

**ERZİNCAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOKTORA TEZİ**

**$\alpha$  ve  $\beta$ -PİNEN MONOTERPENLERİNİN BUĞDAYDA  
(*Triticum aestivum* L.) KURAKLIK TOLERANSI ÜZERİNE  
ETKİLERİ**

**Veli İLHAN**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ERZİNCAN  
2016**

**Her Hakkı Saklıdır**

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

**Adı-Soyadı:** Veli İLHAN

**İmza** :



“ $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen monoterpenlerinin buğday (*Triticum aestivum* L.) bitkisinin kuraklığa toleransını artırma üzerine etkisinin incelenmesi” adlı Doktora tezi, Erzincan Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi 'ne uygun olarak hazırlanmıştır.



Tezi Hazırlayan  
Veli İLHAN



Danışman  
Doç. Dr. Salih MUTLU



ABD Başkanı  
Prof. Dr. Salih DOĞAN

Doç. Dr. Salih MUTLU danışmanlığı ile Prof. Dr. Ökkeş ATICI eş danışmanlığında Veli İLHAN tarafından hazırlanan bu çalışma 15.07.2016 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı'nda Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Ali KANDEMİR

İmza:

Üye : Prof. Dr. Ökkeş ATICI

İmza:

Üye : Doç. Dr. Salih MUTLU

İmza:

Üye : Doç. Dr. Ekrem KÖKSAL

İmza:

Üye : Doç. Dr. Serkan ERDAL

İmza:

Üye : Doç. Dr. Nevzat ESİM

İmza:

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

29/07/2016

Prof. Dr. Ali SÜLÜN  
Enstitü Müdürü

## ÖZET

Doktora Tezi

### $\alpha$ ve $\beta$ -PİNEN MONOTERPENLERİNİN BUĞDAYDA (*Triticum aestivum* L.) KURAKLIK TOLERANSI ÜZERİNE ETKİLERİ

Veli İLHAN

Erzincan Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Salih MUTLU  
Eş Danışman: Prof. Dr. Ökkeş ATICI

Bu çalışmada, bitkilerde kuraklık stresi ile artışı bilinen  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen monoterpenerinin kuraklık stresine hassas (Cumhuriyet-75) ve dayanıklı (Karahan-99) iki buğday (*Triticum aestivum* L.) çeşidinin kuraklığa toleransında oynadığı roller araştırılmıştır. Bu amaçla, kontrol şartlarında (25-18°C ve %75 tarla kapasitesi) saksılarda yetiştirilen bitkilerin yapraklarına ekimden sonraki 7. günün sonunda her bir saksıya 100 mL olacak şekilde 1 ve 10  $\mu$ M'lık  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen solüsyonları dışsal olarak uygulanmıştır. Saksılar kesim gününden önceki 3 gün boyunca solma noktasında tarla kapasitesinde (%30) tutularak bitkiler kuraklık stresine maruz bırakılmıştır. 18. günde bitkilerden özdeş yapraklar hasat edildikten sonra laboratuvara taşınarak araştırma materyali olarak kullanılmıştır.  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen monoterpenerinin kuraklık stresi altındaki buğday bitkisi üzerindeki etkisi dayanıklı ve hassas çeşitlerin yapraklarında bağıl su içeriği (RWC), elektrolit sızıntı, lipid peroksidasyonu (MDA), reaktif oksijen türleri (ROS) [hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), süperoksit anyonu ( $O_2^{\bullet-}$ ), hidroksil radikali ( $\bullet OH$ ) süpürülme aktivitesi, toplam oksidan kapasite (TOS)], osmoprotektanlar (prolin, çözünür protein, indirgen şeker, toplam karbohidrat), antioksidan bileşikler [karotenoid, fenolik madde, flavonoid, glutatyon (GSH), askorbik asit (ASA), toplam antioksidan kapasite (TAS)], klorofil miktarı, antioksidan enzimlerin [katalaz (CAT), peroksidaz (POD), süperoksit dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (APX) ve glutatyon redüktaz (GR)] aktiviteleri ve proteinlerin SDS-PAGE profilleri gibi fizyolojik ve biyokimyasal parametrelere bakılarak değerlendirilmiştir. Kuraklık uygulaması her iki varyete de elektrolit sızıntı, MDA, ROS'lar ( $H_2O_2$ ,  $O_2^{\bullet-}$  ve TOS) ve antioksidan enzim aktivitelerini (CAT, POD, APX ve GR), osmoprotektan (prolin, indirgen şeker ve toplam karbohidrat) ve antioksidan bileşiklerin (fenolik madde, flavonoid, karotenoid, GSH ve TAS) seviyelerini artırırken, SOD aktivitesi ile birlikte AsA ve çözünür protein miktarını düşürmüştür. Her iki varyetede de 1 ve 10  $\mu$ M'lık  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamaları kuraklık uygulamasıyla artış gösteren elektrolit sızıntı ve lipid peroksidasyon seviyesi ile  $H_2O_2$ ,  $O_2^{\bullet-}$  ve TOS miktarını önemli derecede azaltarak kuraklık stresine karşı koruma sağlanmıştır. Kuraklıkla birlikte  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulaması ile her iki varyetede de osmoprotektan bileşiklerin ve oksidan madde miktarı düşerken hassas varyetede GR, dayanıklı varyetede ise SOD, CAT ve APX aktiviteleri artış göstermiştir. Ayrıca her iki varyetede de ASA ve TAS artış gösterirken, fenolik madde, flavonoid, karotenoid, GSH, prolin, indirgen şeker ve toplam karbohidrat miktarları da genel olarak düşüş göstermiştir. SDS-PAGE sonuçlarına göre 50 kDa'luk bir polipeptitte bant yoğunluğu kuraklıkla birlikte her iki varyetede de artış göstermiştir. Ayrıca bu bant şiddeti kurak şartlarda dayanıklı varyetede 1  $\mu$ M  $\beta$ -pinen uygulamasıyla artarken hassas varyetede önemli bir değişikliğe sebep olmamıştır.

2016, 202 sayfa

**Anahtar Kelimeler:** Antioksidan sistem, kuraklık stresi, monotermen, pinen, reaktif oksijen türleri, sekonder metabolit, *Triticum aestivum*

**ABSTRACT**

PhD Thesis

EFFECTS of  $\alpha$  and  $\beta$ -PINENE MONOTERPENES on DROUGHT TOLERANCE in  
WHEAT (*Triticum aestivum* L.)

Veli İLHAN

Erzincan University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Salih MUTLU

Co-supervisor: Prof. Dr. Ökkeş ATICI

In this study, the roles of  $\alpha$  and  $\beta$ -pinene monoterpenes on plant drought tolerance were investigated in two cultivars of wheat: drought sensitive Cumhuriyet-75 and drought resistant Karahan-99 (*Triticum aestivum* L.) under drought conditions. For this purpose, after 7 days of planting, 100 ml of 1 and 10  $\mu$ M  $\alpha$  and  $\beta$ -pinene solutions were applied exogenously to the leaf of the plants grown in pots at the control conditions (25 to 18 °C and 75% of field capacity). The plants were subjected to three day drought stress before harvesting at the wilting point at field capacity (30%). After harvesting, the identical leaves from plants were sampled at day 18 and transported to the laboratory to use as research material. The effects of  $\alpha$  and  $\beta$ -pinene monoterpenes on wheat plants that are under the drought stress were evaluated by the following parameters: relative water content (RWC), electrolyte leakage, lipid peroxidation (MDA) and reactive oxygen species (ROS) [hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ), superoxide anion ( $O_2^{\bullet-}$ ), hydroxyl radical ( $\bullet OH$ ) swept the activity total oxidant capacity (TOS)], osmoprotectant by (proline, soluble protein, reducing sugar and total carbohydrates), antioxidant compounds [carotenoids, phenolics, flavonoids, glutathione (GSH), ascorbic acid (AsA) and total antioxidant capacity (TAS)], the amount of chlorophyll, antioxidant enzymes [catalase (CAT), peroxidase (POX), superoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX) and glutathione reductase (GR)] activities and as SDS-PAGE profile of protein was also assessed by reference to physiological and biochemical parameters. Drought stress caused an increase in electrolyte leakage, MDA, ROSs ( $H_2O_2$ ,  $O_2^{\bullet-}$  and TOS), antioxidant enzyme activities (CAT, POX, APX and GR), osmoprotectant (proline, reducing sugar and total carbohydrate) and the antioxidant compound (phenolics, flavonoids, carotenoids, GSH and TAS) levels while caused a decrease on the amount of soluble protein and AsA on both varieties. Applications of 1 and 10  $\mu$ M of  $\alpha$  and  $\beta$ -pinene decreased the  $H_2O_2$ ,  $O_2^{\bullet-}$  and TOS levels, lipid peroxidation and electrolyte leakage, which of all are known to increase under drought conditions, provided a significant protection against the drought stress. The application of  $\alpha$  and  $\beta$ -pinene decreased the amount of osmoprotectant compounds and oxidants substance in both cultivars, whereas, GR level in sensitive cultivar and SOD, CAT and APX level in resistant cultivar showed an increase. In addition, ASA and TAS increased in both varieties but the amounts of phenolics, flavonoids, carotenoids, GSH, proline, reducing sugar and total carbohydrate decreased in general. The results of SDS-PAGE showed that the band intensity of protein with 50 kDa polypeptide increased in both varieties. In addition, the application of 1  $\mu$ M  $\beta$ -pinene in under conditions caused an increase in the band intensity of the protein in resistant cultivar; on the other hand it did not cause a significant change in the sensitive cultivar.

