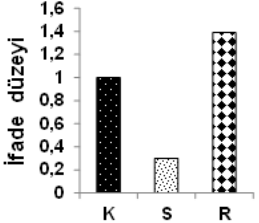
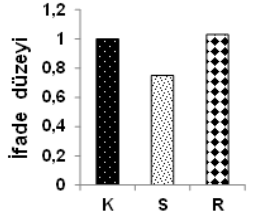
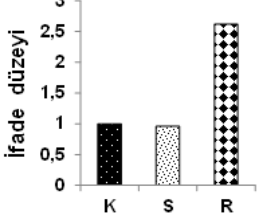
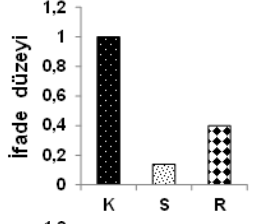
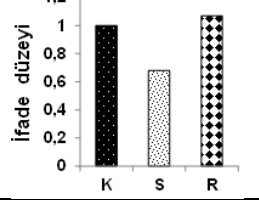
Calvin döngüsünün anahtar enzimi olan ve tüm genotiplerde tanımlanan ribuloz bisfosfat karboksilaz (RuBisCO) büyük zincirinin ifadesi (spot no: 16, 35, 36, 63) kuraklık koşullarında Linas'da artarken; diğer genotiplerde azalmıştır. İyileşme koşullarında ise bu proteinin ifadesi Remzibey-05 ve *C. oxyacantha*'da sırasıyla 1.06 ve 2.95 kat artarken; Linas'da %10'dan daha fazla azalmıştır. RuBisCO küçük zincirinin ifadesi ise hem Linas (spot no: 39, 40) hem de *C. oxyacantha*'da (spot no: 61) kuraklık uygulamasında artmıştır. Bununla birlikte; ribuloz bisfosfat karboksilaz küçük zincirinin ifadesi yeniden sulamada strese göre Linas'da %75'den fazla oranda azalırken; *C. oxyacantha*'da %32 oranında artmıştır. Calvin döngüsünde görev alan bir diğer protein fosforibulokinaz, Remzibey-05'de tanımlanmıştır (spot no: 4) ve bu proteinin ifade düzeyi kuraklık uygulamasında %33 oranında azalırken; yeniden sulamada strese göre artmıştır ve kontrol düzeyine yaklaşmıştır.

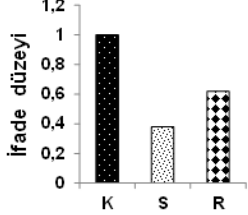
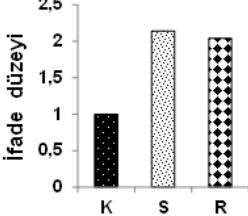
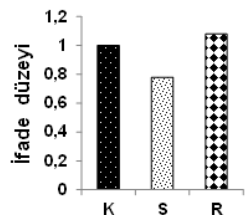
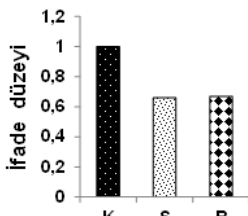
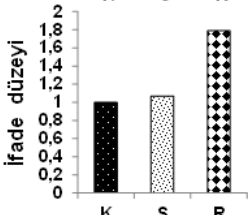
Kuraklık uygulamasında *C. oxyacantha*'da tanımlanan ribuloz 5-fosfat 3-epimeraz enziminin (spot no: 66) ifadesi %5 oranında artarken; fosfogliserat kinazın (spot no: 60) ifadesi %22 oranında azalmıştır. Yeniden sulama ile her iki enzimin ifadesi strese göre artmıştır.

Glikolizde görev alan sitozolik trioz fosfat izomeraz enziminin ifade düzeyi *C. oxyacantha*'da kuraklık koşullarında %37 oranında azalırken, yeniden sulamada artmıştır ve yeniden sulamadaki ifade düzeyinin kontrole göre %47 daha fazla olduğu belirlenmiştir. Glikolizde görev alan bir diğer protein enolaz Remzibey-05'de tanımlanmıştır ve bu proteinin ifadesi stres koşullarında %66 oranında azalırken; yeniden sulamada strese göre 1.19 kat artmıştır.

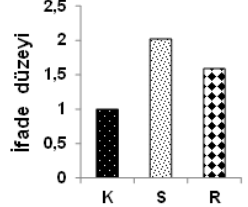
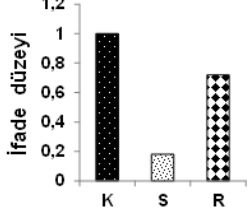
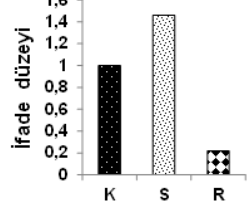
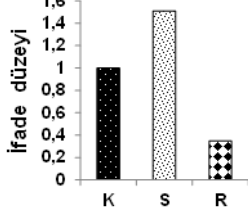
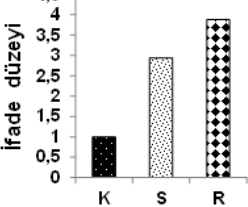
Çizelge 4.11. Kuraklık uygulanan aspir genotiplerinin yaprak dokusunda MALDI-TOF/TOF MS/MS kütle spektrometresi kullanılarak tanımlanan fotosentez ve karbohidrat metabolizmasına ait proteinler

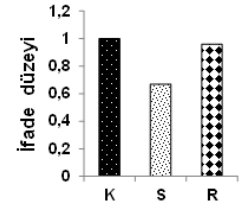
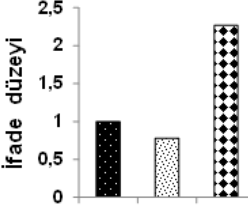
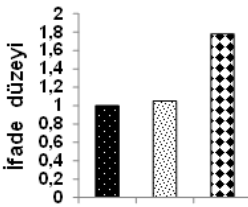
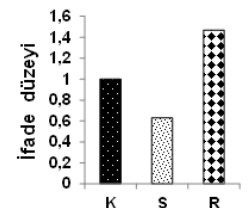
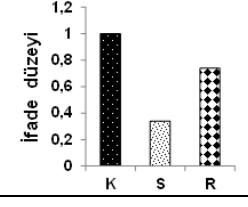
Spot no	Aksesyon numarası ^a	Protein ^b	Aspir Genotipi ^c	Organizma ^d	PI/MA (kDa) ^e	Skor ^f	BD ^g	EPS ^h	DE (%) ⁱ	İfade profili ⁱ
27	Q40407	Oksijen oluşumunu artırıcı protein 2	LN	<i>Narcissus pseudonarcissus</i>	6,6/29	97	6,20E-06	7	16%	
37	P93566	Oksijen oluşumunu artırıcı protein 2	LN	<i>Solanum tuberosum</i>	8,27/28	141	2,30E-10	11	21%	
55	P93566	Oksijen oluşumunu artırıcı protein 2	C.ox.	<i>Solanum tuberosum</i>	8,27/28	159	3,60E-12	8	18%	
41	O49078	Sitokrom b6-f kompleksi demir-kükürt alt birimi	LN	<i>Fritillaria agrestis</i>	8,74/24	70	0,0032	5	16%	
65	O49078	Sitokrom b6-f kompleksi demir-kükürt alt birimi	C.ox.	<i>Fritillaria agrestis</i>	8,74/24	65	0,0098	6	20%	

Spot no	Aksesyon numarası ^a	Protein ^b	Aspir Genotipi ^c	Organizma ^d	PI/MA (kDa) ^e	Skor ^f	BD ^g	EPS ^h	DE (%) ⁱ	İfade profili ⁱ
18	A8SEA4	Fotosistem I assembly proteini ycf3	RB-05	<i>Ceratophyllum demersum</i>	5,61/20	154	1,10E-11	12	54%	
34	Q9FKW6	Ferredoksin NADP redüktaz, yaprak izoenzim 1	LN	<i>Arabidopsis thaliana</i>	8,32/40	267	5,70E-23	21	21%	
5	Q332Y4	ATP sentaz alt birim alfa	RB-05	<i>Lactuca sativa</i>	5,27/56	438	4,60E-40	29	36%	
6	Q1KXV2	ATP sentaz alt birim beta	RB-05	<i>Helianthus annuus</i>	5,12/54	531	2,30E-49	35	53%	
14	Q332X2	ATP sentaz epsilon zinciri	RB-05	<i>Lactuca sativa</i>	5,41/15	268	4,60E-23	14	57%	

Spot no	Aksesyon numarası ^a	Protein ^b	Aspir Genotipi ^c	Organizma ^d	PI/MA (kDa) ^e	Skor ^f	BD ^g	EPS ^h	DE (%) ⁱ	İfade profili ⁱ
21	Q56P07	ATP sentaz alt birim b	RB-05	<i>Lactuca sativa</i>	6,18/21	226	7,20E-19	16	45%	
28	Q1KXV2	ATP sentaz alt birim beta	LN	<i>Helianthus annuus</i>	5,12/54	587	5,70E-55	32	51%	
29	Q332X2	ATP sentaz epsilon zinciri	LN	<i>Lactuca sativa</i>	5,41/15	199	3,60E-16	11	49%	
42	Q56P07	ATP sentaz alt birim b	LN	<i>Lactuca sativa</i>	6,18/21	204	1,10E-16	15	40%	
48	Q332X2	ATP sentaz epsilon zinciri	C.ox.	<i>Lactuca sativa</i>	5,41/15	444	1,10E-40	13	49%	

Spot no	Aksesyon numarası ^a	Protein ^b	Aspir Genotipi ^c	Organizma ^d	PI/MA (kDa) ^e	Skor ^f	BD ^g	EPS ^h	DE (%) ⁱ	İfade profili ⁱ
57	Q332X2	ATP sentaz epsilon zinciri	C.ox.	<i>Lactuca sativa</i>	5,41/15	310	2,90E-27	12	57%	
22	P42737	Beta karbonik anhidraz 2	RB-05	<i>Arabidopsis thaliana</i>	5,36/28	66	0,0077	7	16%	
71	P27140	Beta karbonik anhidraz	C.ox.	<i>Arabidopsis thaliana</i>	5,74/37	129	3.6e-009	8	19%	
16	P93936	Ribuloz bisfosfat karboksilaz büyük zincir	RB-05	<i>Watsonia angusta</i>	6,34/50	110	2,90E-07	25	24%	
35	P69573	Ribuloz bisfosfat karboksilaz büyük zincir	LN	<i>Lupinus albilfrons</i>	6,44/50	174	1,10E-13	11	13%	

Spot no	Aksesyon numarası ^a	Protein ^b	Aspir Genotipi ^c	Organizma ^d	PI/MA (kDa) ^e	Skor ^f	BD ^g	EPS ^h	DE (%) ⁱ	İfade profili ⁱ
36	P48699	Ribuloz bisfosfat karboksilaz büyük zincir	LN	<i>Dendrophthora clavata</i>	6,47/52	315	9,10E-28	13	21%	
63	P28390	Ribuloz bisfosfat karboksilaz büyük zincir	C.ox.	<i>Cephalotus follicularis</i>	6,58/51	298	4,60E-26	12	16%	
39	Q02980	Ribuloz bisfosfat karboksilaz küçük zincir	LN	<i>Malus sp.</i>	9,04/21	57	0,052	8	26%	
40	Q39743	Ribuloz bisfosfat karboksilaz küçük zincir 1	LN	<i>Flaveria pringlei</i>	8,93/20	75	0,00095	8	24%	
61	Q42822	Ribuloz bisfosfat karboksilaz küçük zincir	C.ox.	<i>Glycine tomentella</i>	8,87/20	60	0,032	8	54%	

Spot no	Aksesyon numarası ^a	Protein ^b	Aspir Genotipi ^c	Organizma ^d	PI/MA (kDa) ^e	Skor ^f	BD ^g	EPS ^h	DE (%) ⁱ	İfade profili ⁱ
4	P25697	Fosforibulokinaz	RB-05	<i>Arabidopsis thaliana</i>	5,7/44	95	1,00E-05	12	39%	
60	P50318	Fosfogliserat kinaz	C.ox.	<i>Arabidopsis thaliana</i>	6,23/50	268	4,60E-23	10	17%	
66	Q43157	Ribuloz 5-fosfat 3-epimeraz	C.ox.	<i>Spinacia oleracea</i>	8,23/30	86	7,40E-05	9	31%	
67	P48493	Trioz fosfat izomeraz	C.ox.	<i>Lactuca sativa</i>	5,28/21	529	3,60E-49	15	40%	
12	Q43130	Enolaz	RB-05	<i>Mesembryanthemum crystallinum</i>	5,62/48	211	2,30E-17	17	25%	

*Çizelge üzerinde yer alan küçük harflerin (a-j) açıklamaları Çizelge 4.10'daki gibidir.

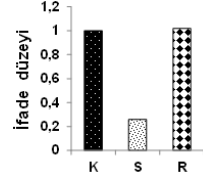
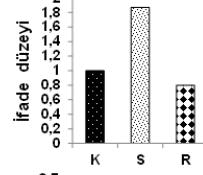
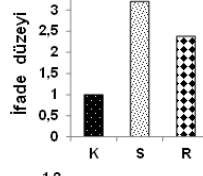
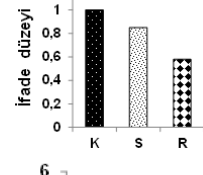
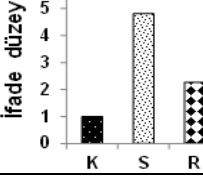
4.3.3. Protein Metabolizması

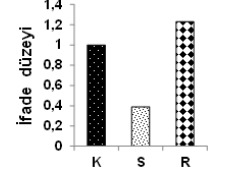
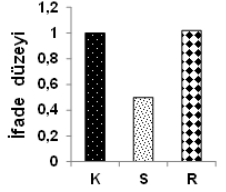
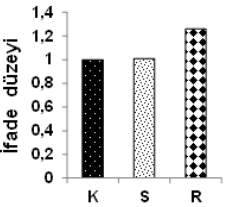
Aspir genotiplerinin yaprak dokusunda kuraklık ve yeniden sulama koşullarında ifade değişimlerine bağlı olarak seçilen ve tanımlanan proteinlerinden %11'inin (spot no: 7, 11, 20, 31, 43) protein metabolizması ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.49; Çizelge 4.12). Remzibey-05'de tanımlanan ve sistein sentezlenmesinde görev alan sistein sentaz'ın ifadesi kuraklık koşullarında %74 oranında azalırken; yeniden sulamada artmıştır ve kontrol düzeyine ulaşmıştır. Çoklu katalitik proteinaz kompleksi olarak ifade edilen proteazom altbirim beta tipi-1'in ifadesi kuraklık koşullarında Remzibey-05'de 2.2 kat artarken; yeniden sulamada strese göre azalmıştır. Linas'da tanımlanan beta tipi-3-B'nin ifadesi ise kuraklıkta azalmıştır ve bu azalış yeniden sulamada da devam etmiştir. Başlıca tohum depolama proteini olarak tanımlanan fazolinin Remzibey-05'deki ifadesi kuraklıkta kontrole göre 3.81 kat artarken; yeniden sulamada strese göre %53 oranında azalmıştır; buna rağmen yeniden sulamadaki ifade düzeyi kontrole göre 1.17 kat daha fazladır. Linas'da tanımlanan kloroplast stem-loop binding proteini kuraklık uygulamasında %87 oranında artarken; yeniden sulamada azalmıştır (%57).

4.3.4. Savunma Mekanizması

Aspir genotiplerinde tanımlanan proteinlerin %6'sının savunma mekanizması ile ilişkili proteinler (spot no: 25, 32, 62) olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.49; Çizelge 4.12). Glisince zengin RNA bağlayıcı protein'in (spot no: 25) ifadesi Linas'da stres koşullarında %61 oranında azalırken; yeniden sulamada kuraklığa göre 2.13 kat artmıştır ve bu ifade düzeyi kontrole göre %23 daha fazla orandadır. Kuraklığın indüklediği stres proteini olan tiyoredoksin benzeri protein CDSP32'in (spot no: 32) ifadesi Linas'da stres koşullarında %50 oranında azalırken; yeniden sulamada artmıştır ve kontrol düzeyine ulaşmıştır. Hücresel savunmada görev alan bir diğer protein kloroplastik süperoksit dismutaz [Cu-Zn]'ın (Cu/Zn SOD - spot: 62) ifadesi *C. oxyacantha*'da kuraklık uygulamasında değişmezken; yeniden sulamada %24 oranında artmıştır.

Çizelge 4.12. Kuraklık uygulanan aspir genotiplerinin yaprak dokusunda MALDI-TOF/TOF MS/MS kütle spektrometresi kullanılarak tanımlanan protein metabolizması ve savunma mekanizmasına ait proteinler

Spot no	Aksesyon numarası ^a	Protein ^b	Aspir Genotipi ^c	Organizma ^d	PI/MA (kDa) ^e	Skor ^f	BD ^g	EPS ^h	DE (%) ⁱ	İfade profili ⁱ
Protein Metabolizması										
11	P31300	Sistein sentaz	RB-05	<i>Capsicum annuum</i>	5,22/40	63	0,013	14	19%	
43	Q9LYA9	Kloroplast stem-loop binding proteini 41 kDa a	LN	<i>Arabidopsis thaliana</i>	8,54/44	113	1,40E-07	11	13%	
20	O82531	Proteazom altbirim beta tipi -1	RB-05	<i>Petunia hybrida</i>	6,3/25	108	4,60E-07	8	25%	
31	O81153	Proteazom altbirim beta tipi -3-B	LN	<i>Arabidopsis thaliana</i>	5,63/23	80	0,00032	10	20%	
7	P07219	Fazolin, alfa-tipi	RB-05	<i>Phaseolus vulgaris</i>	5,25/49	425	9,10E-39	24	36%	

Spot no	Aksesyon numarası ^a	Protein ^b	Aspir Genotipi ^c	Organizma ^d	PI/MA (kDa) ^e	Skor ^f	BD ^g	EPS ^h	DE (%) ⁱ	İfade profili ⁱ
Savunma Mekanizması										
25	Q03878	Glisince zengin RNA bağlayıcı protein	LN	<i>Daucus carota</i>	5,31/16	138	4,60E-10	6	23%	
32	Q9SGS4	Tiyoredoksin benzeri protein CDSP32	LN	<i>Arabidopsis thaliana</i>	8,65/34	58	0,051	6	13%	
62	P93407	Süperoksit dismutaz [Cu-Zn]	C.ox.	<i>Oryza sativa subsp. japonica</i>	5,79/21	87	5,40E-05	6	21%	

*Çizelge üzerinde yer alan küçük harflerin (a-j) açıklamaları Çizelge 4.10'daki gibidir.

4.3.5. Nükleotid Metabolizması

Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarında aspir genotiplerinin yaprak dokusundan izole edilen ve tanımlanan proteinlerinden sadece bir tanesinin (spot no: 19) nükleotid metabolizmasında görev aldığı belirlenmiştir (Şekil 4.49; Çizelge 4.13). Nükleozit difosfat kinaz olarak adlandırılan ve Remzibey-05'de izole edilen bu proteinin ifadesi kuraklık koşullarında %34 oranında düşerken; yeniden sulama koşullarında strese göre %35 oranında artmıştır ve kontrol seviyesine ulaşmıştır.

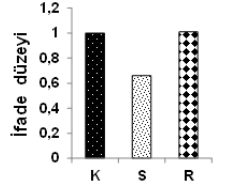
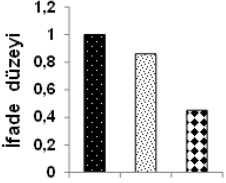
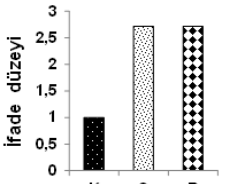
4.3.6. Azot Metabolizması

Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarında aspir genotiplerinin yaprak dokusunda azot metabolizması ile ilişkili olan bir proteinin (spot no: 56) ifadesinin değiştiği belirlenmiştir (Şekil 4.49; Çizelge 4.13). NH_4^+ 'den glutamin sentezlenmesini sağlayan glutamin sentetaz'ın ifadesi *C. oxyacantha*'da stres koşullarında %14 oranında azalmıştır ve bu azalış yeniden sulama uygulamasında da devam etmiştir.

4.3.7. Hücre Çeper Biyogenezi

Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarında aspir genotiplerinin yaprak dokusunda hücre çeper biyogenezi ile ilişkili olan bir proteinin (spot no: 70) ifadesinin değiştiği belirlenmiştir (Şekil 4.49; Çizelge 4.13). *C. oxyacantha*'da tanımlanan muhtemel ksiloglukan endotransglukosilaz / hidrolaz protein 7'in ifade düzeyi hem kuraklık hem yeniden sulama koşullarında kontrole göre 1.72 kat artmıştır.

Çizelge 4.13. Kuraklık uygulanan aspir genotiplerinin yaprak dokusunda MALDI-TOF/TOF MS/MS kütle spektrometresi kullanılarak tanımlanan nükleotid ve azot metabolizması ile hücre çeper biyogenezine ait proteinler

Spot no	Aksesyon numarası ^{a*}	Protein ^b	Aspir Genotipi ^c	Organizma ^d	PI/MA (kDa) ^e	Skor ^f	BD ^g	EPS ^h	DE (%) ⁱ	İfade profili ⁱ
Nükleotid metabolizması										
19	O64903	Nükleozit difosfat kinaz II	RB-05	<i>Arabidopsis thaliana</i>	9,14/26	84	0,00011	10	19%	
Azot Metabolizması										
56	P23712	Glutamin sentetaz	C.ox.	<i>Lactuca sativa</i>	5,24/40	323	1,40E-28	16	25%	
Hücre Çeper Biyogenezi										
70	Q8LER3	Muhtemel ksiloglukan endotransglukosilaz / hidrolaz protein 7	C.ox.	<i>Arabidopsis thaliana</i>	7.0/33	66	0,0081	3	10%	

*Çizelge üzerinde yer alan küçük harflerin (a-j) açıklamaları Çizelge 4.10'daki gibidir.

5. TARTIŞMA

5.1. Aspir Genotiplerinin Kuraklığa Dayanıklılık Potansiyellerinin Belirlenmesi

Toprak veya atmosferde yüksek oranda su eksikliği yaşanması nedeniyle meydana gelen kuraklık, dünya çapında bitkisel ürün verimliliğini ve verim stabilitesini sınırlayan önemli bir çevresel stres faktörüdür [305]. Kuraklık stresinin başta fotosentetik aktivite olmak üzere bitkiler için yaşamsal öneme sahip fizyolojik ve biyokimyasal fonksiyonları olumsuz yönde etkilediğini bildiren pek çok çalışma bulunmaktadır [129, 306-311]. Çevresel faktörlere karşı oldukça duyarlı olan fotosentez mekanizması [312], kuraklık stresi altında bitki performansında esas role sahiptir [313] ve bu stres koşullarında fotosentezde ilk ortaya çıkan cevap stoma kapanmasına bağlı olarak fotosentez aktivitesinin azalmasıdır [314]. Stoma kapanmasına bağlı olarak CO₂ alımının sınırlanması; ışığın yakalanması ile bu enerjinin kullanımı arasındaki dengenin bozulmasını ve fotosistem II (PSII)'nin aşırı uyarılmasını tetikler. Bu durum hem fotosentez oranının azalmasına hem de absorbe edilen enerjinin fluoresans, ısı veya başka bir moleküle aktarılması şeklinde yayılmasına neden olur [315]. Stres koşullarında bitkinin fotosentetik aktivitesinde meydana gelen değişimleri belirlemek için kullanılan en etkili ölçüm tekniği klorofil a fluoresans yöntemidir. Bu yöntem yüksek duyarlılığa sahip olması yanında bitkiye zarar vermeden, kolay bir şekilde ölçüm yapılmasına olanak sağlar. Bu yöntemin stres koşullarında genotiplerin seleksiyonu için kullanıldığı bir çok çalışma bulunmaktadır [250, 279, 316-318].

Bitkilerin genel durumu ve canlılıkları hakkında niceliksel/sayısal bilgi sağlamada en fazla kullanılan klorofil a fluoresans parametresi performans indeksidir (PI- PI_{abs} ve PI_{top}) [319]. PI_{abs}, PSII reaksiyon merkezi kompleksinin ışık enerjisi absorpsiyonu (PSII'deki anten klorofilleri başına reaksiyon merkezlerinin yoğunluğu), eksitasyon enerjisinin yakalanması (primer fotokimyanın etkinliği) ve eksitasyon enerjisinin elektron taşınımına dönüşümünü (eksitasyon enerjisinin elektron transportuna dönüşümünün etkinliği) içeren fotosentetik aktivitenin üç ana fonksiyonel basamağını birleştirmektedir [278, 320]. PI_{top} ise, PSII anten sistemindeki foton absorblanmasından PSI son elektron alıcısının indirgenmesine kadar olan enerji akışlarını ifade etmektedir [272]. Buna göre PI_{abs}, PSII anten sistemindeki foton absorblanmasından Q_B'nin indirgenmesine kadar korunan

(tutulan) enerjiyi ifade ederken [321]; PI_{top} buna ek olarak, bu enerjinin PSI'in son elektron alıcılarına iletimi hakkında da bilgi verir [277]. Aspir genotiplerinin PI değerleri her iki kuraklık uygulamasında (S1 ve S2) kontrollerine göre önemli düzeyde azalmıştır (Şekil 4.1; 4.2). Kuraklık stresi altında PI'ların azalması, bitkilerde fotosentetik elektron taşınımında fotokimyasal etkinliğin azalması ile ilişkilidir [279]. Genotiplerde PI_{abs} değerlerindeki azalışlar, PSII'nin elektron alıcı tarafında kuraklığın indüklediği değişimlerin olduğunu göstermektedir [107]. PI_{top} değerlerindeki azalışlar ise stresin olumsuz etkinin PSI'in son elektron alıcısına kadar olan iletimde de değişimlere neden olduğunu ortaya koymaktadır. Albert vd. [322] cüce çalı bitkisi ile yaptıkları çalışmada PI_{top} 'ın anten, reaksiyon merkezi, elektron transportu ve son elektron alıcısını ifade eden parametrelere bağlı olarak etkilenmesi nedeniyle kuraklık stresi altında PI_{top} ile birlikte RC/ABS [$1/(ABS/RC)$], TR_0/ABS , ET_0/TR_0 ve RE_0/ET_0 değerlerinin de azaldığını bildirmişlerdir. Aspir genotiplerinde de kuraklık stresi altında PI_{top} ile birlikte TR_0/ABS , ET_0/TR_0 ve RE_0/ET_0 azalırken; ABS/RC değerleri artmıştır. Orta şiddette kuraklık uygulamasını takiben yeniden sulanan (R1) bitkilerde kuraklık uygulamasına (S1) göre PI_{abs} değerlerindeki değişim tüm aspir genotiplerinde önemli düzeyde bulunmazken; PI_{top} değerleri sadece dayanıklı genotipler olan Remzibey-05'de ve AÖVD-L/14'de önemli düzeyde artmıştır. Şiddetli kuraklık uygulamasını takiben yeniden sulanan (R2) bitkilerde kuraklık uygulamasına (S2) göre ise PI_{abs} değerlerinin sadece Remzibey-05'de; PI_{top} değerlerinin ise Remzibey-05 ve AÖVD-L/14'de önemli düzeyde arttığı tespit edilmiştir. Bu durum her iki kuraklık stresi uygulamasının akabinde yeniden sulama koşullarında Remzibey-05'de ve AÖVD-L/14 hariç diğer aspir genotiplerinde herhangi bir iyileşme meydana gelmediğini, dayanıklı genotiplerde ise yeniden sulama sayesinde eksitasyon enerjisini biyokimyasal enerjiye dönüştürme yeteneklerini artırarak stresin etkilerini bertaraf etmeye çalıştığını göstermektedir. Ayrıca Remzibey-05 ve AÖVD-L/14 hariç diğer aspir genotiplerinde her iki yeniden sulama uygulamasında (R1 ve R2) kontrollerine göre PI değerlerinin önemli düzeyde düşük olması, bu genotiplerin stres koşullarında enerji dönüştürme yeteğinde meydana gelen azalmaların yeniden sulama koşullarında iyileştirme oranının dayanıklı genotiplere göre oldukça düşük olduğunu ortaya koymaktadır. Bununla birlikte aspir genotiplerinde S2'de S1'e göre PI değerindeki azalışlar önemli düzeyde bulunmamıştır. Bir bütün olarak PSII, PSI ve sistemler arası elektron taşıma zincirindeki fonksiyonel aktiviteyi ifade eden

PI değerlerinin [323] önemli düzeyde değişmemesi kuraklığın şiddetinin artmasına rağmen genotiplerin fotosentez aktivitesini belirli bir düzeyde tutumaya çalıştığını göstermektedir. R2'de ise R1 uygulamasına göre PI_{abs} değerlerinin Dinçer, AÖVD-L/3 ve AÖVD-L/12'de; PI_{top} değerlerinin ise Dinçer, AÖVD-L/3 ve AÖVD-L/12'de anlamlı düzeyde azaldığı belirlenmiştir. Bu durum belirtilen genotiplerde kuraklığın şiddetinin artması ile iyileşme düzeyinin azalarak stresin fotosentez aktivitesi üzerindeki engelleyici etkisinin arttığını göstermektedir. Remzibey-05 ve AÖVD-L/14'de PI değerlerinin kuraklık koşullarında azalırken, yeniden sulama koşullarında artması; bu dayanıklı genotiplerde iyileşmenin gerçekleştiğini göstermektedir. Ayrıca bu genotiplerde stres koşullarında azalan yaprak su içeriği (nispi su içeriği ve yaprak su potansiyeli) (Şekil 4.5; 4.6) ile pigment içeriğinin (toplam klorofil ile karotenoid içeriği) (Şekil 4.8; 4.9) yeniden sulama uygulaması ile birlikte artması ve yükselen iyon sızıntısı oranının (Şekil 4.10) azalarak membran hasarlarının engellenmeye çalışılması, iyileşme durumunu desteklemektedir. Farklı bitkilerle yapılan çalışmalarda; performans indekslerinin (PI_{abs} ve PI_{top}); stres koşullarında (özellikle kuraklık) fotokimyasal bileşenlerde meydana gelen değişimleri değerlendirerek bitkinin toleransını belirlemede kullanılan oldukça duyarlı, güvenilir ve hızlı sonuç veren parametreler olduğu bildirilmektedir [318, 324-326]. Ayrıca Zivcak vd. [327]'leri PI_{top} 'ın; elektron taşıma kapasitesi hakkında PI_{abs} tarafından belirlenen etkinliğe ek olarak daha ayrıntılı bilgiler vermesi nedeniyle çok daha kullanışlı ve güvenilir bir parametre olduğunu ifade etmişlerdir.

Klorofil a floresans verimi, karanlığa adapte edilmiş bir yaprağı bilinen bir dalga boyunda ışığa maruz bırakarak ve daha uzun dalga boylarında tekrar yayılan ışığın miktarını ölçerek belirlenmektedir [328]. Bu karanlığa adapte edilen yaprağın aydınlatılması; klorofil a floresans emisyonlarında Kautsky eğrisi olarak bilinen karakteristik geçişlerin oluşmasına neden olur [329]. Kautsky eğrisi 1 sn'den daha hızlı bir yükseliş ve sonrasında sabit duruma (stable-state) gelene kadar daha yavaş bir azalma fazlarına sahiptir [330]. Kautsky eğrisinin logaritmik zaman skalasında çizilmesiyle O, J, I, P basamaklarından ibaret polifazik bir eğri elde edilir. Bu basamaklar, elektron taşıma zincirinin üç farklı indirgeme süreci hakkında bilgiler içerir (Şekil 3.3). OJIP floresans ölçüm değerlerinden hesaplanan ve fotosistemlerin durumu hakkında bilgi sahibi olabilmek için PI_{abs} ve

PI_{total} gibi [272, 330] bir çok JIP-testi parametresi türetilmiştir. Bu JIP testi parametrelerinin analizi; stres koşullarında elektron transport zincirinde meydana gelen değişimleri anlamamızı sağlar [277]. Bu çalışma kapsamında aspir genotiplerinde kuraklığın ve yeniden sulamanın fotokimyasal aktivite üzerine etkisini daha ayrıntılı ortaya koyabilmek için bazı JIP-testi parametrelerindeki değişimler incelenmiştir. Bu parametrelerden biri olan DI_0/RC ; reaksiyon merkezi başına fotokimyasal olmayan enerjinin bir göstergesidir. DI_0/RC değerleri kuraklık uygulamalarında tüm genotiplerde artmıştır (Şekil 4.3A). Kuraklık koşullarında bitkinin DI_0/RC değerlerinin artması; bitkinin fazla enerjiyi ısı şeklinde yaydığını ve böylece stres süresinde fotoinhibisyonu karşı fotosentetik aparatların korunmaya çalıştığını göstermektedir [331, 332]. DI_0/RC değerleri orta şiddette kuraklığın akabinde yeniden sulamada (R1) AÖVD-L/11 ve AÖVD-L/1 hariç diğer genotiplerde; şiddetli kuraklığın akabinde yeniden sulamada (R2) ise Dinçer, Linas, AÖVD-L/2, AÖVD-L/3, AÖVD-L/4 ve AÖVD-L/12 hariç diğer genotiplerde önemli düzeyde azalmıştır. Yeniden sulama koşullarında DI_0/RC değerlerinin azalması, fotosistemlerin stresin etkisini bertaraf ederek yakalanan eksitasyon enerjisini fotokimyasal yola göndermeye çalıştığının göstergesi olabilir. Her bir reaksiyon merkezi için toplam elektron taşıyıcılarını ifade eden S_M değeri orta şiddette kuraklık uygulamasında tüm aspir genotiplerinde azalmıştır (Şekil 4.3B). Q_A tamamiyle indirgenene kadar sistemler arası elektron alıcılarının kapasitesini ifade eden S_M parametresi ölçüm yapılan materyalin fotokimyasal olarak aktif klorofil a molekülünün değişimini de yansıtır [323]. Şiddetli kuraklık uygulamasında S_M değerinin Remzibey-05, Dinçer, Balcı, Linas, AÖVD-L/1, AÖVD-L/4 ve AÖVD-L/11'de artması bu genotiplerde PSII'deki indirgenmemiş elektron alıcılarının miktarının arttığının göstergesidir. Yeniden sulamada (R1) orta şiddette kuraklık uygulamasına göre S_M değeri Dinçer, AÖVD-L/4 ve AÖVD-L/11 hariç diğer genotiplerde artarken; R2'de şiddetli kuraklık uygulamasına göre tüm genotiplerde azalmıştır. R2'de S_2 'ye göre S_M değerindeki azalma, kuraklıkta elektron taşınımının düzenlenmesi ile ilişkili olup bu azalmanın performans indeksindeki azalma ile uyumlu olduğu görülmektedir [250]. Ayrıca genel olarak stres ve yeniden sulama koşullarında S_M ve DI_0/RC değerlerinden birbirini destekleyen veriler elde edilmiştir ve bu sonuçlar genotiplerin dayanıklılık düzeylerine göre yakalanan eksiton enerjisinin fotokimyasal yola gönderimi ile ısı şeklinde yayılımı arasındaki dengeyi kurarak fotosistemleri fotohasardan korumaya çalıştığını ortaya

koymaktadır. Minimum fluoresans, F_0 , değeri tüm reaksiyon merkezlerinin açık olduğu durumu ifade eder [277] ve Q_A 'ların okside durumunu ifade ederek Q_A 'nın redoks durumu hakkında bilgi verir. Her iki stres koşulunda da F_0 değerleri tüm genotiplerde %10 oranından daha fazla artmıştır ve genel olarak şiddetli kuraklık uygulamasında bu artış orta şiddetli kuraklık uygulamasına göre daha fazladır (Şekil 4.3C). Aspir genotiplerinde stres koşullarında F_0 'nun artması; tüm Q_A 'ların okside formda olmadığını ve bir kısmının redükte forma geçerek antenden PSII reaksiyon merkezine enerji taşınım etkinliğinin azalmasına neden olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, tüm genotiplerde her iki yeniden sulama uygulamasında stres koşullarına göre F_0 değerlerinin azalması, bu genotiplerin PSII'nin azalan fotokimyasal etkinliğini iyileştirmeye çalıştığını göstermektedir. Açık reaksiyon merkezlerinin maksimum potansiyel fotokimyasal etkinliğini ifade eden TR_0/ABS (F_v/F_m), değerlerindeki değişim, hem kuraklık uygulamalarında kontrollerine göre hem de yeniden sulama uygulamalarında kuraklığa göre tüm genotiplerde %10'dan fazla değildir (Şekil 4.3D). Tüm genotiplerde TR_0/ABS değişimlerinin önemli düzeyde olmaması F_0 değerindeki artışın, kuraklığın PSII aktivitesini durduracak kadar etkili bir düzeyde olmadığını gösterdiği gibi F_0 ile F_M (maksimum fluoresans)'deki değişimlerin birbirini dengelemesinden de kaynaklanmış olabilir. Brestic ve Zivcak [107] ise TR_0/ABS 'nin oldukça stabil bir parametre olup yaprak su içeriğini %70'in altına düştüğü koşullarda azalmaya başladığını bildirmişlerdir. Tutulan eksitonun Q_A^- dan elektron transport zincirine bir elektronu hareket ettirme etkinliğini ifade eden ET_0/TR_0 (Ψ_0) değerleri aspir genotiplerinde kuraklık stresi ile yeniden sulama uygulamalarında kontrole göre sırasıyla en fazla %15 ile %21'e kadar azalış göstermiştir (Şekil 4.3E). ET_0/TR_0 değerindeki azalış Q_A^- dan sonraki elektron taşınımında bir aksaklık olduğunu göstermektedir ve bu durum elektron taşınımının azalmasına rağmen inhibisyonun meydana gelmediğini ortaya koymaktadır. Elektron transportunun maksimum verimini ifade eden $PHI(E_0)$ ($ET_0/ABS - \phi_{E_0}$) değeri, kuraklık uygulamalarında tüm genotiplerde %8-20 oranında azalmıştır (Şekil 4.3F). $PHI(E_0)$ değerlerindeki azalışlar, ET_0/TR_0 değerindeki azalışlar ile uyum göstermektedir. $PHI(E_0)$ değerleri yeniden sulama uygulamalarında orta şiddette kuraklığa göre AÖVD-L/1, AÖVD-L/11 ve AÖVD-L/12 hariç diğer genotiplerde; şiddetli kuraklığa göre de Remzibey-05, Balcı, TRE-ASO 12/08, AÖVD-L/3 ve AÖVD-L/14 artmıştır. Bu artış bazı genotiplerin yeniden sulama aşamasında elektron transportundaki aksaklıkları tamir ederek kuraklığın

olumsuz etkisinin üstesinden gelebildiğinin göstergesidir. Genotiplerde aktif reaksiyon merkezindeki efektif anten büyüklüğünü ifade eden ABS/RC tüm genotiplerde kuraklık uygulamalarında stresin şiddetine bağlı olarak artmıştır (Şekil 4.4A). ABS/RC parametresindeki artışların nedeni; aktif reaksiyon merkezi sayısının azalması veya anten büyüklüğünün artmasıdır [319, 332]. ABS/RC ile DI_0/RC değerleri benzer cevaplar vermiştir ve Viljevac vd. [333] bu iki parametrenin benzer şekilde artmasının fotosentetik sistemleri fotooksidatif hasardan korumaya yönelik bir cevap olduğu bildirilmektedir. ABS/RC değerleri yeniden sulama uygulamalarında orta şiddette kuraklığa göre AÖVD-L/1 ve AÖVD-L/11 hariç diğer genotiplerde; şiddetli kuraklığa göre de Linas, AÖVD-L/2, AÖVD-L/3, AÖVD-L/4 ve AÖVD-L/12 hariç diğer genotiplerde azalmıştır. Bu azalışın nedeni yeniden sulama koşullarında bu genotiplerde iyileşme meydana gelmesi ve gerekli eksitonun yakalanıp elektron transportuna aktarılabilmesi için PSII'deki aktif reaksiyon merkezlerinin sayısının artmasıdır. *Passiflora edulis* bitkisi ile yapılan çalışmada ABS/RC değerinin genotiplerde kuraklık uygulaması ile arttığı; kuraklıktan sonraki yeniden sulama uygulamasında ise azaldığını bildirilmiştir [334]. Q_A^- 'dan PSI son elektron alıcılarına (ferrodoksin) elektron transportunun kuantum verimini ifade eden RE_0/ABS (Şekil 4.4B) değerleri kuraklık stresi altında tüm genotiplerde azalmıştır. RE_0/ABS 'deki azalışlar aspir genotiplerinin, elektron transport etkinliğini azaltarak fotosistemleri inhibisyon (taşınım sırasındaki elektron sızıntılarından) korumaya çalıştığının göstergesi olabilir. RE_0/ABS 'deki belirlenen cevapları destekleyen bir diğer parametre olan RE_0/ET_0 'daki (indirgenmiş sistemler arası elektron alıcılarının bir elektronu, PSI son elektron alıcılarına hareket ettirme etkinliği) azalma (Şekil 4.4C), son elektron alıcısına elektron iletiminin azaldığını ancak var olan taşınımın etkin bir şekilde devam ettiğini ve bu şekilde de genotiplerin kuraklık koşulları altında fotokimyasal etkinliklerini korumaya çalıştığını göstermektedir. Goltsev vd. [335] kuraklık çalışmasında azalan su içeriğine bağlı olarak PSII, PSI ve bunların arasındaki elektron transportunun kuantum verimindeki (sırasıyla; TR_0/ABS , ET_0/ABS ve RE_0/ABS) değişimleri incelemişlerdir ve parametreleri $RE_0/ABS > ET_0/ABS > TR_0/ABS$ şeklinde su eksikliğine karşı duyarlılıklarına göre sıralamışlardır. Aspir genotiplerinde RWC içeriğinin azalmasına bağlı olarak en fazla etkilenen kuantum veriminin RE_0/ABS ; en az etkilenen kuantum veriminin ise TR_0/ABS olduğu belirlenmiştir. Ayrıca genotiplerde her bir reaksiyon merkezi başına elektron

transportunu ifade eden ET_0/RC değerlerinden; DI_0/RC ve ABS/RC ile benzer sonuçlar elde edilmiştir (Şekil 4.4D). Bir asma türü ile yapılan kuraklık çalışmasında stres koşullarında ET_0/RC , DI_0/RC ve ABS/RC değerlerinin benzer şekilde arttığı ve bu parametrelerin birbirleri ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [336].