**2016, 202 pages****Keywords:** Antioxidant system, drought stress, monoterpene, reactive oxygen species, pinene, secondary metabolite, *Triticum aestivum*

## TEŞEKKÜR

Doktora tezi olarak sunmuş olduğum bu çalışma, FEN-A-080715-0152 no'lu Erzincan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi olarak desteklenmiş ve Erzincan Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Bitki Biyolojisi Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Tez çalışmalarımın her aşamamada bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, tez çalışmaları dışında da her konuda yardımlarını esirgemeyen, akademik hayatımda çok önemli bir yeri olan değerli tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Salih MUTLU'ya en içten dileklerle teşekkür ederim. Tez konumu belirlememde anlattığı derslerle ilham kaynağı olan, yol gösterici tavırlarıyla akademik olarak tecrübe kazanmamı sağlayan, ihtiyacım olduğunda yardımlarını esirgemeyen çok değerli ortak tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Ökkeş ATICI'ya teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında ilgi, yardım ve desteklerini gördüğüm, tez izleme komitesinde bulunan Sayın Prof. Dr. Ali KANDEMİR'e, Sayın Doç. Dr. Ekrem KÖKSAL'a ve Sayın Doç. Dr. Murat ÇANKAYA'ya teşekkür ederim. İhtiyacım olduğunda her zaman kapılarını çaldığım Sayın Doç. Dr. Serkan ERDAL ve ekibine, ayrıca tecrübelerinden faydalandığım Sayın Yrd. Doç. Dr. İhsan AYDIN, Sayın Doç. Dr. Nevzat ESİM ve Yrd. Doç. Dr. Deniz ALTUN ÇOLAK'a teşekkür ederim. Bizlere huzurlu ve güzel bir çalışma ortamı tesis eden Biyoloji bölüm başkanımız Sayın Prof. Dr. Salih DOĞAN'a ve samimi bir laboratuvar ortamında birlikte çalıştığımız ekip arkadaşlarım Hüseyin KANBUR, Halil İbrahim TÜRKOĞLU ve Betül ÖNEL'e en içten teşekkürlerimi iletiyorum. Ayrıca tohumlarını temin ettiğimiz Pamukkale tohumculuk ve Konya Bahri Dağdaş Araştırma Enstitüsüne teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca ihmal etmeme rağmen, deney çalışmalarım da dahil olmak üzere her daim yanımda olan her türlü sıkıntılara katlanan ve bana güç veren sevgili eşim Seher Sevde İLHAN'a, bu günlere gelmemi sağlayan, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen anneme, babama ve kardeşlerime şükranlarımı sunuyorum.

Veli İLHAN

Temmuz, 2016

## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	viii
ÇİZELGELER LİSTESİ .....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xi
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ</b> .....	31
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEMLER</b> .....	48
3.1. Yararlanılan Alet ve Cihazlar .....	48
3.2. Kullanılan Bitki Materyalleri.....	49
3.3. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanmaları .....	49
3.3.1. $\alpha$ ve $\beta$ -pinen çözeltileri.....	49
Kullanılan monoterpen bileşikler Sigma-Aldrich kimya şirketinden hazır olarak temin edildi.....	49
3.3.2. Enzimlerin homojenizasyon tamponu .....	50
3.3.3. Peroksidaz aktivitesi ölçümünde kullanılan çözeltiler .....	50
3.3.4. Katalaz aktivitesi ölçümünde kullanılan çözeltiler.....	50
3.3.5. Süperoksit dismutaz aktivitesi ölçümünde kullanılan çözeltiler .....	51
3.3.6. Askorbat peroksidaz aktivitesi ölçümünde kullanılan çözeltiler.....	51
3.3.7. Glutasyon redüktaz aktivitesi ölçümünde kullanılan çözeltiler .....	51
3.3.8. Malondialdehid seviyesinin belirlenmesinde kullanılan çözeltiler .....	52
3.3.9. Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) miktarının ölçümünde kullanılan çözeltiler.....	52
3.3.10. Hidroksil radikali ( $\bullet OH$ ) süpürülme aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan çözeltiler .....	52
3.3.11. Süperoksit anyon radikali ( $O_2^{\bullet -}$ ) miktarı belirlenmesinde kullanılan çözeltiler .....	53
3.3.12. Çözülebilir protein miktarının belirlenmesinde kullanılan çözeltiler.....	53
3.3.13. Prolin miktarının belirlenmesinde kullanılan çözeltiler .....	54
3.3.14. İndirgen şeker miktarının belirlenmesinde kullanılan çözeltiler .....	54
3.3.15. Toplam karbohidrat miktarının belirlenmesinde kullanılan çözeltiler ....	55
3.3.16. Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesinde kullanılan çözeltiler.	55
3.3.17. Toplam flavonoid miktarının belirlenmesinde kullanılan çözeltiler .....	55
3.3.18. Toplam glutasyon miktarının belirlenmesinde kullanılan çözeltiler .....	56
3.3.19. Askorbik asit (total AsA) miktarının belirlenmesinde kullanılan çözeltiler .....	56
3.3.20. SDS-Poliakrilamid jel elektroforezi'nde kullanılan çözeltiler .....	57
3.4. Yöntemler .....	58