Kuraklık faktör indeksi (KFI), ortaya koyduğu iki hedef ile tanımlanabilir. Bunlar; (1) performans indeks verilerinin normalize edilerek uygulanması ile genotiplerin daha iyi karşılaştırılması ve (2) kuraklık toleranslarına göre bitki genotiplerinin sıralanması şeklinde ifade edilir [279]. Kuraklık faktör indeksi (KFI)'nden türetilen iyileşme faktör indeksi (IFI)'de KFI'nın ortaya koyduğu hedefleri desteklemektedir. Performans indeks verileri kullanılarak hesaplanan KFI değerlerine göre genotiplerin kuraklık stres toleranslarına göre sınıflandırıldığı birçok çalışma bulunmaktadır [279, 316-318]. Bu tez çalışması kapsamında performans indekslerinden hesaplanan KFI ve IFI sonuçlarına göre en dayanıklı genotipler Remzibey-05 ve AÖVD-L/14 olarak belirlenirken; en duyarlı genotiplerin Linas ve AÖVD-L/12 olduğu tespit edilmiştir.

Bitkilerdeki su ilişkileri su noksanlığından doğrudan etkilenir, çünkü kuraklık toprak- bitki-atmosfer sistemi içerisindeki su akışını azaltır. Atmosferdeki yüksek buharlaşma talebi, yüksek sıcaklık ve düşük bağıl nem gibi faktörlere bağlı olarak yaprak ve hava arasındaki buhar basınç farkının artmasına neden olur ve bu koşullar transpirasyon ile su kaybını artırarak, yaprak su içeriğinin azalması ile sonuçlanır [337]. Su içeriği; bitkilerdeki önemli fizyolojik parametrelerden biri olup kuraklık tolerans düzeyi ile fizyolojik özellikler arasındaki ilişkide indikatör olarak kullanılmaktadır [77]. Bu tez kapsamında genotiplerin nispi su içeriği (NSİ) ve yaprak su potansiyeli (Ψ_w) parametreleri incelenmiştir ve tüm genotiplerde hem NSİ hem de yaprak Ψ_w her iki kuraklık uygulamasında (S1 ve S2) kontrollerine göre önemli düzeyde azalmıştır (Şekil 4.5; 4.6) ve en fazla azalışlar fotosentez aktivitesine göre duyarlı olarak belirlenen Linas ve AÖVD-L/12'de meydana gelmiştir. Kuraklık koşullarında hem NSİ'nin hem de yaprak Ψ_w 'nin azaldığını bildiren birçok çalışma bulunmaktadır [130, 334, 335, 338-341]. Aspir genotiplerinde NSİ kontrollü koşullar altında yaklaşık %85 iken, stres koşullarında bu değer yaklaşık %50'lere kadar düşmüştür. NSİ gibi yaprak su potansiyeli de bitkilerin maruz kaldığı kuraklık stres derecesinin genel anlamda ölçülmesine imkan veren bir indikatördür [207, 323] NSİ'deki azalma bitki hücresi turgorundaki

azalmasının bir göstergesidir [18] ve bu nedenle yaprak Ψ_w 'li ile birlikte azalış göstermiştir. Yaprak Ψ_w 'li ise bitkilerin yetiştiği toprakta bulunan suyun enerji durumunun bir ölçüsü olan toprak su potansiyel (Ψ_w) ile korelasyon gösterir [334, 342]. Aspir genotiplerinde stres koşullarında toprak Ψ_w 'nin azalması nedeniyle hem NSİ hemde yaprak Ψ_w önemli düzeyde azalmıştır (Şekil 4.7). Şiddetli kuraklıkta (S2) orta şiddette kuraklığa (S1) göre tüm genotiplerde hem toprak Ψ_w hem de yaprak Ψ_w önemli düzeyde azalmıştır. S2'de S1'e göre ise genotiplerin NSİ değerindeki azalışlar istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır. Bu durum bitkinin su içeriğini belirleme açısından yaprak Ψ_w 'nin daha hassas bir parametre olduğu göstermektedir. Ayrıca kuraklık uygulamalarında en düşük toprak Ψ_w de bile Remzibey-05 bitkisinin yapraklarında en yüksek yaprak Ψ_w ile birlikte NSİ değerlerinin belirlenmesi; bu genotipin stres koşullarında çeşitli mekanizmalar ile birlikte (osmotik koruyucuların sentezi gibi) suyu bünyesinde muhafaza ettiğini ve bu sayede dayanıklılığını artırdığını göstermektedir. Yeniden sulama ile toprak su potansiyeli kontrollü koşulların değerlerine dönerken, bitkilerin NSİ ve yaprak Ψ_w değerleri genotiplere göre değişkenlik göstermiştir. Her iki şiddette kuraklığın akabinde yeniden sulama uygulamalarında (R1'de S1'e göre; R2'de S2'ye göre) genel olarak Remzibey-05 ile AÖVD-L/14'de NSİ ve yaprak Ψ_w değerleri önemli düzeyde artmıştır. Yeniden sulama uygulamalarında (R1 ve R2) kuraklıklara (S1 ve S2) göre NSİ değerlerindeki değişim diğer genotiplerde önemli düzeyde bulunmazken; yaprak Ψ_w 'nin R1'de S1'e göre sadece AÖVD-L/12'de önemli düzeyde azaldığı; R2'de S2'ye göre ise Remzibey-05, TRE-ASO 12/08, AÖVD-L/1, AÖVD-L/3, AÖVD-L/11 ve AÖVD-L/14 hariç diğer genotiplerde önemli düzeyde azaldığı ve en fazla azalışın AÖVD-L/12'de meydana geldiği tespit edilmiştir. Bazı genotiplerin şiddetli kuraklığın akabinde yeniden sulama uygulamasında su içeriğini arttıramaması iyileşme sağlayamadığını göstermektedir.

Yüksek bitkilerde ışık enerjisini yaklayan asıl pigment grubu olarak klorofiller, görünür ışığın yeşil dalga boyunu yansıtırken; kırmızı ve mavi dalga boylarını absorbe eden ve fotosistemlerin hem ışık toplayıcı anten komplekslerinde hem de reaksiyon merkezinde bulunan pigment grubudur [343]. Işık toplayıcı komplekslerde yer alan bir diğer pigment grubunu oluşturan karotenoidler, fazla ışık enerjisini termal ısı şeklinde yayma, buldukları zarlarda pigment-protein

komplekslerinin stabilizasyonunu sağlama ve ışıkla fotosentetik komplekslerin eksitasyonu sonucu oluşan aktif oksijen türlerine karşı fotosentetik yapıları korumada rol oynarlar [344]. Aspir genotiplerinde orta şiddetli kuraklıkta (S1) klorofil a+b içeriği; TRE-ASO12/08, AÖVD-L/2, AÖVD-L11 ve AÖVD-L12'de; karotenoid içeriği ise sadece AÖVD-L/3'de önemli düzeyde azalmıştır. (Şekil 4.8; 4.9) Şiddetli kuraklıkta (S2) ise stresin yoğunluğuna göre hem klorofil a+b hem de karotenoid içeriği Remzibey-05 hariç genotiplerin çoğunda önemli düzeyde azalmıştır. Ayrıca S2'de S1'e göre stres şiddetinin artışı ile birlikte klorofil a+b içeriği Balcı, Linas, AÖVD-L/1, AÖVD-L/3, AÖVD-L/4, AÖVD-L/11 ve AÖVD-L/12'de önemli düzeyde azalırken; karotenoid içeriği sadece AÖVD-L/1 ve AÖVD-L/4'de önemli düzeyde azalmıştır. Kuraklık koşullarında klorofil içeriğindeki azalışlar; tilakoid membranlardaki hasarlar nedeniyle fotosistemlerdeki azalışlara bağlı olabileceği gibi [345, 346]; pigmentlerin foto-oksidasyonunun ya da klorofil bozulmasının bir sonucu olarak oksidatif stresin tipik bir belirtisi de olabilir [207, 347, 348]. Ayrıca klorofil a+b azalışları ışığın absorpsiyonunu azaltılarak fotokoruyucu bir mekanizmanın devreye girmesi ile ilgili de olabilir [349, 350]. Stres koşullarında karotenoid içeriğindeki azalışların karoten, neoksantin ve violaksantin miktarındaki azalışlar ile ilgili olabileceği bildirilmiştir [351]. Literatürde kuraklık stresinde pigment içeriğinin önemli düzeyde azaldığını gösteren birçok çalışma bulunmaktadır [341, 352-356]. Orta şiddetli kuraklığın akabiden yeniden sulama uygulamasında (R1) kuraklığa (S1) göre hem klorofil a+b içeriği hem de karotenoid içeriği Dinçer, Balcı, TRE-ASO 12/08, AÖVD-L/1, AÖVD-L/2 ve AÖVD-L/4 genotiplerinde önemli düzeyde azalmıştır. Şiddetli kuraklığın akabiden yeniden sulama uygulamasında (R2) kuraklığa (S2) göre klorofil a+b içeriği Remzibey-05 ve AÖVD-L/14 hariç diğer genotiplerde; karotenoid içeriği ise Dinçer, Balcı, TRE-ASO 12/08, AÖVD-L/3, AÖVD-L/11 ve AÖVD-L/12 genotiplerinde önemli düzeyde azalmıştır. İyileşme koşullarında bu genotiplerde kuraklığa göre hem klorofil hem de karotenoid içeriğinin azalması bu genotiplerde pigment miktarının korunması yönünden stresle başa çıkamadığını göstermektedir.

İyon sızıntısının belirlenmesi; çevresel stresler ile büyüme, gelişme ve genotipik değişimlerin membran bütünlüğü arasındaki ilişkiyi belirlemek için kullanılan bir yöntemdir [357]. Hücre zarının stabilitesi ve bütünlüğünün bir göstergesi olan iyon sızıntısı, bitkilerde kuraklık toleransını ortaya koyan önemli bir parametre olarak da

kullanılmaktadır [349]. Aspir genotiplerinde hem her iki kuraklık uygulamasında (S1 ve S2) kontrollerine hem de şiddetli orta şiddetli kuraklığa (S2'de S1'e göre) göre iyon sızıntısı oranı tüm genotiplerde önemli düzeyde artmıştır ve sırasıyla en fazla artış S1'de K2'ye ve S2'de K3'e göre AÖVD-L/12 ve S2'de S1'e göre Linas'da belirlenmiştir. Kuraklık stresi altında membran bütünlüğünün bozulduğu ve iyon sızıntısının önemli düzeyde arttığını gösteren bir çok çalışma bulunmaktadır [18, 307, 341, 358]. Genotiplerde stres koşullarında iyon sızıntısının önemli düzeyde artması, membran bütünlüğünü bozan oksidatif hasarı yansıtmaktadır ve bu nedenle membranda yer alan hücresel işlevlerde de bozulmalara neden olmaktadır [358]. Aspir genotiplerinde toprak su içeriğinin azalmasına bağlı olarak (Şekil 4.7) yaprak su düzeyinin (NSİ ve yaprak Ψ_w) azalması (Şekil 4.5; 4.6) ile birlikte iyon sızıntısı oranı artmıştır, pigment içeriği (klorofil a+b ve karotenoid) azalmıştır (Şekil 4.8; 4.9) ve fotosentez aktivitesinde azalmalar meydana gelmiştir (Şekil 4.1; 4.2; 4.3; 4.4). Orta şiddetli kuraklığın akabiden yeniden sulama uygulamasında (R1) kuraklığa (S1) göre iyon sızıntısı oranı Remzibey-05, Dinçer, Balcı, AÖVD-L/3 ve AÖVD-L/14'de %15'den fazla azalırken; AÖVD-L/4, AÖVD-L/11 ve AÖVD-L/12'de %17'den fazla artmıştır. Şiddetli kuraklığın akabiden yeniden sulama uygulamasında (R2) ise kuraklığa (S2) göre sadece Remzibey-05 ve AÖVD-L/14'de %30'dan fazla azalırken; AÖVD-L/2; AÖVD-L/3; AÖVD-L/4; AÖVD-L/11 ve AÖVD-L/12'de %10'dan fazla artmıştır. Yeniden sulama uygulamalarında genotiplerde iyon sızıntısı oranının kuraklık uygulamalarına göre artması, bu genotiplerin membran hasarının üstesinden gelemediğini gösterirken; azalması membran yapısında membranın akışkanlığını, bütünlüğünü ve işlevselliğini sürdüreceği önemli değişimlerin meydana geldiğini göstermektedir [18, 44].

Aspir genotiplerinin geliştirdiği kuraklık dayanımları bakımından genotiplerin taranmasında seçim kriteri olarak; performans indekslerinden hesaplanan kuraklık ve iyileşme faktör indeksleri kullanılmıştır [279, 317, 318]. Bunun yanı sıra nispi su içeriği [359], yaprak ve toprak su içeriği, pigment miktarları [360, 361] ile iyon sızıntısı verileri kullanılarak da hasar indeksi ile iyileşme dereceleri hesaplanmıştır ve genotipler sıralanmıştır. Değerlendirme sonucunda; fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerle yapılan genotip sıralamalarının performans indeksinden elde edilen sıralamalar ile örtüştüğü saptanmıştır. Analiz edilen tüm parametreler üzerine

yapılan hesaplamalara göre (Çizelge 4.8 - 4.9); Remzibey-05 ve AÖVD-L/14 kuraklığa dayanıklı; AÖVD-L/1, AÖVD-L/3, Balcı, AÖVD-L/11, TRE-ASO 12/08, Dinçer ve AÖVD-/4 kuraklığa orta derecede dayanıklı ve AÖVD-L/2, Linas ve AÖVD-/12 kuraklığa hassas olarak sınıflandırılmıştır.

5.2. Seçilen Aspir Genotiplerin Kuraklığa Dayanıklılığının Morfolojik, Fizyolojik ve Biyokimyasal Analizler ile Karakterizasyonu

Kuraklık, bitkilerin büyümesini ve fizyolojik durumunu etkileyebilecek önemli bir abiyotik stres faktörüdür [362]. Bu tez kapsamında incelenen tüm büyüme parametreleri birlikte değerlendirildiğinde; kuraklık stresi aspir genotiplerinde büyüme ve gelişmenin azalmasına neden olmuştur. Remzibey-05'de hem stres hem de yeniden sulama koşullarında bitki boyu ve yaprak sayısının azalması, taze ağırlık azalışını da beraberinde getirmiştir. Ayrıca dayanıklı genotip olan Remzibey-05'in stres ve yeniden sulama uygulamalarında kuru ağırlık değerlerindeki değişimler önemli düzeyde bulunmamıştır. Bitki boyunu ve yaprak sayısını azaltmasının nedeni bu genotipin açık stoma sayısını ve transpirasyon oranını azaltarak fazla su kaybını önlenmesi olabilir [363]. Taze ağırlıktaki azalma ise, turgorun azalması ve beraberinde hücre genişlemesi ve büyümesinin etkilenmesi ile bağlantılı olabileceği belirtilmiştir [363, 364]. İyileşme koşullarında strese göre Remzibey-05'in taze ağırlık değerleri istatistiksel olarak önemli düzeyde artmıştır (Şekil 4.14). Bu bulguların fotosentez (Şekil 4.19-4.27) ve nispi su içeriği (Şekil 4.18) sonuçları ile de desteklenmesi; çeşidin stresin üstesinden gelmeye çalıştığı bir göstergesidir. Bununla birlikte, duyarlı genotiplerde (Linas ve AÖVD-L/12) uygulamalarda bitki boyu ve yaprak sayısı önemli düzeyde değişmezken; stres koşullarında taze ve kuru ağırlık önemli düzeyde azalmış, yeniden sulama uygulamasında ise strese göre genel olarak artmıştır. Ayrıca, yabancı aspir türü olan *C. oxyacantha*'da stres ve yeniden sulama koşullarında bitki boyunun, yaprak sayısının ve kuru ağırlığın önemli düzeyde değişmemesi, taze ağırlığın ise stres koşullarında azalırken; yeniden sulama koşullarında artması; bu genotipin kuraklık stresine tolerans düzeyinin çeşit ve hatlara göre daha yüksek olduğunu göstermektedir. Morfolojik parametrelerden hesaplanan tolerans indeksi ve iyileşme potansiyeli verileri; diğer ölçümler ile karşılaştırıldığında bitki boyundaki artışların 7 günlük kuraklığın değerlendirilmesi açısından yeterli bir parametre olmadığını ortaya koymuştur. Ağırlık değişimlerinden (taze ve kuru) hesaplanan tolerans indeksleri ve iyileşme potansiyelleri esas alındığında

genotipler dayanımlarına göre *C. oxyacantha*, Remzibey-05, AÖVD-L/14, AÖVD-L/12 ve Linas olarak sıralanmıştır (Şekil 4.15, 4.17). Stresin etkilerini doğrudan biyokütleye yansıtan kuru ağırlık sonuçları, aspir genotiplerinde diğer büyüme parametreleri ile karşılaştırıldığında bu etkileri ortaya koymada daha seçici bir parametre olarak önerilebilir.

Bitkinin su durumunun bir ölçüsü olarak bilinen NSİ, dokulardaki metabolik aktiviteyi yansıtmakla birlikte dehidrasyon toleransı için önemli bir markör olarak nitelendirilmektedir [365, 366]. Kontrollü koşullar altında optimum su içeriğini gösteren NSİ değerinin % 80 ile %90 arasında değişirken; bu değer %70'in altına düştüğü durumlarda bitkinin fizyolojik süreçlerinde negatif etkilerin görülmeye başlandığı bildirilmiştir [207, 335, 341, 366, 367]. Genotiplerden *C. oxyacantha*'da nispi su içeriğindeki değişim her iki uygulamada da önemli düzeyde bulunmamıştır (Şekil 4.18). Erice vd. [187] çalışmalarında kontrol ve kuraklık uygulamalarını karşılaştırdıklarında bu gruplar arasında su içeriği bakımından önemli bir farklılık olmamasını, bitkinin dokularını dehidrasyona karşı korumasıyla ilişkilendirmişlerdir. Ayrıca stres koşullarında tüm çeşit ve hatlarda NSİ önemli düzeyde azalırken, yeniden sulama koşullarında strese göre Remzibey-05 ve AÖVD-L/14'de önemli düzeyde artmıştır. Kuraklık koşullarında bir çok bitkide NSİ'nin önemli düzeyde azaldığı bildirilmiştir [207, 310, 348, 368-371]. Kuraklıkta NSİ'nin azalması, PSII'de elektron vericisi olan suyun azalması nedeniyle ATP sentaz aktivitesi ile PSI'nin elektrokimyasal potansiyelindeki azalmanın tetiklenmesiyle ilişkili olabileceği bildirilmiştir [372]. Nispi su içeriğindeki bu değişimleri; fotosentez (Şekil 4.19-4.27) ve proteom (Çizelge 4.11) sonuçları ile paralellik sergilemektedir. Prolin gibi osmotik düzenleyicilerin varlığı hücredeki su içeriği ile ters orantılıdır (Şekil 4.36) ve bu ters yönlü ilişki nedeniyle NSİ'nin osmotik düzenleyicilerin belirlenmesinde fizyolojik markör olarak kullanılabileceği bildirilmiştir [373].

Klorofil a floresans ölçümleri ile yaprakta görünür hasarlar meydana gelmeden fotosentezde meydana gelen değişimleri tespit edilebilmektedir [374, 375]. Örneklere hasar vermeden fotosentetik sistemler üzerinde ölçüm yapılmasına imkan veren klorofil a floresans tekniğinin; tarımsal, çevresel ve ekolojik çalışmalarda kullanılacak güçlü bir araç olduğu bildirilmiştir [319]. Bu yöntem ile yapraklarda PSII boyunca elektron transportunun etkinliği hızlı bir şekilde

ölçülebildiği gibi [288, 376] çevresel streslere tolerans gösterebilen bitkilerin mekanizmaları ile bu streslerin bitkilerde fotosentetik aparatlara verdiği zararların düzeyi hakkında da bilgi sahibi olunabilmektedir [328, 377]. Klorofil a floresans (ChlF) ölçümleri, çevresel stres koşulları altında, PSI'e göre daha duyarlı olan PSII'de [378, 379] meydana gelen değişimleri inceleyerek fotosistemler [380], fotosistemler arasındaki enerji dağılımı ve alternatif elektron havuzlarının aktivitesi (plastid terminal oksidaz gibi) hakkında bilgi veren bir tekniktir [130]. Bu yöntem, kuraklık stresinin yapraklardaki PSII aktivitesi üzerine etkisini inceleyebilmek için birçok çalışmada kullanılmıştır [334, 381-385]. Minimum floresans olarak da bilinen F_0 , PSII reaksiyon merkezinin açık olduğu durumu ifade eder; yani karanlığa adapte yapraklarda PSII'nin primer elektron alıcı molekülü olan Q_A 'nın maksimum düzeyde oksidasyonunun kapasitesini yansıtır [386] ve anten klorofillerinin durumunu ortaya koyar [387]. F_0 değeri stres koşullarında AÖVD-L/12 ile AÖVD-L/14'de önemli düzeyde artarken, yeniden sulamada strese göre sadece AÖVD-L/14'de önemli düzeyde azalmıştır (Şekil 4.19). Diğer genotiplerde stres ve yeniden sulama uygulamalarındaki değişimler ise önemli düzeyde bulunmamıştır. F_0 'daki bu artışın, PSII reaksiyon merkezi tarafından enerji yakalanması oranının azalması şeklinde yorumlanabileceği bildirilmiştir [388]. Ayrıca F_0 'daki artış, hem tüm Q_A 'ların okside forma dönüşmediğini hem de oksijen oluşturuvcu kompleksin zarar gördüğünü gösterir. Bu durum PSII'nin donör kısmında bir aksaklık olduğunu ortaya koyar. Karanlığa adapte yapraklarda Q_A 'nın maksimum düzeyde indirgenmesini yani PQ havuzunun redüksiyon durumunu ifade eden F_M (maksimum floresans) düzeyi [376], kontrole göre stres koşullarında *C. oxyacantha* hariç, yeniden sulama koşullarında ise *C. oxyacantha* ve Remzibey-05 hariç önemli düzeyde azalmıştır (Şekil 4.20). F_M değerindeki azalışlar oksijen oluşturan kompleksin etkinliğinin azalması ile ilişkili olabilir [389]. Ayrıca yeniden sulamada Remzibey-05'de F_M değerinin strese göre artması oluşan hasarın üstesinden gelmeye çalıştığını göstermektedir. Genotiplerin F_0 ve F_M değerlerindeki değişimler (Şekil 4.19; 4.20) F_V/F_M ve F_V/F_0 oranında değişimlere yol açar (Şekil 4.21; 4.22). Fotosentetik aparatların fizyolojik durumu hakkında bilgi veren ve karanlığa adapte edilmiş yapraklarda PSII'nin potansiyel fotokimyasal etkinliğini ifade eden F_V/F_M oranı [357], *C. oxyacantha* ve Remzibey-05 hariç diğer genotiplerde stres koşullarında önemli düzeyde azalmıştır. İyileşme koşullarında ise sadece AÖVD-L/14'de önemli düzeyde artmıştır. F_V/F_M değerinin

C. oxyacantha ile Remzibey-05'de önemli düzeyde değişmemesi, bu genotiplerde fotosentetik aktivitenin etkilenmediğinin göstergesi olarak düşünülebilir. Kuraklıkta fotosentezin erken evrelerindeki değişiminin ortaya konulmasında F_V/F_M oranın hassas bir parametre olmadığı çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir [279, 317, 338]. AÖVD-L/14'de ise stres koşullarında oluşan inhibisyonun yeniden sulama ile iyileşme göstermesi hasarın geri dönüşümlü olduğu ortaya koymaktadır [382]. PSII'nin donör kısmındaki O_2 oluşturan kompleksin etkinliği gösteren F_V/F_0 parametresi, F_V/F_M gibi bitkilerin fotosentetik etkinliğini yansıtır [388]. F_V/F_0 , çeşit ve hatlarda stres koşullarında önemli düzeyde azalırken, yeniden sulama durumunda Remzibey-05 ile AÖVD-L/14'de önemli düzeyde artmıştır. Yabani genotip olan *C. oxyacantha*'da ise önemli bir değişim tespit edilmemiştir. Fotosentetik elektron taşınım zincirinin en hassas bileşeni olan F_V/F_0 'daki bir azalma fotosentetik elektron taşınımındaki aksaklığın bir göstergesidir [390, 391].

Işığa adapte edilmiş yapraklarda PSII'nin gerçek fotokimyasal etkinliğini ifade eden Φ_{PSII} , PSII tarafından elektron taşınımında kullanılacak ışığın etkinliğini doğrudan değerlendirilmesini sağlar [392]. Φ_{PSII} değeri kuraklık koşullarında tüm genotiplerde önemli düzeyde azalırken, yeniden sulama koşullarında strese göre Linas hariç tüm genotiplerde artmıştır ve Remzibey-05 ile *C. oxyacantha*'da kontrol değerlerine yaklaşmıştır (Şekil 4.23). Genotiplerin Φ_{PSII} değerlerindeki bu azalmaların diğer klorofil *a* floresans parametrelerindeki (F_V'/F_M' , ETH ve qP) düşüşlerle de uyum göstermektedir (Şekil 4.24, 4.25, 4.26). F_V'/F_M' parametresi, PSII'nin tüm reaksiyon merkezlerinin açık olduğu durumda (Q_A okside haldeyken) PSII'nin maksimum etkinliğini [393]; ETH, elektron taşınım hızını ve qP , fotokimyasal kullanımı (açık olan PSII reaksiyon merkezleri oranı) ifade eder [394]. Filek vd. [369] buğday ile yaptıkları kuraklık çalışmasında Φ_{PSII} değerinin F_V'/F_M' ve qP kadar azaldığını bildirmişlerdir. Brestic ve Zivcak [107] ise Φ_{PSII} ile qP 'nin ilişkili olduğunu ifade etmiştir. F_V'/F_M' 'deki azalış, PSII anten kompleksinde eksitasyon enerjisinin fotokimyasal olmayan kullanımındaki artış ile elektron transportundaki azalmayla (ETH) ilişkilidir. Öte yandan qP 'deki azalış ise ATP ve indirgeyicilerin (NADPH) tüketimindeki azalma ya da PSII'nin reaksiyon merkezlerinde hasar ile ilişkilendirilebilir [385, 394].

NPQ, eksitasyon enerjisinin fotokimya dışında kullanılma düzeyini gösteren iyi bir indikatördür ve Q_A 'nın aşırı indirgenmesini önlemek için ışık toplayıcı (anten

kompleks) sisteminde eksitasyon enerjisinin ısı şeklinde kaybına neden olarak iyi bir korunma cevabı oluşturur [395, 396]. Bu çalışmada hem stres hem de yeniden sulama sürecinde kontrol gruplarına göre tüm genotiplerde belirlenen değişimler istatistiksel açıdan önemli düzeyde bulunmazken; sadece yeniden sulama koşullarında strese göre AÖVD-L/14'deki artış önemli bulunmuştur (Şekil 4.27). Genotiplerde *NPQ* değerinin önemli düzeyde değişmemesi bu korunma mekanizmasının etkin hale gelmemesinden kaynaklanabilir.

Sonuç olarak, bütün fotosentetik parametreler için kontrol uygulamalarında yaşa bağlı olarak meydana gelen değişimler (K0, K1 ve K2) önemli bulunmamıştır. Ayrıca stres ve yeniden sulama uygulamalarında yabancı tür olan *C. oxyacantha*'nın verdiği cevaplar bu türün çeşit ve hatlara göre kuraklığa karşı daha dayanıklı olduğunu ortaya koymuştur. Bununla birlikte çeşitler ve hatlar arasında Remzibey-05'in stres koşullarından etkilenirken, yeniden sulama ile kontrol seviyesine yaklaşması, Remzibey-05'in çeşit ve hatlar arasında daha dayanıklı olduğunu göstermektedir.

Kloroplastların enerjistik durumları su stresinin bir sonucu olarak artmaktadır ve bu durum stresten etkilenen genotiplerde klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil miktarındaki artış ile doğrudan ilişkilidir [397, 398]. Klorofil a; elektromanyetik spektrumun dalga boylarından kırmızı ve mavi ışığı etkili bir şekilde absorbe eden ve fotosistemlerin hem ışık toplayıcı anten komplekslerinde hem de reaksiyon merkezinde bulunan başlıca fotosentetik pigmenttir. Klorofil a tarafından absorbe edilmeyen dalga boylarında absorpsiyon yapan klorofil b ise sadece ışık toplayıcı anten komplekslerinde bulunur. Klorofil b absorbe ettiği enerjiyi klorofil a'ya aktararak yardımcı pigment rolü üstlenerek fotosentezin etkinlik spektrumunu genişletir [399]. Bu çalışmada kontrol grupları arasında klorofil a ve b içeriği ile toplam klorofil miktarı açısından yaşa bağlı olarak önemli bir değişim belirlenmemiştir (Şekil 4.28; 4.29; 4.31). Klorofil a ve klorofil b içerikleri stres ve yeniden sulama uygulamalarında toplam klorofil miktarı ile benzer cevaplar vermiştir. Hem stres ve yeniden sulama uygulamalarında kontrollerine göre, hem de yeniden sulamada stres uygulamasına göre hassas genotiplerde (Linas ve AÖVD-L/12) pigment içerikleri önemli düzeyde azalmıştır. Kuraklık stresinin yaprak dokularında klorofil içeriğini azalttığını bildiren birçok çalışma bulunmaktadır [18, 356, 364, 370, 400-402]. Dayanıklı genotiplerde (*C. oxyacantha* ve Remzibey-05)

klorofil stabilitesinin ve iyileşme potansiyelinin hassas genotiplere (Linax ve AÖVD-L/12) göre daha yüksek olduğu ortaya konulmuştur (Şekil 4.32). Klorofil a/b oranı, ışık toplayıcı komplekste klorofil bileşenlerin birbirine oranının bir ölçüsüdür [403]. Ayrıca bu oran, PSI ve PSII'deki anten boyutunu gösteren iyi bir indikatör olup klorofil a ve b içeriğine bağlı olarak değişmektedir [404]. Bu çalışmada hem stres ve yeniden sulama uygulamalarında kontrollerine göre hem de yeniden sulamada stres uygulamasına göre hassas genotiplerde (Linax ve AÖVD-L/12) klorofil a/b oranındaki artışların önemli olduğu; diğer genotiplerdeki değişimlerin ise anlamlı olmadığı belirlenmiştir. Bu genotiplerde klorofil a/b oranının artmasının nedeni; klorofil b içeriğinin klorofil a içeriğine oranla daha fazla azalmasıdır. Kuraklık stresinde klorofil b içeriğinin klorofil a'ya göre daha fazla azaldığı Jaleel vd. [405] ile Jain vd. [406] tarafından da bildirilmiştir ve bu durum hassas genotiplerde reaksiyon merkezindeki pigmentlerin korunduğunu gösteriyor olabilir. Bu genotiplerde klorofil içeriğinin azalmasının nedenleri ise, kuraklık stresinin oksidatif stresi tetiklemesi ile sentezi artan AOT'lerin hem klorofil moleküllerini yıkıma uğratması hem de klorofil moleküllerinin bulunduğu kloroplastta yapısal hasarları tetiklemesidir [346, 348, 407]. Ayrıca, klorofillaz ve peroksidazın araştırıldığı çalışmalar kuraklık altında klorofil içeriğindeki azalmaları, pigment sentezinden çok yıkımının artması ile ilişkili olabileceğini göstermektedir [408, 409]. Nikolaeva vd. [410] dayanıklı genotiplerde pigment aparatlarının dehidrasyona karşı daha dirençli olduğunu bildirmişlerdir. *C. oxyacantha* ile dayanıklı çeşit olan Remzibey-05'de klorofil içeriğindeki küçük değişiklikler ile klorofil a/b oranının stabil olması Nikolaeva vd. [410]'nın buğday genotipleri ile yaptıkları çalışma sonuçları ile uyumluluk göstermektedir. Karotenoidler, fotosentetik aparatların korunması için gerekli pigmentler olup abiyotik ve biyotik streslerin algılanması ile bitki gelişimi aşamalarında sinyal molekülü olarak öncü role sahiptir [396]. Karotenoid içeriğindeki değişimler hassas genotipler için klorofil a ve b ile toplam klorofil içeriğinden elde edilen sonuçlar ile uyumludur. Fotosentetik pigment içeriklerindeki benzer azalışlar, fotosentetik reaksiyon merkezlerinde klorofil pigmentleri ile karotenoidin birbirleri ile ilişkili olduğunu göstermektedir [383].