3.4.1. Bitkilerin büyütülmesi ve stres uygulaması .....	58
3.4.2. Büyüme parametreleri .....	60
3.4.2.1. Fide başına düşen kuru ağırlık miktarı.....	60
3.4.2.2. Yaprakların bağıl su içerikleri (RWC).....	60
3.4.2.3. Yaprakta toplam klorofil miktarının ve klorofil a/b belirlenmesi.....	60
3.4.3. Zar sistemlerindeki hasarın belirlenmesi.....	61
3.4.3.1. Hücre zarındaki elektrolit sızıntı miktarının belirlenmesi .....	61
3.4.3.2. Yaprak dokularında lipid peroksidasyon aktivitesi.....	61
3.4.4. Antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesi.....	61
3.4.4.1. Antioksidan enzim homojenizasyonu .....	61
3.4.4.2. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin belirlenmesi.....	62
3.4.4.3. Katalaz (CAT) aktivitesinin belirlenmesi .....	62
3.4.4.4. Peroksidaz (POD) aktivitesinin belirlenmesi .....	63
3.4.4.5. Askorbat peroksidaz (APX) aktivitesinin belirlenmesi.....	64
3.4.4.6. Glutasyon redüktaz (GR) aktivitesinin belirlenmesi .....	64
3.4.5. Enzimatik olmayan antioksidan madde miktarlarının belirlenmesi .....	64
3.4.5.1. Toplam glutasyon miktarının belirlenmesi.....	65
3.4.5.2. Askorbik asit miktarının belirlenmesi.....	65
3.4.5.3. Toplam karotenoid miktarının belirlenmesi.....	66
3.4.5.4. Flavonoid miktarının belirlenmesi .....	67
3.4.5.5. Total antioksidan kapasite tayini.....	68
3.4.6. Reaktif oksijen türlerinin miktarların belirlenmesi .....	69
3.4.6.1. Hidrojen peroksit miktarının belirlenmesi .....	69
3.4.6.2. Süperoksit anyonu miktarının belirlenmesi .....	69
3.4.6.3. Hidroksil radikali süpürülme aktivitesinin belirlenmesi.....	70
3.4.6.4. Toplam oksidan kapasitesi tayini .....	71
3.4.6.5. Oksidatif stres indeksinin belirlenmesi .....	72
3.4.7. Yapraktaki osmoprotektan maddelerin miktarları.....	72
3.4.7.1. Toplam karbohidrat miktarının belirlenmesi (antron metodu) .....	72
3.4.7.2. İndirgen şeker miktarının belirlenmesi .....	72
3.4.7.3. Çözünabilir protein miktarının belirlenmesi .....	73
3.4.7.4. Prolin miktarının belirlenmesi.....	73
3.4.8. SDS-Poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) .....	74
3.4.9. İstatistik analiz.....	75
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI .....</b>	<b>76</b>
4.1. $\alpha$ ve $\beta$ -Pinen Monoterpenlerinin İn-vitro Ortamda Total Antioksidan (TAS) Kapasitelerinin Belirlenmesi .....	76
4.2. Kuraklık Stresinin Buğdayda Büyüme Parametreleri Üzerine Etkileri.....	77

4.2.1. Kuru ağırlık .....	77
4.2.2. Bağlı su miktarı sonuçları .....	79
4.2.3. Toplam klorofil miktarı sonuçları .....	81
4.2.4. Klorofil a/b Sonuçları.....	83
4.3. Kuraklık Stresinin Zar Bütünlüğüne Etkisi .....	85
4.3.1. Elektrolit sızıntı miktarı sonuçları.....	85
4.3.2. Lipid peroksidasyon seviyesi sonuçları .....	87
4.4. Kuraklık Stresinin ROS'lar Üzerine Etkisi .....	89
4.4.1. Toplam oksidan kapasite (TOS) sonuçları.....	89
4.4.2. Hidrojen peroksit miktarı sonuçları .....	91
4.4.3. Hidroksil radikali ( $\cdot\text{OH}$ ) süpürülme aktivitesi sonuçları .....	93
4.4.4. Süperoksit anyonu ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) miktarı sonuçları.....	95
4.4.5. Oksidatif stres indeksi (OSİ) miktarı sonuçları .....	97
4.5. Kuraklık Stresinin Antioksidan Enzimler Üzerine Etkisi .....	99
4.5.1. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi sonuçları .....	99
4.5.2. Katalaz (CAT) aktivitesi sonuçları.....	101
4.5.3. Peroksidaz (POD) aktivitesi sonuçları .....	103
4.5.4. Glutayon redüktaz (GR) aktivitesi sonuçları .....	105
4.5.5. Askorbat peroksidaz (APX) aktivitesi sonuçları.....	107
4.6. Kuraklık Stresinin Antioksidan Bileşikler Üzerine Etkisi .....	109
4.6.1. Toplam antioksidan kapasite (TAS) sonuçları.....	109
4.6.2. Toplam fenolik bileşik miktarının sonuçları .....	111
4.6.3. Flavonoid miktarı ölçüm sonuçları .....	113
4.6.4. Toplam karotenoid miktarının sonuçları.....	115
4.6.5. Toplam glutayon miktarının sonuçları.....	117
4.6.6. Toplam askorbik asit (toplam AsA) miktarının sonuçları.....	119
4.7. Kuraklık Stresinin Osmoprotektan ve Osmolitler Üzerine Etkisi .....	121
4.7.1. Çözünabilir protein miktarının sonuçları .....	121
4.7.2. Prolin miktarının sonuçları.....	123
4.7.3. İndirgen şeker miktarının sonuçları .....	125
4.7.4. Toplam karbohidrat miktarının sonuçları.....	127
4.8. SDS-PAGE Jel Elektroforezi Sonuçları .....	129
4.8.1 Dayanıklı buğday varyetesinden elde edilen sonuçlar .....	129
4.8.2 Hassas buğday varyetesinden elde edilen sonuçlar.....	130
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>131</b>
5.1. Kurak Şartlarda $\alpha$ ve $\beta$ -Pinen Monoterpenleri.....	133

5.2. Zar Bütünlüğü .....	135
5.3. Reaktif Oksijen Türleri .....	137
5.4. Antioksidan enzimler .....	141
5.5. Antioksidan bileşikler .....	145
5.6. Osmoprotektanlar.....	149
5.7. Büyüme Parametreleri .....	154
5.8. SDS-PAGE .....	158
<b>6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....</b>	<b>159</b>
KAYNAKLAR.....	162
ÖZGEÇMİŞ.....	201
EKLER 1 .....	202

## SİMGELER ve KISALTMALAR

μL	: Mikrolitre
μM	: Mikromolar
ACC	: 1-aminosiklopropan 1-karboksilat
APX	: Askorbat peroksidaz
AsA	: Askorbik asit
BCA	: Bişinkonik asit
BVOCs	: Biyojenik uçucu organik bileşikler
CAT	: Katalaz
E.Ü.	: Enzim ünitesi
EDTA	: Etilendiamin tetra asetik asit
GR	: Glutasyon redüktaz
GSH	: Glutasyon
GSSG	:L-Glutasyon okside
kDA	: Kilo dalton
LPO	: Lipid peroksidasyon
MDA	: Malondialdehid
MH	: Membran hasarı
mM	: Milimolar
NADPH	: β-Nikotinamid adenin dinükleotid
NBT	: Nitroblue tetrazolium klorür
·OH	: Hidroksil radikali
PMSF	: Fenil metil sülfonil florid
POD	: Peroksidaz
PVP	: Polivinilpirrolidon
ROT	: Reaktif oksijen türleri
rpm	: Devir/dakika
SOD	: Süperoksit dismutaz
TBA	: Tiobarbutirik asit
TCA	: Trikloroasetik asit

## ÇİZELGELER LİSTESİ

### Sayfa

Çizelge 1.1 Reaktif oksijen türlerinin özellikleri .....	7
Çizelge 3.1 Deneyleerde yararlanılan alet ve cihazlar .....	48
Çizelge 4.1 Kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde ortalama fide kuru ağırlığı ( $\text{mg.fide}^{-1}$ ) üzerine etkisi .....	78
Çizelge 4.2 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde % bağıl su miktarı (RWC) üzerine etkisi .....	80
Çizelge 4.3 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde toplam klorofil ( $\text{mg.g}^{-1}$ Kuru ağırlık) üzerine etkisi.....	82
Çizelge 4.4 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde klorofil a/b üzerine etkisi .....	84
Çizelge 4.5 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde elektrolit sızıntı (%) üzerine etkisi .....	86
Çizelge 4.6 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde lipid peroksidasyon seviyesi ( $\text{nmol.g}^{-1}$ Kuru ağırlık) üzerine etkisi .....	88
Çizelge 4.7 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde toplam oksidan kapasite ( $\mu\text{mol.g}^{-1}$ Kuru ağırlık) üzerine etkisi .....	90
Çizelge 4.8 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde hidrojen peroksit ( $\text{ng.g}^{-1}$ Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi ..	92
Çizelge 4.9 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde % Hidroksil radikali süpürülme ( $\bullet\text{OH}$ ) aktivitesi üzerine etkisi .....	94
Çizelge 4.10 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde süperoksit anyonu ( $\text{O}_2\bullet$ ) ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ Kuru ağırlık) üzerine etkisi ..	96
Çizelge 4.11 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde % oksidatif stres indeksi (OSI) üzerine etkisi .....	98
Çizelge 4.12 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde süperoksit dismutaz (SOD) enzimi aktivitesi üzerine etkisi ( $\text{U.mg}^{-1}$ Protein) .....	100
Çizelge 4.13 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde katalaz (CAT) enzimi aktivitesi üzerine etkisi ( $\text{U.mg}^{-1}$ Protein) .....	102
Çizelge 4.14 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde peroksidaz (POD) enzimi aktivitesi üzerine etkisi ( $\text{U.mg}^{-1}$ Protein).....	104
Çizelge 4.15 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde glutatyon redüktaz (GR) enzimi aktivitesi üzerine etkisi ( $\text{U.mg}^{-1}$ Protein).....	106