Streslerin indüklediği hücrel hasarlarda membranlar önemli hedeflerdendir ve MDA miktarı, bitki dokularında oluşan hasar düzeyinin belirlenmesinde kullanılır

[411]. Malondialdehit (MDA), çoklu doymamış yağ asiti hidroksiperoksitlerinin bozunması ile ortaya çıkan bir ürün olup, lipid peroksidasyonunun belirlenmesinde sıklıkla kullanılan önemli bir belirteçtir [377]. Aspir genotiplerinde MDA miktarı yaşa bağlı olarak sadece Linas'da (K2'de K0'a göre) önemli düzeyde artmıştır (Şekil 4.34). MDA miktarı kontrole göre stres koşullarında tüm genotiplerde, yeniden sulamada ise *C. oxyacantha* hariç diğer genotiplerde önemli düzeyde artarken; yeniden sulama uygulamasında strese göre tüm genotiplerde önemli düzeyde azalmıştır ve en fazla azalış Remzibey-05'de belirlenmiştir. Stres koşullarında MDA miktarının arttığı çeşitli araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir [331, 412-416]. İyileşme koşullarında en düşük MDA düzeyinin Remzibey-05 ile *C. oxyacantha*'da belirlenmesi, bu genotiplerde yeniden sulama koşullarında stres sonucu meydana gelen hasarın, hızlı bir fosfolipid yenilenme mekanizmasının devreye girmesi ile giderilmesi ve membran bütünlüğünün tekrar sağlanabildiğini göstermektedir [411]. Linas, AÖVD-L/12 ile AÖVD-L/14'de yeniden sulama periyodunda bile MDA düzeyinin strese göre azalmasına rağmen hala yüksek konsantrasyonlarda olması, stresin etkilerinin yeterince giderilemediğinin bir göstergesidir [415]. Ayrıca MDA içeriğindeki artışın AOT birikimi sonucu gerçekleştiğini bildiren çalışmalar da bulunmaktadır [207, 336, 348, 370, 417]. Önemli AOT elemanlarından biri olan hidrojen peroksit (H_2O_2), O_2 'nin elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşan O_2^- 'den kendiliğinden veya SOD enziminin katalizlediği reaksiyon sonucunda açığa çıkar. Diğer AOT'lere göre daha kararlı olan [418] H_2O_2 'nin biyolojik toksisitesi -SH (tiyol) gruplarını okside etmesinden kaynaklanmaktadır [158]. Yüksek konsantrasyonlarda toksik bir molekül olarak rol oynayan H_2O_2 , düşük konsantrasyonlarda sinyal molekülü olarak işlev görür [419, 420]. H_2O_2 , yüklü bir molekül olmadığı için sıvı ve lipid çevrelerden difüze olabilme özelliğine sahip olması nedeniyle hücreler arasındaki önemli mesafeleri difüzyon ile geçer ve böylece hücresel iletişimde görev alabilir [421]. Aspir genotiplerinde H_2O_2 konsantrasyonu kontroller arasında yaşa bağlı olarak sadece Linas'da (K2'de K0'a göre) önemli düzeyde artmıştır (Şekil 4.35). Ayrıca *C. oxyacantha*'nın kontrollerinde H_2O_2 miktarı diğer genotiplerin kontrollerine göre önemli düzeyde yüksektir ve kontroller arasındaki bu farklılığın nedeni H_2O_2 'nin yabancı tür olan *C. oxyacantha*'da sinyal molekülü olarak görev alması ile ilişkili olabilir. Yabancı genotipteki bu sonuçları fotosentetik ve diğer biyokimyasal parametreler de desteklemektedir. Aspir genotiplerinde H_2O_2 konsantrasyonu hem stres hem de

yeniden sulama koşullarında kontrol gruplarına göre önemli düzeyde artmıştır. İyileşme uygulamasında ise strese göre dayanıklı çeşit Remzibey-05'de önemli düzeyde azalırken, hassas hat AÖVD-L/12'de artmıştır. Stres ve yeniden sulama koşullarında genotiplerin MDA ile H₂O₂'deki değişimler; antosiyanin, flavonoid ve antioksidan enzimlerdeki (SOD, APX, GR, POD, CAT) değişimlerle de uyumludur (Şekil 4.37; 4.38; 4.39; 4.40; 4.41; 4.42; 4.43). Bai vd. [422] H₂O₂ konsantrasyonunun kuraklık stresinde artarken, yeniden sulama koşullarında azalmasının; bu AOT'nin savunma ile ilgili yolların uyarılmasında sinyal molekülü olarak görev aldığına göstergesi olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca iyileşme gösteremeyen hassas genotiplerdeki yüksek H₂O₂ düzeyleri, bu molekülün toksik rol oynadığını gösteriyor olabilir (Şekil 4.35).

Kuraklık stresine karşı bitkilerin korunabilmeleri; hücre sel su potansiyelini düzenleyebilecekleri osmotik ayarlamaları gerektirir. Osmotik ayarlamalarda rol oynayan çözünebilir şekerlerin ve serbest prolinin birikimi, kuraklık stres düzeyini belirler [423]. Yüksek bitkilerde yaygın olarak bulunan prolin aminoasitinin sentezi düşük su potansiyeline sahip ortamlarda, spesifik olmayan bir cevap olarak artmaktadır [424]. Bitkilerin kuraklık toleransında prolinin önemli ve kompleks bir role sahip olduğu ve osmotik düzenlemede görev aldığı bilinmektedir [425]. Osmoregülatör görevinin yanı sıra prolin, membran stabilizasyonunun sağlanması ve reaktif oksijenlerin yakalanmasına katkıda bulunarak bitkilerin çevresel stresler tarafından zarar görmesini engellemektedir [426]. Bu tez çalışmasında *C. oxyacantha*'nın kontrol gruplarındaki prolin düzeyi diğer genotiplerin kontrollerine göre yaklaşık 20 kat daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Kontroller arasındaki bu farklılığın nedeni, prolinin yabancı tür olan *C. oxyacantha*'daki koruyucu role sahip olması ile ilişkili olabilir. Tüm genotiplerde prolin konsantrasyonu stres koşullarında kontrole göre önemli düzeyde artmıştır. Kuraklık koşullarında prolinin mısır, buğday, bezelye, kolza, nilüfer, yaban mersini ve süpürge darısı bitkisinde arttığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır [348, 358, 368, 402, 427-430]. Stres koşullarında prolin birikimi hem osmotik ayarlamalarda rol oynaması hem de büyümede görev alması nedeniyle stres toleransının belirlenmesinde önemli bir seçici kriter olabileceği bildirilmiştir [358, 431]. Prolin ve klorofil aynı öncüllere sahip olup her iki molekülde glutamattan sentezlenir ve bu nedenle klorofil içeriğinin azalmasının, prolin içeriğinde artışa neden olduğu bildirilmiştir [18].

Hassas aspir genotiplerinde hem stres hem de yeniden sulama koşullarında klorofil içeriklerinin önemli düzeyde azalması prolin içeriğindeki artış ile ilişkili olabilir (Şekil 4.28; 4.29; 4.31). Dayanıklı genotipler ile yabancı aspirda prolin içeriğinin önemli düzeyde artarken, klorofil içeriğini önemli düzeyde değişmemesi; prolin içeren diğer moleküllerin degregasyonunun ya da prolin sentezindeki artışın klorofil yıkımına göre daha etkili olması ile ilişkilendirilebilir. Proteomik analiz sonucuna göre kuraklık ve yeniden sulama sürecinde yabancı aspir genotipinde glutamin sentetaz enziminin ifadesinin azalması (Çizelge 4.13); prolin birikiminin degregasyon kaynaklı olabileceği gibi sentez kaynaklı ise glutamat yerine ornitin üzerinden olabileceğini göstermektedir. İyileşme uygulamasında ise strese göre tüm genotiplerde prolin miktarı önemli düzeyde azalmıştır ve en fazla azalış Remzibey-05'de belirlenmiştir. Bunun nedeni bitkilerde prolinin kuraklıkta sentezinin, yeniden sulamada ise yıkımının artmasıdır [152]. Prolin miktarındaki bu azalışın nedeni; yeniden sulama koşullarında ortamda bulunan yüksek miktardaki prolinin çeşitli metabolik işlevlere dahil olarak bitki yapısında rol oynaması -örneğin organik azot rezervi olarak- olabilir [410].

Antosiyaninler yaprak dokularından fazla ışığı yansıtarak klorofil pigmentlerini maskeler ve fotoinhibisyon ile klorofil beyazlamasını azaltır [432]. 400 ile 600 nm arasındaki ışığı absorbe eden antosiyaninler, diğer pigmentler için uygun dalgaboylarını sağlayarak klorofil koruyucu görevi üstlenirler [433]. Ayrıca antosiyaninler; H₂O₂, singlet oksijen, süperoksit, hidroksil ve peroksil radikalleri gibi AOT'lerin doğrudan yok edilmesinde de görev alırlar [185]. Bu çalışmada, *C. oxyacantha*'nın kontrol gruplarındaki antosiyanin içeriğinin diğer genotiplerin kontrollerine göre yaklaşık 2 kat daha yüksek düzeyde olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.37). Bu durum, yabancı genotipte antosiyaninin oksidatif stres ve kuraklığa karşı korunmada rol aldığını gösteriyor olabilir [434]. Genotiplerde antosiyanin konsantrasyonu kontrollerine göre streste tüm genotiplerde, yeniden sulama koşullarında ise Remzibey-05 ve *C. oxyacantha* hariç diğer genotiplerde önemli düzeyde artmıştır. Kalefetoğlu Macar ve Ekmekçi [413] nohut bitkisi ile yaptıkları çalışmada antosiyanin birikiminin korunma mekanizmasına katkı sağlıyor olabileceğini bildirmiştir. İyileşme koşullarında ise strese göre *C. oxyacantha* hariç diğer genotiplerde önemli düzeyde azalmıştır ve en fazla azalış dayanıklı çeşit olan Remzibey-05'de tespit edilmiştir. Bu durum antosiyanin sentez yolunda

harcanan enerji gereksiniminin yüksek olması ile ilişkili olabilir. Şikimik asit yolunun bir diğer metaboliti olan flavonoidler; bitkiler aleminde oldukça yaygın olarak bulunurlar ve pigmentasyon, UV ışığa karşı koruma, fitopatojenlere karşı savunma ve bitki üremesi gibi bir çok farklı işlevde görev alırlar [435]. Bununla birlikte, çevresel stres koşullarına maruz kalan dokularda flavonoidler, guaiakol peroksidaz (GuPXs)'a elektron verici molekül olarak H_2O_2 'nin detoksifikasyonunda da rol oynarlar [436]. Bu tez çalışmasında stres ve yeniden sulama koşullarında kontrollere göre tüm genotiplerde flavonoid içeriği artmıştır (Şekil 4.38). İyileşme koşullarında strese göre, çeşit ve hatlar arasında genellikle azalma meydana gelmiştir ve en fazla azalış Remzibey-05'de belirlenmiştir. Dayanıklı çeşit olan Remzibey-05'de flavonoid düzeyinin stres koşullarında H_2O_2 ve MDA içeriği ile birlikte artması (Şekil 4.34; 4.35) bu çeşitte kuraklığa karşı savunma mekanizmalarında flavonoidlerin de görev aldığını gösteriyorken; yeniden sulama koşullarında ise azalması, bitkileri savunma mekanizmasında flavonoidlerin yeterli düzeyde görev alamadığını göstermektedir.

Abiyotik stres koşullarında solunum ve fotosentetik elektron taşıma sistemlerinin aşırı eksitasyonuna bağlı olarak konsantrasyonları artan AOT'lerin [437] oksidatif etkilerini azaltmak ve hasardan korunmak için bitkiler; antioksidan bileşikler (askorbat, glutatyon, α -tokoferol vb.) ve antioksidan enzimler (SOD, CAT, APX, GR, POD ve ALR gibi) gibi savunma sistemleri aracılığıyla toksik ve reaktif oksijen türlerini uzaklaştırırlar [377, 438-440]. Bu çalışma kapsamında tüm kontrol uygulamalarında aspir genotiplerinin antioksidan enzim aktiviteleri arasında zamana bağlı önemli bir değişim meydana gelmemiştir. Kontrol koşullarında *C. oxyacantha*'da SOD, APX ve GR enzim aktiviteleri diğer genotiplere göre yaklaşık 2 kat; POD enzim aktivitesi ise yaklaşık 7 kat daha fazla bulunmuştur. Dayanıklı genotip olan Remzibey-05'de ise CAT enzim aktivitesi diğer genotiplere göre yaklaşık 2 kat daha fazladır. Kontrol koşullarında yabani tür olan *C. oxyacantha*'da antioksidan enzim aktivitelerinin diğer genotiplere göre yüksek olması, bu genotipin kuraklık koşullarına dayanıklılığının bir göstergesi olabilir.

SOD, bitkilerde oksidatif hasara karşı oluşturulan savunma mekanizmasının ilk basamağını oluşturur ve AOT'lerin detoksifikasyonunda primer yakalayıcı olarak görev alır. Metaloenzim olan SOD, süperoksitin H_2O_2 ve oksijene dönüşümünü katalizleyerek hücreyi O_2^- indüklediği oksidatif hasara karşı korur [441-444]. Aspir

bitkilerinde SOD enzim aktivitesi kontrol gruplarına göre stres koşullarında tüm genotiplerde, yeniden sulama koşullarında ise *C. oxyacantha* hariç diğer genotiplerde önemli düzeyde artmıştır (Şekil 4.39). Kuraklık stresi altında kolza, kadife çiçeği, kasımpatı, soya ve mısırdaki SOD enzim aktivitesinin arttığını bildiren çalışmalar bulunmaktadır [370, 371, 416, 445, 446]. İyileşme koşullarında ise strese göre *C. oxyacantha* hariç diğer genotiplerde SOD enzim aktivitesindeki değişimin önemli düzeyde bulunmaması; kuraklık stresine maruz kalan bu genotiplerdeki süperoksiti dismute eden enzimin yeniden sulama sürecinde de aktivitesini devam ettirdiğini göstermektedir. Hem stres hem de yeniden sulama koşullarında kontrollerine göre SOD aktivitesindeki en fazla artış dayanıklı çeşit olan Remzibey-05’de belirlenmiştir. Remzibey-05’deki bu artış, oksidatif strese karşı bu çeşidin daha yüksek toleransa sahip olduğunun göstergesidir.

SOD’un katalizlediği reaksiyon sonucu oluşan H_2O_2 güçlü bir oksidant olduğu için hücre içinde birikmesi engellenmelidir [163]. Toksik H_2O_2 ’i detoksifiye ederek H_2O ve O_2 oluşturabilen metabolik yollar bulunmaktadır. APX bu enzimlerden birisi olup askorbat-glutasyon (Asada-Halliwell) yolunun ilk basamağında bulunur ve elektron verici olarak askorbatı kullanır [447, 448]. Aspir genotiplerinde kuraklık stresi uygulamasında APX aktivitesinde belirlenen artışlar Remzibey-05, AÖVD-L/14 ve *C. oxyacantha*’da istatistiksel olarak önemli düzeyde bulunmuştur (Şekil 4.40). Yeniden sulama koşullarında ise strese göre APX aktivitesindeki azalış *C. oxyacantha* hariç diğer genotiplerde anlamlı bulunmamıştır. APX’e elektron vererek okside hale gelen askorbat, redükte glutasyon tarafından indirgenir. Bu döngünün son enzimi GR ise NADPH’ı kullanarak okside glutasyonu (GSSG) indirger [449, 450]. Bu sayede GR, hücresel glutasyon havuzunu stabil tutarak bitkiyi oksidatif strese karşı korumada önemli bir rol üstlenir [201, 451]. Tüm aspir genotiplerinde GR aktivitesi stres koşullarında önemli düzeyde artmıştır (Şekil 4.41). İyileşme koşullarında ise stres uygulamasına göre GR aktivitesinin Linas, AÖVD-L/12 ve *C. oxyacantha*’da önemli düzeyde azaldığı; kontrol gruplarına göre de sadece Remzibey-05’de yükseldiği belirlenmiştir. Asada-Halliwell döngüsünde yer alan APX ve GR enzim aktiviteleri genotiplerde stres ve yeniden sulama uygulamalarında genel olarak benzer cevaplar vermiştir. Stres koşullarında en fazla APX ve GR enzim aktivitesi artışının Remzibey-05’de belirlenmesi; H_2O_2 detoksifikasyonunda Asada-Halliwell yolunun görev aldığını göstermektedir. APX

enzim aktivitesinin artışı hücreler arası H_2O_2 'nin fazla olması ile ilişkilendirilebilirken, GR aktivitesinin artması NADP'nin rejenerasyonu için gereklidir [371]. İyileşme koşullarında ise Remzibey-05 hariç APX ve GR enzim aktivitelerinin kontrol düzeyine yaklaşması genotiplerde genel olarak H_2O_2 detoksifikasyonunda diğer antioksidan enzimlerin daha etkin rol oynadığını göstermektedir.

Aktif oksijen metabolizmasında rol oynayan POD enzimi, bitkilerde lignifikasyonu ile suberizasyonu içeren hücre çeperi biyosentezinde, patojenlere ve yaralanmalara karşı korumada, etilen biyosentezinde ve oksin metabolizmasında görev alır [452, 453]. Stres koşullarında POD enzimi, H_2O_2 detoksifikasyonunda görev alır ve bu sayede hücreleri zararlı H_2O_2 konsantrasyonlarına karşı korumaktadır [454]. POD enzim aktivitesi hem stres hem de yeniden sulama koşullarında kontrollerine göre tüm aspir genotiplerinde önemli düzeyde artmıştır ve en fazla artış dayanıklı çeşit Remzibey-05 ve yabancı genotip olan *C. oxyacantha*'da belirlenmiştir (Şekli 4.42). *C. oxyacantha*'da POD enzim aktivitesinin her iki uygulamada da kontrollerine göre artması proteomik analiz sonucuna göre hücre çeper biyosentezinde görev alan XET enziminin ifadesinin artması ile de uyumludur (Çizelge 4.13); Huseynova [455] buğday bitkisi ile yaptığı çalışmada yüksek H_2O_2 konsantrasyonunun POD genlerini aktive ederek POD enzim aktivitesinde artışına sebep olduğunu bildirmiştir. Genotiplerde POD enzim aktivitesindeki bu artışlar, H_2O_2 detoksifikasyonunda bu enzimin APX ve GR'a göre daha etkin rol aldığını göstermektedir. İyileşme koşullarında strese göre POD aktivitesi duyarlı genotip olan AÖVD-L/12 ile yabancı genotip olan *C. oxyacantha*'da önemli düzeyde azalmıştır. Yeniden sulama koşullarında stres uygulmasına göre *C. oxyacantha*'nın POD aktivitesi ile birlikte SOD, APX ve GR aktivitelerinin de azalması (Şekil 4.39; 4.40; 4.41), bu yabancı genotipin stresin etkisinin ortadan kalkması ile iyileşme sağlayabildiğini ve bitkinin metabolizmasını optimum düzeye ulaştırabildiğini göstermektedir.

Bitki dokularında katalaz (CAT), peroksizomlarda lokalize olmuş ve fotosolunum döngüsündeki glikolat oksidaz tarafından üretilen H_2O_2 'yi etkin bir şekilde H_2O ve O_2 'e dönüştüren tetramerik bir enzimdir [150, 162]. CAT'ın hücreleri H_2O_2 'den koruma etkinliği oldukça sınırlıdır. Bunun nedeni CAT'ın H_2O_2 'ye karşı ilgisinin düşük olması ve ışık varlığında inaktivasyona uğramasıdır [456, 457]. Aspir

genotiplerinde CAT enzim aktivitesi stres ve yeniden sulama uygulamalarında sadece yabancı tür olan *C. oxyacantha*'da önemli düzeyde artmıştır. *C. oxyacantha* hariç diğer genotiplerde CAT enzim aktivitesinin artmaması; H₂O₂'ye karşı ilgisinin düşük olmasına bağlı olarak bu genotiplerde etkin bir şekilde çalışmadığını göstermektedir. *C. oxyacantha*'daki artış ise; bu genotipte katalazın kuraklığın uyardığı oksidatif stresin üstesinden gelmede önemli bir rol oynadığına bir delil olabilir [458].

Glukozun aldehit formununun, bir şeker alkol olan sorbitole dönüşümünü katalizleyen NADPH bağımlı aldoz redüktaz (ALR), polirol metabolik yolunun anahtar enzimlerinden birisidir [459, 460]. Vejetatif dokularda biriken ALR, stres koşullarında (kuraklık, tuz, ABA gibi) osmotik düzenleyicilerin sentezi, lipid peroksidasyonu ve AOT'lerin detoksifikasyonunda görev almasının yanısıra, reaktif aldehitlerin konsantrasyonu ile stresin neden olduğu hasarların düşük düzeyde tutulmasını ve toleransın kazanılmasında etkin rol oynamaktadır [440, 461-463]. Bu çalışmada, ALR enzim aktivitesi kontrol gruplarına göre kuraklık uygulamasında tüm genotiplerde; yeniden sulama koşullarında ise Remzibey-05, AÖVD-L/14 ve *C. oxyacantha*'da önemli düzeyde artmıştır. Aldoz redüktaz geni aktarılmış transgenik tütün ve buğday bitkilerinde kuraklığa toleransın arttığı bildirilmiştir [461, 464, 465]. İyileşme koşullarında ise strese göre ALR enzim aktivitesindeki azalışlar duyarlı genotipler (Linas ve AÖVD-L/12) ile *C. oxyacantha*'da önemli düzeyde bulunmuştur. ALR enzim aktivitesinin stres ve yeniden sulama koşullarındaki değişimi bu enzimin genotiplerde lipid peroksidasyonunun azaltılmasında (Şekil 4.34), osmotik düzenleyicilerin sentezinde (prolin gibi) (Şekil 4.36) ve H₂O₂'nin detoksifikasyonunda (Şekil 4.35) görev aldığını gösteriyor olabilir.

Tezin karakterizasyon aşamasında aspir genotiplerinde kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarında meydana gelen değişimler; morfolojik, fizyolojik, fotosentetik, biyokimyasal ve enzimatik antioksidan savunma sistemleri yönünden incelenmiştir ve elde edilen sonuçların seleksiyon aşaması sonuçlarını desteklediği tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre yabancı aspir türü dışındaki diğer genotipler; en dayanıklı (Remzibey-05), dayanıklı (AÖVD-L/14) ve hassas genotipler (Linas ve AÖVD-L/12) olarak karakterize edilmiştir. Bir sonraki aşamada

da proteomik analizlerin yapılması için *Carthamus oxyacantha* ile birlikte dayanıklı genotip olarak Remzibey-05; hassas genotip olarak da Linas seçilmiştir.

5.3. Aspir Genotiplerinde Kuraklıkta İndüklenen Proteom Değişimleri

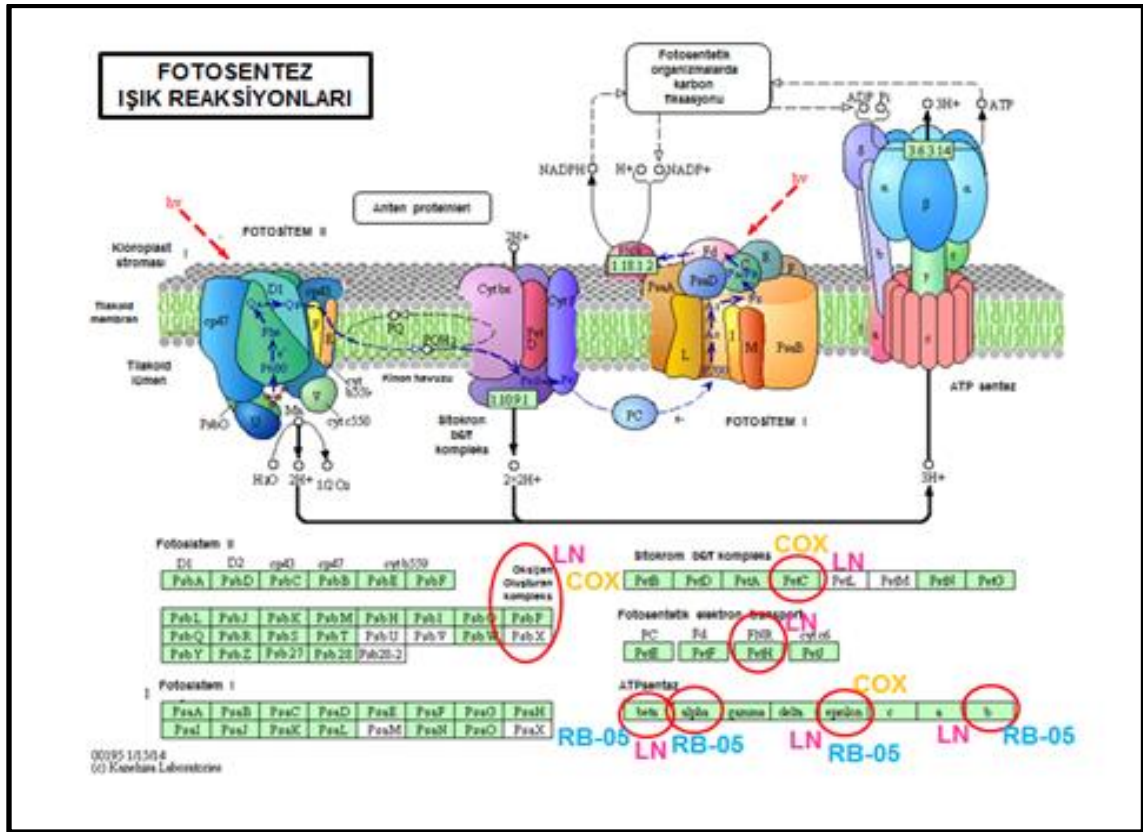
Bitkilerin kuraklık stresine yanıtları ve kuraklığa tolerans mekanizmasının anlaşılmasında; genomik, transkriptomik ve proteomiği de içine alan moleküler çalışmalar önemli bilgiler sunmaktadır. Bitki genomik ve transkriptomik çalışmaları kuraklıkla (dehidrasyon) ilgili gen ürünlerinin aydınlatılmasına katkı sağlamasına rağmen; stresten sorumlu proteinlerin ifadesi ile ilgili sınırlı bilgi, genin biyolojik fonksiyonu ve gen ifadesi ile fizyolojik fonksiyonlar arasındaki bağlantıyı anlamamızda büyük bir boşluk oluşturmaktadır. Bu nedenle, stresle indüklenen proteinlerin geniş kapsamlı profillerinin çıkarılması, bitkilerde kuraklık stresini kontrol eden moleküler mekanizmaları anlamamız açısından önemlidir [245]. Çalışmanın bu aşamasında aspir genotiplerinde kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarında proteomlarında meydana gelen değişimler belirlenmiştir. Dayanıklı (Remzibey-05) ve duyarlı (Linas) çeşitler ile yabancı aspir genotipinin (*Carthamus oxyacantha*) yaprak dokularındaki proteom değişimlerini karşılaştırmak için iki-yönlü (2-D) jel elektroforezi ile elde edilen protein profilleri kullanılmıştır. PDQuest analizleri ile 2-D jellerde 650±30 civarında protein spotu belirlenmiş ve genotiplerde uygulamalar arasında yapılan karşılaştırmalar sonucunda 72 spot ifadesinin 2 kat veya daha fazla değişim gösterdiği belirlenmiştir. İfadesi değişen bu proteinlerden MALDI-TOF/TOF MS/MS analizlerini takiben yapılan MASCOT taraması ile 47 tanesi başarılı bir şekilde tanımlanabilmiştir. Tanımlanan proteinler PANTER programı ile fotosentez ve karbohidrat metabolizması; solunum, nükleotid, azot ve protein metabolizması ile savunma mekanizması ve hücre çeper biyogenezi şeklinde biyolojik fonksiyonlarına göre sınıflandırılmıştır (Şekil 4.49).

Bitkilerde solunum, fotosentez sırasında oluşan oksijenin hücresel CO₂ ve H₂O'ya yükseltgenirken; depolanan enerjiyi ATP formunda açığa çıkartan metabolik işlemdir. **Muhtemel sitokrom c oksidaz alt birimi II PS17**, solunum metabolizması ile ilgili olarak tek tanımlanan protein olup *C. oxyacantha*'da 6 spotta (spot no: 50, 52, 53, 54, 59, 64) tanımlanmıştır. Spotlardaki protein ifade düzeyleri kuraklık ve yeniden sulama koşullarında farklılık göstermektedir. Protein ifadelerindeki bu sapmalar; protein izoformları, ayrışması ve degregasyonu ile

proteinlerin kısmi sentezinden kaynaklanabileceği gibi alternatif uç birleştirme (splicing) ile mRNA'lardan protein translasyonu, translasyon sonrası modifikasyonlar veya veritabanı dizilimindeki hatalar gibi çeşitli faktörlerden de kaynaklanabilir [266]. Spot ifadesindeki farklılıklara rağmen; genel olarak *C. oxyacantha*'da bu proteinin ifade düzeyi stres koşullarında azalırken; yeniden sulama koşullarında artmıştır ve yeniden sulamadaki bu düzey kontrole göre daha yüksektir (Çizelge 4.10). Mitokondriyal solunum zincirinin terminal enzimi olup, elektronu O₂'ye aktararak su oluşumunu sağlayan sitokrom c oksidaz'ın ifadesinin kuraklık koşullarında yabancı buğdayda da azaldığı bildirilmiştir [242]. Sitokrom c oksidaz'ın ifade düzeyinin kuraklık uygulaması ile birlikte azalmasına fotosentez ve karbohidrat metabolizmasında yer alan protein ifadelerindeki azalmalar da eşlik etmektedir (Çizelge 4.11). Kloroplast ile mitokondrinin birbirleri ile yüksek düzeydeki etkileşimi, iki organel ve sitozol arasındaki enerji ve metabolik bağlantıyı yansıtmaktadır [145]. Yeniden sulama ile ifade düzeyinin artışı ise bu genotipte yeniden sulama koşullarında solunum zinciri kullanılarak enerji üretiminin artırıldığını göstermektedir [256, 466].

Fotosentez ve karbon metabolizması, kuraklığın etkilediği önemli primer metabolik süreçlerdir. Kuraklık stresi etkisini; tilakoid elektron taşınımındaki ve karbon indirgenme döngüsündeki tüm bileşenlerin hasara uğramasıyla birlikte karbohidrat birikiminin artışı, lipid peroksidasyonu ve su dengesinin bozulması ile gösterir [270]. Su stresi, fotosentezi stomatal sınırlama ve/veya metabolik sınırlama yoluyla etkilemektedir [245]. Bu çalışmada aspir genotiplerinde kuraklıktan etkilenen proteinlerin çoğunluğunun fotosentez ve karbohidrat metabolizmasında görev alan proteinler olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.11). Tanımlanan bu proteinlerin fotosentezin ışık reaksiyonlarında (**oksijen oluşumunu artırıcı protein, sitokrom b₆f kompleksi, fotosistem I birleştirme proteini, ferrodoksin NADP redüktaz ve ATP sentaz**) (Şekil 5.1), Calvin döngüsünde (**karbonik anhidraz enzimi, ribuloz bisfosfat karboksilaz büyük/küçük zincir, fosforibulokinaz, ribuloz 5-fosfat 3-epimeraz ve fosfogliserat kinaz**) ve glikolizde (**trioz fosfat izomeraz ve enolaz**) görev aldığı belirlenmiştir (Şekil 5.2).

Oksijen oluşumunu artırıcı protein 2 (OEE2); fotosentezin ışık-bağımlı tepkimelerinde yer alan oksijen oluşturan kompleksin iki bileşeninden biri olup suyun hidrolizini katalize eder (Şekil 5.1) [254, 467]. OEE2'in ifadesi Linas'da (spot



Şekil 5.1. Fotosentezin ışık reaksiyonlarının şematik görünümü [RB-05 (mavi), Remzibey-05; LN (pembe), Linas ve COX (sarı), *C. oxyacantha*'yı ifade etmektedir] [KEGG Pathway website].

no: 27 ve 37) kuraklık koşullarında artarken; yeniden sulamada farklılık göstermiştir (spot 27'de azalırken; spot 37'de artmıştır). OEE2'in ifadesinin artışı, kuraklığın oksijen ayrışmasında neden olabileceği hasarın üstesinden gelebilmek ve oksijen oluşumunun devam ettirebilmesini sağlamak için gerekli bir yol olabilir [468]. OEE2'nin ifade düzeyi *C. oxyacantha*'da kuraklıkta azalırken; yeniden sulamada artmıştır ve kontrol düzeyine ulaşmıştır. Şiddetli kuraklık altında bu protein ifadesinin toleranslı genotiplerde azaldığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır [469, 470]. Yabani genotipte OEE2'nin kuraklıkta azalan ifadesinin yeniden sulama ile artması; genotipte kuraklık koşullarında fotosentezin ışık reaksiyonlarında meydana gelen hasarların tamir edilerek, fotosentez mekanizmasının devamlılığını sağlandığını gösteriyor olabilir (Şekil 4.19-4.27).

Sitokrom b₆-f kompleksi (Cyt b₆f), PSII'den PSI'e doğrusal elektron taşınmasında önemli bir elektron taşıyıcısı olmasıyla birlikte, PSI çevresindeki siklik elektron taşıma zincirinin de önemli bir bileşenidir (Şekil 5.1) ve AOT'lerin sentezini indükleyecek olan aşırı uyarılma enerjisinin dağılmasında önemli rol

oyun [467, 471]. Aspir genotiplerinden Linas (spot no: 41) ve *C. oxyacantha*'da (spot no: 65) sitokrom b_6f kompleksi Fe-S alt biriminin ifadesi kuraklıkla azalırken; yeniden sulamada artmıştır. Cyt b_6f ; PSII'nin aktivitesini düzenleyerek, elektron transport kapasitesini sınırlandırabilecek aşırı indirgenmeleri engeller [472]. Genotipler yeniden sulama koşullarında cyt b_6f proteinin azalan ifadesini artırarak, kuraklığın neden olduğu fotosentez aktivitesindeki azalmanın üstesinden gelmeye çalışmıştır.

Fotosistem I assembly proteini ycf3, PSI'in PsaA ve PsaD gibi en az iki merkez alt birimi ile etkileşime girerek kritik rol oynar ve muhtemelen şaperon benzeri faktör gibi bir rol üstlenerek yeni sentezlenmiş PSI alt ünitelerinin tilakoid zarında hedef konumlarına yönlendirmesinde görev alır (Şekil 5.1) [473, 474]. Remzibey-05'de fotosistem I assembly proteini ycf3'ün (spot no: 18) ifadesi kuraklıkta azalırken; yeniden sulamada artmıştır. Bu proteinin ifadesindeki değişimler PSI aktivitesinin de değerlendirildiği toplam performans indeksi ölçüm sonuçlarını desteklemektedir. Kuraklık koşullarında azalan protein ifadesi ile toplam performans indeksinin yeniden sulama ile artması, bu genotipte fotosistem I assembly proteininin kuraklığın olumsuz etkilerini iyileştirmede rolü olabileceğini göstermektedir (Şekil 4.2).

Ferrodoksin NADP redüktaz (FNR), elektronu fotosentetik elektron taşıma zincirinin son elektron alıcısı olan ferrodoksinde NADP⁺'ye aktarır (Şekil 5.1). Böylece FNR enzimi; CO₂ fiksasyonu, azot ve kükürt metabolizması, amino asit sentezi, yağ asiti desaturasyonu ile bir çok düzenleyici yollar gibi enerji gerektiren metabolik basamaklarda görev alan NADPH gibi indirgeyici ajanların sentezlenmesini sağlar [263]. Fotosentezin sınırlayıcı basamağını oluşturan ferrodoksin NADP redüktaz, yaprak izoenzimi-1'in ifadesi duyarlı genotip olan Linas'da (spot no: 34) kuraklık stresinde dörtte bir oranında azalmıştır. FNR'nin kuraklıkta duyarlı fasülye çeşidinde [253], şerbetçi otunda [264] ve trangenik tütünde [263] azaldığı bildirilmiştir. Linas'da yeniden sulama uygulaması ile ferrodoksin NADP redüktaz, yaprak izoenzimi-1'in ifadesi artmıştır; ancak bu artış fotosentez aktivitesindeki düşüşü iyileştirmede yeterli olmamıştır (Şekil 4.2).