Çizelge 4.16 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde askorbat peroksidaz (APX) enzimi aktivitesi üzerine etkisi (U.mg <sup>-1</sup> Protein) .....	108
Çizelge 4.17 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde toplam antioksidan kapasite (TAS) ( $\mu$ mol.g <sup>-1</sup> KA) üzerine etkisi .....	110
Çizelge 4.18 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde toplam fenolik bileşik ( $\mu$ g.g <sup>-1</sup> Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi .....	112
Çizelge 4.19 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde flavonoid ( $\mu$ g.g <sup>-1</sup> Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi.....	114
Çizelge 4.20 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde toplam karotenoid (mg.g <sup>-1</sup> Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi	116
Çizelge 4.21 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde toplam glutasyon (GSH) (ng.g <sup>-1</sup> Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi .....	118
Çizelge 4.22 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde toplam askorbik asit (AsA) (ng.g <sup>-1</sup> Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi .....	120
Çizelge 4.23 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde çözümlenebilir protein (mg.g <sup>-1</sup> Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi..	122
Çizelge 4.24 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde prolin ( $\mu$ g.g <sup>-1</sup> Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi .....	124
Çizelge 4.25 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde indirgen şeker (mg.g <sup>-1</sup> Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi ....	126
Çizelge 4.26 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde toplam karbohidrat (mg.g <sup>-1</sup> Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi .....	128
Çizelge 5.1 Kuraklık stresine maruz bırakılmış bazı bitkilerin esansiyel yağ kompozisyonundaki $\alpha$ -pinen'nin (%) değişimi	134
Çizelge 5.2 Kuraklık stresine maruz bırakılmış bitkilerin esansiyel yağ kompozisyonundaki $\beta$ -pinen'nin (%) değişimi.....	134
Çizelge 1 Farklı kuraklık şartlarında yetiştirilen <i>Nepeta meyeri</i> bitkisinin esansiyel yağ profili üzerine etkisi	202

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1. Enerji transferi aracılığıyla ROS'ların üretimi (Vranova vd., 'den, 2002) ... 6	6
Şekil 1.2 Bitkisel hücrelerde ROS'ların oluşum yerleri ve süpürülme mekanizmaları (Gechev vd., 'den, 2006)..... 8	8
Şekil 1.3 Bitki hücrelerindeki oksidatif sistem ile antioksidatif (enzimatik ve non-enzimatik) sistem elamanları..... 10	10
Şekil 1.4 Sekonder metabolitlerin biyosentez yolları (Taiz ve Zeiger'den 2008) ..... 14	14
Şekil 1.5 Terpenlerin biyosentezi (Taiz ve Zeiger'den, 2008)..... 19	19
Şekil 1.6 Yaprak tarafından güneş ışığının soğurulması ve dağılımı (Taiz ve Zeiger'den 2008). ..... 21	21
Şekil 1.7 ROS'ların genel gösterimi (a) ve izoprenlerin streslere karşı koruyucu mekanizması (b). (Velikova, 2008)..... 26	26
Şekil 1.8 $\alpha$ -fenil katyonu üzerinden sentez olunan monoterpenler (Mammadov, 2014). ..... 28	28
Şekil 1.9 $\alpha$ ve $\beta$ -pinen monoterpenlerinin temel yapısı ..... 29	29
Şekil 3.1 Buğdayın tarla kapasitesine bağlı kuraklık stresi uygulama takvimini ...59	59
Şekil 3.2 Katalaz standart grafiği ..... 63	63
Şekil 3.3 Askorbat ve glutatyon içeriğini belirlemede kullanılan standart grafikler . 66	66
Şekil 3.4 Toplam fenolik madde ve flavonoid standart grafiği..... 67	67
Şekil 3.5 Süperoksit anyonu ve H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> standart grafiği ..... 70	70
Şekil 3.6 İndirgen şeker ve toplam karbohidrat standart grafikleri..... 73	73
Şekil 3.7 Prolin ve çözünür protein standart grafikleri ..... 74	74
Şekil 4.1 $\alpha$ ve $\beta$ -pinen monoterpenlerinin TAS miktarı değerleri .....76	76
Şekil 4.2 Kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde ortalama fide kuru ağırlığı (mg. fide <sup>-1</sup> ) üzerine etkisi..... 78	78
Şekil 4.3 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde % bağıl su miktarı (RWC) üzerine etkisi ..... 80	80
Şekil 4.4 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde toplam klorofil (mg.g <sup>-1</sup> Kuru ağırlık) üzerine etkisi..... 82	82
Şekil 4.5 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde klorofil a/b üzerine etkisi ..... 84	84
Şekil 4.6 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde elektrolit sızıntı (%) üzerine etkisi ..... 86	86
Şekil 4.7 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde lipid peroksidasyon seviyesi (nmol.g <sup>-1</sup> Kuru ağırlık) üzerine etkisi ..... 88	88
Şekil 4.8 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde toplam oksidan kapasite ( $\mu$ mol.g <sup>-1</sup> Kuru ağırlık) üzerine etkisi ..... 90	90
Şekil 4.9 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde Hidrojen peroksit (ng.g <sup>-1</sup> Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi . 92	92
Şekil 4.10 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde % Hidroksil radikali süpürülme ( $\bullet$ OH) aktivitesi üzerine etkisi ..... 94	94

Şekil 4.11 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde süperoksit anyonu ( $O_2^{\bullet-}$ ) ( $\mu g.g^{-1}$ Kuru ağırlık) üzerine etkisi..	96
Şekil 4.12 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde % oksidatif stres indeksi (OSI) üzerine etkisi .....	98
Şekil 4.13 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde süperoksit dismutaz (SOD) enzimi aktivitesi üzerine etkisi (U.mg <sup>-1</sup> Protein) .....	100
Şekil 4.14 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde katalaz (CAT) enzimi aktivitesi üzerine etkisi (U.mg <sup>-1</sup> Protein) .....	102
Şekil 4.15 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde peroksidaz (POD) enzimi aktivitesi üzerine etkisi (U.mg <sup>-1</sup> Protein).....	104
Şekil 4.16 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde glutatyon redüktaz (GR) enzimi aktivitesi üzerine etkisi (U.mg <sup>-1</sup> Protein).....	106
Şekil 4.17 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde askorbat peroksidaz (APX) enzimi aktivitesi üzerine etkisi (U.mg <sup>-1</sup> Protein) .....	108
Şekil 4.18 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde Toplam antioksidan kapasite (TAS) ( $\mu mol.g^{-1}$ Kuru ağırlık) üzerine etkisi .....	110
Şekil 4.19 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde toplam fenolik bileşik ( $\mu g.g^{-1}$ Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi .....	112
Şekil 4.20 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde flavonoid ( $\mu g.g^{-1}$ Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi.....	114
Şekil 4.21 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde toplam karotenoid ( $mg g^{-1}$ Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi .....	116
Şekil 4.22 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde toplam glutatyon (GSH) ( $ng.g^{-1}$ Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi .....	118
Şekil 4.23 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde toplam askorbik asit (AsA) ( $ng.g^{-1}$ Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi .....	120
Şekil 4.24 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde çözünür protein ( $mg.g^{-1}$ Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi..	122
Şekil 4.25 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde prolin ( $\mu g.g^{-1}$ Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi .....	124
Şekil 4.26 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde indirgen şeker ( $mg.g^{-1}$ Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi ....	126
Şekil 4.27 Kuraklık, kuraklık + $\alpha$ ve $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde toplam karbohidrat ( $mg.g^{-1}$ Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi .....	128
Şekil 4.28 Kuraklığa dayanıklı buğday varyetesi yapraklarından elde edilen proteinlerin SDS-Poliakrilamid Jel Elektrofrezisi fotoğrafı (kDa: Kilodalton, M:	



Standart proteinler, (K: Kontrol,  $\alpha 1$ : 1  $\mu\text{M}$   $\alpha$ -pinen,  $\alpha 10$ : 10  $\mu\text{M}$   $\alpha$ -pinen,  $\beta 1$ : 1  $\mu\text{M}$   $\beta$ -pinen,  $\beta 10$ : 10  $\mu\text{M}$   $\beta$ -pinen, KŞ: Kurak şartlar, K $\alpha 1$ : Kurak+1  $\mu\text{M}$   $\alpha$ -pinen, K $\alpha 10$ : Kurak+10  $\mu\text{M}$   $\alpha$ -pinen, K $\beta 1$ : Kurak+1  $\mu\text{M}$   $\beta$ -pinen, K $\beta 10$ : Kurak+10  $\mu\text{M}$   $\beta$ -pinen)

..... 129

Şekil 4.29 Kuraklığa hassas buğday varyetesi yapraklarından elde edilen proteinlerin SDS-Poliakrilamid Jel Elektroforezi fotoğrafı (kDa: Kilodalton, M: Standart proteinler, (K: Kontrol,  $\alpha 1$ : 1  $\mu\text{M}$   $\alpha$ -pinen,  $\alpha 10$ : 10  $\mu\text{M}$   $\alpha$ -pinen,  $\beta 1$ : 1  $\mu\text{M}$   $\beta$ -pinen,  $\beta 10$ : 10  $\mu\text{M}$   $\beta$ -pinen, KŞ: Kurak şartlar, K $\alpha 1$ : Kurak+1  $\mu\text{M}$   $\alpha$ -pinen, K $\alpha 10$ : Kurak+10  $\mu\text{M}$   $\alpha$ -pinen, K $\beta 1$ : Kurak+1  $\mu\text{M}$   $\beta$ -pinen, K $\beta 10$ : Kurak+10  $\mu\text{M}$   $\beta$ -pinen)

..... 130



## 1. GİRİŞ

Bitkiler ekosistemin olduğu gibi insan yaşamı içinde çok hayati bir role sahiptirler. Bunun en belirgin nedeni insanların bitkilerden faydalanmasıdır. Bitkiler insanların gıda, ahşap, kağıt, lif ve ilaç gibi ihtiyaçlarının kaynağıdır. Ekosistemin oksijen ve karbondioksit dengesinin korunması ve buna bağlı olarak yeryüzündeki sıcaklık kontrolünün sağlanmasında da görevlidirler. Ayrıca erozyonu önleyerek, toprağın organik madde içeriğini artırarak, canlılara barınma ve beslenme ortamı temin ederek ekosistemin devamlılığını da sağlarlar. Canlı yaşamı için bu kadar önemli olan bitkiler çeşitli çevresel faktörlerden de olumsuz etkilenir (Levitt, 1980; Mauseth, 1998; Özcan vd., 2001).

Bitkiler yaşadıkları ekolojik koşullar itibariyle farklı stres faktörleriyle karşılaşabilirler. Stres, biyotik ve abiyotik faktörlerin kendi metabolizmalarında gerçekleşen biyokimyasal ve fizyolojik olaylarla farklı değişimleri meydana getirmesi veya organizmada ciddi zararlara neden olan hasar oluşturma kapasitesi olarak tanımlanabilir (Levitt, 1980). Ayrıca stres terimi, büyüme, gelişme ve üretim için genetik potansiyelin ifadesini olumsuz şekilde etkileyen herhangi bir çevresel faktörü veya bunların etkileşimlerini de içermektedir (Jones, 1984; Yıldız ve Terzi, 2007). Bitki fizyolojisinde “sıfır stres” olarak adlandırılan fakat teorikte doğal ortamda yaşayan bitkiler için neredeyse imkansız olan bir terim vardır. Çünkü sıfır stres demek canlıda hiçbir hasara ve ürün kaybına neden olmayan optimum ortam olarak bilinir (Hale ve Orcutt, 1987; Mutlu, 2009). Böyle bir ortamda ancak laboratuvar veya sera koşullarında sağlanabilir.

Birbirleriyle ve farklı canlılarla etkileşim halinde olan bitkiler, aquatik alanlarda dahil olmak üzere çok çeşitli ekolojik ortamlarda farklı streslere ve stres koşullarına adapte olmuşlardır. Bu durum bitkilerin doğal yayılışını doğrudan etkiler. Böylece bitkiler maruz kaldıkları stres etmenlerine göre kendi bünyelerinde morfolojik, anatomik ve fizyolojik olarak farklı metabolizmalara sahip olurlar. Stres, yabani bitki

türlerinde adaptasyona sebep olurken, kültür bitkilerini ise olumsuz yönde etkileyerek ürün kayıplarına sebep olur.

Tarım sektöründe ürün kaybına neden olan en önemli sebep **abiyotik streslerdir**. Bu stresler dünyada üretilen bitkisel ürünlerin neredeyse yarısını azaltarak tarım ticaretinin geleceğini olumsuz yönde etkiler (Mahajan ve Tuteja, 2005; Chopra, 2007). Dünyadaki kullanılabilir alanlar stres etmeni olarak incelendiğinde kuraklık stresi kapladığı % 29'luk alan ile ilk sırayı alırken diğerleri ise sırasıyla % 20'lik ve % 15'lik alanları kaplayan mineral ve soğuk stresleridir. (Blum 1986; Kalefetoğlu ve Ekmekçi, 2005).

Kuraklık stresi; radyasyon, yüksek sıcaklık, yüksek buharlaşma, donmuş toprak, toprak kuruluğu veya tuzlu topraklarda suyun bağlı olması durumlarında gerçekleşir (Larcher, 2003). Kuraklığın bitki üzerine etkileri, stresin süresine, şiddetine, strese maruz kalan bitkinin genotipine ve diğer stresler ile etkileşimlerine bağlı olarak değişmektedir (Jiang ve Huang, 2001; Özfıdan, 2010). Bol yağış alan tropikal iklim kuşağı ve kutup bölgeleri hariç dünyanın bütün bölgelerinde kuraklık stresi bitkilerin büyümesi ve gelişmesi için büyük bir tehdittir.

Kuraklık stresinde meydana gelen morfolojik ve anatomik değişikliklerden ilki kök gelişiminin hızlanması ve kökün gövdeye oranı artmasıdır. Kurak şartlarda fotosentez yavaşlar ve bunun sonucu olarak fide gelişimi zayıflar. Kısa süreli kurak periyotlarda bile yaprak büyümesi yavaşlar. Kuraklık stresine bir tepki olarak bazı bitkilerde yapraklarının üzeri sık tüylerle kaplanır. Bu tüyler, alttaki hücrelerin sıcaklığını 1-2 °C düşürerek, transpirasyon hızını azaltır. Ayrıca yaprak üzerinde mumsu bir tabaka oluşur, bu kütikula tabakası güneş ışınlarını yansıtarak sıcaklığın etkisini azaltır ve böylece transpirasyon hızı azalır (Göksoy ve Turan, 1991; Kutlu, 2010).

Fizyolojik ve biyokimyasal değişiklikler değerlendirildiğinde ise, **1) Kuraklık stresine maruz kalan bitkiler, turgorlarını koruyabilmek için, hücreleri içinde**

özellikle glukoz, sakkaroz gibi çözüner şekerler ve malat gibi bazı organik çözeltileri biriktirmek suretiyle osmotik potansiyellerini düzenlemeye çalışırlar (Çırak ve Esendal, 2006; Kutlu, 2010). Kuraklığa dayanıklılık mekanizmalarının önemli bir bileşeni olan osmotik dengenin sürdürülmesinde anahtar rol oynayan prolin amino asidi gibi birçok bileşik hem osmotik konsantrasyonun düşürülmesi ile turgor basıncını arttırarak stomaların açılması, fotosentez ve büyüme gibi fizyolojik fonksiyonlar üzerinde stresin etkilerinin sınırlanmasını sağlamakta hem de subselular bileşenlerin (membranlar ve proteinler gibi) yapısal bütünlüklerinin korunmasına ve serbest radikallerin uzaklaştırılmasına yardım etmektedir (Chimenti vd., 2002; Wu ve Xia, 2006; Kalefetoğlu, 2006).