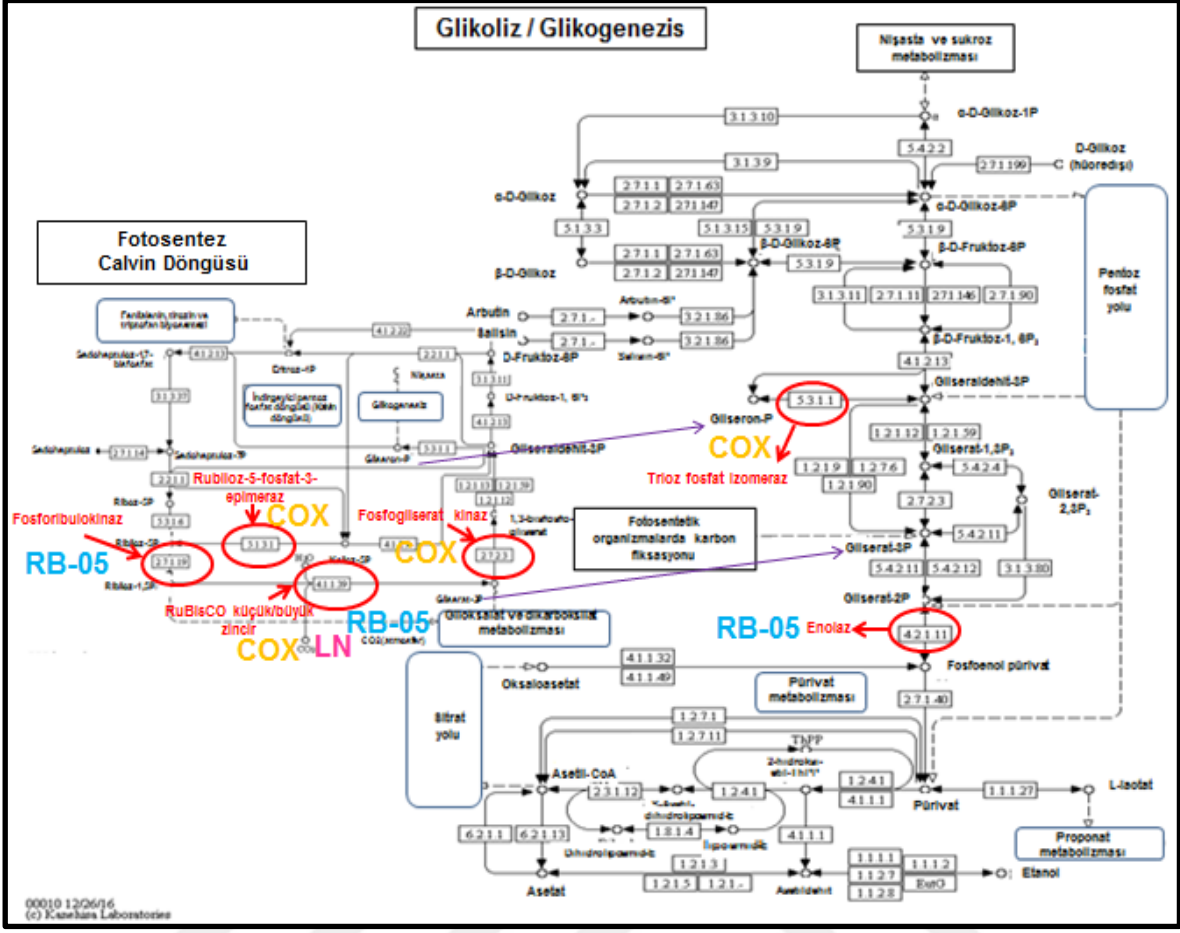
Transmembran bir protein olan **ATP sentaz enzimi** (CF tipi-ATPaz); kloroplastlarda elektron taşınımı sırasında tilakoid lümen ile stroma arasında oluşan proton gradiyenti kullanarak, oluşan serbest enerji ile ADP ve fosfattan (Pi)

ATP sentezlenmesini sağlar (Şekil 5.1). CF tipi-ATPaz'lar iki kompleksten oluşmaktadır: CF₁-ATPaz kompleksi katalitik özdür ve 5 alt birimden (alfa, beta, gama, delta ve epsilon) oluşur; CF₀-ATPaz ise zar da kanal oluşturan kısımdır ve 4 alt birimden (a, b, b',c₁₂) oluşur [475, 476]. Bitkilerin gelişimine ek olarak kuraklık stresiyle başa çıkabilmek için de büyük miktarlarda ATP'ye ihtiyacı vardır. Su stresinin ATP miktarını önemli düzeyde azaltması, CO₂ asimilasyonunun da önemli ölçüde azalmasına neden olur [224, 248]. Aspir genotiplerinde genel olarak ATP sentaz'ın ifadesi kuraklık koşullarında azalırken; yeniden sulama koşullarında artmıştır. Remzibey-05'de ATP sentaz alt birim alfa, beta ve b ile epsilon zincirinin (spot no: 5, 6, 14, 21) ifadesi kuraklıkla azalırken; yeniden sulamada artmıştır. *C. oxyacantha*'da tanımlanan ATP sentaz epsilon zincirinin 2 izoenzimi (spot no: 48 ve 57)'de uygulamalarda Remzibey-05'deki alt birimlere benzer cevap vermiştir. Dayanıklı çeşit ile yabancı genotipte kuraklık koşullarında ATP sentaz ifadesindeki azalışların nedeni, birçok türde gözlemlendiği gibi fotosentetik aparatı fotodinamik hasardan koruyan fotokimyasal olmayan söndürmeye aracılık etmesi olabilir [477]. Her iki genotipte yeniden sulama ile ATP sentaz ifadelerinin artması; genotiplerde yeniden sulama koşullarında ortaya çıkan ATP ihtiyacını karşılamaya ve stresin etkilerini azaltmaya ve/veya ortadan kaldırmaya çalıştığını göstermektedir [256]. Linas'da ise kuraklıkta ATP sentaz alt birim beta'nın (spot no: 28) ifadesi artarken; ATP sentaz epsilon zinciri (spot no: 29) ile ATP sentaz alt birim b'nin (spot no: 42) ifadesi azalmıştır. İyileşme koşullarında ise ATP sentaz alt birim beta'nın ifadesi azalırken; ATP sentaz epsilon zinciri ile alt birim b'nin ifadesi artmıştır. ATP sentaz alt birimlerine ait ifadelerin benzer yönde değişmemesi bu proteinden diğer metabolik yolların (CO₂ fiksasyonu, protein metabolizması ve savunma mekanizması gibi) ihtiyacını karşılayacak düzeyinde ATP sentezlenemediğini düşündürmektedir.

Fotosentezde Calvin döngüsünün verimliliğini önemli ölçüde etkileyen **karbonik anhidraz enzimi**; karbon dioksit (CO₂) ve su (H₂O) ile bikarbonat (HCO₃⁻) ve proton (H⁺) arasındaki çift yönlü bir reaksiyonu katalizlerler ve kloroplastlara CO₂'nin difüzyonunu kolaylaştırarak RuBisCO'ya CO₂'nin ulaşılabilirliğini artırır [242, 478, 479]. Aspir genotiplerinden Remzibey-05'de beta karbonik anhidraz 2 (spot no: 22); *C. oxyacantha*'da ise beta karbonik anhidraz (spot no: 71) tanımlanmıştır ve bu proteinin ifadesi her iki genotipte kuraklıkta azalırken;

yeniden sulamada artmıştır. Kuraklıkta bu proteinin her iki genotipte azalmasının nedeni; Calvin döngüsünde yer alan proteinlerin ifadelerinin azalması (RuBisCO, fosfogliserat kinaz, trioz fosfat izomeraz, fosforubilokinaz gibi) ile özümleme için gerekli olan CO₂ ihtiyacının sınırlanmasının bir sonucu olabilir. Bununla birlikte; yeniden sulama koşullarında karbonik anhidraz ifadesinin Calvin döngüsünde görev alan proteinlerle birlikte artması proteinlerin arasındaki güçlü etkileşimi ve strese karşı benzer cevaplar vererek tolerans kazandıklarını göstermektedir.

Calvin döngüsünün en önemli anahtar enzimi olan **Ribuloz-1,5-bisfosfat karboksilaz/oksijenaz** (RuBisCO), atmosferik CO₂'nin bitkiler tarafından glikoz gibi enerji bakımından zengin moleküllere dönüştürülmesiyle elde edilen karbon fiksasyonunun ilk basamağında yer alır (Şekil 5.2) [251]. Genel olarak RuBisCO; sekiz büyük alt birim ile sekiz küçük alt birimden oluşur. Küçük alt birimler çekirdek genomlu kodlanırken; büyük alt birimler kloroplast genomlu kodlanmaktadır [270]. Kuraklık stresinde tüm aspir genotiplerinde rubiloz bisfosfat karboksilaz büyük/küçük zincirinin ifadeleri önemli düzeyde değişmiştir. Remzibey-05'de rubiloz bisfosfat karboksilaz büyük zincirinin (spot no: 16) ifadesi kuraklıkta azalırken; yeniden sulamada artmıştır. *C. oxyacantha*'da kuraklıkta rubiloz bisfosfat karboksilaz büyük zincirinin (spot no: 63) ifadesi azalırken; küçük zincirinin (spot no: 61) ifadesi artmıştır ve yeniden sulamada her iki alt birimin ifadesi artış göstermiştir. Kuraklık koşullarında genotiplerde RuBisCO büyük alt birimlerinin azalması; karbonun fiksasyonunu, indirgenmesini ve yenilenmesini içeren metabolik işlevlerde yavaşlama yönünde bir değişime neden olmaktadır [245]. Remzibey-05 ile *C. oxyacantha*'da kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarında RuBisCO ile diğer Calvin döngüsü enzimlerinin (rubiloz-5-fosfat-3-epimeraz, fosfogliserat kinaz, tiroz fosfat izomeraz ve fosforibulokinaz) benzer cevaplar vermesi RuBisCO'nun Calvin döngüsünü yavaşlatarak stresin etkisinin azalttığını göstermektedir. Ayrıca *C. oxyacantha*'da RuBisCO küçük alt birimin ifadesinin artması, strese maruz kalma nedeniyle RuBisCO'nun bozunmasıyla ilişkili olabileceği gibi büyük ve küçük alt biriminin farklı genomlardan kodlanmalarıyla da ilişkili olabilir [255]. Yeniden sulamada ise hem Remzibey-05'de hem de *C. oxyacantha*'da RuBisCO'nun büyük/küçük alt birimlerinin ifadelerindeki artışlar, kuraklık sonrası yeniden sulama sürecinde fotosentetik aktivitenin hızlı bir şekilde arttığını göstermektedir (Şekil 4.19-4.27) [262]. Duyarlı



Şekil 5.2. Fotosentezin Calvin döngüsü ile glikoliz reaksiyonlarının şematik görünümü [RB-05 (mavi), Remzibey-05; LN (pembe), Linas ve COX (sarı), *C. oxyacantha*'yı ifade etmektedir] [KEGG Pathway website].

genotip olan Linas'da kuraklık koşulunda rubiloz bisfosfat karboksilaz büyük zinciri (spot no: 35 ve 36) ile küçük zincir (spot no: 39) ve küçük zincir-1 (spot no: 40)'in ifadeleri artarken; yeniden sulamada azalmıştır. Linas'da kuraklıktaki bu artışın nedeni RuBisCo büyük alt biriminin metal bağlanma bölgesinde oksidatif stres kaynaklı olarak AOT'lerin üretimi ile kompleksin parçalanması ve protein bozunma oranını artırması olabileceği gibi [480] stomaların kapanması nedeniyle CO_2/O_2 oranının düşmesine bağlı olarak RuBisCo'nun oksijenaz aktivitesinin ve dolayısıyla fotosolunum oranının artması da olabilir [242].

Calvin döngüsünde görev alan bir diğer enzim **fosforibulokinaz (PRK)** ribuloz-5-fosfatın CO_2 'nin alıcısı olan ve döngünün başlangıç molekülü ribuloz-1,5-bisfosfat (RuBP)'ta fosforilasyonunu katalizler (Şekil 5.2) [471]. Aspir genotiplerinden sadece Remzibey-05'de tanımlanan fosforibulokinazın (spot no: 4) ifadesi kuraklıkta azalırken; yeniden sulama ile artmıştır. Xu vd. [481], Kentucky çayır otu

ile yaptıkları çalışmada; kuraklık koşullarında PRK ifadesindeki azalışın RuBP'ın yenilenme kapasitesini etkilediğini ve bu nedenle kuraklığın indüklemesine bağlı olarak fotosentez oranının da azaldığını; yeniden sulama aşamasında ise PRK ifadesinin artışının fotosentez oranının artmasına katkıda bulunarak kuraklık sonrası iyileşmeyi sağlamış olabileceğini bildirmişlerdir.

Calvin döngüsünün diğer önemli enzimleri olan **fosfogliserat kinaz** (spot no: 60) ve **ribuloz-5-fosfat-3-epimeraz** (spot no: 66) yabancı genotip olan *C. oxyacantha*'da tanımlanmıştır ve fotosentezde görev alan diğer proteinler ile benzer cevaplar vermişlerdir (Şekil 5.2). Calvin döngüsünün indirgenme aşamasında görev alan fosfogliserat kinaz; 3-fosfogliseratı 1,3-bisfosfogliserata fosforillerken; yenilenme aşamasında görev alan ribuloz-5-fosfat-3-epimeraz ise; ksiloz-5-fosfatı ribuloz-5-fosfat'a dönüştürür [482]. *C. oxyacantha*'da kuraklık uygulamasında fosfogliserat kinaz'ın ifadesi %20'den fazla azalırken; ribuloz-5-fosfat-3-izomeraz'ın ifadesi %5 oranında artmıştır. Yeniden sulama koşullarında ise 2 proteinin ifadesi de %65'den fazla artmıştır. Yabancı genotipte stres altında Calvin döngüsü enzimlerinin ifadesindeki azalışlar ile yeniden sulamadaki artışlar; kuraklık ve yeniden sulama koşullarında fotokimyasal aktivitedeki değişimler ile uyumludur (Şekil 4.19-4.27). Bu sonuçlar *C. oxyacantha*'nın stres koşullarında fotosentez mekanizmasını yavaşlatarak kendisini korumaya çalıştığını, yeniden sulama koşullarında ise tamir mekanizmalarını devreye sokarak metabolik yolların optimum düzeyde çalışabilmesinin sağladığını göstermektedir.

Glikolitik yolda görev alan **tiroz fosfat izomeraz**, dihidroksiaseton fosfatın gliseraldehit-3-fosfat'a izomerizasyonunu sağlarken; **enolaz** 2-fosfogliseratın fosfogliserata dönüşümünü katalizler [242, 483]. *C. oxyacantha*'da tanımlanan trioz fosfat izomeraz enzimi (spot no: 67) ile Remzibey-05'de tanımlanan enolaz'ın (spot no: 12) ifadeleri kuraklık koşullarında azalırken; yeniden sulamada artmıştır. Dayanıklı genotiplerde kuraklık stresi altında glikolitik protein ifadesindeki azalışa fotosentetik proteinlerdeki azalışın eşlik etmesi, bu genotiplerin metabolik aktivitelerini yavaşlatarak stresin etkilerini azaltmaya çalıştıklarının göstergesi olabilir. Ayrıca yeniden sulama ile bu protein ifadelerinin artışı, oluşan hasarların tamir için gerekli olan hücrel enerji ihtiyacıyla da ilişkili olabilir [253].

Protein metabolizması ile ilgili olarak; protein sentezi (transkripsiyon ve translasyonu), proteolizi (parçalanması) ve depolanmasında görev alan proteinler

tanımlanmıştır. **Sistein sentaz**, protein sentezinde görev alan bir enzim olup sistein biyosentez yolunun son basamağını katalize eder ve enzimatik olmayan antioksidan olan glutatyonun (GSH) biyosentezindeki sınırlayıcı basamağı oluşturur [263]. Sistein sentaz'ın ifadesi Remzibey-05'de kuraklıkta %74 oranında azalırken; yeniden sulamada yaklaşık 3 kat artmıştır. Kuraklıkta bu azalışın nedeni; genotipin stres koşullarında metabolik aktivitelerini belirli bir düzeyde azaltması olabilir. Glutatyon sentezinin sistein sentaz ifadesinin azalışıyla olumsuz etkilenmesine rağmen; glutatyonu substrat olarak kullanan GR enziminin aktivitesinin kuraklık koşullarındaki artışı, enzimin ortamda bulunan veya protein degregasyonu sonucu oluşan substratlar ile detoksifikasyonda görev almaya çalıştığını göstermektedir (Şekil 4.41). Yeniden sulama koşullarında ise sistein sentaz ifadesinin artarken; GR aktivitesinin strese göre artmaması sentezlenen sisteinlerin glutatyon dışında metionin ve kükürtlü sekonder bileşiklerin yapısına katılması ile ilişkili olabilir [477]. Buna ek olarak protein sentezinde görev alan **kloroplast stem-loop binding protein 41 kDa a** (CSP 41a), RNA'ya stem loop bölgesinden bağlanarak, hem transkripsiyonu hem de translasyonu teşvik etmektedir [484, 485]. Linas'da tanımlanan kloroplastik stem-loop binding protein 41 kDa a'nın ifade düzeyi kuraklıkla birlikte artarken; yeniden sulama uygulamasında azalmıştır. Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarında CSP41a proteininin ifadesindeki değişim, bu genotipte fotosentezde görev alan ve kloroplastik olarak kodlanan proteinlerin ifadesindeki değişimleri (kuraklıkta artış; yeniden sulamada azalış) destekler niteliktedir (Çizelge 4.11). Protein proteolizinde görev alan proteinler, proteozomlar olarak adlandırılır ve proteozomlar hücrel protein dengesinin korunmasında önemli rol oynar [253]. Remzibey-05'de tanımlanan **proteazom altbirim beta tipi-1** (spot no: 20)'in ifadesi kuraklık stresi ile 2.2 kat artarken, yeniden sulamada strese göre %26 oranında azalmıştır. Her iki uygulamada da protein ifadesi kontrole göre 1.3 kattan daha yüksek bulunmuştur. Genotipte proteozom ifadesinin artırması/yüksek olması; yanlış katlanmış, hasar görmüş veya işlevsiz proteinleri uzaklaştırıp hücrelerdeki protein konsantrasyonunu belirli bir düzeyde tutarak strese karşı dayanıklılığı artırmaya çalıştığını gösteriyor olabilir [257, 483]. Linas'da tanımlanan **proteazom altbirim beta tipi-3-B** (spot no: 31) proteininin ifadesi kuraklık ve beraberindeki yeniden sulama uygulamasında azalmıştır ve bu azalış genotipin stres koşullarında ortaya çıkan zararlı veya işlevsiz proteinlerin yeterli düzeyde

proteolizize uğratılmadığını göstermektedir. Tohum depo proteini olarak adlandırılan **fazolinler**, nötral şekerler ile modifiye edilebilen ve yüksek oranda azot depo eden bileşiklerdir [486]. Fasülye tohumundan izole edilen ve tanımlanan fazolin proteinin; vakuolde (2 alt birimi - alfa ve beta) depolandığı, degregasyonu sonucu yeni proteinler ile diğer bileşiklerin sentezi için amino asitler sağladığı ve fasulye gelişiminin erken safhalarında metabolik reaksiyonlar için enerji kaynağı olarak işlev gördüğü bildirilmiştir [487-489]. Remzibey-05'de tanımlanan fazolin alfa-tipi proteinin (spot no: 7) ifadesi kuraklıkta 3.81 kat artarken; yeniden sulamada %53 oranında azalmıştır. Fazolinin kuraklıktaki artışı; genotipin stres koşullarında metabolik aktivitesini azalmasıyla birlikte var olan proteinlerin bir kısmının parçalanması yerine ihtiyaç halinde kullanmak için vakuolde depolanmış olabileceğini göstermektedir. Yeniden sulama ile depolanan fazolinin miktarının azalması, bu proteinin gerekli enerji ihtiyacını karşılamak ve/veya oluşan hasarların tamiri için kullanıldığını gösteriyor olabilir. Ayrıca Remzibey-05'de kuraklık altında su içeriğinin duyarlı genotipe göre daha yüksek olması, bu proteinin diğer osmolitler ile birlikte vakuoldeki osmotik potansiyeli düşürerek hücrelerin daha fazla suyu tutabilmesini sağladığını göstermektedir (Şekil 4.18).

Glisince zengin RNA bağlayıcı protein; stomatal hareketleri düzenleyen ve kuraklık ile sıcaklık stresi altında artan bir savunma proteindir [490]. Kim vd. [491], *A. thaliana*'da glisince zengin RNA bağlayıcı proteinlerin soğuk uygulamasında RNA şaperon aktivitesi gösterdiğini bildirmişlerdir. Linas'da glisince zengin RNA bağlayıcı proteinin (spot no: 25) ifadesi kuraklıkta azalırken; yeniden sulamada artmıştır. Bu proteinin ifadesinin kuraklıktaki azalışı, stres koşullarında yeterli RNA şaperon aktivitesi gösteremediğini; yeniden sulamadaki artışı ise, RNA'nın işlenmesi, taşınması ve düzenleyici işlevlerini yerine getirmesini teşvik ederek iyileşmeyi desteklemeye çalıştığını göstermektedir [470]. Buna ek olarak, savunma mekanizmasında görev alan **SOD**, $O_2^{\cdot-}$ 'nin O_2 ve H_2O_2 'ye dönüştürülerek detoksifiye edilmesinde rol oynar [160]. *C. oxyacantha*'da kloroplastik Cu/Zn SOD'un (spot no: 62) ifadesinin kuraklıkta değişmediği, yeniden sulamada ise arttığı belirlenmiştir. Toplam SOD aktivitesinin *C. oxyacantha*'da kuraklık ve yeniden sulama koşullarındaki artışları (Şekil 4.39); bu aktivitede diğer SOD izoenzimlerin (Mn SOD - Fe SOD) ve/veya Cu/Zn SOD'ın sitozolik ve

mitokondrial formlarının kloroplastik Cu/Zn SOD'dan daha etkin görev aldığına göstergesi olabilir. Savunmada görevli alan kuraklığın indüklediği diğer stres proteini tiyoredoksin benzeri protein CDSP 32 kloroplast stromasında bulunur [492] ve tiyoredoksinlerden farklı olarak daha uzun amino asit dizisine ve aktif redoks bölgelerinde modifikasyonlara sahiptir [493]. **Tiyoredoksin benzeri protein CDSP 32** hem okside olmuş 2-Cys peroksiredoksini azaltarak antioksidan metabolizmada görev alır, hem de sülfür metabolizmasındaki enzimlere elektron verici olarak işlev görür [493]. Aspir genotiplerinden Linas'da tiyoredoksin benzeri protein CDSP 32'nin ifadesinin kuraklık stresinde %50 oranında azalırken; yeniden sulamada %100 oranında arttığı tespit edilmiştir. Kuraklığın indüklediği oksidatif strese karşı kloroplast yapısını koruyan tiyoredoksin benzeri protein CDSP 32'in [494] ifadesinin kuraklık koşullarındaki azalışı; Linas'da bu korunma sisteminin yeterli olmadığını; yeniden sulamadaki artışı ise kloroplastta meydana gelen hasarları iyileştirmeye çalıştığını göstermektedir.

Nükleozid difosfat kinaz (NDPK); ATP'yi kullanarak nükleozit difosfatlardan (CDP, GDP ve UDP) nükleosit trifosfatların (CTP, GTP ve UTP) sentezlenmesini sağlar ve böylece CTP, GTP ve UTP'nin hücresele seviyelerinin korumasında görev alır [253, 495]. Kloroplastik nükleozid difosfat kinaz II (spot no: 19)'nin ifadesi Remzibey-05 genotipinde kuraklıkta azalırken; yeniden sulamada artmıştır. Nükleozid difosfat kinaz II'nin ifadesinin uygulamalarda gösterdiği değişimler fotosentezde görev alan ve kloroplastta kodlanan proteinlerin ifadesindeki değişimler ile uyumlu olup kuraklık koşullarında fotosentez aktivitesindeki azalmayı destekler niteliktedir.

Glutamin sentetaz, amonyum asimilasyonunun ilk aşamasından sorumlu enzim olup, 1 molekül ATP harcayarak glutamattan prolin amino asitinin öncülü olan glutaminin sentezlenmesini sağlar [271, 483]. *C. oxyacantha*'da tanımlanan glutamin sentetaz (spot no: 56)'nin ifadesi kuraklık ve yeniden sulama koşullarında kontrol grubuna göre azalmıştır. Bu azalma, amino asitler gibi azotlu bileşiklerinin oluşumu için gerekli olan azot asimilasyonun etkilendiğinin belirtisi olabilir [266]. Ayrıca *C. oxyacantha*'da prolin miktarının kuraklıktaki artışı (Şekil 4.36); prolinin öncül olarak glutamat yerine orinitinden sentezlenmiş olabileceğini ve stres koşulunda sentezinin artarken; degregasyonunun azalmış olabileceği şeklinde açıklanabilir.

Ksiloglukan endotransglukosilaz (XET); yeni sentezlenen ksiloglukanın hücre çeperine ilave edilmesinde görev alır ve böylece çeperin genişleyerek dayanıklılık kazanmasını sağlar [496]. *C. oxyacantha*'da muhtemel ksiloglukan endotransglukosilaz/hidrolaz protein 7 (spot no: 70)'nin ifadesi kuraklık artmıştır ve yeniden sulamada strese göre değişmemiştir. XET'in ifade düzeyindeki bu artış; çeper katmanlarının güçlendirilmesi ile mezofil hücrelerinin fizyolojik dehidrasyona karşı korunabilmesi için çeper yapısının yeniden düzenlenme sürecine yardımcı olduğunun göstergesi olabilir [497].

Aspir genotiplerinde kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarında ifadeleri önemli düzeyde değişen proteinlerin birbirleri ile ilişkilerini belirleyebilmek için string analizi yapılmıştır. Analiz öncesi tanımlanan proteinlerin model bitki olan ve veri tabanlarından bilgilerine rahatlıkla ulaşılan *Arabidopsis thaliana*'da tanımlanma durumu araştırılmış ve tanımlanan proteinlerin aksesyon numaraları alınmıştır (Çizelge 5.1). Bu aksesyon numaraları kullanılarak proteinlerin birbirleri ile ilişki düzeyleri belirlenmiştir (Şekil 5.3).

Aspir genotiplerinde kuraklık ve yeniden sulama koşullarında ifadesinin değişimine göre seçilen ve tanımlanan proteinlerin çoğu fotosentez mekanizmasında görev alan proteinlerdir (Şekil 5.3). Fotosentezin ışık reaksiyonlarında görev alan proteinler; hem birbirleri ile hem de fotosentezin karbon reaksiyonlarındaki (Calvin döngüsü) proteinler ile ilişkilidir. Işık reaksiyonlarında ATP sentazın tanımlanan alt birimleri ve bunların birbirleri ile ilişkileri de Şekil 5.3'de görülmektedir. Ayrıca fotosentezin ışık ve karbon reaksiyonlarında görev alan proteinler hem kloroplastlara CO₂'nin difüzyonunu kolaylaştıran karbonik anhidraz enzimleri (CA1 ve CA2) hem de glikolizde görev alan enolaz (ENOC) ile yüksek düzeyde etkileşimdedirler. Solunumda görev alan sitokrom c oksidaz (COX2) enziminin ise hem PSI'in yapısal bütünlüğünün oluşması ve korunmasında görev alan fotosistem I assembly protein-ycf3 (YCF3) hem de ATP sentazla etkileşimde olduğu tespit edilmiştir. Bunlara ek olarak fosfoglisarat kinazın (AT1G56190), savunmada görev alan Cu/Zn SOD (CSD2) ile nükleotid metabolizmasında rol oynayan nükleozid difosfat kinaz 2 (NDPK2) ile etkileşimde olduğu belirlenmiştir.

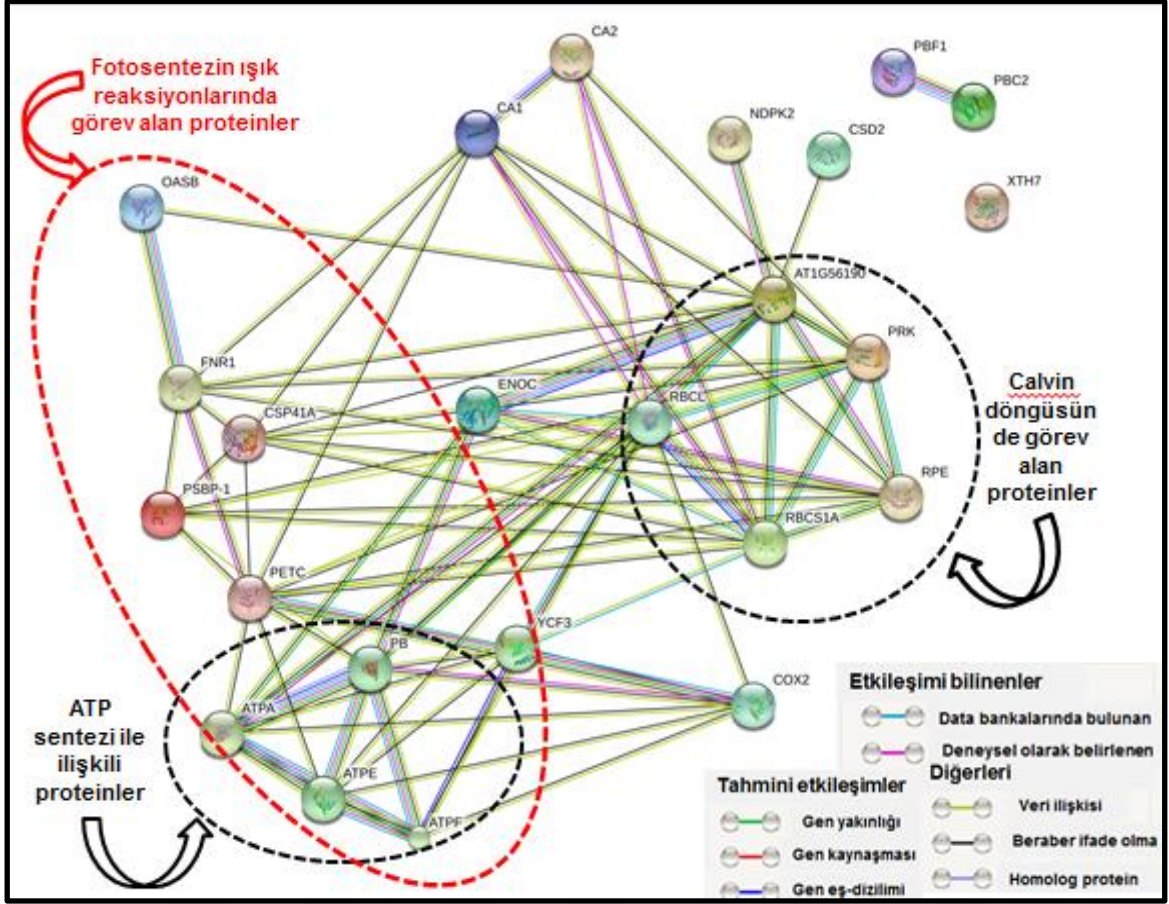
Aspir genotiplerinde tanımlanan proteozom alt birim beta tipi proteinlerin (PBF1 ce PBC2) sadece birbirleri ile etkileşimde olduğu tespit edilmiştir (Şekil 5.3).

Ksiloglukan endotransglukosilaz'ın ise birincil düzeyde hiçbir proteinle etkileşmediği saptanmıştır.



Çizelge 5.1. Tanımlanan proteinlerin *Arabidopsis thaliana*'daki homoloğu ve string analizindeki karşılığı

Aksesyon no	<i>A. thaliana</i> 'ya ait aksesyon no	Protein
O64903	O64903	Nükleozid difosfat kinaz II (NDPK2)
P84733	P93285	Muhtemel sitokrom c oksidaz alt birimi II PS17 (COX2)
P27140	P27140	Beta Karbonik anhidraz (CA)
P42737	P42737	Beta Karbonik anhidraz 2 (CA2)
A8SEA4	P61843	Fotosistem I birleştirme proteini ycf3 (YCF3)
Q40407- P93566	Q42029	Oksijen oluşumunu artırıcı protein 2 (PSBP-1)
Q9FKW6	Q9FKW6	Ferrodoksin NADP redüktaz, yaprak izoenzim 1 (FNR1)
O49078	Q9ZR03	Sitokrom b6-f kompleksi demir-kükürt alt birimi (PETC)
Q332Y4	P56757	ATP sentaz alt birim alfa (ATPA)
Q1KXV2	P19366	ATP sentaz alt birim beta (PB)
Q332X2	P09468	ATP sentaz epsilon zinciri (ATPE)
Q56P07	P56759	ATP sentaz alt birim b (ATPF)
P25697	P25697	Fosforibulokinaz (PRK)
P93936- P69573- P48699- P28390	O03042	Ribuloz bisfosfat karboksilaz büyük zincir (RBCL)
Q39743	P10795	Ribuloz bisfosfat karboksilaz küçük zincir 1 (RBCS1A)
Q43157	Q9SAU2	Ribuloz 5-fosfat 3-epimeraz (RPE)
P50318	P50318	Fosfogliserat kinaz (AT1G56190)
Q43130	Q9ZW34	Enolaz (ENOC)
P31300	P47999	Sistein sentaz (OASB)
O82531	P42742	Proteazom altbirim beta tipi -1 (PBF1)
O81153	O81153	Proteazom altbirim beta tipi -3-B (PBC2)
Q9LYA9	Q9LYA9	Kloroplast stem-loop binding proteini 41 kDa a (CSP41A)
P93407	O78310	Süperoksit dismutaz [Cu-Zn] (CSD2)
Q8LER3	Q8LER3	Muhtemel ksiloglukan endotransglukosilaz / hidrolaz protein 7 (XTH7)



Şekil 5.3. Aspir bitkisinde tanımlanan proteinlerin birbirleri ile etkileşimleri [STRING: functional protein association networks website].

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Günümüzde küresel ısınmanın sonuçlarından biri olan ve özellikle tarımsal alanları olumsuz yönde etkileyen kuraklık, yağ bitkileri başta olmak üzere tarımsal bitkilerde önemli verim kayıplarına neden olmaktadır. Ülkemizde yetiştirilen önemli yağlı tohumlu bitkilerinden biri olan aspir (*Carthamus tinctorius* L.); yüksek oleik ve linoleik asit içeriği ile diğer yağlı tohumlu bitkilere alternatif bir bitkidir. İnsan beslenmesinde yer almasının yanısıra aspir, sanayinin birçok alanında kullanılması (boya, ilaç ve kozmetik) ve günümüzün enerji kaynaklarından biri olan biyodizel üretiminde de önemli kullanım potansiyeline sahip olması nedeniyle ekonomik açıdan oldukça önemlidir.

Kuraklık, aspir üretimini kısıtlayan en önemli abiyotik stres faktörlerinden birisidir. Aspir bitkisinin kuraklığa toleransını ortaya koyan çalışmalar oldukça sınırlı olup, çalışmaların çoğu tarla verim denemeleri üzerinde yoğunlaşmıştır. Ülkemizde genellikle yazlık olarak ekimi yapılan aspir, gelişim sürecinde ilk olarak uzama ve çiçeklenme döneminde kuraklık stresine maruz kalmaktadır. Bu bağlamda, doğrudan aspir üretimi ve verimine yansıyan ve oldukça kritik olan bu evrede kuraklığın aspir bitkisi üzerindeki etkisinin incelenmesi ile kuraklığa toleranslı ve değişik ekolojik bölgelere adapte olabilecek aspir genotiplerinin belirlenmesi önemlidir.

Bu çalışma ile kuraklık stresi altında aspir bitkisinin geliştirdiği tolerans mekanizmalarının fizyolojik, biyokimyasal ve proteom düzeyinde **ilk kez** araştırılmıştır. Bu çalışmanın seleksiyon aşamasında aspir genotiplerinin kuraklık toleransları fotosentetik performansları ile biyokimyasal ve fizyolojik cevaplarına göre değerlendirilmiştir ve sınıflandırılmıştır.

Kuraklık stresi aspir genotiplerinde; su içeriğinin düşmesine, membran yapısının bozulmasına, pigment miktarının azalmasına ve fotosentetik aktivitenin belirli bir düzeyde inhibe olmasına bağlı olarak önemli hasarlar oluşmasına neden olmuştur. Yeniden sulama aşamasında ise toleranslı olan genotipler iyileşme göstererek bu hasarın üstesinden gelebilmeye çalışmışlardır. Seleksiyon aşamasında genotipler fotosentez aktivitesi sonuçlarında kuraklık ve iyileşme faktör indekslerine göre sınıflandırılmıştır:

Çalışılan genotipler kuraklığa dayanıklılıklarına göre; dayanıklı çeşidin Remzibey-05, hattın ise AÖVD-L/14 olduğu; hassas çeşidin Linas, hattın ise AÖVD-L/12 olduğu belirlenmiştir ve bu sonuçları biyokimyasal ve fizyolojik analiz sonuçları da desteklemiştir.

II aşamada; şiddetli kuraklık ve yeniden sulama koşulları uygulanan ve seleksiyon sonuçlarına göre seçilen dayanıklı ve duyarlı genotipler ile yabancı aspir; bazı morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal analizler ile karakterize edilmiştir. Kuraklık stresi aspir genotiplerinde büyüme ve gelişmenin azalmasına neden olurken; yeniden sulama koşullarında dayanıklılıklarına göre genotipler iyileşme sağlayabilmişlerdir.

- Kuraklık stresi etkilerini ortaya koymak için yapılan morfolojik analizlerden kuru ağırlık (biyokütle) değişimlerinin diğer parametrelere göre daha seçici ve güvenilir seçim parametresi olduğu tespit edilmiştir.
- Nispi su içeriği sonuçları *C. oxyacantha*'nın kuraklık koşullarında dokularını dehidrasyona karşı koruyabildiğini göstermiştir.
- Klorofil a floresans ölçümleri, kuraklık nedeniyle PSII aktivitesi ile elektron taşınımından meydana gelen değişimleri göstererek, fotosentezin ışık reaksiyonlarında yakalanan ışığın ne kadarının fotokimyasal yolda kullanıldığını ve fotokimyasal yolda ne gibi aksaklıkların oluştuğunu ortaya çıkarmıştır. Bu sonuçlara göre; genel olarak *C. oxyacantha*'da fotosentez aktivitesi önemli düzeyde etkilenmemiştir. Bunun yanısıra çeşit ile hatlar arasında kuraklığın üstesinden gelebilen en iyi genotipin Remzibey-05 olduğu saptanmıştır.
- Pigment sonuçları da fotokimyasal etkinliğin sonuçlarını destekler nitelikte cevaplar vermiştir.
- Tüm genotiplerde kuraklığa bağlı olarak membran hasarı artmıştır ve yeniden sulama koşullarında dayanıklı genotipler olan Remzibey-05 ile *C. oxyacantha*'da hasarın üstesinden gelerek membran bütünlüğünü tekrar sağlayabilmişlerdir.
- *C. oxyacantha*'nın kontrol gruplarında H₂O₂, prolin ve antosiyanin miktarı ile antioksidan enzim aktivitelerinin (SOD, APX, GR ve POD) diğer genotiplerin kontrollerine göre yüksek olması; yabancı aspirin olası bir stresle karşılaşma durumuna karşı dirençli olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, kuraklık ve

yeniden sulama uygulaması verileri de, bu genotipin kuraklık stresine tolerans düzeyinin çeşit ve hatlara göre daha yüksek olduğunu ortaya koymaktadır.

- Kuraklığın tetiklediği oksidatif stres, aspir çeşit ve hatlarında H_2O_2 miktarının önemli ölçüde artmasına neden olmuştur. Bu artış genotiplerdeki toplam SOD aktivitesindeki artış ile uyumludur. İyileşme koşullarında ise H_2O_2 miktarının sadece Remzibey-05'de azalması, bu molekülün transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu ile çeşitli gen ifadelerinin düzenlenmesinde sinyal molekülü olarak görev alabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca bu azalış, Remzibey-05'in diğer çeşit ve hatlara göre; hem POD aktivitesini hem de askorbat-glutasyon döngüsünü (APX ve GR) daha etkin kullanabildiğini ortaya koymaktadır.
- Tüm genotipler kuraklık koşullarında prolin düzeyini artırarak hem su içeriğini korumaya hem de stresin olumsuz etkilerinden korunmaya çalışmışlardır. İyileşme koşullarında ise tüm genotiplerde prolinin yıkımına bağlı olarak miktarı önemli düzeyde azalmıştır ve en fazla azalış dayanıklı genotipte belirlenmiştir. Remzibey-05'deki bu durum; hasarların tamir mekanizması için ihtiyaç duyulan prolin miktarının diğer genotiplere göre daha yüksek olduğunu göstermektedir.
- Tüm genotiplerde kuraklıkta ortaya çıkan oksidatif hasarın detoksifikasyonunda antioksidan enzimlere ek olarak antosiyanin ve flavonoidlerin de görev almıştır. Yeniden sulama koşullarında ise genotiplerin antosiyanin ve flavonoidi yıkarak sentezinde kullanılan enerjiyi diğer metabolik yollara yönlendirmiş olabilir.
- Genotiplerin ALR enzim aktivitesindeki değişimler ile biyokimyasal analiz sonuçları; bu enzimin lipid peroksidasyonunun azaltılmasında, osmotik düzenleyicilerin sentezinde (prolin gibi) ve H_2O_2 'nin detoksifikasyonunda görev aldığını ortaya koymuştur.
- Karakterizasyon aşaması sonuçları; *C. oxyacantha*'nın yabani tür olarak kültüre alınmış genotiplere göre kuraklık stresine karşı daha toleranslı olduğunu ve yeniden sulama koşullarında ise kendini daha iyi toparladığını göstermiştir. Ayrıca bu aşamanın sonuçlarına göre çeşit ve hatlar arasında en dayanıklı genotipin Remzibey-05 ve hassas genotiplerin ise Linas ile AÖVD-L/12 olduğu karakterize edilmiştir.

III. aşamada ise kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarında yabancı aspir ile karakterizasyona göre seçilen Remzibey-05 ve Linas genotiplerinin proteomlarında meydana gelen değişimler incelenmiştir ve metabolik yollarına göre sınıflandırılmıştır:

- Kuraklık ve yeniden sulama koşullarında en fazla ifadesi değişen proteinlerin fotosentez ve karbohidrat metabolizmasına ait olduğu belirlenmiştir. Fotosentez ve karbohidrat metabolizmasında görev alan proteinler, Remzibey-05 ile *C. oxyacantha*'da kuraklıkta genel olarak birlikte azalırken; yeniden sulamada ise birlikte artmıştır. Ayrıca Remzibey-05'de protein metabolizmasında kuraklık koşullarında sistein sentaz aktivitesi azalırken; yeniden sulamada artmıştır. *C. oxyacantha*'da ise solunumda görev alan muhtemel sitokrom c oksidaz'ın ifadesi kuraklıkta azalırken; yeniden sulamada artmıştır. Remzibey-05 ile *C. oxyacantha*'da kuraklık koşullarında fotosentez, karbohidrat, solunum ve protein metabolizmasında görev alan protein ifadelerinin azalması; dayanıklı genotiplerin stres koşullarında metabolik aktivitelerini azalttığını gösterirken; yeniden sulama koşullarında bu proteinlerin ifadesinin artması, bu genotiplerin stresin oluşturduğu hasarları tamir etmeye ve optimum büyüme koşullarına ulaşmaya çalıştığını göstermektedir. Bunlara ek olarak, kuraklıkta Remzibey-05'de protein proteolizinde görev alan proteozom alt birimi ile depo protein olan fazeolin ifadesinin, *C. oxyacantha*'da ise ksiloglukan endotransglukozilaz proteininin ifadesinin artması; bu genotiplerin stres koşullarından korunmaya çalıştığını ortaya koymaktadır.
- Duyarlı genotip olan Linas'da ise kuraklık koşullarında fotosentez ve karbohidrat metabolizmasında görev alan proteinlerden sitokrom b6f kompleksi ile ATP sentazın iki alt biriminin ifadesinin azalırken, diğerlerinin artması; bununla birlikte, fotosentetik performansın düşük olması, bu genotipte stres koşullarında fotosentez mekanizmasının yeterince korunamadığını göstermektedir. Fotosentez ve karbohidrat metabolik yollarında belirlenen bu proteinlerin ifadelerinin yeniden sulama koşullarında da benzer yönde değişim göstermesi, Linas'da kuraklık stresi nedeniyle ortaya çıkan değişimlerin koordineli olmadığını ortaya koymaktadır. Ayrıca Linas'da savunmada görev alan proteinlerin ifadelerinin kuraklıkta azalırken; yeniden

sulamada artması ve açığa çıkan ürünlerin ortamdaki uzaklaştırılması işlevinde yer alan proteozom ifadesinin her iki uygulamada da azalması, bu genotipte savunma mekanizmasının etkin bir düzeyde çalışmadığını düşündürmektedir.

Bu çalışma kapsamındaki tüm sonuçlar incelendiğinde;

- Yabani genotip olan *C. oxyacantha*'nın çeşit ve hatlara göre daha dayanıklı olduğu doğrulanmış olup kuraklığa dayanıklılıkta iyi bir gen kaynağı olabileceği önerilmektedir. Bunun yanı sıra, hat ve çeşitlerin atasal genotipe göre daha duyarlı olması; kültüre alım sırasında atasal genotipin gen havuzundaki dayanıklılıkla ilgili bazı karakterlerin kaybedilmesi ile ilişkili olabilir.
- Remzibey-05, kuraklığa dayanıklı çeşit olarak tespit edilmiş olup, diğer karakter özellikleri de dikkate alınarak kuraklık tehdidi altında olan ekim alanlarında kullanılabilirliği önerilmektedir.
- F_V/F_M parametresinin stres koşullarında fotosentez aktivitesinde meydana gelen etkilenmeyi ortaya çıkarmak için performans indeksleri kadar hassas bir parametre olmadığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte performans indekslerinden PI_{top} 'ın hem elektron taşıma kapasitesi hakkında PI_{abs} tarafından belirlenen etkinliğe ek olarak daha ayrıntılı bilgiler vermesi hem de kuraklığın olumsuz etkilerini daha iyi yansıtmaya nedeniyle çok daha kullanışlı ve güvenilir bir parametre olduğunu önerilmektedir.
- Kuraklığın akabinde yeniden sulama uygulamasında aspir genotiplerinin yetiştirildiği topraktaki su düzeyinin doğrudan tarla kapasitesi değerlerine getirilmesi, genotiplerin bu durumu ikinci bir stres faktörü olarak algılamasına ve yeterli iyileşme cevapları verememesine neden olmuş olabilir. Bu nedenle yeniden sulama aşamasında toprak su içeriğinin kademeli artırılmasının, genotiplerin dayanıklılık mekanizmalarının yeterli düzeyde çalışabilmesi için gerekli olabileceği düşünülmektedir.
- Bu çalışmada 2-D yönteminde söz konusu olabilecek protein kayıpları ile birlikte MALDI-TOF/TOF ile transkripsiyon sonrası modifikasyonların belirlenemiyor olması, kuraklığa dayanıklılıkta rol oynayan bazı proteinlerin tanımlanamamasına neden olmuş olabilir. Bu nedenle; kuraklığa dayanıklılıkta görev alan proteinleri belirleyebilmek için son yıllarda geliştirilmiş olan LC-MS/MS'in kullanılması önerilebilir.

KAYNAKLAR

- [1] Change, I. P. O. C., Ipcc, *Climate Change*, **2014**.
- [2] Oelke, E., Oplinger, E., Teynor, T., Putnam, D., Doll, J., Kelling, K., Durgan, B., Noetzel, D., *Safflower, Alternative Field Crops Manual*, **1992**.
- [3] Cosge, B., Gurbuz, B., Kiralan, M., Oil Content and Fatty Acid Composition of Some Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Varieties Sown in Spring and Winter, *International Journal of Natural and Engineering Sciences*, 1, 3, 11-15, **2007**.
- [4] Babaoğlu, M., *Dünya'da ve Türkiye'de Aspir Bitkisinin Tarihi, Kullanım Alanları ve Önemi*, Broşür, Trakya Tarımsal Araştırmalar Enstitüsü, Edirne, **2006**.
- [5] FAOSTAT, Food and Agriculture Organization of the United Nation (FAO) Statistical Databases, **2014**.
- [6] İlkdoğan, U., *Türkiye'de Aspir Üretimi İçin Gerekli Koşullar ve Oluşturulacak Politikalar*, Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2012**.
- [7] Majidi, M. M., Tavakoli, V., Mirlohi, A., Sabzalian, M. R., Wild Safflower Species ('*Carthamus oxyacanthus*' Bieb.): A Possible Source of Drought Tolerance for Arid Environments, *Australian Journal of Crop Science*, 5, 8, 1055, **2011**.
- [8] Öztürk, E., Özer, H., Polat, T., Growth and Yield of Safflower Genotypes Grown under Irrigated and Non-Irrigated Conditions in a Highland Environment, *Plant Soil Environment*, 54, 10, 453-460, **2008**.
- [9] Dajue, L., Mündel, H.H., *Safflower, Carthamus Tinctorius L: Bioersivity International*, **1996**.
- [10] Kar, G., Kumar, A., Martha, M., Water Use Efficiency and Crop Coefficients of Dry Season Oilseed Crops, *Agricultural Water Management*, 87, 1, 73-82, **2007**.
- [11] Lovelli, S., Perniola, M., Ferrara, A., Di Tommaso, T., Yield Response Factor to Water (Ky) and Water Use Efficiency of *Carthamus tinctorius* L. and *Solanum melongena* L, *Agricultural Water Management*, 92, 1,73-80, **2007**.
- [12] Bagheri, H., Sharghi, Y., The Survey of Agronomical Traits of Safflower Cultivars in Condition of Water Deficit (*Carthamus tinctorius* L.), *Advances in Environmental Biology*, 5, 13, 3836-3839, **2011**.
- [13] Tayebi, A., Afshari, H., Farahvash, F., Sinki, J. M., Nezarat, S., Effect of Drought Stress and Different Planting Dates on Safflower Yield and Its Components in Tabriz Region, *Iranian Journal of Plant Physiology*, 2, 3, 445-453, **2012**.
- [14] Zareie, S., Mohammadi-Nejad, G., Sardouie-Nasab, S., Screening of Iranian Safflower Genotypes under Water Deficit and Normal Conditions Using Tolerance Indices, *Australian Journal Crop Science*, 7, 1032-1037, **2013**.
- [15] Roudbari, Z., Saba, J., Shekari, F., Use of Physiological Parameters as Tools to Screen Drought Tolerant Safflower Genotypes, *International Research Journal of Applied and Basic Sciences*, 3, 12, 2374-2380, **2012**.
- [16] Abdel-Nasser, L., Abdel-Aal, A., Effect of Elevated CO₂ and Drought on Proline Metabolism and Growth of Safflower (*Carthamus mareoticus* L.)

- Seedlings without Improving Water Status, *Pakistan Journal of Biological Science*, 5, 5, 523-528, **2002**.
- [17] Thippeswamy, M., Sivakumar, M., Sudhakarbabu, O., Reddy, P. C., Veeranagamallaiah, G., Pandurangaiah, M., Ramya, M., Nareshkumar, A., Kirankumar, T., Sudhakar, C., Generation and Analysis of Drought Stressed Subtracted Expressed Sequence Tags from Safflower (*Carthamus tinctorius* L.), *Plant Growth Regulation*, 69, 1, 29-41, **2013**.
- [18] Mohammadi, M., Ghassemi-Golezani, K., Zehtab-Salmasi, S., Nasrollahzade, S., Assessment of Some Physiological Traits in Spring Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Cultivars under Water Stress, *International Journal of Life Sciences*, 10, 1, 58-64, **2016**.
- [19] Koti, R. V., Prakash, S., Kiran, K., Ravikumar, T., An Investigation on the Performance and Emission Characteristics of a Direct Injection Diesel Engine Using Safflower Oil and Milk Scum Oil as a Biodiesel, *International Refereed Journal of Engineering and Science*, 3, 4, 103-112, **2014**.
- [20] Pearl, S. A., Bowers, J. E., Reyes-Chin-Wo, S., Michelmore, R. W., Burke, J. M., Genetic Analysis of Safflower Domestication, *BMC Plant Biology*, 14, 1, 43, **2014**.
- [21] Harrathi, J., Hosni, K., Karray-Bouraoui, N., Attia, H., Marzouk, B., Magné, C., Lachaâl, M., Effect of Salt Stress on Growth, Fatty Acids and Essential Oils in Safflower (*Carthamus tinctorius* L.), *Acta Physiologiae Plantarum*, 34, 1, 129-137, **2012**.
- [22] Hacıoğlu, B. T., Arslan, Y., Subasi, I., Katar, D., Bülbül, A. S., Çeter, T., Achene Morphology of Turkish *Carthamus* Species, *Australian Journal of Crop Science*, 6, 8, 1260, **2012**.
- [23] Yaman, H., Tarkahya-Hacıoğlu, B., Arslan, Y., Subaşı, İ., Molecular Characterization of the Wild Relatives of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) in Turkey as Revealed by ISSRs, *Genetic Resources and Crop Evolution*, 61, 3, 595-602, **2014**.
- [24] Meshram, P. D., Puri, R. G., and Patil, H. V., Epoxidation of Wild Safflower (*Carthamus oxyacantha*) Oil with Peroxy Acid in Presence of Strongly Acidic Cation Exchange Resin IR-122 As catalyst, *International Journal of Chem Tech Research*, 3, 3, 1152-1163, **2011**.
- [25] Pourghasemian, N., Ehsanzadeh, P., Greger, M., Genotypic Variation in Safflower (*Carthamus* spp.) Cadmium Accumulation and Tolerance Affected by Temperature and Cadmium Levels, *Environmental and Experimental Botany*, 87, 218-226, **2013**.
- [26] Baydar, H., Gökmen, O., Friedt, W., Hybrid Seed Production in Safflower (*Carthamus tinctorius*) Following the Induction of Male Sterility by Gibberellic Acid, *Plant Breeding*, 122, 5, 459-461, **2003**.
- [27] Lulin, H., Xiao, Y., Pei, S., Wen, T., Shangqin, H., The First Illumina-Based De Novo Transcriptome Sequencing and Analysis of Safflower Flowers, *PLoS ONE*, 7, 6, 38653, **2012**.
- [28] Hamamci, C., Saydut, A., Tonbul, Y., Kaya, C., Kafadar, A., Biodiesel Production via Transesterification from Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Seed Oil, *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects*, 33, 6, 512-520, **2011**.
- [29] Babaoğlu, M., *Aspir Tarımı (Carthamus tinctorius L.) Trakya Tarımsal Araştırmalar Enstitüsü, Edirne, 2005*.

- [30] Pace, M., Israelsen, C., Creech, E., Allen, N., *Growing Safflower in Utah*, **2015**.
- [31] Babaoğlu, M., *Aspir Bitkisi ve Tarımı*, Trakya Tarımsal Araştırmalar Enstitüsü, Edirne, **2007**.
- [32] Koutroubas, S. D., Papakosta, D. K., Doitsinis, A., Phenotypic Variation in Physiological Determinants of Yield in Spring Sown Safflower under Mediterranean Conditions, *Field Crops Research*, 112, 2, 199-204, **2009**.
- [33] Karimi, M., Golparvar, A. R., Shamas, M., Multivariate Regression and Path Coefficient Analysis of Seed and Oil Yield in Spring Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Cultivars, *Applied Science Report*, 4, 1, 184-186, **2013**.
- [34] Karimi, M., Golparvar, A. R., Shams, M., Genetic Improvement of Seed and Oil Yield in Spring Safflower Cultivars in Stress Environments, *Applied Science Report*, 6, 2, 58-61, **2014**.
- [35] Flemmer, A., Franchini, M., Lindström, L., Description of Safflower (*Carthamus tinctorius*) Phenological Growth Stages According to the Extended BBCH Scale, *Annals of Applied Biology*, 166, 2, 331-339, **2015**.
- [36] Mündel, H.-H., Centre, L. R., *Safflower Production on the Canadian Prairies: Revisited in 2004*: Agriculture and Agri-Food Canada, Lethbridge, **2004**.
- [37] Berglund, D., Riveland, N., Bergman, J., Safflower Production a-870 (Revised), www.ag.ndsu.edu/pubs/plantsci/crops/a870w.html, (Ağustos, **2007**).
- [38] Pahlavani, M., Mirlohi, A., Saeidi, G., Inheritance of Flower Color and Spininess in Safflower (*Carthamus tinctorius* L.), *Journal of Heredity*, 95, 3, 265-267, **2004**.
- [39] Machewad, G., Ghatge, P., Chappalwar, V., Jadhav, B., Chappalwar, A., Studies on Extraction of Safflower Pigments and Its Utilization in Ice Cream, *Journal of Food Processing and Technology*, 3, 8, **2012**.
- [40] Smith, V. H., Jimmerson, J., *Safflower*, **2005**.
- [41] Çamaş, N., Çırak, C., and Esendal, E., Seed Yield, Oil Content and Fatty Acids Composition of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Grown in Northern Turkey Conditions, **2012**.
- [42] Gecgel, U., Demirci, M., Esendal, E., Tasan, M., Fatty Acid Composition of the Oil from Developing Seeds of Different Varieties of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.), *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 84, 1, 47-54, **2007**.
- [43] Nykiforuk, C. L., Shewmaker, C., Harry, I., Yurchenko, O. P., Zhang, M., Reed, C., Oinam, G. S., Zaplachinski, S., Fidantsef, A., Boothe, J. G., High Level Accumulation of Gamma Linolenic Acid (C18: 3 δ 6. 9, 12 Cis) in Transgenic Safflower (*Carthamus tinctorius*) Seeds, *Transgenic Research*, 21, 2, 367-381, **2012**.
- [44] Yeilaghi, H., Arzani, A., Ghaderian, M., Fotovat, R., Feizi, M., Pouredad, S. S., Effect of Salinity on Seed Oil Content and Fatty Acid Composition of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Genotypes, *Food Chemistry*, 130, 3, 618-625, **2012**.
- [45] Kostik, V., Memeti, S., Bauer, B., Fatty Acid Composition of Edible Oils and Fats, *Journal of Hygienic Engineering and Design*, 4, 112-116, **2013**.
- [46] Toma, W., Guimarães, L. L., Brito, A. R., Santos, A. R., Cortez, F. S., Pusceddu, F. H., Cesar, A., S Júnior, L., Pacheco, M. T., Pereira, C. D., Safflower Oil: An Integrated Assessment of Phytochemistry, Antiulcerogenic

- Activity, and Rodent and Environmental Toxicity, *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 24, 5, 538-544, **2014**.
- [47] Nazari, M., Mirlohi, A., Majidi, M. M., Effects of Drought Stress on Oil Characteristics of *Carthamus* Species, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 1-10, **2016**.
- [48] Matthaus, B., Özcan, M., Al Juhaimi, F., Fatty Acid Composition and Tocopherol Profiles of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Seed Oils, *Natural Product Research*, 29, 2, 193-196, **2015**.
- [49] Velasco, L., Pérez-Vich, B., Fernández-Martínez, J., Identification and Genetic Characterization of a Safflower Mutant with a Modified Tocopherol Profile, *Plant Breeding*, 124, 5, 459-463, **2005**.
- [50] Nogala-Kalucka, M., Rudzinska, M., Zadernowski, R., Siger, A., Krzyzostaniak, I., Phytochemical Content and Antioxidant Properties of Seeds of Unconventional Oil Plants, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87, 12, 1481-1487, **2010**.
- [51] Ashagre, H., Hamza, I. A., Fita, U., Estifanos, E., Boron Toxicity on Seed Germination and Seedling Growth of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.), *Herald Journal of Agriculture and Food Science Research*, 3, 1, 1-6, **2014**.
- [52] Bessada, S. M., Barreira, J. C., Oliveira, M. B. P., Asteraceae Species with Most Prominent Bioactivity and Their Potential Applications: A Review, *Industrial Crops and Products*, 76, 604-615, **2015**.
- [53] Kolsarıcı, Ö., Gür, A., Başalma, D., Kaya, M., İşler, N., Yağlı Tohumlu Bitkiler Üretimi, *Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongresi*, 3-7, **2005**.
- [54] Gao, W., Fan, L., Paek, K., Yellow and Red Pigment Production by Cell Cultures of *Carthamus tinctorius* in a Bioreactor, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 60, 2, 95-100, **2000**.
- [55] Li, H., Dong, Y., Yang, J., Liu, X., Wang, Y., Yao, N., Guan, L., Wang, N., Wu, J., Li, X., De Novo Transcriptome of Safflower and the Identification of Putative Genes for Oleosin and the Biosynthesis of Flavonoids, *PLoS ONE*, 7, 2, 30987, **2012**.
- [56] Dai, Y., Verpoorte, R., Choi, Y. H., Natural Deep Eutectic Solvents Providing Enhanced Stability of Natural Colorants from Safflower (*Carthamus tinctorius*), *Food Chemistry*, 159, 116-121, **2014**.
- [57] Fan, S., Lin, N., Shan, G., Zuo, P., Cui, L., Safflower Yellow for Acute Ischemic Stroke: A Systematic Review of Randomized Controlled Trials, *Complementary Therapies in Medicine*, 22, 2, 354-361, **2014**.
- [58] Pearl, S. A., Burke, J. M., Genetic Diversity in *Carthamus tinctorius* (Asteraceae; Safflower), an Underutilized Oilseed Crop, *American Journal of Botany*, 101, 10, 1640-1650, **2014**.
- [59] Jadhav, B., Joshi, A., Extraction and Quantitative Estimation of Bio Active Component (Yellow and Red Carthamin) from Dried Safflower Petals, *Indian Journal of Science and Technology*, 8, 16, **2015**.
- [60] Angın, D., Effect of Pyrolysis Temperature and Heating Rate on Biochar Obtained from Pyrolysis of Safflower Seed Press Cake, *Bioresource Technology*, 128, 593-597, **2013**.
- [61] Mihaela, P., Josef, R., Monica, N., and Rudolf, Z., Perspectives of Safflower Oil as Biodiesel Source for South Eastern Europe (Comparative Study: Safflower, Soybean and Rapeseed), *Fuel*, 111, 114-119, **2013**.
- [62] Herdrich, N., *Safflower Production Tips*: Washington State University Cooperative Extension, **2001**.

- [63] Govindappa, M., Rai, V. R., Lokesh, S., Induction of Resistance against Cercospora Leaf Spot in Safflower by Seed Treatment with Plant Growth-Promoting Rhizobacteria, *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 47, 20, 2479-2492, **2014**.
- [64] Esendal, E., Arslan, B., Paşa, C., Effect of Winter and Spring Sowing on Yield and Plant Traits of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.), 7. International Safflower Conference, Australia, **2008**.
- [65] Arslan, Y., Katar, D., Güneylüoğlu, H., Subaşı, İ., Şahin, B., Bülbül, A. S., Türkiye Florasındaki Yabani *Carthamus* L. Türleri Ve Aspir (*C. tinctorius* L.) İslahında Değerlendirme Olanakları, *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 19, 1-2, **2010**.
- [66] Siddiqi, E. H., Ashraf, M., Al-Qurainy, F., Akram, N. A., Salt-Induced Modulation in Inorganic Nutrients, Antioxidant Enzymes, Proline Content and Seed Oil Composition in Safflower (*Carthamus tinctorius* L.), *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91, 15, 2785-2793, **2011**.
- [67] Shahrokhnia, M. H., Sepaskhah, A. R., Physiologic and Agronomic Traits in Safflower under Various Irrigation Strategies, Planting Methods and Nitrogen Fertilization, *Industrial Crops and Products*, 95, 126-139, **2017**.
- [68] Kaya, M. D., Ipek, A., Öztürk, A., Effects of Different Soil Salinity Levels on Germination and Seedling Growth of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.), *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 27, 4, 221-227, **2003**.
- [69] Siddiqi, E. H., Ashraf, M., Akram, N. A., Variation in Seed Germination and Seedling Growth in Some Diverse Lines of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) under Salt Stress, *Pakistan Journal of Botany*, 39, 6, 1937-1944, **2007**.
- [70] Siddiqi, E. H., Ashraf, M., Can Leaf Water Relation Parameters Be Used as Selection Criteria for Salt Tolerance in Safflower (*Carthamus tinctorius* L.), *Pakistan Journal of Botany*, 40, 1, 221-228, **2008**.
- [71] Erdal, Ş. Ç., Çakırlar, H., Impact of Salt Stress on Photosystem II Efficiency and Antioxidant Enzyme Activities of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Cultivars, *Turkish Journal of Biology*, 38, 4, 549-560, **2014**.
- [72] Javed, S., Bukhari, S. A., Ashraf, M. Y., Mahmood, S., Iftikhar, T., Effect of Salinity on Growth, Biochemical Parameters and Fatty Acid Composition in Safflower (*Carthamus tinctorius* L.), *Pakistan Journal of Botany*, 46, 4, 1153-1158, **2014**.
- [73] Singh, S., Angadi, S. V., Grover, K., Begna, S., Auld, D., Drought Response and Yield Formation of Spring Safflower under Different Water Regimes in the Semiarid Southern High Plains, *Agricultural Water Management*, 163, 354-362, **2016**.
- [74] Hodson, M. J., Bryant, J. A., *Functional Biology of Plants*, John Wiley & Sons, **2012**.
- [75] Lipiec, J., Doussan, C., Nosalewicz, A., Kondracka, K., Effect of Drought and Heat Stresses on Plant Growth and Yield: A Review, *International Agrophysics*, 27, 4, 463-477, **2013**.
- [76] Vurukonda, S. S. K. P., Vardharajula, S., Shrivastava, M., SkZ, A., Enhancement of Drought Stress Tolerance in Crops by Plant Growth Promoting Rhizobacteria, *Microbiological Research*, 184, 13-24, **2016**.
- [77] Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., Basra, S., Plant Drought Stress: Effects, Mechanisms and Management, *Sustainable Agriculture*, (eds: Lichtfouse, E., Navarrete, M., Debaeke, P., Véronique, S., Alberola, C.), Springer, Netherlands, 153-188: **2009**.

- [78] de Oliveira, A. B., Alencar, N. L. M., Gomes-Filho, E., Physiological and Biochemical Responses of Semiarid Plants Subjected to Water Stress, *Water Stress*, 43, **2011**.
- [79] Noctor, G., Mhamdi, A., Foyer, C. H., The Roles of Reactive Oxygen Metabolism in Drought: Not So Cut and Dried, *Plant Physiology*, 164, 4, 1636-1648, **2014**.
- [80] Lisar, S. Y., Motafakkerazad, R., Hossain, M. M., Rahman, I. M., Water Stress in Plants: Causes, Effects and Responses, *Water Stress*, (eds: Rahman, I. M. M., Hasegawa, H.) InTech, Croatia, 1-14, **2012**.
- [81] Ding, Y., Tao, Y., Zhu, C., Emerging Roles of Micrnas in the Mediation of Drought Stress Response in Plants, *Journal of Experimental Botany*, 64, 11, 3077-3086, **2013**.
- [82] Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Gill, S. S., Fujita, M., Drought Stress Responses in Plants, Oxidative Stress, and Antioxidant Defense, *Climate Change and Plant Abiotic Stress Tolerance*, 209-250, **2013**.
- [83] Akıncı, Ş., Lösel, D. M., Plant Water-Stress Response Mechanisms, *Water Stress*, 15-42, **2012**.
- [84] Maurel, C., Verdoucq, L., Rodrigues, O., Aquaporins and Plant Transpiration, *Plant, Cell and Environment*, 39, 11, 2580-2587, **2016**.
- [85] Vandeleur, R. K., Mayo, G., Shelden, M. C., Gilliam, M., Kaiser, B. N., Tyerman, S. D., The Role of Plasma Membrane Intrinsic Protein Aquaporins in Water Transport through Roots: Diurnal and Drought Stress Responses Reveal Different Strategies between Isohydric and Anisohydric Cultivars of Grapevine, *Plant Physiology*, 149, 1, 445-460, **2009**.
- [86] Moshelion, M., Halperin, O., Wallach, R., Oren, R., Way, D. A., Role of Aquaporins in Determining Transpiration and Photosynthesis in Water-Stressed Plants: Crop Water-Use Efficiency, Growth and Yield, *Plant, Cell and Environment*, 38, 9, 1785-1793, **2015**.
- [87] McDowell, N. G., Mechanisms Linking Drought, Hydraulics, Carbon Metabolism, and Vegetation Mortality, *Plant Physiology*, 155, 3, 1051-1059, **2011**.
- [88] Cattivelli, L., Rizza, F., Badeck, F.-W., Mazzucotelli, E., Mastrangelo, A. M., Francia, E., Marè, C., Tondelli, A., Stanca, A. M., Drought Tolerance Improvement in Crop Plants: An Integrated View from Breeding to Genomics, *Field Crops Research*, 105, 1, 1-14, **2008**.
- [89] Negin, B., Moshelion, M., The Evolution of the Role of ABA in the Regulation of Water-Use Efficiency: From Biochemical Mechanisms to Stomatal Conductance, *Plant Science*, 251, 82-89, **2016**.
- [90] Pintó-Marijuan, M., Munné-Bosch, S., Ecophysiology of Invasive Plants: Osmotic Adjustment and Antioxidants, *Trends in Plant Science*, 18, 12, 660-666, **2013**.
- [91] Shao, H.-B., Chu, L.-Y., Jaleel, C. A., Zhao, C.-X., Water-Deficit Stress-Induced Anatomical Changes in Higher Plants, *Comptes Rendus Biologies*, 331, 3, 215-225, **2008**.
- [92] Ebelhar, S., Varsa, E., Applications in Sustainable Productions: Tillage and Potassium Placement Effects on Potassium Use Efficiency in a Corn-Soybean Rotation, *Communications in Soil Science and Plant Analyses*, Taylor and Francis, 11, 2367-2377, **2000**.

- [93] Sui, N., Li, M., Li, K., Song, J., Wang, B.-S., Increase in Unsaturated Fatty Acids in Membrane Lipids of *Suaeda salsa* L. Enhances Protection of Photosystem II under High Salinity, *Photosynthetica*, 48, 4, 623-629, **2010**.
- [94] Hopkins, W., Huner, N., Acclimation to Environmental Stress, *Introduction to Plant Physiology*, Wiley, USA, 241-260, **2009**.
- [95] Furt, F., Simon-Plas, F., Mongrand, S., Lipids of the Plant Plasma Membrane, *The Plant Plasma Membrane*, (eds: Murphy, A.S., Schulz, B., Peer, W.), Springer, Berlin, 3-30, **2011**.
- [96] Lauriano, J., Lidon, F., Carvalho, C., Campos, P., do Céu Matos, M., Drought Effects on Membrane Lipids and Photosynthetic Activity in Different Peanut Cultivars, *Photosynthetica*, 38, 1, 7-12, **2000**.
- [97] Gigon, A., Matos, A.-R., Laffray, D., Zuily-Fodil, Y., Pham-Thi, A.-T., Effect of Drought Stress on Lipid Metabolism in the Leaves of *Arabidopsis thaliana* (Ecotype Columbia), *Annals of Botany*, 94, 3, 345-351, **2004**.
- [98] Fazeli, F., Ghorbanli, M., Niknam, V., Effect of Drought on Biomass, Protein Content, Lipid Peroxidation and Antioxidant Enzymes in Two Sesame Cultivars, *Biologia Plantarum*, 51, 1, 98-103, **2007**.
- [99] Zhai, S.-M., Gao, Q., Xue, H.-W., Sui, Z.-H., Yue, G.-D., Yang, A.-F., Zhang, J.-R., Overexpression of the Phosphatidylinositol Synthase Gene from *Zea mays* in Tobacco Plants Alters the Membrane Lipids Composition and Improves Drought Stress Tolerance, *Planta*, 235, 1, 69-84, **2012**.
- [100] Tuteja, N., Gill, S. S., Tuteja, R., Plant Responses to Abiotic Stresses Shedding Light on Salt, Drought, Cold and Heavy Metal Stresses, *Omicms and Plant Abiotic Stress Tolerance*, Bentham Science Publishers, India, 39-64, **2011**.
- [101] Testerink, C., Munnik, T., Phosphatidic Acid: A Multifunctional Stress Signaling Lipid in Plants, *Trends in Plant Science*, 10, 8, 368-375, **2005**.
- [102] Meijer, H. J., Munnik, T., Phospholipid-Based Signaling in Plants, *Annual Review of Plant Biology*, 54, 1, 265-306, **2003**.
- [103] Ruelland, E., Kravets, V., Derevyanchuk, M., Martinec, J., Zachowski, A., Pokotylo, I., Role of Phospholipid Signalling in Plant Environmental Responses, *Environmental and Experimental Botany*, 114, 129-143, **2015**.
- [104] Hong, Y., Zhang, W., Wang, X., Phospholipase D and Phosphatidic Acid Signalling in Plant Response to Drought and Salinity, *Plant, Cell and Environment*, 33, 4, 627-635, **2010**.
- [105] Basu, S., Ramegowda, V., Kumar, A., Pereira, A., Plant Adaptation to Drought Stress, *F1000-Research*, 5, **2016**.
- [106] Tardieu, F., Tuberosa, R., Dissection and Modelling of Abiotic Stress Tolerance in Plants, *Current Opinion in Plant Biology*, 13, 2, 206-212, **2010**.
- [107] Brestic, M., Zivcak, M., PSII Fluorescence Techniques for Measurement of Drought and High Temperature Stress Signal in Crop Plants: Protocols and Applications, *Molecular Stress Physiology of Plants*, Springer, India, 87-131, **2013**.
- [108] Lim, C. W., Baek, W., Jung, J., Kim, J.-H., Lee, S. C., Function of ABA in Stomatal Defense Against Biotic and Drought Stresses, *International Journal of Molecular Sciences*, 16, 7, 15251-15270, **2015**.
- [109] Murata, Y., Mori, I. C., Stomatal Regulation of Plant Water Status *Plant Abiotic Stress*, (eds: Matthew A. J., and Hasegawa, P. M.), Iowa, 47-67, **2014**.