**2)** Kuraklık stresine uğrayan bitkilerde stoma hücrelerinde absisik asit (ABA) miktarı artmakta, bunun sonucu olarak suda çözünmeyen nişasta oluşmakta ve  $K^+$  iyonu azalmaktadır. Böylece osmotik basıncı azalan stoma hücreleri turgorunu kaybederek kapanmaktadır. Diğer bir mekanizma ise kuraklık anında stoma hücrelerindeki  $K^+$  iyonlarının komşu hücrelere geçmesiyle osmotik basıncı azalan stoma hücreleri kapanır (Lang ve ark, 1994)

**3)** Kuraklık stresi ile proteinlerin parçalanması ve protein sentezinin azalması meydana gelir. Proteinlerin parçalanmasıyla dokularda aminoasitler birikir, enzim kayıpları ortaya çıkar, ABA artar ve en önemlisi amonyak ( $NH_3$ ) gibi toksik bir bileşik ortaya çıkar.  $NH_3$  bitkide metabolik dengenin bozulmasına neden olduğu gibi, suyun yukarı doğru taşınmasına da engel olarak, iki yönlü zarar verir. Kuraklık stresi ile oluşan protein kayıpları Ribuloz Bifosfat Karboksilaz (Rubisco) enziminin parçalanmasıyla başlar. Bu enzim, yaprakların başlıca çözüner proteini olup,  $CO_2$  fiksasyonunda anahtar bir enzimdir (Lang vd., 1994; Kutlu, 2010).

**4)** Kuraklık stresiyle,  $NO_3$  halindeki azotun bitkiler için yararlı forma dönüştürülmesi engellenir. Nitrat indirgenme aktivitesinin azalması, nitratı indirgeyen enzim olan nitrat redüktaz aktivitesinin azalmasıyla olur (Ruiz-Lozano ve Azcon, 1996).

**5)** Kuraklık stresi altında ABA ve etilen miktarı artarken sitokininler, GA ve IAA miktarları azalmaktadır (Kutlu, 2010)

**6)** Kuraklık stresi ile toplam yaprak alanı azalmakta ve dolayısıyla fotosentez yavaşlamaktadır. Kuraklık stresi altında fotosentezdeki ilk azalma stomaların kapanması ve  $CO_2$  absorpsiyonunun azalmasıyla ortaya çıkar (Lima vd., 2002; Muller vd.,1996). Ayrıca fotosentez hızındaki azalma, su kaybı ile biyokimyasal reaksiyonlar sonucu Rubisco enzimi

azalmasıyla ve dolayısıyla CO<sub>2</sub> azaltılmasıyla açıklanabilir (Begg ve Turner, 1976; Kutlu, 2010). **7)** Yapraklar kuraklık stresinin etkisiyle önemli derecede ısınma gösterirler. Yaprığın zarar görmesini önlemek amacıyla gelen ısı yükü dağıtılmalıdır. Isı yükü, uzun dalga boylu ışınların yayılması, yaprağı çevreleyen havaya ısı kaybı ve transpirasyon sonucu oluşan buharlaşmaya bağlı soğuma ile dağıtılır (Taiz ve Zeiger, 2008). **8)** Yapraklarda kuraklık kaynaklı ısınmanın artması fotosentetik zarların kararlılığını korumak için izopren sentezini tetikler (Taiz ve Zeiger, 2008).

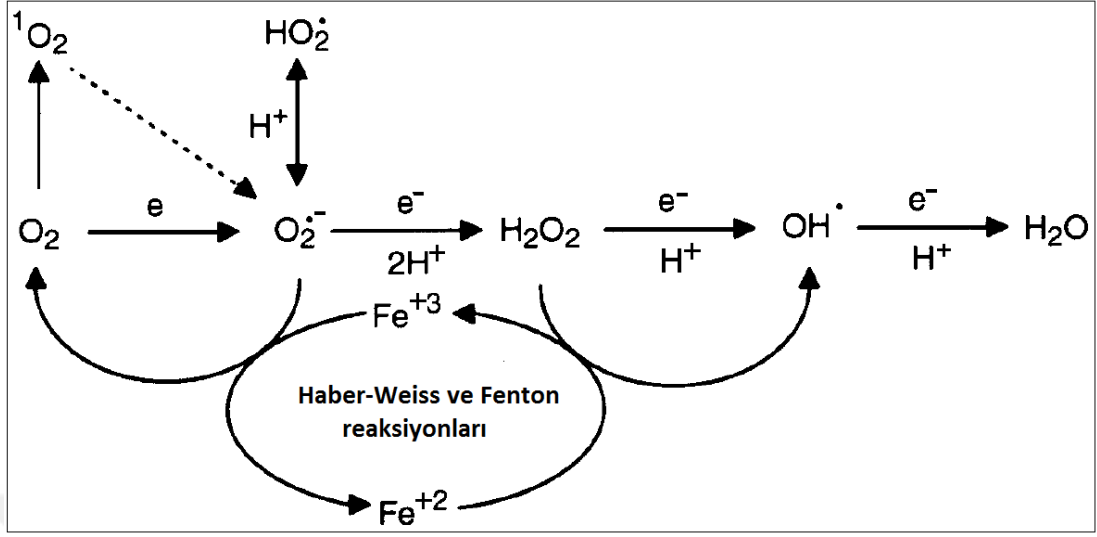
Bitkiler kuraklık stresi koşullarında hayatta kalmak için kuraklıktan kaçınma (sakınma) ve kuraklığa tolerans olmak üzere iki farklı strateji geliştirmişlerdir (Levitt, 1980; Jenks ve Hasegawa, 2005). Kuraklıktan kaçan genotipler yüksek su potansiyeline sahiptir veya kuraklık öncesi yaşam döngülerini tamamlarlar. Toleranslı genotipler ise su potansiyellerindeki herhangi bir değişimden etkilenmezler (Levitt 1980).

**Kuraklıktan kaçınma;** su sıkıntısında hayatta kalmak için çok önemli bir adaptasyondur. Bitkinin çevreyle temasta olan yüzeylerindeki morfolojik ve kimyasal yapıdaki değişiklikler: Kütikulanın gelişmesi, fiziksel ve kimyasal destek elemanlarının gelişmesi, stomaların büyüklüğünün, dağılımının ve yerleşiminin değişimi, oransal su içeriğinin artışı, kuraklığa vejetatif ve vaskular dokuların adaptasyonu, kurak ortamda üreme ve döllenme stratejilerinin gelişmesi, üretken hücrelerin korunması, su ileten ksilemin trakeidlerinin ligninleşmesi ve benzeri değişiklikler ile bitki yaşamı ve üretkenliği korunur (Jenks ve Hasegawa, 2005; Güzel, 2006).

**Kuraklık toleransı;** uzun süren kuraklık periyotlarında bitkiler su potansiyelindeki azalmadan kaçamazlar. Bu durumda devreye kuraklık toleransı girer. Kuraklık toleransı uzun süreli kuraklığın neden olduğu hasarı sınırlandıran ve bitkilere metabolizmalarını sürdürebilme imkanı tanıyan mekanizmaları içerir. Bu mekanizmalar beş katagoride özetlenebilir. Bunlar; osmolitler, iyon uzaklaştırıcılar,

iyon taşıyıcıları, hücre zarı düzenleyicileri ve antioksidan enzim sistemleridir (Courtois vd., 2000).