- [110] Osakabe, Y., Osakabe, K., Shinozaki, K., Tran, L.-S. P., Response of Plants to Water Stress, *Frontiers in Plant Science*, 5, 86, **2014**.
- [111] Kang, J., Hwang, J.-U., Lee, M., Kim, Y.-Y., Assmann, S. M., Martinoia, E., Lee, Y., PDR-Type ABC Transporter Mediates Cellular Uptake of the Phytohormone Abscisic Acid, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107, 5, 2355-2360, **2010**.
- [112] Kuromori, T., Miyaji, T., Yabuuchi, H., Shimizu, H., Sugimoto, E., Kamiya, A., Moriyama, Y., Shinozaki, K., ABC Transporter AtABCG25 Is Involved in Abscisic Acid Transport and Responses, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107, 5, 2361-2366, **2010**.
- [113] Kanno, Y., Hanada, A., Chiba, Y., Ichikawa, T., Nakazawa, M., Matsui, M., Koshiba, T., Kamiya, Y., Seo, M., Identification of an Abscisic Acid Transporter by Functional Screening Using the Receptor Complex as a Sensor, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109, 24, 9653-9658, **2012**.
- [114] Osakabe, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K., Tran, L. S. P., ABA Control of Plant Macroelement Membrane Transport Systems in Response to Water Deficit and High Salinity, *New Phytologist*, 202, 1, 35-49, **2014**.
- [115] Kim, T.-H., Böhmer, M., Hu, H., Nishimura, N., Schroeder, J. I., Guard Cell Signal Transduction Network: Advances in Understanding Abscisic Acid, CO₂ and Ca²⁺ Signaling, *Annual Review of Plant Biology*, 61, 561-591, **2010**.
- [116] Lee, S.-j., Park, J. H., Lee, M. H., Yu, J.-h., Kim, S. Y., Isolation and Functional Characterization of Ce1 Binding Proteins, *BMC Plant Biology*, 10, 1, 277, **2010**.
- [117] Osakabe, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K., Tran, L.-S. P., Sensing the Environment: Key Roles of Membrane-Localized Kinases in Plant Perception and Response to Abiotic Stress, *Journal of Experimental Botany*, 64, 2, 445-458, **2013**.
- [118] Ache, P., Becker, D., Ivashikina, N., Dietrich, P., Roelfsema, M. R. G., Hedrich, R., Gork, a Delayed Outward Rectifier Expressed in Guard Cells of *Arabidopsis thaliana*, Is a K⁺-Selective, K⁺-Sensing Ion Channel, *FEBS Letters*, 486, 2, 93-98, **2000**.
- [119] Shimazaki, K.-i., Doi, M., Assmann, S. M., Kinoshita, T., Light Regulation of Stomatal Movement, *Annual Reviews of Plant Biology*, 58, 219-247, **2007**.
- [120] Ashraf, M., Inducing Drought Tolerance in Plants: Recent Advances, *Biotechnology Advances*, 28, 1, 169-183, **2010**.
- [121] Chastain, D. R., Snider, J. L., Collins, G. D., Perry, C. D., Whitaker, J., Byrd, S. A., Water Deficit in Field-Grown *Gossypium hirsutum* Primarily Limits Net Photosynthesis by Decreasing Stomatal Conductance, Increasing Photorespiration, and Increasing the Ratio of Dark Respiration to Gross Photosynthesis, *Journal of Plant Physiology*, 171, 17, 1576-1585, **2014**.
- [122] Voss, I., Sunil, B., Scheibe, R., Raghavendra, A., Emerging Concept for the Role of Photorespiration as an Important Part of Abiotic Stress Response, *Plant Biology*, 15, 4, 713-722, **2013**.
- [123] Wingler, A., Lea, P. J., Quick, W. P., Leegood, R. C., Photorespiration: Metabolic Pathways and Their Role in Stress Protection, *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 355, 1402, 1517-1529, **2000**.

- [124] Rivero, R. M., Shulaev, V., Blumwald, E., Cytokinin-Dependent Photorespiration and the Protection of Photosynthesis During Water Deficit, *Plant Physiology*, 150, 3, 1530-1540, **2009**.
- [125] Carmo-Silva, A. E., Keys, A. J., Andralojc, P. J., Powers, S. J., Arrabaça, M. C., Parry, M. A., Rubisco Activities, Properties, and Regulation in Three Different C4 Grasses under Drought, *Journal of Experimental Botany*, 71, **2010**.
- [126] Zlatev, Z., Lidon, F. C., An Overview on Drought Induced Changes in Plant Growth, Water Relations and Photosynthesis, *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 24, 1, 57, **2012**.
- [127] Li, Y., Gao, Y., Ding, L., Shen, Q., Guo, S., Ammonium Enhances the Tolerance of Rice Seedlings (*Oryza sativa* L.) to Drought Condition, *Agricultural Water Management*, 96, 12, 1746-1750, **2009**.
- [128] Murtaza, G., Rasool, F., Habib, R., Javed, T., Sardar, K., Ayub, M. M., Ayub, M. A., Rasool, A., A Review of Morphological, Physiological and Biochemical Responses of Plants under Drought Stress Conditions, *Imperial Journal of Interdisciplinary Research*, 2, 12, **2016**.
- [129] Kalefetoğlu, T., Ekmekci, Y., The Effects of Drought on Plants and Tolerance Mechanisms, *Gazi University Journal of Science*, 18, 4, 723-740, **2005**.
- [130] Zivcak, M., Brestic, M., Balatova, Z., Drevenakova, P., Olsovska, K., Kalaji, H. M., Yang, X., Allakhverdiev, S. I., Photosynthetic Electron Transport and Specific Photoprotective Responses in Wheat Leaves under Drought Stress, *Photosynthesis Research*, 117, 1-3, 529-546, **2013**.
- [131] Esteban, R., Moran, J. F., Becerril, J. M., García-Plazaola, J. I., Versatility of Carotenoids: An Integrated View on Diversity, Evolution, Functional Roles and Environmental Interactions, *Environmental and Experimental Botany*, 119, 63-75, **2015**.
- [132] Siddique, Z., Jan, S., Imadi, S. R., Gul, A., Ahmad, P., Drought Stress and Photosynthesis in Plants, *Water Stress and Crop Plants: A Sustainable Approach*, (ed: Ahmad, P.) Wiley-Blackwell, Iowa, 1-11, **2016**.
- [133] Wahid, A., Gelani, S., Ashraf, M., Foolad, M. R., Heat Tolerance in Plants: An Overview, *Environmental and Experimental Botany*, 61, 3, 199-223, **2007**.
- [134] Foyer, C. H., Neukermans, J., Queval, G., Noctor, G., Harbinson, J., Photosynthetic Control of Electron Transport and the Regulation of Gene Expression, *Journal of Experimental Botany*, 63, 4, 1637-1661, **2012**.
- [135] Asada, K., The Water-Water Cycle in Chloroplasts: Scavenging of Active Oxygens and Dissipation of Excess Photons, *Annual Review of Plant Biology*, 50, 1, 601-639, **1999**.
- [136] Apel, K., Hirt, H., Reactive Oxygen Species: Metabolism, Oxidative Stress, and Signal Transduction, *Annual Reviews of Plant Biology*, 55, 373-399, **2004**.
- [137] Lawlor, D. W., Tezara, W., Causes of Decreased Photosynthetic Rate and Metabolic Capacity in Water-Deficient Leaf Cells: A Critical Evaluation of Mechanisms and Integration of Processes, *Annals of Botany*, 561-579, **2009**.
- [138] Rumeau, D., Peltier, G., Cournac, L., Chlororespiration and Cyclic Electron Flow around Psi During Photosynthesis and Plant Stress Response, *Plant, Cell and Environment*, 30, 9, 1041-1051, **2007**.

- [139] Li, Q., Yao, Z.-J., Mi, H., Alleviation of Photoinhibition by Co-Ordination of Chlororespiration and Cyclic Electron Flow Mediated by NDH under Heat Stressed Condition in Tobacco, *Frontiers in Plant Science*, 7,285,1-9, **2016**.
- [140] Driever, S. M., Baker, N. R., The Water–Water Cycle in Leaves Is Not a Major Alternative Electron Sink for Dissipation of Excess Excitation Energy When CO₂ Assimilation Is Restricted, *Plant, Cell and Environment*, 34, 5, 837-846, **2011**.
- [141] Sperlich, D., Barbeta, A., Ogaya, R., Sabaté, S., Peñuelas, J., Balance between Carbon Gain and Loss under Long-Term Drought: Impacts on Foliar Respiration and Photosynthesis in *Quercus ilex* L., *Journal of Experimental Botany*, 67, 3, 821-833, **2016**.
- [142] Dahal, K., Wang, J., Martyn, G. D., Rahimy, F., Vanlerberghe, G. C., Mitochondrial Alternative Oxidase Maintains Respiration and Preserves Photosynthetic Capacity During Moderate Drought in *Nicotiana tabacum*, *Plant Physiology*, 166, 3, 1560-1574, **2014**.
- [143] Flexas, J., Bota, J., Galmes, J., Medrano, H., Ribas-Carbó, M., Keeping a Positive Carbon Balance under Adverse Conditions: Responses of Photosynthesis and Respiration to Water Stress, *Physiologia Plantarum*, 127, 3, 343-352, **2006**.
- [144] Ribas-Carbo, M., Taylor, N. L., Giles, L., Busquets, S., Finnegan, P. M., Day, D. A., Lambers, H., Medrano, H., Berry, J. A., Flexas, J., Effects of Water Stress on Respiration in Soybean Leaves, *Plant Physiology*, 139, 1, 466-473, **2005**.
- [145] Atkin, O. K., Macherel, D., The Crucial Role of Plant Mitochondria in Orchestrating Drought Tolerance, *Annals of Botany*, 103, 4, 581-597, **2009**.
- [146] Ayub, G., Smith, R. A., Tissue, D. T., Atkin, O. K., Impacts of Drought on Leaf Respiration in Darkness and Light in *Eucalyptus saligna* Exposed to Industrial-Age Atmospheric CO₂ and Growth Temperature, *New Phytologist*, 190, 4, 1003-1018, **2011**.
- [147] Crous, K. Y., Zaragoza-Castells, J., Loew, M., Ellsworth, D. S., Tissue, D. T., Tjoelker, M. G., Barton, C. V., Gimeno, T. E., and Atkin, O. K., Seasonal Acclimation of Leaf Respiration in Eucalyptus Saligna Trees: Impacts of Elevated Atmospheric CO₂ and Summer Drought, *Global Change Biology*, 17, 4, 1560-1576, **2011**.
- [148] Hasibeder, R., Fuchslueger, L., Richter, A., Bahn, M., Summer Drought Alters Carbon Allocation to Roots and Root Respiration in Mountain Grassland, *New Phytologist*, 205, 3, 1117-1127, **2015**.
- [149] Das, P., Nutan, K. K., Singla-Pareek, S. L., Pareek, A., Oxidative Environment and Redox Homeostasis in Plants: Dissecting out Significant Contribution of Major Cellular Organelles, *Frontiers in Environmental Science*, 2, 70, **2015**.
- [150] Gill, S. S., Tuteja, N., Reactive Oxygen Species and Antioxidant Machinery in Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants, *Plant Physiology and Biochemistry*, 48, 12, 909-930, **2010**.
- [151] Vanlerberghe, G. C., Alternative Oxidase: A Mitochondrial Respiratory Pathway to Maintain Metabolic and Signaling Homeostasis During Abiotic and Biotic Stress in Plants, *International Journal of Molecular Sciences*, 14, 4, 6805-6847, **2013**.
- [152] Ahanger, M. A., Tyagi, S. R., Wani, M. R., Ahmad, P., Drought Tolerance: Role of Organic Osmolytes, Growth Regulators, and Mineral Nutrients,

- Physiological Mechanisms and Adaptation Strategies in Plants under Changing Environment*, (eds: Ahmad, P., Wani, M. R.) Springer, New York, 25-55, **2014**.
- [153] Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., Pessarakli, M., Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions, *Journal of Botany*, 1-26, **2012**.
- [154] Ahmad, P., Jamsheed, S., Hameed, A., Rasool, S., Sharma, I., Azooz, M., Hasanuzzaman, M., *Drought Stress Induced Oxidative Damage and Antioxidants in Plants*, Elsevier, New York, **2014**.
- [155] Jaspers, P., Kangasjärvi, J., Reactive Oxygen Species in Abiotic Stress Signaling, *Physiologia Plantarum*, 138, 4, 405-413, **2010**.
- [156] Dietz, K.-J., Turkan, I., Krieger-Liszkay, A., Redox and Reactive Oxygen Species-Dependent Signaling into and out of the Photosynthesizing Chloroplast, *Plant Physiology*, 171, 3, 1541-1550, **2016**.
- [157] Impa, S., Nadaradjan, S., Jagadish, S., Drought Stress Induced Reactive Oxygen Species and Anti-Oxidants in Plants, *Abiotic Stress Responses in Plants*, (eds: Ahmad, P., Prasad, M.N.V.), Springer, London, 131-147, **2012**.
- [158] Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M., Van Breusegem, F., Reactive Oxygen Gene Network of Plants, *Trends in Plant Science*, 9,10, 490-498, **2004**.
- [159] Hernández, I., Cela, J., Alegre, L., Munné-Bosch, S., Antioxidant Defenses against Drought Stress, *Plant Responses to Drought Stress*, (ed:Aroca, R.), Springer, London, 231-258, **2012**.
- [160] Halliwell, B., Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology is a Fundamental Theme of Aerobic Life, *Plant Physiology*, 141, 2, 312-322, **2006**.
- [161] Miller, A.-F., Superoxide Dismutases: Ancient Enzymes and New Insights, *FEBS Letters*, 586, 5, 585-595, **2012**.
- [162] Mittler, R., Oxidative Stress, Antioxidants and Stress Tolerance, *Trends in Plant Science*, 7, 9, 405-410, **2002**.
- [163] Noctor, G., Foyer, C. H., Ascorbate and Glutathione: Keeping Active Oxygen under Control, *Annual Review of Plant Biology*, 49, 1, 249-279, **1998**.
- [164] Singh, N., Mishra, A., Jha, B., Over-Expression of the Peroxisomal Ascorbate Peroxidase (Sbpapx) Gene Cloned from Halophyte *Salicornia brachiata* Confers Salt and Drought Stress Tolerance in Transgenic Tobacco, *Marine Biotechnology*, 16, 3, 321-332, **2014**.
- [165] Caverzan, A., Passaia, G., Rosa, S. B., Ribeiro, C. W., Lazzarotto, F., Margis-Pinheiro, M., Plant Responses to Stresses: Role of Ascorbate Peroxidase in the Antioxidant Protection, *Genetics and Molecular Biology*, 35, 4, 1011-1019, **2012**.
- [166] Latowski, D., Surówka, E., Strzałka, K., Regulatory Role of Components of Ascorbate–Glutathione Pathway in Plant Stress Tolerance, *Ascorbate-Glutathione Pathway and Stress Tolerance in Plants*, (eds: Anjum, N.A., Umar, S., Chan, M.-T.) Springer, Dordrecht, 1-53, **2010**.
- [167] Grant, O. M., Understanding and Exploiting the Impact of Drought Stress on Plant Physiology, *Abiotic Stress Responses in Plants*, (eds: Ahmad, P., Prasad, M.N.V.), Springer, New York-London, 89-104, **2012**.

- [168] Miyake, C., Shinzaki, Y., Nishioka, M., Horiguchi, S., Tomizawa, K.-I., Photoinactivation of Ascorbate Peroxidase in Isolated Tobacco Chloroplasts: *Galdieria partita* APX Maintains the Electron Flux Through the Water–Water Cycle in Transplastomic Tobacco Plants, *Plant and Cell Physiology*, 47, 2, 200-210, **2006**.
- [169] Passardi, F., Longet, D., Penel, C., Dunand, C., The Class III Peroxidase Multigenic Family in Rice and Its Evolution in Land Plants, *Phytochemistry*, 65, 13, 1879-1893, **2004**.
- [170] Verma, S., Dubey, R., Lead Toxicity Induces Lipid Peroxidation and Alters the Activities of Antioxidant Enzymes in Growing Rice Plants, *Plant Science*, 164, 4, 645-655, **2003**.
- [171] Chandna, R., Hakeem, K. U. R., Ahmad, P., Proteomic Markers for Oxidative Stress: New Tools for Reactive Oxygen Species and Photosynthesis Research, *Abiotic Stress Responses in Plants*, (eds: Ahmad, P., Prasad, M.N.V.), Springer, New York, 181-196, **2012**.
- [172] Rizhsky, L., Hallak-Herr, E., Van Breusegem, F., Rachmilevitch, S., Barr, J. E., Rodermel, S., Inzé, D., Mittler, R., Double Antisense Plants Lacking Ascorbate Peroxidase and Catalase Are Less Sensitive to Oxidative Stress Than Single Antisense Plants Lacking Ascorbate Peroxidase or Catalase, *The Plant Journal*, 32, 3, 329-342, **2002**.
- [173] Sofo, A., Cicco, N., Paraggio, M., Scopa, A., Regulation of the Ascorbate–Glutathione Cycle in Plants under Drought Stress, *Ascorbate-Glutathione Pathway and Stress Tolerance in Plants*, (eds: Anjum, N.A., Chan, M.-T., Uma, S.) Springer, Netherlands, 137-189, **2010**.
- [174] Mahmood, Q., Ahmad, R., Kwak, S.-S., Rashid, A., Anjum, N. A., Ascorbate and Glutathione: Protectors of Plants in Oxidative Stress, *Ascorbate-Glutathione Pathway and Stress Tolerance in Plants*, (eds: Anjum, N.A., Chan, M.-T., Uma, S.) Springer, Netherlands, 209-229, **2010**.
- [175] Gill, S. S., Anjum, N. A., Hasanuzzaman, M., Gill, R., Trivedi, D. K., Ahmad, I., Pereira, E., Tuteja, N., Glutathione and Glutathione Reductase: A Boon in Disguise for Plant Abiotic Stress Defense Operations, *Plant Physiology and Biochemistry*, 70, 204-212, **2013**.
- [176] Noctor, G., Gomez, L., Vanacker, H., Foyer, C. H., Interactions between Biosynthesis, Compartmentation and Transport in the Control of Glutathione Homeostasis and Signalling, *Journal of Experimental Botany*, 53, 372, 1283-1304, **2002**.
- [177] Miller, G., Suzuki, N., Ciftci-Yilmaz, S., Mittler, R., Reactive Oxygen Species Homeostasis and Signalling During Drought and Salinity Stresses, *Plant, Cell and Environment*, 33, 4, 453-467, **2010**.
- [178] Caverzan, A., Casassola, A., Brammer, S. P., Reactive Oxygen Species and Antioxidant Enzymes Involved in Plant Tolerance to Stress, *Abiotic and Biotic Stress in Plants-Recent Advances and Future Perspectives*, (ed: Shanker, A.), InTech, 463-480, **2016**.
- [179] Krieger-Liszkay, A., Trebst, A., Tocopherol Is the Scavenger of Singlet Oxygen Produced by the Triplet States of Chlorophyll in the PS II Reaction Centre, *Journal of Experimental Botany*, 57, 8, 1677-1684, **2006**.
- [180] Coesel, S., Oborník, M., Varela, J., Falciatore, A., Bowler, C., Evolutionary Origins and Functions of the Carotenoid Biosynthetic Pathway in Marine Diatoms, *PloS ONE*, 3, 8, 2896, **2008**.

- [181] Smirnoff, N., Ascorbate, Tocopherol and Carotenoids: Metabolism, Pathway Engineering and Functions, *Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants*, 53-86, **2005**.
- [182] Michalak, A., Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activity in Plants Growing under Heavy Metal Stress, *Polish Journal of Environmental Studies*, 15, 4, 523, **2006**.
- [183] Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S., Phenolic Compounds in Plants and Agri-Industrial by-Products: Antioxidant Activity, Occurrence, and Potential Uses, *Food Chemistry*, 99, 1, 91-203, **2006**.
- [184] André, C. M., Schafleitner, R., Legay, S., Lefèvre, I., Aliaga, C. A. A., Nomberto, G., Hoffmann, L., Hausman, J.-F., Larondelle, Y., Evers, D., Gene Expression Changes Related to the Production of Phenolic Compounds in Potato Tubers Grown under Drought Stress, *Phytochemistry*, 70, 9, 1107-1116, **2009**.
- [185] Gould, K., McKelvie, J., and Markham, K., Do Anthocyanins Function as Antioxidants in Leaves? Imaging of H₂O₂ in Red and Green Leaves after Mechanical Injury, *Plant, Cell and Environment*, 25, 10, 1261-1269, **2002**.
- [186] Ahuja, I., de Vos, R. C., Bones, A. M., Hall, R. D., Plant Molecular Stress Responses Face Climate Change, *Trends in Plant Science*, 15, 12, 664-674, **2010**.
- [187] Erice, G., Louahlia, S., Irigoyen, J. J., Sanchez-Diaz, M., and Avice, J.-C., Biomass Partitioning, Morphology and Water Status of Four Alfalfa Genotypes Submitted to Progressive Drought and Subsequent Recovery, *Journal of Plant Physiology*, 167, 2, 114-120, **2010**.
- [188] Farooq, M., Hussain, M., Wahid, A., Siddique, K., Drought Stress in Plants: An Overview, *Plant Responses to Drought Stress*, (ed:Aroca, R.) Springer, Berlin, 1-33, **2012**.
- [189] De Micco, V., Aronne, G., Morpho-Anatomical Traits for Plant Adaptation to Drought, *Plant Responses to Drought Stress*, (ed:Aroca, R.) Springer, Verlag Berlin Heidelberg, 37-61, **2012**.
- [190] Peleg, Z., Blumwald, E., Hormone Balance and Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants, *Current Opinion in Plant Biology*, 14, 3, 290-295, **2011**.
- [191] Gollmack, D., Li, C., Mohan, H., Probst, N., Tolerance to Drought and Salt Stress in Plants: Unraveling the Signaling Networks, *Abiotic Stress: Molecular Genetics and Genomics*, 15, **2014**.
- [192] Xu, W., Jia, L., Shi, W., Liang, J., Zhou, F., Li, Q., Zhang, J., Abscisic Acid Accumulation Modulates Auxin Transport in the Root Tip to Enhance Proton Secretion for Maintaining Root Growth under Moderate Water Stress, *New Phytologist*, 197, 1, 139-150, **2013**.
- [193] Casimiro, I., Beeckman, T., Graham, N., Bhalerao, R., Zhang, H., Casero, P., Sandberg, G., Bennett, M. J., Dissecting Arabidopsis Lateral Root Development, *Trends in Plant Science*, 8, 4, 165-171, **2003**.
- [194] Malamy, J., Intrinsic and Environmental Response Pathways That Regulate Root System Architecture, *Plant, Cell and Environment*, 28, 1, 67-77, **2005**.
- [195] Burgess, P., Huang, B., Effects of Sequential Application of Plant Growth Regulators and Osmoregulators on Drought Tolerance of Creeping Bentgrass(), *Crop Science*, 54, 2, 837-844, **2014**.
- [196] Zawaski, C., Busov, V. B., Roles of Gibberellin Catabolism and Signaling in Growth and Physiological Response to Drought and Short-Day Photoperiods in Populus Trees, *PLoS ONE*, 9, 1, 86217, **2014**.

- [197] Gollmack, D., Li, C., Mohan, H., Probst, N., Gibberellins and Abscisic Acid Signal Crosstalk: Living and Developing under Unfavorable Conditions, *Plant Cell Reports*, 32, 7, 1007-1016, **2013**.
- [198] Werner, T., Nehnevajova, E., Köllmer, I., Novák, O., Strnad, M., Krämer, U., Schmülling, T., Root-Specific Reduction of Cytokinin Causes Enhanced Root Growth, Drought Tolerance, and Leaf Mineral Enrichment in Arabidopsis and Tobacco, *The Plant Cell*, 22, 12, 3905-3920, **2010**.
- [199] Spinelli, F., Cellini, A., Marchetti, L., Nagesh, K. M., Piovene, C., Emission and Function of Volatile Organic Compounds in Response to Abiotic Stress, *Abiotic Stress in Plants-Mechanisms and Adaptations*, (ed: Shanker, A.), InTech, 367-394, **2011**.
- [200] Khan, M. I. R., Fatma, M., Per, T. S., Anjum, N. A., Khan, N. A., Salicylic Acid-Induced Abiotic Stress Tolerance and Underlying Mechanisms in Plants, *Frontiers in Plant Science*, 6, 462, **2015**.
- [201] Hayat, Q., Hayat, S., Irfan, M., Ahmad, A., Effect of Exogenous Salicylic Acid under Changing Environment: A Review, *Environmental and Experimental Botany*, 68, 1, 14-25, **2010**.
- [202] Agarwal, S., Sairam, R., Srivastava, G., Meena, R., Changes in Antioxidant Enzymes Activity and Oxidative Stress by Abscisic Acid and Salicylic Acid in Wheat Genotypes, *Biologia Plantarum*, 49, 4, 541-550, **2005**.
- [203] Saruhan, N., Saglam, A., Kadioglu, A., Salicylic Acid Pretreatment Induces Drought Tolerance and Delays Leaf Rolling by Inducing Antioxidant Systems in Maize Genotypes, *Acta Physiologiae Plantarum*, 34, 1, 97-106, **2012**.
- [204] Singh, B., Usha, K., Salicylic Acid Induced Physiological and Biochemical Changes in Wheat Seedlings under Water Stress, *Plant Growth Regulation*, 39, 2, 137-141, **2003**.
- [205] de Ollas, C., Hernando, B., Arbona, V., Gómez-Cadenas, A., Jasmonic Acid Transient Accumulation Is Needed for Abscisic Acid Increase in Citrus Roots under Drought Stress Conditions, *Physiologia Plantarum*, 147, 3, 296-306, **2013**.
- [206] Shan, C., Liang, Z., Jasmonic Acid Regulates Ascorbate and Glutathione Metabolism in *Agropyron cristatum* Leaves under Water Stress, *Plant Science*, 178, 2, 130-139, **2010**.
- [207] Anjum, S., Wang, L., Farooq, M., Khan, I., Xue, L., Methyl Jasmonate-Induced Alteration in Lipid Peroxidation, Antioxidative Defence System and Yield in Soybean under Drought, *Journal of Agronomy and Crop Science*, 197, 4, 296-301, **2011**.
- [208] Brossa, R., López-Carbonell, M., Jubany-Marí, T., Alegre, L., Interplay between Abscisic Acid and Jasmonic Acid and Its Role in Water-Oxidative Stress in Wild-Type, ABA-Deficient, JA-Deficient, and Ascorbate-Deficient Arabidopsis Plants, *Journal of Plant Growth Regulation*, 30, 3, 322-333, **2011**.
- [209] Wu, H., Wu, X., Li, Z., Duan, L., Zhang, M., Physiological Evaluation of Drought Stress Tolerance and Recovery in Cauliflower (*Brassica oleracea* L.) Seedlings Treated with Methyl Jasmonate and Coronatine, *Journal of Plant Growth Regulation*, 31, 1, 113-123, **2012**.
- [210] Acharya, B. R., Assmann, S. M., Hormone Interactions in Stomatal Function, *Plant Molecular Biology*, 69, 4, 451-462, **2009**.

- [211] Chen, T. H., Murata, N., Enhancement of Tolerance of Abiotic Stress by Metabolic Engineering of Betaines and Other Compatible Solutes, *Current Opinion in Plant Biology*, 5, 3, 250-257, **2002**.
- [212] Singh, M., Kumar, J., Singh, S., Singh, V. P., Prasad, S. M., Roles of Osmoprotectants in Improving Salinity and Drought Tolerance in Plants: A Review, *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 14, 3, 407-426, **2015**.
- [213] Blum, A., Osmotic Adjustment Is a Prime Drought Stress Adaptive Engine in Support of Plant Production, *Plant, Cell and Environment*, 40,1, 1-7, **2016**.
- [214] Djilianov, D., Georgieva, T., Moyankova, D., Atanassov, A., Shinozaki, K., Smeecken, S., Verma, D., Murata, N., Improved Abiotic Stress Tolerance in Plants by Accumulation of Osmoprotectants-Gene Transfer Approach, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 19, 63-71, **2005**.
- [215] Moghaieb, R. E., Saneoka, H., Fujita, K., Effect of Salinity on Osmotic Adjustment, Glycinebetaine Accumulation and the Betaine Aldehyde Dehydrogenase Gene Expression in Two Halophytic Plants, *Salicornia europaea* and *Suaeda maritima*, *Plant Science*, 166, 5, 1345-1349, **2004**.
- [216] Parvaiz, A., Satyawati, S., Salt Stress and Phyto-Biochemical Responses of Plants-a Review, *Plant Soil and Environment*, 54, 3, 89, **2008**.
- [217] Vinocur, B., Altman, A., Recent Advances in Engineering Plant Tolerance to Abiotic Stress: Achievements and Limitations, *Current Opinion in Biotechnology*, 16, 2, 123-132, **2005**.
- [218] Xoconostle-Cázares, B., Ramirez-Ortega, F. A., Flores-Elenes, L., Ruiz-Medrano, R., Drought Tolerance in Crop Plants, *American Journal of Plant Physiology*, 5, 241-256, **2010**.
- [219] Shanker, A. K., Maheswari, M., Yadav, S., Desai, S., Bhanu, D., Attal, N. B., Venkateswarlu, B., Drought Stress Responses in Crops, *Functional and Integrative Genomics*, 14, 1, 11-22, **2014**.
- [220] Seki, M., Umezawa, T., Urano, K., Shinozaki, K., Regulatory Metabolic Networks in Drought Stress Responses, *Current Opinion in Plant Biology*, 10, 3, 296-302, **2007**.
- [221] Krasensky, J., Jonak, C., Drought, Salt, and Temperature Stress-Induced Metabolic Rearrangements and Regulatory Networks, *Journal of Experimental Botany*, 63, 4, 1593-1608, **2012**.
- [222] Zanella, M., Borghi, G. L., Pirone, C., Thalmann, M., Pazmino, D., Costa, A., Santelia, D., Trost, P., Sparla, F., β -amylase 1 (BAM1) Degrades Transitory Starch to Sustain Proline Biosynthesis During Drought Stress, *Journal of Experimental Botany*, 67, 6, 1819-1826, **2016**.
- [223] Huang, G.-T., Ma, S.-L., Bai, L.-P., Zhang, L., Ma, H., Jia, P., Liu, J., Zhong, M., Guo, Z.-F., Signal Transduction During Cold, Salt, and Drought Stresses in Plants, *Molecular Biology Reports*, 39, 2, 969-987, **2012**.
- [224] Wang, H., Wang, H., Shao, H., Tang, X., Recent Advances in Utilizing Transcription Factors to Improve Plant Abiotic Stress Tolerance by Transgenic Technology, *Frontiers in Plant Science*, 7, 67,1-13, **2016**.
- [225] Urano, K., Kurihara, Y., Seki, M., Shinozaki, K., 'Omics' Analyses of Regulatory Networks in Plant Abiotic Stress Responses, *Current Opinion in Plant Biology*, 13, 2, 132-138, **2010**.

- [226] Singh, D., Laxmi, A., Transcriptional Regulation of Drought Response: A Tortuous Network of Transcriptional Factors, *Frontiers in Plant Science*, 6, 895, **2015**.
- [227] Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K., Gene Networks Involved in Drought Stress Response and Tolerance, *Journal of Experimental Botany*, 58, 2, 221-227, **2007**.
- [228] Hussain, S., Iqbal, M., Arif, M., Amjad, M., Beyond Osmolytes and Transcription Factors: Drought Tolerance in Plants via Protective Proteins and Aquaporins, *Biologia Plantarum*, 55, 3, 401-413, **2011**.
- [229] Baldoni, E., Genga, A., Cominelli, E., Plant MYB Transcription Factors: Their Role in Drought Response Mechanisms, *International Journal of Molecular Sciences*, 16, 7, 15811-15851, **2015**.
- [230] Abe, H., Urao, T., Ito, T., Seki, M., Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K., Arabidopsis AtMYC2 (bHLH) and AtMYB2 (MYB) Function as Transcriptional Activators in Abscisic Acid Signaling, *The Plant Cell*, 15, 1, 63-78, **2003**.
- [231] Boter, M., Ruíz-Rivero, O., Abdeen, A., Prat, S., Conserved MYC Transcription Factors Play a Key Role in Jasmonate Signaling Both in Tomato and Arabidopsis, *Genes and Development*, 18, 13, 1577-1591, **2004**.
- [232] Schmiesing, A., Emonet, A., Gouhier-Darimont, C., Reymond, P., Arabidopsis MYC Transcription Factors Are the Target of Hormonal Salicylic Acid/Jasmonic Acid Cross Talk in Response to *Pieris brassicae* Egg Extract, *Plant Physiology*, 170, 4, 2432-2443, **2016**.
- [233] Golldack, D., Lüking, I., Yang, O., Plant Tolerance to Drought and Salinity: Stress Regulating Transcription Factors and Their Functional Significance in the Cellular Transcriptional Network, *Plant Cell Reports*, 30, 8, 1383-1391, **2011**.
- [234] Joshi, R., Wani, S. H., Singh, B., Bohra, A., Dar, Z. A., Lone, A. A., Pareek, A., Singla-Pareek, S. L., Transcription Factors and Plants Response to Drought Stress: Current Understanding and Future Directions, *Frontiers in Plant Science*, 7, 1029, 1-15, **2016**.
- [235] Tran, L. S. P., Nakashima, K., Sakuma, Y., Osakabe, Y., Qin, F., Simpson, S. D., Maruyama, K., Fujita, Y., Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K., Co-Expression of the Stress-Inducible Zinc Finger Homeodomain ZFHD1 and NAC Transcription Factors Enhances Expression of the ERD1 Gene in Arabidopsis, *The Plant Journal*, 49, 1, 46-63, **2007**.
- [236] Todaka, D., Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K., Recent Advances in the Dissection of Drought-Stress Regulatory Networks and Strategies for Development of Drought-Tolerant Transgenic Rice Plants, *Frontiers in Plant Science*, 6, 84, **2015**.
- [237] Chen, S., Harmon, A. C., Advances in Plant Proteomics, *Proteomics*, 6, 20, 5504-5516, **2006**.
- [238] Basaran, E., Aras, S., Cansaran-Duman, D., Genomik, Proteomik, Metabolomik Kavramlarına Genel Bakış ve Uygulama Alanları, *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 67, 2, 85-96, **2010**.
- [239] Ghosh, D., Xu, J., Abiotic Stress Responses in Plant Roots: A Proteomics Perspective, *Root System Biology*, 5, 73-86, **2014**.
- [240] Wilkins, M. R., Sanchez, J.-C., Gooley, A. A., Appel, R. D., Humphrey-Smith, I., Hochstrasser, D. F., Williams, K. L., Progress with Proteome

- Projects: Why All Proteins Expressed by a Genome Should Be Identified and How to Do It, *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 13, 1,19-50, **1996**.
- [241] González-Fernández, R., Prats, E., Jorrín-Novo, J. V., Proteomics of Plant Pathogenic Fungi, *BioMed Research International*,1-36, **2010**.
- [242] Budak, H., Akpinar, B. A., Unver, T., Turktas, M., Proteome Changes in Wild and Modern Wheat Leaves Upon Drought Stress by Two-Dimensional Electrophoresis and nanoLC-ESI-MS/MS, *Plant Molecular Biology*, 83, 1-2, 89-103, **2013**.
- [243] Budak, H., Hussain, B., Khan, Z., Ozturk, N. Z., Ullah, N., From Genetics to Functional Genomics: Improvement in Drought Signaling and Tolerance in Wheat, *Frontiers in Plant Science*, 6, 1012, **2015**.
- [244] Ahmad, P., Latef, A. A. A., Rasool, S., Akram, N. A., Ashraf, M., Gucel, S., Role of Proteomics in Crop Stress Tolerance, *Frontiers in Plant Science*, 7,1336,1-14, **2016**.
- [245] Xu, C., Huang, B., Differential Proteomic Responses to Water Stress Induced by Peg in Two Creeping Bentgrass Cultivars Differing in Stress Tolerance, *Journal of Plant Physiology*, 167, 17, 1477-1485, **2010**.
- [246] Castillejo, M., Maldonado, A. M., Ogueta, S., Jorrín, J. V., Proteomic Analysis of Responses to Drought Stress in Sunflower (*Helianthus annuus*) Leaves by 2DE Gel Electrophoresis and Mass Spectrometry, *The Open Proteomics Journal*, 1, 1, **2008**.
- [247] Gong, F., Hu, X., Wang, W., Proteomic Analysis of Crop Plants under Abiotic Stress Conditions: Where to Focus Our Research?, *Frontiers in Plant Science*, 6, 418, **2015**.
- [248] Deeba, F., Pandey, A. K., Ranjan, S., Mishra, A., Singh, R., Sharma, Y., Shirke, P. A., Pandey, V., Physiological and Proteomic Responses of Cotton (*Gossypium herbaceum* L.) to Drought Stress, *Plant Physiology and Biochemistry*, 53, 6-18, **2012**.
- [249] Mohammadi, P. P., Moieni, A., Hiraga, S., Komatsu, S., Organ-Specific Proteomic Analysis of Drought-Stressed Soybean Seedlings, *Journal of Proteomics*, 75, 6, 1906-1923, **2012**.
- [250] Guha, A., Sengupta, D., Reddy, A. R., Polyphasic Chlorophyll *a* Fluorescence Kinetics and Leaf Protein Analyses to Track Dynamics of Photosynthetic Performance in Mulberry During Progressive Drought, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 119, 71-83, **2013**.
- [251] Shi, H., Ye, T., Chan, Z., Comparative Proteomic Responses of Two Bermudagrass (*Cynodon dactylon* (L). Pers.) Varieties Contrasting in Drought Stress Resistance, *Plant Physiology and Biochemistry*, 82, 218-228, **2014**.
- [252] Agrawal, G. K., Sarkar, A., Righetti, P. G., Pedreschi, R., Carpentier, S., Wang, T., Barkla, B. J., Kohli, A., Ndimba, B. K., Bykova, N. V., A Decade of Plant Proteomics and Mass Spectrometry: Translation of Technical Advancements to Food Security and Safety Issues, *Mass spectrometry Reviews*, 32, 5, 335-365, **2013**.
- [253] Zdražnik, T., Hollung, K., Egge-Jacobsen, W., Meglič, V., Šuštar-Vozlič, J., Differential Proteomic Analysis of Drought Stress Response in Leaves of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.), *Journal of Proteomics*, 78, 254-272, **2013**.

- [254] Hao, P., Zhu, J., Gu, A., Lv, D., Ge, P., Chen, G., Li, X., Yan, Y., An Integrative Proteome Analysis of Different Seedling Organs in Tolerant and Sensitive Wheat Cultivars under Drought Stress and Recovery, *Proteomics*, 15, 9, 1544-1563, **2015**.
- [255] Correia, B., Valledor, L., Hancock, R. D., Renaut, J., Pascual, J., Soares, A. M., Pinto, G., Integrated Proteomics and Metabolomics to Unlock Global and Clonal Responses of *Eucalyptus globulus* Recovery from Water Deficit, *Metabolomics*, 12, 8, 141, **2016**.
- [256] Katam, R., Sakata, K., Suravajhala, P., Pechan, T., Kambiranda, D. M., Naik, K. S., Guo, B., Basha, S. M., Comparative Leaf Proteomics of Drought-Tolerant and-Susceptible Peanut in Response to Water Stress, *Journal of Proteomics*, 143, 209-226, **2016**.
- [257] Zdražník, T., Egge-Jacobsen, W., Meglič, V., Šuštar-Vozlič, J., Proteomic Analysis of Common Bean Stem under Drought Stress Using in-Gel Stable Isotope Labeling, *Journal of Plant Physiology*, 209, 42-50, **2017**.
- [258] Agrawal, L., Gupta, S., Mishra, S. K., Pandey, G., Kumar, S., Chauhan, P. S., Chakrabarty, D., Nautiyal, C. S., Elucidation of Complex Nature of PEG Induced Drought-Stress Response in Rice Root Using Comparative Proteomics Approach, *Frontiers in Plant Science*, 7, 1466, 1-18, **2016**.
- [259] Jedmowski, C., Ashoub, A., Beckhaus, T., Berberich, T., Karas, M., Brüggemann, W., Comparative Analysis of Sorghum Bicolor Proteome in Response to Drought Stress and Following Recovery, *International Journal of Proteomics*, 1-10, **2014**.
- [260] Zhao, Y., Wang, Y., Yang, H., Wang, W., Wu, J., Hu, X., Quantitative Proteomic Analyses Identify ABA-Related Proteins and Signal Pathways in Maize Leaves under Drought Conditions, *Frontiers in Plant Science*, 7, 1827, 1-23, **2016**.
- [261] Urban, M. O., Vašek, J., Klíma, M., Krtková, J., Kosová, K., Prášil, I. T., Vítámvás, P., Proteomic and Physiological Approach Reveals Drought-Induced Changes in Rapeseeds: Water-Saver and Water-Spender Strategy, *Journal of Proteomics*, 152, 188-205, **2017**.
- [262] Brossa, R., Pintó-Marijuan, M., Francisco, R., López-Carbonell, M., Chaves, M. M., Alegre, L., Redox Proteomics and Physiological Responses in *Cistus Albidus* shrubs Subjected to Long-Term Summer Drought Followed by Recovery, *Planta*, 241, 4, 803-822, **2015**.
- [263] Gharechahi, J., Hajirezaei, M.-R., Salekdeh, G. H., Comparative Proteomic Analysis of Tobacco Expressing Cyanobacterial Flavodoxin and Its Wild Type under Drought Stress, *Journal of Plant Physiology*, 175, 48-58, **2015**.
- [264] Kolenc, Z., Vodnik, D., Mandelc, S., Javornik, B., Kastelec, D., Čerenak, A., Hop (*Humulus lupulus* L.) Response Mechanisms in Drought Stress: Proteomic Analysis with Physiology, *Plant Physiology and Biochemistry*, 105, 67-78, **2016**.
- [265] Xie, H., Yang, D.-H., Yao, H., Bai, G., Zhang, Y.-H., Xiao, B.-G., Itraq-Based Quantitative Proteomic Analysis Reveals Proteomic Changes in Leaves of Cultivated Tobacco (*Nicotiana tabacum*) in Response to Drought Stress, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 469, 3, 768-775, **2016**.
- [266] Valero-Galván, J., González-Fernández, R., Navarro-Cerrillo, R. M., Gil-Pelegrín, E., Jorrín-Novo, J. s. V., Physiological and Proteomic Analyses of

- Drought Stress Response in Holm Oak Provenances, *Journal of Proteome Research*, 12, 11, 5110-5123, **2013**.
- [267] Johnová, P., Skalák, J., Saiz-Fernández, I., Brzobohatý, B., Plant Responses to Ambient Temperature Fluctuations and Water-Limiting Conditions: A Proteome-Wide Perspective, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*, 1864, 8, 916-931, **2016**.
- [268] Wang, W., Vinocur, B., Shoseyov, O., Altman, A., Role of Plant Heat-Shock Proteins and Molecular Chaperones in the Abiotic Stress Response, *Trends in Plant Science*, 9, 5, 244-252, **2004**.
- [269] Ji, K., Wang, Y., Sun, W., Lou, Q., Mei, H., Shen, S., Chen, H., Drought-Responsive Mechanisms in Rice Genotypes with Contrasting Drought Tolerance During Reproductive Stage, *Journal of Plant Physiology*, 169, no. 4, 336-344, **2012**.
- [270] Cheng, Z., Dong, K., Ge, P., Bian, Y., Dong, L., Deng, X., Li, X., Yan, Y., Identification of Leaf Proteins Differentially Accumulated between Wheat Cultivars Distinct in Their Levels of Drought Tolerance, *PLoS ONE*, 10, 5, 0125302, **2015**.
- [271] Qin, N., Xu, W., Hu, L., Li, Y., Wang, H., Qi, X., Fang, Y., Hua, X., Drought Tolerance and Proteomics Studies of Transgenic Wheat Containing the Maize C4 Phosphoenolpyruvate Carboxylase (PEPC) Gene, *Protoplasma*, 253, 6, 1503-1512, **2016**.
- [272] Tsimilli-Michael, M., Strasser, R. J., In Vivo Assessment of Stress Impact on Plant's Vitality: Applications in Detecting and Evaluating the Beneficial Role of Mycorrhization on Host Plants, *Mycorrhiza*, (ed: Varma, A.), Springer, Berlin Heidelberg, 679-703, **2008**.
- [273] Tóth, S. Z., Schansker, G., Kissimon, J., Kovács, L., Strasser, R. J., Biophysical Studies of Photosystem II-Related Recovery Processes after a Heat Pulse in Barley Seedlings (*Hordeum vulgare* L.), *Journal of Plant Physiology*, 162, 2, 181-194, **2005**.
- [274] Strasser, B. J., Strasser, R. J., Measuring Fast Fluorescence Transients to Address Environmental Questions: The JIP-Test, *Photosynthesis: from light to biosphere*, (ed: Mathis, P.), The Kluwer Academic, Dordrecht, 977-980, **1995**.
- [275] Strasser, B. J., Dau, H., Heinze, I., Senger, H., Comparison of Light Induced and Cell Cycle Dependent Changes in the Photosynthetic Apparatus: A Fluorescence Induction Study on the Green Alga *Scenedesmus obliquus*, *Photosynthesis Research*, 60, 2-3, 217-227, **1999**.
- [276] Tsimilli-Michael, M., Eggenberg, P., Biro, B., Köves-Pechy, K., Vörös, I., Strasser, R., Synergistic and Antagonistic Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Azospirillum and Rhizobium Nitrogen-Fixers on the Photosynthetic Activity of Alfalfa, Probed by the Polyphasic Chlorophyll *a* Fluorescence Transient OJIP, *Applied Soil Ecology*, 15, 2, 169-182, **2000**.
- [277] Strasser, R. J., Tsimilli-Michael, M., Qiang, S., Goltsev, V., Simultaneous in Vivo Recording of Prompt and Delayed Fluorescence and 820-nm Reflection Changes During Drying and after Rehydration of the Resurrection Plant *Haberlea rhodopensis*, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1797, 6, 1313-1326, **2010**.
- [278] Strauss, A., Krüger, G., Strasser, R., Van Heerden, P., Ranking of Dark Chilling Tolerance in Soybean Genotypes Probed by the Chlorophyll *a*

- Fluorescence Transient OJIP, *Environmental and Experimental Botany*, 56, 2, 147-157, **2006**.
- [279] Oukarroum, A., El Madidi, S., Schansker, G., Strasser, R. J., Probing the Responses of Barley Cultivars (*Hordeum vulgare* L.) by Chlorophyll a Fluorescence OLKJIP under Drought Stress and Re-Watering, *Environmental and Experimental Botany*, 60, 3, 438-446, **2007**.
- [280] Farrant, J. M., A Comparison of Mechanisms of Desiccation Tolerance among Three Angiosperm Resurrection Plant Species, *Plant Ecology*, 151, 1, 29-39, **2000**.
- [281] Çiçek, N., Çakırlar, H., Strasser, R. J., Arpa Bitkisinde Ultraviyole-B Stresinin Fotosistem II Etkinliği Üzerine Etkisi, *Anadolu University of Sciences and Technology-C: Life Sciences & Biotechnology*, 2, 1, **2012**.
- [282] Lichtenthaler, H. K., Chlorophylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic Biomembranes, *Methods in enzymology*, 148, 350-382, **1987**.
- [283] Redmann, R., Haraldson, J., and Gusta, L., Leakage of UV-Absorbing Substances as a Measure of Salt Injury in Leaf Tissue of Woody Species, *Physiologia Plantarum*, 67, 1, 87-91, **1986**.
- [284] Glerum, C., Frost Hardiness of Coniferous Seedlings: Principles and Applications, In Evaluating seedling quality: principles, procedures and predictive abilities of major tests, (ed: Duryea, M. L.), Oregon State University, Corvallis, 107-123, **1985**.
- [285] Blumenthal, C., Bekes, F., Wrigley, C., Barlow, E., The Acquisition and Maintenance of Thermotolerance in Australian Wheats, *Functional Plant Biology*, 17, 1, 37-47, **1990**.
- [286] Ahmad, S., Ahmad, R., Ashraf, M. Y., Ashraf, M., Waraich, E. A., Sunflower (*Helianthus annuus* L.) Response to Drought Stress at Germination and Seedling Growth Stages, *Pakistan Journal of Botany*, 41, 2, 647-654, **2009**.
- [287] Schreiber, U., Bilger, W., Neubauer, C., Chlorophyll Fluorescence as a Noninvasive Indicator for Rapid Assessment of in Vivo Photosynthesis, *Ecophysiology of Photosynthesis*, (eds: Schulze, E.-D., Caldwell, M.M.) Springer, Berlin Heidelberg, 49-70, **1995**.
- [288] Genty, B., Briantais, J.-M., Baker, N. R., The Relationship between the Quantum Yield of Photosynthetic Electron Transport and Quenching of Chlorophyll Fluorescence, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 990, 1, 87-92, **1989**.
- [289] Sairam, R., Deshmukh, P., Shukla, D., Tolerance of Drought and Temperature Stress in Relation to Increased Antioxidant Enzyme Activity in Wheat, *Journal of Agronomy and Crop Science*, 178, 3, 171-178, **1997**.
- [290] Esterbauer, H., Cheeseman, K. H., Determination of Aldehydic Lipid Peroxidation Products: Malonaldehyde and 4-Hydroxynonenal, *Methods in Enzymology*, 186, 407-421, **1990**.
- [291] Bates, L., Waldren, R., Teare, I., Rapid Determination of Free Proline for Water-Stress Studies, *Plant and Soil*, 39, 1, 205-207, **1973**.
- [292] Mancinelli, A. L., Yang, C.-P. H., Lindquist, P., Anderson, O., Rabino, I., Photocontrol of Anthocyanin Synthesis: III. The Action of Streptomycin on the Synthesis of Chlorophyll and Anthocyanin, *Plant Physiology*, 55, 2, 251-257, **1975**.
- [293] Mirecki, R. M., Teramura, A. H., Effects of Ultraviolet-B Irradiance on Soybean V. The Dependence of Plant Sensitivity on the Photosynthetic

- Photon Flux Density During and after Leaf Expansion, *Plant physiology*, 74, 3, 475-480, **1984**.
- [294] Bradford, M. M., A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding, *Analytical Biochemistry*, 72, 1-2, 248-254, **1976**.
- [295] Beyer, W. F., Fridovich, I., Assaying for Superoxide Dismutase Activity: Some Large Consequences of Minor Changes in Conditions, *Analytical Biochemistry*, 161, 2, 559-566, **1987**.
- [296] Wang, S. Y., Jiao, H. J., Faust, M., Changes in Ascorbate, Glutathione, and Related Enzyme Activities During Thidiazuron-Induced Bud Break of Apple, *Physiologia Plantarum*, 82, 2, 231-236, **1991**.
- [297] Rao, M. V., Hale, B. A., Ormrod, D. P., Amelioration of Ozone-Induced Oxidative Damage in Wheat Plants Grown under High Carbon Dioxide (Role of Antioxidant Enzymes), *Plant Physiology*, 109, 2, 421-432, **1995**.
- [298] Bergmeyer, H. U., Bernt, E., Glutamate-Oxaloacetate Transaminase, *Methods of Enzymatic Analysis*, 2, 727-733, **1974**.
- [299] Chance, B., Maehly, A., Assay of Catalases and Peroxidases, *Methods in Enzymology*, 2, 764-775, **1955**.
- [300] Mundree, S. G., Whittaker, A., Thomson, J. A., Farrant, J. M., An Aldose Reductase Homolog from the Resurrection Plant *Xerophyta viscosa* Baker, *Planta*, 211, 5, 693-700, **2000**.
- [301] Hurkman, W. J., Tanaka, C. K., Solubilization of Plant Membrane Proteins for Analysis by Two-Dimensional Gel Electrophoresis, *Plant physiology*, 81, 3, 802-806, **1986**.
- [302] Ahsan, N., Komatsu, S., Comparative Analyses of the Proteomes of Leaves and Flowers at Various Stages of Development Reveal Organ-Specific Functional Differentiation of Proteins in Soybean, *Proteomics*, 9, 21, 4889-4907, **2009**.
- [303] Ramagli, L. S., Rodriguez, L. V., Quantitation of Microgram Amounts of Protein in Two-Dimensional Polyacrylamide Gel Electrophoresis Sample Buffer, *Electrophoresis*, 6, 11, 559-563, **1985**.
- [304] Laemmli, U. K., Cleavage of Structural Proteins During the Assembly of the Head of Bacteriophage T4, *Nature*, 227, 680-685, **1970**.
- [305] Ashraf, M., Akram, N., Al-Qurainy, F., Foolad, M., Drought Tolerance: Roles of Organic Osmolytes, Growth Regulators, and Mineral Nutrients, *Advances in Agronomy*, (ed: Sparks, D.), Elsevier, San Diego, 249-296, **2011**.
- [306] Gallé, A., Haldimann, P., Feller, U., Photosynthetic Performance and Water Relations in Young Pubescent Oak (*Quercus pubescens*) Trees During Drought Stress and Recovery, *New Phytologist*, 174, 4, 799-810, **2007**.
- [307] Hu, W., Xiao, Y., Zeng, J., Hu, X., Photosynthesis, Respiration and Antioxidant Enzymes in Pepper Leaves under Drought and Heat Stresses, *Biologia Plantarum*, 54, 4, 761-765, **2010**.
- [308] da Silva, P. P., Soares, L., da Costa, J. G., da Silva Viana, L., de Andrade, J. C. F., Gonçalves, E. R., dos Santos, J. M., de Souza Barbosa, G. V., Nascimento, V. X., Todaro, A. R., Path Analysis for Selection of Drought Tolerant Sugarcane Genotypes through Physiological Components, *Industrial Crops and Products*, 37, 1, 11-19, **2012**.
- [309] Hozain, M. D., Abdelmageed, H., Lee, J., Kang, M., Fokar, M., Allen, R. D., Holaday, A. S., Expression of AtSAP5 in Cotton up-Regulates Putative Stress-Responsive Genes and Improves the Tolerance to Rapidly

- Developing Water Deficit and Moderate Heat Stress, *Journal of Plant Physiology*, 169, 13, 1261-1270, **2012**.
- [310] Jedmowski, C., Ashoub, A., Momtaz, O., Brüggemann, W., Impact of Drought, Heat, and Their Combination on Chlorophyll Fluorescence and Yield of Wild Barley (*Hordeum spontaneum*), *Journal of Botany*, 1-9, **2015**.
- [311] Mejri, M., Siddique, K. H., Saif, T., Abdelly, C., Hessini, K., Comparative Effect of Drought Duration on Growth, Photosynthesis, Water Relations, and Solute Accumulation in Wild and Cultivated Barley Species, *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 179, 3, 327-335, **2016**.
- [312] Kalaji, H. M., Carpentier, R., Allakhverdiev, S. I., Bosa, K., Fluorescence Parameters as Early Indicators of Light Stress in Barley, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 112, 1-6, **2012**.
- [313] Pinheiro, C., Chaves, M., Photosynthesis and Drought: Can We Make Metabolic Connections from Available Data?, *Journal of Experimental Botany*, 62, 3, 869-882, **2011**.
- [314] Mahajan, S., Tuteja, N., Cold, Salinity and Drought Stresses: An Overview, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 444, 2, 139-158, **2005**.
- [315] Faraloni, C., Cutino, I., Petruccelli, R., Leva, A., Lazzeri, S., Torzillo, G., Chlorophyll Fluorescence Technique as a Rapid Tool for in Vitro Screening of Olive Cultivars (*Olea europaea* L.) Tolerant to Drought Stress, *Environmental and Experimental Botany*, 73, 49-56, **2011**.
- [316] Zivcak, M., Brestic, M., and Olsovska, K., Application of Photosynthetic Parameters in the Screening of Wheat (*Triticum aestivum* L.) Genotypes for Improved Drought and High Temperature Tolerance, *Photosynthesis: Energy from the Sun*, (eds: Allen J.F., Gantt E., Golbeck J.H., Osmond B.) Springer, Dordrecht, 1247-1250, **2008**.
- [317] Boureima, S., Oukarroum, A., Diouf, M., Cisse, N., Van Damme, P., Screening for Drought Tolerance in Mutant Germplasm of Sesame (*Sesamum indicum*) Probing by Chlorophyll *a* Fluorescence, *Environmental and Experimental Botany*, 81, 37-43, **2012**.
- [318] Çiçek, N., Arslan, Ö., Çulha-Erdal, Ş., Eyidoğan, F., and Ekmekçi, Y., Are the Photosynthetic Performance Indexes and the Drought Factor Index Satisfactory Selection Criterion for Stress, *Fresenius Environmental Bulletin*, 24, 11, 4190-4198, **2015**.
- [319] Kalaji, H. M., Jajoo, A., Oukarroum, A., Brestic, M., Zivcak, M., Samborska, I. A., Cetner, M. D., Łukasik, I., Goltsev, V., Ladle, R. J., Chlorophyll *a* Fluorescence as a Tool to Monitor Physiological Status of Plants under Abiotic Stress Conditions, *Acta Physiologiae Plantarum*, 38, 4, 1-11, **2016**.
- [320] Strasser, R. J., Tsimilli-Michael, M., Srivastava, A., Analysis of the Chlorophyll *a* Fluorescence Transient, *Chlorophyll *a* Fluorescence*, (eds: Papageorgiou, C., Govindjee), Springer, Netherlands, 321-362, **2004**.
- [321] Stirbet, A., On the Relation between the Kautsky Effect (Chlorophyll *a* Fluorescence Induction) and Photosystem II: Basics and Applications of the OJIP Fluorescence Transient, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 104, 1, 236-257, **2011**.
- [322] Albert, K. R., Mikkelsen, T. N., Michelsen, A., Ro-Poulsen, H., Van der Linden, L., Interactive Effects of Drought, Elevated CO₂ and Warming on Photosynthetic Capacity and Photosystem Performance in Temperate Heath Plants, *Journal of Plant Physiology*, 168, 13, 1550-1561, **2011**.

- [323] Goltsev, V., Kalaji, H., Paunov, M., Bąba, W., Horaczek, T., Mojski, J., Kociel, H., Allakhverdiev, S., Variable Chlorophyll Fluorescence and Its Use for Assessing Physiological Condition of Plant Photosynthetic Apparatus, *Russian Journal of Plant Physiology*, 63, 6, 869-893, **2016**.
- [324] Jedmowski, C., Ashoub, A., Brüggemann, W., Reactions of Egyptian Landraces of *Hordeum vulgare* and *Sorghum bicolor* to Drought Stress, Evaluated by the OJIP Fluorescence Transient Analysis, *Acta Physiologiae Plantarum*, 35, 2, 345-354, **2013**.
- [325] Öz, M., Turan, Ö., Kayihan, C., Eyidoğan, F., Ekmekçi, Y., Yücel, M., Öktem, H., Evaluation of Photosynthetic Performance of Wheat Cultivars Exposed to Boron Toxicity by the JIP Fluorescence Test, *Photosynthetica*, 52, 4, 555-563, **2014**.
- [326] Silvestre, S., de Sousa Araújo, S., Vaz Patto, M. C., Marques da Silva, J., Performance Index: An Expeditious Tool to Screen for Improved Drought Resistance in the Lathyrus Genus, *Journal of Integrative Plant Biology*, 56, 7, 610-621, **2014**.
- [327] Zivcak, M., Kalaji, H. M., Shao, H.-B., Olsovska, K., Brestic, M., Photosynthetic Proton and Electron Transport in Wheat Leaves under Prolonged Moderate Drought Stress, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 137, 107-115, **2014**.
- [328] Maxwell, K., Johnson, G. N., Chlorophyll Fluorescence-a Practical Guide, *Journal of Experimental Botany*, 51, 345, 659-668, **2000**.
- [329] Kautsky, H., Hirsch, A., Neue Versuche Zur Kohlensäureassimilation, *Naturwissenschaften*, 19, 48, 964-964, **1931**.
- [330] Strasser, R. J., Srivastava, A., Tsimilli-Michael, M., The Fluorescence Transient as a Tool to Characterize and Screen Photosynthetic Samples, *Probing Photosynthesis: Mechanisms, Regulation and Adaptation*, (eds: Pathre Y.M., Mahanty, P.), Taylor and Francis, London, 445-483, **2000**.
- [331] Silva, E. N., Silveira, J. A., Ribeiro, R. V., Vieira, S. A., Photoprotective Function of Energy Dissipation by Thermal Processes and Photorespiratory Mechanisms in *Jatropha curcas* Plants During Different Intensities of Drought and after Recovery, *Environmental and Experimental Botany*, 110, 36-45, **2015**.
- [332] Lee, T., Woo, S., Kwak, M., Inkyin, K., Lee, K., Jang, J., Kim, I., Photosynthesis and Chlorophyll Fluorescence Responses of *Populus Sibirica* to Water Deficit in a Desertification Area in Mongolia, *Photosynthetica*, 54, 2, 317-320, **2016**.
- [333] Viljevac, M., Dugalić, K., Mihaljević, I., Šimić, D., Sudar, R., Jurković, Z., Lepeduš, H., Chlorophyll Content, Photosynthetic Efficiency and Genetic Markers in Two Sour Cherry (*Prunus cerasus* L.) Genotypes under Drought Stress, *Acta Botanica Croatica*, 72, 2, 221-235, **2013**.
- [334] Gomes, M. T. G., da Luz, A. C., dos Santos, M. R., Batitucci, M. d. C. P., Silva, D. M., Falqueto, A. R., Drought Tolerance of Passion Fruit Plants Assessed by the OJIP Chlorophyll a Fluorescence Transient, *Scientia Horticulturae*, 142, 49-56, **2012**.
- [335] Goltsev, V., Zaharieva, I., Chernev, P., Kouzmanova, M., Kalaji, H. M., Yordanov, I., Krasteva, V., Alexandrov, V., Stefanov, D., Allakhverdiev, S. I., Drought-Induced Modifications of Photosynthetic Electron Transport in Intact Leaves: Analysis and Use of Neural Networks as a Tool for a Rapid

- Non-Invasive Estimation, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1817, 8, 1490-1498, **2012**.
- [336] Wang, Z., Chen, L., Ai, J., Qin, H., Liu, Y., Xu, P., Jiao, Z., Zhao, Y., Zhang, Q., Photosynthesis and Activity of Photosystem II in Response to Drought Stress in Amur Grape (*Vitis amurensis* Rupr.), *Photosynthetica*, 50, 2, 189-196, **2012**.
- [337] Medeiros, D. B., Silva, E. C. d., Santos, H. R. B., Pacheco, C. M., Musser, R. d. S., Nogueira, R. J. M. C., Physiological and Biochemical Responses to Drought Stress in Barbados Cherry, *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 24, 3, 181-192, **2012**.
- [338] Živčák, M., Brestič, M., Olšovská, K., Slamka, P., Performance Index as a Sensitive Indicator of Water Stress in *Triticum aestivum* L., *Plant Soil Environment*, 54, 4, 133-139, **2008**.
- [339] Zegada-Lizarazu, W., Zatta, A., Monti, A., Water Uptake Efficiency and above-and Belowground Biomass Development of Sweet Sorghum and Maize under Different Water Regimes, *Plant and Soil*, 351, 1-2, 47-60, **2012**.
- [340] Baroowa, B., Gogoi, N., Changes in Plant Water Status, Biochemical Attributes and Seed Quality of Black Gram and Green Gram Genotypes under Drought, *International Letters of Natural Sciences*, 42,1-12, **2015**.
- [341] Li, Z., Yu, J., Peng, Y., Huang, B., Metabolic Pathways Regulated by Abscisic Acid, Salicylic Acid and γ -Aminobutyric Acid in Association with Improved Drought Tolerance in Creeping Bentgrass (*Agrostis stolonifera*), *Physiologia Plantarum*, 159, 1, 42-58, **2017**.
- [342] Dasgupta, P., Das, B. S., Sen, S. K., Soil Water Potential and Recoverable Water Stress in Drought Tolerant and Susceptible Rice Varieties, *Agricultural Water Management*, 152,110-118, **2015**.
- [343] Scott, P., Photosynthesis: The Ultimate in Autotrophy, *Physiology and Behaviour of Plants*, 17-40, **2011**.
- [344] Dankov, K., Busheva, M., Stefanov, D., Apostolova, E. L., Relationship between the Degree of Carotenoid Depletion and Function of the Photosynthetic Apparatus, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 96, 1, 49-56, **2009**.
- [345] Ceppi, M. G., Oukarroum, A., Çiçek, N., Strasser, R. J., Schansker, G., The Ip Amplitude of the Fluorescence Rise OJIP Is Sensitive to Changes in the Photosystem I Content of Leaves: A Study on Plants Exposed to Magnesium and Sulfate Deficiencies, Drought Stress and Salt Stress, *Physiologia Plantarum*, 144, 3, 277-288, **2012**.
- [346] Arivalagan, M., Somasundaram, R. G., Effect of Propiconazole and Salicylic Acid on the Growth and Photosynthetic Pigments in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. Under Drought Condition, *Journal of Ecobiotechnology*, 7, 17-23, **2016**.
- [347] Batra, N. G., Sharma, V., Kumari, N., Drought-Induced Changes in Chlorophyll Fluorescence, Photosynthetic Pigments, and Thylakoid Membrane Proteins of *Vigna radiata*, *Journal of Plant Interactions*, 9, 1, 712-721, **2014**.
- [348] Nxele, X., Klein, A., Ndimba, B., Drought and Salinity Stress Alters ROS Accumulation, Water Retention, and Osmolyte Content in Sorghum Plants, *South African Journal of Botany*, 108, 261-266, **2017**.

- [349] Liu, C., Liu, Y., Guo, K., Fan, D., Li, G., Zheng, Y., Yu, L., Yang, R., Effect of Drought on Pigments, Osmotic Adjustment and Antioxidant Enzymes in Six Woody Plant Species in Karst Habitats of Southwestern China, *Environmental and Experimental Botany*, 71, 2, 174-183, **2011**.
- [350] Koffler, B. E., Luschin-Ebengreuth, N., Stabentheiner, E., Müller, M., Zechmann, B., Compartment Specific Response of Antioxidants to Drought Stress in Arabidopsis, *Plant Science*, 227, 133-144, **2014**.
- [351] Mibei, E. K., Ambuko, J., Giovannoni, J. J., Onyango, A. N., Owino, W. O., Carotenoid Profiling of the Leaves of Selected African Eggplant Accessions Subjected to Drought Stress, *Food Science and Nutrition*, 5, 1, 113-122, **2017**.
- [352] Parida, A. K., Dagaonkar, V. S., Phalak, M. S., Umalkar, G., Aurangabadkar, L. P., Alterations in Photosynthetic Pigments, Protein and Osmotic Components in Cotton Genotypes Subjected to Short-Term Drought Stress Followed by Recovery, *Plant Biotechnology Reports*, 1, 1, 37-48, **2007**.
- [353] Akhka, A., Boutraa, T., Alhejely, A., The Rates of Photosynthesis, Chlorophyll Content, Dark Respiration, Proline and Abscisic Acid (ABA) in Wheat (*Triticum durum*) under Water Deficit Conditions, *International Journal of Agriculture and Biology*, 13, 2, 215-221, **2011**.
- [354] Almeselmani, M., Physiological Parameters for Evaluating Drought Tolerance in Durum Wheat Varieties Grown in the Fields in Syria, *Journal of Biology and Today's World*, 1,2, 53-63, **2012**.
- [355] Fayez, K. A., Bazaid, S. A., Improving Drought and Salinity Tolerance in Barley by Application of Salicylic Acid and Potassium Nitrate, *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 13, 1, 45-55, **2014**.
- [356] Maghsoudi, K., Emam, Y., Ashraf, M., Influence of Foliar Application of Silicon on Chlorophyll Fluorescence, Photosynthetic Pigments, and Growth in Water-Stressed Wheat Cultivars Differing in Drought Tolerance, *Turkish Journal of Botany*, 39, 4, 625-634, **2015**.
- [357] Kocheva, K., Lambrev, P., Georgiev, G., Goltsev, V., Karabaliev, M., Evaluation of Chlorophyll Fluorescence and Membrane Injury in the Leaves of Barley Cultivars under Osmotic Stress, *Bioelectrochemistry*, 63, 1, 121-124, **2004**.
- [358] Assaha, D. V. M., Liu, L., Ueda, A., Nagaoka, T., Saneoka, H., Effects of Drought Stress on Growth, Solute Accumulation and Membrane Stability of Leafy Vegetable, Huckleberry (*Solanum scabrum* Mill.), *Journal of Environmental Biology*, 37, 1, 107, **2016**.
- [359] Endres, L., Silva, J. V., Ferreira, V. M., Barbosa, G. D. S., Photosynthesis and Water Relations in Brazilian Sugarcane, *Open Agriculture Journal*, 4, 31-37, **2010**.
- [360] Jangpromma, N., Songsri, P., Thammasirirak, S., Jaisil, P., Rapid Assessment of Chlorophyll Content in Sugarcane Using a Spad Chlorophyll Meter across Different Water Stress Conditions, *Asian Journal of Plant Sciences*, 9, 6, 368-374, **2010**.
- [361] de Almeida Silva, M., Jifon, J. L., Sharma, V., da Silva, J. A., Caputo, M. M., Damaj, M. B., Guimarães, E. R., Ferro, M. I., Use of Physiological Parameters in Screening Drought Tolerance in Sugarcane Genotypes, *Sugar Tech*, 13, 3, 191, **2011**.