Antioksidan sistemle denge halinde olan **reaktif oksijen türleri (ROS)**, birçok O<sub>2</sub> kaynaklı radikal için kullanılan bir terimdir. Reaktif oksijen türleri normal koşullarda metabolizmanın yan ürünleri olarak üretilmektedir. Oksidatif stres abiyotik stresleri takiben ikincil olarak oluşabilmektedir (Şekil 1.1). ROS üretimi ve hasarı mekanizmaları bitkilerde ortaktır. Bitkilerin antioksidan kapasiteleri ROS'ları dengede tutarak ve hasar verici düzeye gelmelerini engeller (Kehrer, 2000). Hücrelerde bilinen başlıca ROS'lar singlet oksijen (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>), süperoksit anyonu (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>), hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ve hidroksil radikali (<sup>•</sup>OH) olup normal koşullarda hücredeki düzeyleri sürekli denge halindedir (Şekil 1.1) (Halliwell ve Gutteridge, 1998). Kuraklık stresinde bitkilerin ROS'larla ilişkisi kısaca özetlenecek olursa; ilk olarak bitkiler stomalarını kapatır. Böylece fotosentezin önemli aşamalarından olan CO<sub>2</sub> fiksasyonu durma noktasına gelir. Bu durum NADPH<sup>+</sup>'lerin tükenmesine sebep olur. Son olarak hücre zar sistemlerindeki e<sup>-</sup> stabilitesi sekteye uğrayarak aşırı ROS oluşumuna neden olur. Bu durum hücrelerde oksidatif strese neden olur. ROS'lar, kloroplast, mitokondri, ER ve peroksizom gibi çeşitli organellerde üretilir (Şekil 1.2). ROS üretimi, metabolik olaylar sırasında hücrede her yerde mevcut olup bitkiler onlarla başa çıkabilir. Ancak ROS üretimi belirgin şekilde artarsa hücrede önemli hasarlar oluşturabilir. ROS üretiminin miktarı ve tipleri hücrenin farklı bölmelerindeki farklı metabolik süreçlere göre değişim gösterir (Mittler 2002; Sairam ve Srivastava, 2002; Mittler vd., 2004). ROS üretimi belli bir seviyenin üzerine çıkması sonucu proteinler, lipidler ve nükleik asitler gibi hücresel bileşenler hasar görürler. Bu moleküllerin hasar görmesi hücre içinde geri dönüşü olmayan zararlar oluşturabilir (Sunkar vd., 2003). ROS'lar aktiviteleri, yarılanma ömrü, etki mesafesi, yaptığı hasar ve süpüren enzimleri bakımından bazı farklılıklar gösterirler (Çizelge 1.1).



Şekil 1.1. Enerji transferi aracılığıyla ROS'ların üretimi (Vranova vd.,'den, 2002)

**Süperoksit ( $O_2^{\bullet -}$ ) radikali** tüm aerobik hücrelerde moleküler oksijenin ( $O_2$ ) bir elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşur. En büyük kaynağı elektron transport zinciridir (Halliwell ve Gutteridge, 1990; Halliwell, 1999; Parvaiz vd., 2010; Yıldıztuğay, 2011).  $O_2^{\bullet -}$  üretimi,  $\bullet OH$  ve  ${}^1O_2$  gibi ROS'ların daha fazla üretilmesini tetikler ve bu radikaller membran lipidlerinin peroksidasyonuna ve hücre zarlarına sebep olur (Elstner, 1987). **Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ )**, asidik ortamda moleküler oksijenin ortamdaki iki elektron alması veya süperoksitin bir elektron alması sonucu meydana gelir.  $H_2O_2$  serbest bir radikal olmadığı halde, reaktif oksijen türleri içine girer ve serbest radikaller içerisinde önemli bir rol oynar. Çünkü Fe ve Cu gibi geçiş metalleri varlığında süperoksit ile reaksiyona girerek en reaktif ve en zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla dönüşebilir (Malo ve Wilson, 2000). **Singlet Oksijen ( ${}^1O_2$ )**, eşlenmemiş elektronu olmadığı için radikal olmayan bir reaktif oksijen türüdür. Oksijenin yüksek enerjili ve mutajenik formudur. Oksijenin eşleşmemiş elektronlarından birinin verilen enerji sonucu bulunduğu orbitalden başka bir orbitale veya kendi spin yönünün tersine yer değiştirmesi sonucunda oluşur (Cross vd., 1987; Ames ve ark., 1993; Halliwell ve Gutteridge, 1999; Kayış 2010) **Hidroksil radikali ( $\bullet OH$ )**, hidrojen peroksitin geçiş metalleri varlığında indirgenmesi ile (Fenton Reaksiyonu), hidrojen peroksitin süperoksit radikali ile reaksiyonu (Haber-Weiss Reaksiyonu) ve suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda meydana gelir

(Cheeseman ve Slater, 1993; Halliwell, 1999; Song, 2004). Diğer reaktif oksijen türlerine kıyasla biyolojik sistemlere çok daha fazla zarar verebilir (Betteridge, 2000; Kayış, 2010).

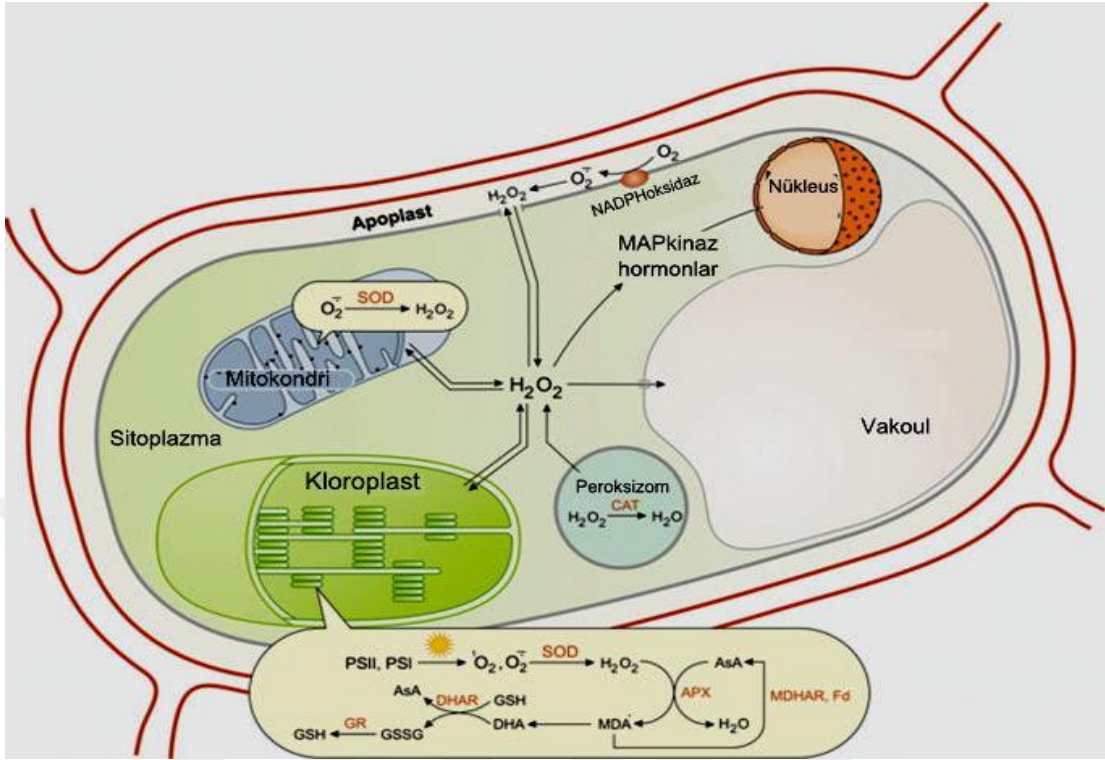
**Lipid peroksidasyonu**, hücre zarı lipidlerinin serbest radikallerle (süperoksit anyonu, singlet oksijen, hidrojen peroksit ve hidroksil radikali) etkileşmesi sonucu ortaya çıkar ve sonuçta hücresel zararın bozulmasına yol açar. Bu peroksidasyonun derecesi, hücresel düzeyde stresin sebep olduğu hasarın hem ölçütü hem de yansıması olduğu kabul edilmektedir (De Azevedo Neto vd., 2006; Çeriğ, 2011).