- [362] Xiaoqin, Y., Jianzhou, C., Guangyin, W., Effects of Drought Stress and Selenium Supply on Growth and Physiological Characteristics of Wheat Seedlings, *Acta Physiologiae Plantarum*, 31, 5, 1031-1036, **2009**.
- [363] Robert, G. A., Rajasekar, M. Manivannan, P., Triazole-Induced Drought Stress Amelioration on Growth, Yield, and Pigments Composition of *Helianthus annuus* L.(Sunflower), *International Multidisciplinary Research Journal*, 5, 6-15, **2016**.
- [364] Jaleel, C. A., Manivannan, P., Lakshmanan, G., Gomathinayagam, M., Panneerselvam, R., Alterations in Morphological Parameters and Photosynthetic Pigment Responses of *Catharanthus roseus* under Soil Water Deficits, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 61, 2, 298-303, **2008**.
- [365] Lata, C., Jha, S., Dixit, V., Sreenivasulu, N., Prasad, M., Differential Antioxidative Responses to Dehydration-Induced Oxidative Stress in Core Set of Foxtail Millet Cultivars [*Setaria italica* (L.)], *Protoplasma*, 248, 4, 817-828, **2011**.
- [366] Tiwari, S., Lata, C., Chauhan, P. S., Nautiyal, C. S., Pseudomonas Putida Attunes Morphophysiological, Biochemical and Molecular Responses in *Cicer arietinum* L. During Drought Stress and Recovery, *Plant Physiology and Biochemistry*, 99, 108-117, **2016**.
- [367] Sandhya, V., Ali, S. Z., Grover, M., Reddy, G., Venkateswarlu, B., Effect of Plant Growth Promoting Pseudomonas spp. On Compatible Solutes, Antioxidant Status and Plant Growth of Maize under Drought Stress, *Plant Growth Regulation*, 62, 1, 21-30, **2010**.
- [368] Bowne, J. B., Erwin, T. A., Juttner, J., Schnurbusch, T., Langridge, P., Bacic, A., Roessner, U., Drought Responses of Leaf Tissues from Wheat Cultivars of Differing Drought Tolerance at the Metabolite Level, *Molecular Plant*, 5, 2, 418-429, **2012**.
- [369] Filek, M., Łabanowska, M., Kościelniak, J., Biesaga-Kościelniak, J., Kurdziel, M., Szarejko, I., Hartikainen, H., Characterization of Barley Leaf Tolerance to Drought Stress by Chlorophyll Fluorescence and Electron Paramagnetic Resonance Studies, *Journal of Agronomy and Crop Science*, 201, 3, 228-240, **2015**.
- [370] Sun, J., Gu, J., Zeng, J., Han, S., Song, A., Chen, F., Fang, W., Jiang, J., Chen, S., Changes in Leaf Morphology, Antioxidant Activity and Photosynthesis Capacity in Two Different Drought-Tolerant Cultivars of Chrysanthemum During and after Water Stress, *Scientia Horticulturae*, 161, 249-258, **2013**.
- [371] Devi, M. A., Giridhar, P., Variations in Physiological Response, Lipid Peroxidation, Antioxidant Enzyme Activities, Proline and Isoflavones Content in Soybean Varieties Subjected to Drought Stress, *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 85, 1, 35-44, **2015**.
- [372] Graça, J. P. d., Rodrigues, F. A., Farias, J. R. B., Oliveira, M. C. N. D., Hoffmann-Campo, C. B., Zingaretti, S. M., Physiological Parameters in Sugarcane Cultivars Submitted to Water Deficit, *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 22, 3, 189-197, **2010**.
- [373] Rauf, S., Sadaqat, H. A., Identification of Physiological Traits and Genotypes Combined to High Achene Yield in Sunflower (*Helianthus*

- annuus* L.) under Contrasting Water Regimes, *Australian Journal of Crop Science*, 1, 1, 23-30, **2008**.
- [374] Chaerle, L., Lenk, S., Hagenbeek, D., Buschmann, C., Van Der Straeten, D., Multicolor Fluorescence Imaging for Early Detection of the Hypersensitive Reaction to Tobacco Mosaic Virus, *Journal of Plant Physiology*, 164,3, 253-262, **2007**.
- [375] Sperdoui, I., Moustakas, M., Interaction of Proline, Sugars, and Anthocyanins During Photosynthetic Acclimation of *Arabidopsis thaliana* to Drought Stress, *Journal of Plant Physiology*, 169, 6, 577-585, **2012**.
- [376] Baker, N. R., Rosenqvist, E., Applications of Chlorophyll Fluorescence Can Improve Crop Production Strategies: An Examination of Future Possibilities, *Journal of Experimental Botany*, 55, 403, 1607-1621, **2004**.
- [377] Petridis, A., Therios, I., Samouris, G., Koundouras, S., Giannakoula, A., Effect of Water Deficit on Leaf Phenolic Composition, Gas Exchange, Oxidative Damage and Antioxidant Activity of Four Greek Olive (*Olea europaea* L.) Cultivars, *Plant Physiology and Biochemistry*, 60, 1-11, **2012**.
- [378] Apostolova, E. L., Dobrikova, A. G., Ivanova, P. I., Petkanchin, I. B., Taneva, S. G., Relationship between the Organization of the PSII Supercomplex and the Functions of the Photosynthetic Apparatus, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 83, 2, 114-122, **2006**.
- [379] Mehta, P., Jajoo, A., Mathur, S., Bharti, S., Chlorophyll *a* Fluorescence Study Revealing Effects of High Salt Stress on Photosystem II in Wheat Leaves, *Plant Physiology and Biochemistry*, 48, 1, 16-20, **2010**.
- [380] Morant-Manceau, A., Pradier, E., Tremblin, G., Osmotic Adjustment, Gas Exchanges and Chlorophyll Fluorescence of a Hexaploid Triticale and Its Parental Species under Salt Stress, *Journal of Plant Physiology*, 161, 1, 25-33, **2004**.
- [381] Naumann, J. C., Young, D. R., Anderson, J. E., Linking Leaf Chlorophyll Fluorescence Properties to Physiological Responses for Detection of Salt and Drought Stress in Coastal Plant Species, *Physiologia Plantarum*, 131, 3, 422-433, **2007**.
- [382] Elsheery, N. I., Cao, K.-F., Gas Exchange, Chlorophyll Fluorescence, and Osmotic Adjustment in Two Mango Cultivars under Drought Stress, *Acta Physiologiae Plantarum*, 30, 6, 769-777, **2008**.
- [383] Efeoğlu, B., Ekmekci, Y., Cicek, N., Physiological Responses of Three Maize Cultivars to Drought Stress and Recovery, *South African Journal of Botany*, 75, 1, 34-42, **2009**.
- [384] Rahbarian, R., Khavari-Nejad, R., Ganjeali, A., Bagheri, A., Najafi, F., Drought Stress Effects on Photosynthesis, Chlorophyll Fluorescence and Water Relations in Tolerant and Susceptible Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Genotypes, *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 53, 1, 47-56, **2011**.
- [385] Guan, X. K., Song, L., Wang, T. C., Turner, N., Li, F. M., Effect of Drought on the Gas Exchange, Chlorophyll Fluorescence and Yield of Six Different-Era Spring Wheat Cultivars, *Journal of Agronomy and Crop Science*, 201, 4, 253-266, **2015**.
- [386] Yusuf, M. A., Kumar, D., Rajwanshi, R., Strasser, R. J., Tsimilli-Michael, M., Sarin, N. B., Overexpression of γ -tocopherol Methyl Transferase Gene in Transgenic *Brassica juncea* Plants Alleviates Abiotic Stress: Physiological

- and Chlorophyll *a* Fluorescence Measurements, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1797, 8, 1428-1438, **2010**.
- [387] Ekmekci, Y., Terzioglu, S., Effects of Oxidative Stress Induced by Paraquat on Wild and Cultivated Wheats, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 83, 2, 69-81, **2005**.
- [388] Li, R.-h., Guo, P.-g., Michael, B., Stefania, G., Salvatore, C., Evaluation of Chlorophyll Content and Fluorescence Parameters as Indicators of Drought Tolerance in Barley, *Agricultural Sciences in China*, 5, 10, 751-757, **2006**.
- [389] Aro, E.-M., Virgin, I., Andersson, B., Photoinhibition of Photosystem II Inactivation, Protein Damage and Turnover, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1143, 2, 113-134, **1993**.
- [390] Pereira, W. E., de Siqueira, D. L., Martínez, C. A., Puiatti, M., Gas Exchange and Chlorophyll Fluorescence in Four Citrus Rootstocks under Aluminium Stress, *Journal of Plant Physiology*, 157, 5, 513-520, **2000**.
- [391] Kalaji, H. M., Bosa, K., Kościelniak, J., Żuk-Gołaszewska, K., Effects of Salt Stress on Photosystem II Efficiency and CO₂ Assimilation of Two Syrian Barley Landraces, *Environmental and Experimental Botany*, 73, 64-72, **2011**.
- [392] Zribi, L., Fatma, G., Fatma, R., Salwa, R., Hassan, N., Néjib, R. M., Application of Chlorophyll Fluorescence for the Diagnosis of Salt Stress in Tomato "*Solanum lycopersicum* (Variety Rio Grande)", *Scientia Horticulturae*, 120, 3, 367-372, **2009**.
- [393] Farage, P. K., Blowers, D., Long, S. P., Baker, N. R., Low Growth Temperatures Modify the Efficiency of Light Use by Photosystem II for CO₂ Assimilation in Leaves of Two Chilling-Tolerant C₄ Species, *Cyperus longus* L. and *Miscanthus* × *Giganteus*, *Plant, Cell and Environment*, 29, 4, 720-728, **2006**.
- [394] Marta Lopes, Nogués, S., Molero, G., Gas Exchange and Chlorophyll Fluorescence-Principles and Applications, *Physiological Breeding I: Interdisciplinary Approaches to Improve Crop Adaptation*, (eds: Reynolds, M., Pask, A., Mullan, D.), CIMMYT, Mexico, 81-96, **2012**.
- [395] Dai, F., Zhou, M., Zhang, G., The Change of Chlorophyll Fluorescence Parameters in Winter Barley During Recovery after Freezing Shock and as Affected by Cold Acclimation and Irradiance, *Plant Physiology and Biochemistry*, 45, 12, 915-921, **2007**.
- [396] Ashraf, M., Harris, P., Photosynthesis under Stressful Environments: An Overview, *Photosynthetica*, 51, 2, 163-190, **2013**.
- [397] Ranjbarfordoei, A., Samson, R., Van Damme, P., Lemeur, R., Effects of Drought Stress Induced by Polyethylene Glycol on Pigment Content and Photosynthetic Gas Exchange of *Pistacia khinjuk* and *P. mutica*, *Photosynthetica*, 38, 3, 443-447, **2000**.
- [398] Ahmadikhah, A., Marufinia, A., Effect of Reduced Plant Height on Drought Tolerance in Rice, *3 Biotech*, 6, 2, 221, **2016**.
- [399] Mauseth, J. D., Botany an Introduction to Plant Biology, *Jones & Bartlett Learning*, **2009**.
- [400] Galmés, J., Abadía, A., Medrano, H., Flexas, J., Photosynthesis and Photoprotection Responses to Water Stress in the Wild-Extinct Plant *Lysimachia minoricensis*, *Environmental and Experimental Botany*, 60, 3, 308-317, **2007**.

- [401] Kalefetoğlu Macar, T., Ekmekçi, Y., Alterations in Photochemical and Physiological Activities of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Cultivars under Drought Stress, *Journal of Agronomy and Crop Science*, 195, 5, 335-346, **2009**.
- [402] Witt, S., Galicia, L., Liseć, J., Cairns, J., Tiessen, A., Araus, J. L., Palacios-Rojas, N., Fernie, A. R., Metabolic and Phenotypic Responses of Greenhouse-Grown Maize Hybrids to Experimentally Controlled Drought Stress, *Molecular Plant*, 5, 2, 401-417, **2012**.
- [403] Reed, S., Schnell, R., Moore, J. M., Dunn, C., Chlorophyll a+ b Content and Chlorophyll Fluorescence in Avocado, *Journal of Agricultural Science*, 4, 4, 29, **2012**.
- [404] Cicek, N., Çakırlar, H., Effects of Salt Stress on Some Physiological and Photosynthetic Parameters at Three Different Temperatures in Six Soya Bean (*Glycine max* L. Merr.) Cultivars, *Journal of Agronomy and Crop Science*, 194, 1, 34-46, **2008**.
- [405] Jaleel, C. A., Manivannan, P., Wahid, A., Farooq, M., Al-Juburi, H. J., Somasundaram, R., Panneerselvam, R., Drought Stress in Plants: A Review on Morphological Characteristics and Pigments Composition, *International Journal of Agriculture and Biology*, 11, 1, 100-105, **2009**.
- [406] Jain, M., Tiwary, S., Gadre, R., Sorbitol-Induced Changes in Various Growth and Biochemical Parameters in Maize, *Plant Soil and Environment*, 56, 6, 263-267, **2010**.
- [407] Mathobo, R., Marais, D., Steyn, J. M., The Effect of Drought Stress on Yield, Leaf Gaseous Exchange and Chlorophyll Fluorescence of Dry Beans (*Phaseolus vulgaris* L.), *Agricultural Water Management*, 180, 118-125, **2017**.
- [408] Harpaz-Saad, S., Azoulay, T., Arazi, T., Ben-Yaakov, E., Mett, A., Shibolet, Y. M., Hörtensteiner, S., Gidoni, D., Gal-On, A., Goldschmidt, E. E., Chlorophyllase Is a Rate-Limiting Enzyme in Chlorophyll Catabolism and Is Posttranslationally Regulated, *The Plant Cell*, 19, 3, 1007-1022, **2007**.
- [409] Kaewsuksaeng, S., Chlorophyll Degradation in Horticultural Crops, *Walailak Journal of Science and Technology (WJST)*, 8, 1, 9-19, **2011**.
- [410] Nikolaeva, M., Maevskaya, S., Shugaev, A., Bukhov, N., Effect of Drought on Chlorophyll Content and Antioxidant Enzyme Activities in Leaves of Three Wheat Cultivars Varying in Productivity, *Russian Journal of Plant Physiology*, 57, 1, 87-95, **2010**.
- [411] Akcay, U. C., Ercan, O., Kavas, M., Yildiz, L., Yilmaz, C., Oktem, H., Yucel, M., Drought-Induced Oxidative Damage and Antioxidant Responses in Peanut (*Arachis hypogaea* L.) Seedlings, *Plant Growth Regulation*, 61, 1, 21-28, **2010**.
- [412] Sairam, R., Srivastava, G., Changes in Antioxidant Activity in Sub-Cellular Fractions of Tolerant and Susceptible Wheat Genotypes in Response to Long Term Salt Stress, *Plant Science*, 162, 6, 897-904, **2002**.
- [413] Kalefetoğlu Macar, T., Ekmekçi, Y., PS II Photochemistry and Antioxidant Responses of a Chickpea Variety Exposed to Drought, *Zeitschrift für Naturforschung C*, 63, 7-8, 583-594, **2008**.
- [414] Guo, J., Yang, Y., Wang, G., Yang, L., Sun, X., Ecophysiological Responses of Abies Fabri Seedlings to Drought Stress and Nitrogen Supply, *Physiologia Plantarum*, 139, 4, 335-347, **2010**.

- [415] Pompelli, M. F., Barata-Luís, R., Vitorino, H. S., Gonçalves, E. R., Rolim, E. V., Santos, M. G., Almeida-Cortez, J. S., Ferreira, V. M., Lemos, E. E., Endres, L., Photosynthesis, Photoprotection and Antioxidant Activity of Purging Nut under Drought Deficit and Recovery, *Biomass and Bioenergy*, 34, 8, 1207-1215, **2010**.
- [416] Anjum, S. A., Tanveer, M., Ashraf, U., Hussain, S., Shahzad, B., Khan, I., Wang, L., Effect of Progressive Drought Stress on Growth, Leaf Gas Exchange, and Antioxidant Production in Two Maize Cultivars, *Environmental Science and Pollution Research*, 23, 17, 17132-17141, **2016**.
- [417] Uzilday, B., Turkan, I., Sekmen, A. H., Ozgur, R., Karakaya, H., Comparison of ROS Formation and Antioxidant Enzymes in *Cleome gynandra* (C4) and *Cleome spinosa* (C3) under Drought Stress, *Plant Science*, 182, 59-70, **2012**.
- [418] Blokhina, O., Fagerstedt, K. V., Reactive Oxygen Species and Nitric Oxide in Plant Mitochondria: Origin and Redundant Regulatory Systems, *Physiologia Plantarum*, 138, 4, 447-462, **2010**.
- [419] Neill, S. J., Desikan, R., Clarke, A., Hurst, R. D., Hancock, J. T., Hydrogen Peroxide and Nitric Oxide as Signalling Molecules in Plants, *Journal of Experimental Botany*, 53, 372, 1237-1247, **2002**.
- [420] Fedina, I., Nedeva, D., Çiçek, N., Pre-Treatment with H₂O₂ Induces Salt Tolerance in Barley Seedlings, *Biologia Plantarum*, 53, 2, 321-324, **2009**.
- [421] Dietz, K.-J., Jacob, S., Oelze, M.-L., Laxa, M., Tognetti, V., de Miranda, S. M. N., Baier, M., Finkemeier, I., The Function of Peroxiredoxins in Plant Organelle Redox Metabolism, *Journal of Experimental Botany*, 57, 8, 1697-1709, **2006**.
- [422] Bai, J., Gong, C.-M., Chen, K., Kang, H.-M., Wang, G., Examination of Antioxidative System's Responses in the Different Phases of Drought Stress and During Recovery in Desert Plant *Reaumuria soongorica* (Pall.) Maxim, *Journal of Plant Biology*, 52, 5, 417-425, **2009**.
- [423] Yang, F., Xu, X., Xiao, X., Li, C., Responses to Drought Stress in Two Poplar Species Originating from Different Altitudes, *Biologia Plantarum*, 53, 3, 511-516, **2009**.
- [424] Ashraf, M., Harris, P., Potential Biochemical Indicators of Salinity Tolerance in Plants, *Plant Science*, 166, 1, 3-16, **2004**.
- [425] Kishor, P. K., Sangam, S., Amrutha, R., Laxmi, P. S., Naidu, K., Rao, K., Rao, S., Reddy, K., Theriappan, P., Sreenivasulu, N., Regulation of Proline Biosynthesis, Degradation, Uptake and Transport in Higher Plants: Its Implications in Plant Growth and Abiotic Stress Tolerance, *Current Science*, 88, 3, 424-438, **2005**.
- [426] Ashraf, M., Foolad, M., Roles of Glycine Betaine and Proline in Improving Plant Abiotic Stress Resistance, *Environmental and Experimental Botany*, 59, 2, 206-216, **2007**.
- [427] Rampino, P., Pataleo, S., Gerardi, C., Mita, G., Perrotta, C., Drought Stress Response in Wheat: Physiological and Molecular Analysis of Resistant and Sensitive Genotypes, *Plant, Cell and Environment*, 29, 12, 2143-2152, **2006**.
- [428] Charlton, A. J., Donarski, J. A., Harrison, M., Jones, S. A., Godward, J., Oehlschlager, S., Arques, J. L., Ambrose, M., Chinoy, C., Mullineaux, P. M., Responses of the Pea (*Pisum sativum* L.) Leaf Metabolome to Drought

- Stress Assessed by Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, *Metabolomics*, 4, 4, 312, **2008**.
- [429] Norouzi, M., Toorchi, M., Salekdeh, G. H., Mohammadi, S., Neyshabouri, M., Aharizad, S., Effect of Water Deficit on Growth, Grain Yield and Osmotic Adjustment in Rapeseed, *Journal of Food Agriculture and Environment*, 6, 2, 312, **2008**.
- [430] Sanchez, D. H., Schwabe, F., Erban, A., Udvardi, M. K., Kopka, J., Comparative Metabolomics of Drought Acclimation in Model and Forage Legumes, *Plant, Cell and Environment*, 35, 1, 136-149, **2012**.
- [431] Ueda, A., Shi, W., Shimada, T., Miyake, H., Takabe, T., Altered Expression of Barley Proline Transporter Causes Different Growth Responses in Arabidopsis, *Planta*, 227, 2, 277-286, **2008**.
- [432] Johnston, J. W., Harding, K., Benson, E. E., Antioxidant Status and Genotypic Tolerance of Ribes in Vitro Cultures to Cryopreservation, *Plant Science*, 172, 3, 524-534, **2007**.
- [433] Close, D. C., Beadle, C. L., Xanthophyll-Cycle Dynamics and Rapid Induction of Anthocyanin Synthesis in Eucalyptus Nitens Seedlings Transferred to Photoinhibitory Conditions, *Journal of Plant Physiology*, 162, 1, 37-46, **2005**.
- [434] Nakabayashi, R., Yonekura-Sakakibara, K., Urano, K., Suzuki, M., Yamada, Y., Nishizawa, T., Matsuda, F., Kojima, M., Sakakibara, H., Shinozaki, K., Enhancement of Oxidative and Drought Tolerance in Arabidopsis by Overaccumulation of Antioxidant Flavonoids, *The Plant Journal*, 77, 3, 367-379, **2014**.
- [435] Olsen, K. M., Hehn, A., Jugdé, H., Slimestad, R., Larbat, R., Bourgaud, F., Lillo, C., Identification and Characterisation of CYP75A31, a New Flavonoid 3'5'-Hydroxylase, Isolated from *Solanum lycopersicum*, *BMC Plant Biology*, 10, 1, 21, **2010**.
- [436] Sakihama, Y., Cohen, M. F., Grace, S. C., Yamasaki, H., Plant Phenolic Antioxidant and Prooxidant Activities: Phenolics-Induced Oxidative Damage Mediated by Metals in Plants, *Toxicology*, 177, 1, 67-80, **2002**.
- [437] Kholová, J., Hash, C. T., Kočová, M., Vadez, V., Does a Terminal Drought Tolerance QTL Contribute to Differences in ROS Scavenging Enzymes and Photosynthetic Pigments in Pearl Millet Exposed to Drought?, *Environmental and Experimental Botany*, 71, 1, 99-106, **2011**.
- [438] Jamei, R., Heidari, R., Khara, J., Zare, S., Hypoxia Induced Changes in the Lipid Peroxidation, Membrane Permeability, Reactive Oxygen Species Generation, and Antioxidative Response Systems in *Zea mays* Leaves, *Turkish Journal of Biology*, 33, 1, 45-52, **2009**.
- [439] Joseph, B., Jini, D., Proteomic Analysis of Salinity Stress-Responsive Proteins in Plants, *Asian Journal of Plant Sciences*, 9, 6, 307, **2010**.
- [440] Tari, I., Kiss, G., Deer, A. K., Csiszár, J., Erdei, L., Gallé, Á., Gemes, K., Horvath, F., Poor, P., Szepesi, Á., Salicylic Acid Increased Aldose Reductase Activity and Sorbitol Accumulation in Tomato Plants under Salt Stress, *Biologia Plantarum*, 54, 4, 677-683, **2010**.
- [441] Asada, K., Kiso, K., Initiation of Aerobic Oxidation of Sulfite by Illuminated Spinach Chloroplasts, *European Journal of Biochemistry*, 33, 2, 253-257, **1973**.
- [442] Fridovich, I., Biological Effects of the Superoxide Radical, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 247, 1, 1-11, **1986**.

- [443] Lee, D. H., Kim, Y. S., Lee, C. B., The Inductive Responses of the Antioxidant Enzymes by Salt Stress in the Rice (*Oryza sativa* L.), *Journal of Plant Physiology*, 158, 6, 737-745, **2001**.
- [444] Melchiorre, M., Quero, G. E., Parola, R., Racca, R., Trippi, V. S., Lascano, R., Physiological Characterization of Four Model Lotus Diploid Genotypes: *L. japonicus* (Mg20 and Gifu), *L. filicaulis*, and *L. burttii* under Salt Stress, *Plant Science*, 177, 6, 618-628, **2009**.
- [445] Abedi, T., Pakniyat, H., Antioxidant Enzyme Changes in Response to Drought Stress in Ten Cultivars of Oilseed Rape (*Brassica napus* L.), *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 46, 1, 27-34, **2010**.
- [446] Tian, Z., Wang, F., Zhang, W., Liu, C., Zhao, X., Antioxidant Mechanism and Lipid Peroxidation Patterns in Leaves and Petals of Marigold in Response to Drought Stress, *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 53, 3, 183-192, **2012**.
- [447] Mittler, R., Poulos, T., Ascorbate Peroxidase, *Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants*, (ed. N Smirnoff), Blackwell Publishing, Oxford, 87-100, **2005**.
- [448] Khan, M. A., Ansari, R., Gul, B., Li, W., Dormancy and Germination Responses of Halophyte Seeds to the Application of Ethylene, *Comptes Rendus Biologies*, 332, 9, 806-815, **2009**.
- [449] Smith, I. K., Vierheller, T. L., Thorne, C. A., Properties and Functions of Glutathione Reductase in Plants, *Physiologia Plantarum*, 77, 3, 449-456, **1989**.
- [450] Lin, C. C., Kao, C. H., Effect of NaCl Stress on H₂O₂ Metabolism in Rice Leaves, *Plant Growth Regulation*, 30, 2, 151-155, **2000**.
- [451] Foyer, C. H., Lopez-Delgado, H., Dat, J. F., Scott, I. M., Hydrogen Peroxide-and Glutathione-Associated Mechanisms of Acclimatory Stress Tolerance and Signalling, *Physiologia Plantarum*, 100, 2, 241-254, **1997**.
- [452] Dionisio-Sese, M. L., Tobita, S., Antioxidant Responses of Rice Seedlings to Salinity Stress, *Plant Science*, 135, 1, 1-9, **1998**.
- [453] Radić, S., Radić-Stojković, M., Pevalek-Kozlina, B., Influence of NaCl and Mannitol on Peroxidase Activity and Lipid Peroxidation in *Centaurea ragusina* L. Roots and Shoots, *Journal of Plant Physiology*, 163, 12, 1284-1292, **2006**.
- [454] Sudhakar, C., Lakshmi, A., Giridarakumar, S., Changes in the Antioxidant Enzyme Efficacy in Two High Yielding Genotypes of Mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl Salinity, *Plant Science*, 161, 3, 613-619, **2001**.
- [455] Huseynova, I. M., Photosynthetic Characteristics and Enzymatic Antioxidant Capacity of Leaves from Wheat Cultivars Exposed to Drought, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1817, 8, 1516-1523, **2012**.
- [456] Foyer, C. H., Harbinson, J., Oxygen Metabolism and the Regulation of Photosynthetic Electron Transport, *Causes of Photooxidative Stress and Amelioration of Defense Systems in Plants*, (ed: Londres, G.B.R.), CRC press, 1-42, **1994**.
- [457] Prasad, T. K., Role of Catalase in Inducing Chilling Tolerance in Pre-Emergent Maize Seedlings, *Plant Physiology*, 114, 4, 1369-1376, **1997**.
- [458] Li, Z., Shi, P., Peng, Y., Improved Drought Tolerance through Drought Preconditioning Associated with Changes in Antioxidant Enzyme Activities, Gene Expression and Osmoregulatory Solutes Accumulation in White Clover (*Trifolium repens* L.), *Plant Omics*, 6, 6, 481, **2013**.

- [459] Sree, B. K., Rajendrakumar, C. S., Reddy, A. R., Aldose Reductase in Rice (*Oryza sativa* L.): Stress Response and Developmental Specificity, *Plant Science*, 160, 1, 149-157, **2000**.
- [460] Ahsan, N., Lee, D.-G., Lee, S.-H., Kang, K. Y., Lee, J. J., Kim, P. J., Yoon, H.-S., Kim, J.-S., Lee, B.-H., Excess Copper Induced Physiological and Proteomic Changes in Germinating Rice Seeds, *Chemosphere*, 67, 6, 1182-1193, **2007**.
- [461] Oberschall, A., Deák, M., Török, K., Sass, L., Vass, I., Kovács, I., Fehér, A., Dudits, D., Horváth, G. V., A Novel Aldose/Aldehyde Reductase Protects Transgenic Plants against Lipid Peroxidation under Chemical and Drought Stresses, *The Plant Journal*, 24, 4, 437-446, **2000**.
- [462] Hideg, É., Nagy, T., Oberschall, A., Dudits, D., Vass, I., Detoxification Function of Aldose/Aldehyde Reductase During Drought and Ultraviolet-B (280–320 nm) Stresses, *Plant, Cell and Environment*, 26, 4, 513-522, **2003**.
- [463] Job, C., Rajjou, L., Lovigny, Y., Belghazi, M., Job, D., Patterns of Protein Oxidation in Arabidopsis Seeds and During Germination, *Plant Physiology*, 138, 2, 790-802, **2005**.
- [464] Jiang, S.-S., Liang, X.-N., Li, X., Wang, S.-L., Lv, D.-W., Ma, C.-Y., Li, X.-H., Ma, W.-J., Yan, Y.-M., Wheat Drought-Responsive Grain Proteome Analysis by Linear and Nonlinear 2-DE and MALDI-TOF Mass Spectrometry, *International Journal of Molecular Sciences*, 13, 12, 16065-16083, **2012**.
- [465] Fehér-Juhász, E., Majer, P., Sass, L., Lantos, C., Csiszár, J., Turóczy, Z., Mihály, R., Mai, A., Horváth, G. V., Vass, I., Phenotyping Shows Improved Physiological Traits and Seed Yield of Transgenic Wheat Plants Expressing the Alfalfa Aldose Reductase under Permanent Drought Stress, *Acta Physiologiae Plantarum*, 36, 3, 663-673, **2014**.
- [466] Shin, K.-H., Kamal, A. H. M., Cho, K., Choi, J.-S., Yu, J., Nam-Chon, P., Lee, Y. W., Lee, J. K., Park, J.-C., Kim, H.-T., Defense Proteins Are Induced in Wheat Spikes Exposed to *Fusarium Graminearum*, *Plant Omics*, 4, 5, 270, **2011**.
- [467] Wang, Y., Xu, C., Zhang, B., Wu, M., Chen, G., Physiological and Proteomic Analysis of Rice (*Oryza sativa* L.) in Flag Leaf During Flowering Stage and Milk Stage under Drought Stress, *Plant Growth Regulation*, 82, 2, 201-218, **2017**.
- [468] Gazanchian, A., Hajheidari, M., Sima, N. K., Salekdeh, G. H., Proteome Response of *Elymus elongatum* to Severe Water Stress and Recovery, *Journal of Experimental Botany*, 58, 2, 291-300, **2007**.
- [469] Kausar, R., Arshad, M., Shahzad, A., Komatsu, S., Proteomics Analysis of Sensitive and Tolerant Barley Genotypes under Drought Stress, *Amino Acids*, 44, 2, 345-359, **2013**.
- [470] Vítámvás, P., Urban, M. O., Škodáček, Z., Kosová, K., Pitelková, I., Vítámvás, J., Renaut, J., Prášil, I. T., Quantitative Analysis of Proteome Extracted from Barley Crowns Grown under Different Drought Conditions, *Frontiers in Plant Science*, 6, 479, **2015**.
- [471] Zhou, S., Li, M., Guan, Q., Liu, F., Zhang, S., Chen, W., Yin, L., Qin, Y., Ma, F., Physiological and Proteome Analysis Suggest Critical Roles for the Photosynthetic System for High Water-Use Efficiency under Drought Stress in *Malus*, *Plant Science*, 236, 44-60, **2015**.

- [472] Genty, B., Harbinson, J., Regulation of Light Utilization for Photosynthetic Electron Transport, *Photosynthesis and the Environment*, (ed: Baker, N.D.) Springer ,Netherlands, 67-99,**1996**.
- [473] Naver, H., Boudreau, E., Rochaix, J.-D., Functional Studies of Ycf3 Its Role in Assembly of Photosystem I and Interactions with Some of Its Subunits, *The Plant Cell*, 13, 12, 2731-2745, **2001**.
- [474] Albus, C. A., Ruf, S., Schöttler, M. A., Lein, W., Kehr, J., Bock, R., Y3IP1, a Nucleus-Encoded Thylakoid Protein, Cooperates with the Plastid-Encoded Ycf3 Protein in Photosystem I Assembly of Tobacco and Arabidopsis, *The Plant Cell*, 22, 8, 2838-2855, **2010**.
- [475] Bunney, T. D., van Walraven, H. S., de Boer, A. H., 14-3-3 Protein Is a Regulator of the Mitochondrial and Chloroplast ATP Synthase, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98, 7, 4249-4254, **2001**.
- [476] Taiz, I., Zaiger, E., Plant Physiology (Third Edition), *Sinauer Associates Publishers*, 690, **2008**.
- [477] Tamburino, R., Vitale, M., Ruggiero, A., Sassi, M., Sannino, L., Arena, S., Costa, A., Batelli, G., Zambrano, N., Scaloni, A., Chloroplast Proteome Response to Drought Stress and Recovery in Tomato (*Solanum lycopersicum* L.), *BMC Plant Biology*, 17, 1, 40, **2017**.
- [478] Engineer, C. B., Ghassemian, M., Anderson, J. C., Peck, S. C., Hu, H., Schroeder, J. I., Carbonic Anhydrases, EPF2 and a Novel Protease Mediate CO₂ Control of Stomatal Development, *Nature*, 513, 7517, 246, **2014**.
- [479] DiMario, R. J., Clayton, H., Mukherjee, A., Ludwig, M., Moroney, J. V., Plant Carbonic Anhydrases: Structures, Locations, Evolution, and Physiological Roles, *Molecular Plant*, 10, 1, 30-46, **2017**.
- [480] Hajheidari, M., Abdollahian-Noghabi, M., Askari, H., Heidari, M., Sadeghian, S. Y., Ober, E. S., Hosseini Salekdeh, G., Proteome Analysis of Sugar Beet Leaves under Drought Stress, *Proteomics*, 5, 4, 950-960, **2005**.
- [481] Xu, L., Yu, J., Han, L., Huang, B., Photosynthetic Enzyme Activities and Gene Expression Associated with Drought Tolerance and Post-Drought Recovery in Kentucky Bluegrass, *Environmental and Experimental Botany*, 89, 28-35, **2013**.
- [482] Buchanan, B. B., Gruissem, W., Jones, R. L., Biochemistry & Molecular Biology of Plants, *American Society of Plant Physiologist Rockville, Maryland*, **2000**.
- [483] Cheng, L., Wang, Y., He, Q., Li, H., Zhang, X., Zhang, F., Comparative Proteomics Illustrates the Complexity of Drought Resistance Mechanisms in Two Wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivars under Dehydration and Rehydration, *BMC Plant Biology*, 16, 1, 188, **2016**.
- [484] Beligni, M. V., Mayfield, S. P., *Arabidopsis thaliana* Mutants Reveal a Role for CSP41a and CSP41b, two Ribosome-Associated Endonucleases, in Chloroplast Ribosomal RNA Metabolism, *Plant Molecular Biology*, 67, 4, 389-401, **2008**.
- [485] Bollenbach, T. J., Sharwood, R. E., Gutierrez, R., Lerbs-Mache, S., Stern, D. B., The RNA-Binding Proteins CSP41a and CSP41b May Regulate Transcription and Translation of Chloroplast-Encoded RNAs in Arabidopsis, *Plant Molecular Biology*, 69, 5, 541-552, **2009**.
- [486] Natarajan, S. S., Pastor-Corrales, M., Khan, F. H., Garrett, W. M., Proteomic Analysis of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by Two-

- Dimensional Gel Electrophoresis and Mass Spectrometry, *Journal of Basic and Applied Sciences*, 9, 424, **2013**.
- [487] Zheng, Z., Sumi, K., Tanaka, K., Murai, N., The Bean Seed Storage Protein [Beta]-Phaseolin Is Synthesized, Processed, and Accumulated in the Vacuolar Type-II Protein Bodies of Transgenic Rice Endosperm, *Plant Physiology*, 109, 3, 777-786, **1995**.
- [488] Zakharov, A., Carchilan, M., Stepurina, T., Rotari, V., Wilson, K., Vaintraub, I., A Comparative Study of the Role of the Major Proteinases of Germinated Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and Soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) Seeds in the Degradation of Their Storage Proteins, *Journal of Experimental Botany*, 55, 406, 2241-2249, **2004**.
- [489] Badowiec, A., Weidner, S., Proteomic Changes in the Roots of Germinating *Phaseolus vulgaris* Seeds in Response to Chilling Stress and Post-Stress Recovery, *Journal of Plant Physiology*, 171, 6, 389-398, **2014**.
- [490] Koh, J., Chen, G., Yoo, M.-J., Zhu, N., Dufresne, D., Erickson, J. E., Shao, H., Chen, S., Comparative Proteomic Analysis of *Brassica napus* in Response to Drought Stress, *Journal of Proteome Research*, 14, 8, 3068-3081, **2015**.
- [491] Kim, J. S., Park, S. J., Kwak, K. J., Kim, Y. O., Kim, J. Y., Song, J., Jang, B., Jung, C.-H., Kang, H., Cold Shock Domain Proteins and Glycine-Rich RNA-Binding Proteins from *Arabidopsis thaliana* Can Promote the Cold Adaptation Process in *Escherichia coli*, *Nucleic Acids Research*, 35, 2, 506-516, **2007**.
- [492] Rey, P., Pruvot, G., Becuwe, N., Eymery, F., Rumeau, D., and Peltier, G., A Novel Thioredoxin-Like Protein Located in the Chloroplast Is Induced by Water Deficit in *Solanum tuberosum* L. Plants, *The Plant Journal*, 13, 1, 97-107, **1998**.
- [493] Nikkanen, L., Rintamäki, E., Thioredoxin-Dependent Regulatory Networks in Chloroplasts under Fluctuating Light Conditions, *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 369, 1640, 20130224, **2014**.
- [494] Broin, M., Cuiné, S., Peltier, G., Rey, P., Involvement of CDSP 32, a Drought-Induced Thioredoxin, in the Response to Oxidative Stress in Potato Plants, *FEBS Letters*, 467, 2-3, 245-248, **2000**.
- [495] Wade, L. J., Ghareyazie, B., Bennett, J., Proteomic Analysis of Rice Leaves During Drought Stress and Recovery, *Proteomics*, 2, 1131-1145, **2002**.
- [496] Nishikubo, N., Takahashi, J., Roos, A. A., Derba-Maceluch, M., Piens, K., Brumer, H., Teeri, T. T., Stålbrand, H., Mellerowicz, E. J., Xyloglucan Endo-Transglycosylase-Mediated Xyloglucan Rearrangements in Developing Wood of Hybrid Aspen, *Plant Physiology*, 155, 1, 399-413, **2011**.
- [497] Ye, Z., Sangireddy, S., Okekeogbu, I., Zhou, S., Yu, C.-L., Hui, D., Howe, K. J., Fish, T., Thannhauser, T. W., Drought-Induced Leaf Proteome Changes in Switchgrass Seedlings, *International Journal of Molecular Sciences*, 17, 8, 1251, **2016**.

ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı : Şeküre ÇULHA ERDAL
Doğum Yeri : Ankara
Medeni Hali : Evli
E-posta : sekureculha85@hacettepe.edu.tr
Adresi : Hacettepe Üni. Fen Fak. Biyoloji Böl. Botanik A.B.D.

Eğitim

Lise : Fatih Sultan Mehmet Lisesi Keçiören, Ankara
Lisans : Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Bölümü
Yüksek Lisans : Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji A.B.D.

Yabancı Dil ve Düzeyi

İngilizce, iyi düzey

İş Deneyimi

2009-Halen: Araştırma Görevlisi

Deneyim Alanları

Bitki Stres Fizyolojisi
Fotosentez ve Polifazik Klorofil a Fluoresansı
Bitki Moleküler Biyolojisi
Bitki Proteomiği

Tezden Üretilmiş Projeler ve Bütçesi

Polifazik Klorofil a Fluoresans Kinetiklerindeki Değişimlere Bağlı Olarak Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) Genotiplerinin Kuraklık Toleranslarının Belirlenmesi ve Kuraklık Toleransı ile İlişkili Proteom Değişimlerinin Ortaya Konulması. TÜBİTAK-KBAG; Proje No: 214Z058, Proje Bütçesi: 193.894 TL, Bursiyer.

Tezden Üretilmiş Yayınlar

-

Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar

1. Çulha-Erdal, Ş., Eyidoğan F., Ekmekçi, Y., Drought tolerance in a wild safflower: effect on photosynthetic mechanism and role of antioxidant defences, Plant Oxygen Group-POG2017, 10-13 September, Kuşadası, Turkey, **2017** (Kabul edildi-Poster).
2. Çulha-Erdal, Ş., Balkan Nalçaiyi, A.S., Eyidoğan F., Ekmekçi, Y., Probing the responses of safflower genotypes (*Carthamus tinctorius* L.) under drought stresses and re-watering using performance indexes, *Plant Biology Europe EPSO/FESPB 2016 Congress*, 26-30 June, Prague, Czech Republic, **2016** (Poster).
3. Çulha Erdal, Ş., Balkan Nalçaiyi, A.S., Eyidoğan, F.İ., Ekmekçi, Y., Kuraklık ve yeniden sulama uygulamalarına maruz kalan aspir genotiplerinde sekonder metabolit, oksidatif hasar ve enzim aktiviteleri, *18.Ulusal Biyoteknoloji Kongresi*, 18-19 Aralık, Konya, **2015**. (Poster)



HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS/DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLIK RAPORU

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI'NA

Tarih: 02/06/2017

Tez Başlığı / Konusu: Aspir Genotiplerinde Kuraklığa Dayanıklılığın Fizyolojik, Biyokimyasal Ve Moleküler Düzeyde İncelenmesi

Yukarıda başlığı/konusu gösterilen tez çalışmamın a) Kapak sayfası, b) Giriş, c) Ana bölümler d) Sonuç kısımlarından oluşan toplam 253 sayfalık kısmına ilişkin, 02/06/2017 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı %2 'dir.

Uygulanan filtrelemeler:

- 1- Kaynakça hariç
- 2- Alıntılar hariç/dâhil
- 3- 5 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Çalışması Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılması Uygulama Esasları'nı inceledim ve bu Uygulama Esasları'nda belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini saygılarımla arz ederim.

02/06/2017

Tarih ve İmza

Adı Soyadı: Şeküre ÇULHA ERDAL
Öğrenci No: N10245024
Anabilim Dalı: Biyoloji
Programı: Doktora
Statüsü: Y.Lisans Doktora Bütünleşik Dr.

DANIŞMAN ONAYI

UYGUNDUR.

Prof. Dr. Yasemin EKMEKÇİ

(Unvan, Ad Soyad, İmza)