**Çizelge 1.1** Reaktif oksijen türlerinin özellikleri

Özellikleri	Singlet oksijen	Süperoksit anyonu	Hidrojen peroksit	Hidroksil radikali
<b>Aktivitesi</b>	Yüksek	Orta	Orta	Çok yüksek
<b>Yarılanma ömrü</b>	1.5 $\mu$ s	2-4 $\mu$ s	1 $\mu$ s	1 den 0.01 $\mu$ s
<b>Etki mesafesi</b>	0.8 $\mu$ m	8 $\mu$ m	-	0.5 $\mu$ m
<b>Yaptığı hasar</b>	Diğer biyolojik moleküllere uyarma enerjilerini transfer ederler ve fotosentetik mekanizmayı hasara uğrattırlar	Kinonları ve geçiş metalleri ( $Fe^{2+}$ ve $Cu^{2+}$ ) indirgerler	Tiyol grubu enzimleri okside ederek onları inaktifleştirir	DNA, proteinler, lipidler ile reaksiyona girer, hücre ve diğer bileşenler olarak aşırı hücre ölümüne neden olabilir
<b>Süpüren enzim</b>	CAT	SOD	CAT, SOD, APX, GPOX, GR	Enzimatik mekanizma yok
<b>Enzimatik olmayan antioksidan</b>	Tokoferol, $\beta$ -karoten, plastokinon	Askorbik asit	Glutasyon, peroksiredoksin, askorbat, flavonoid	Glutasyon, askorbat, prolin, flavonoid

**Yarılanma ömrü ve Etki mesafesi** – Pitzschke vd., (2006), De Carvalho (2008), Gill ve Tuteja (2010); **Yaptığı hasar:** Gill ve Tuteja (2010) ve Gechev vd., (2006); **Süpüren enzim / Enzimatik olmayan antioksidant** – Gechev vd., (2006); Ahmad vd., (2010)

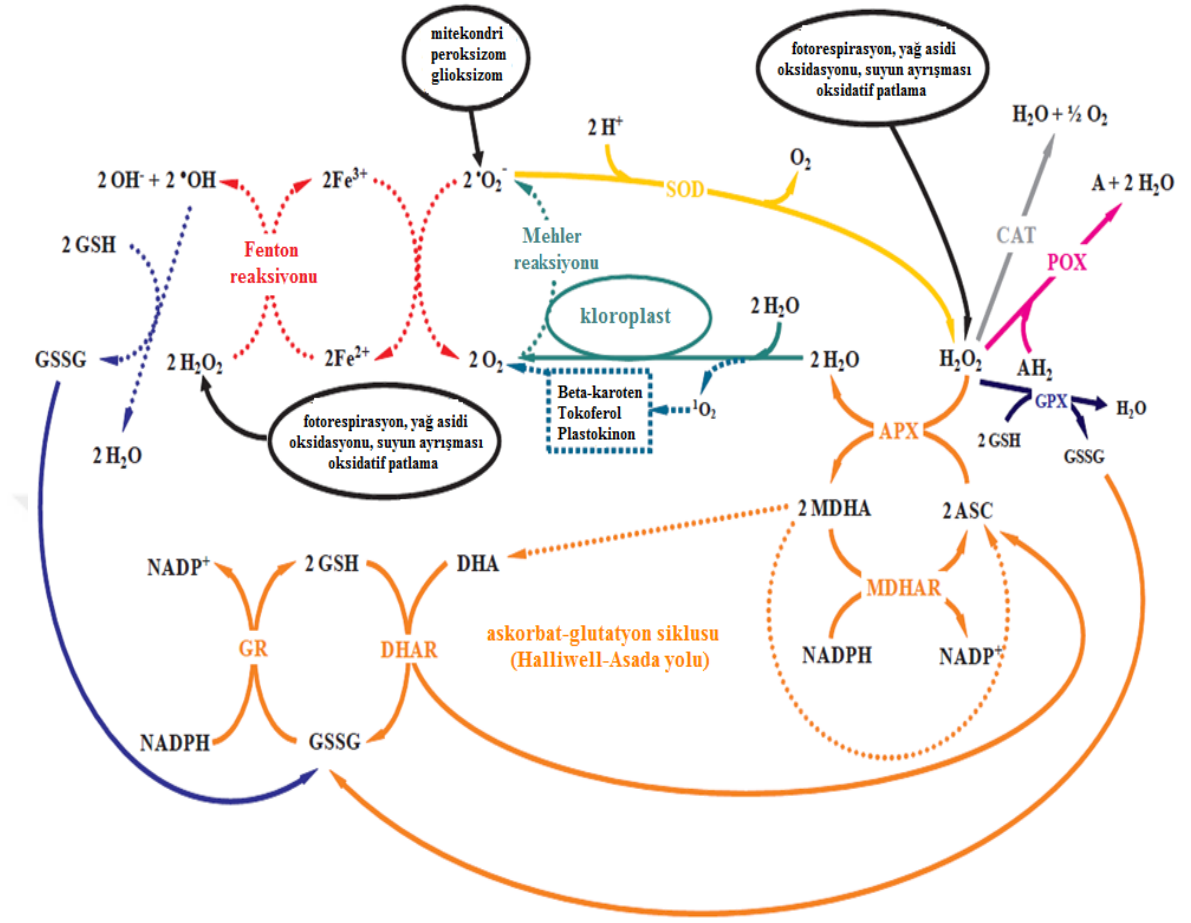




**Şekil 1.2** Bitkisel hücrelerde ROS'ların oluşum yerleri ve süpürülme mekanizmaları (Gechev vd.,'den, 2006).

Zararlı reaktif oksijen türlerinin detoksifikasyonu için gereken yüksek verimli antioksidan savunma sistemleri tüm bitki hücrelerinde bulunur (Seppänen ve Fagerstedt, 2000). **ROS'ların süpürülmesi**, enzimatik ve enzimatik olmayan iki önemli savunma sistemi ile gerçekleşir. ROS'larla mücadelede enzimatik savunma mekanizmasında başlıca görev alan enzimler; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), askorbat peroksidaz (APX), glutasyon redüktaz (GR), monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR), dehidroaskorbat redüktaz (DHAR), glutasyon peroksidaz (GPX), peroksidaz (POD) ve glutasyon-S-transferaz (GST) enzimleridir. Enzimatik olmayan savunma sisteminde ise askorbik asit (AA), glutasyon (GSH), fenolik bileşikler, alkaloidler, aminoasitler ve  $\alpha$ -tokoferoller gibi moleküllerdir (Asada, 1999; Hernández-Nistal vd., 2002; Parvaiz, 2010; Yıldıztuğay, 2011). **Süperoksit dismutaz** (SOD) enzimi aerobik organizmaların tüm hücrelerinde bulunur ve  $O_2^{\bullet-}$  radikalinin  $H_2O_2$ 'ye dönüşümünü katalizler (Şekil 1.3C). ROS'nin enzimatik olarak bertaraf edilme sistemindeki ilk zinciri oluşturur (Møller, 2001). SOD antioksidan savunma ağında ana göreve sahiptir. Artan SOD aktivitesi ile oksidatif stres

yüzünden meydana gelen hasardan korunmanın artması birbirleriyle ilişkilidir (Hernández-Nistal vd., 2002). **Katalaz** (CAT) enzimi,  $H_2O_2$ 'i oksijen ve suya dönüştüren tetramerik formda *HEM* prostatik grubu içeren enzimlerdendir ve hücreyi hidrojen peroksit birikiminin hasar verici etkilerinden korumaktadır (Corpas, 1998; Chaudiere ve Ferrari-Iliou, 1999). Yüksek molekül ağırlığına sahip olan katalaz, bu işlemi hidrojen peroksitin yüksek konsantrasyonunda  $H_2O_2$ 'den iki elektronunu kullanarak su ve oksijene indirgenmesini katalizleyerek yapar. **Peroksidaz** (POD), SOD'un,  $O_2^{\bullet-}$  radikallerini süpürmesiyle ortaya çıkan  $H_2O_2$ 'in kloroplastlarda süpürülmesinde rol oynayan önemli enzimlerden birisidir (Asada ve Takahashi, 1987). POD,  $H_2O_2$  'yi kullanarak fenoller ve hidrokinonlar gibi çok sayıda aromatik bileşenlerin dehidrojenasyonunu katalizleyen (Bergmeyer ve Grabl, 1983) ve *HEM* prostetik grubuna sahip bir proteindir (Banci, 1997; Kim vd., 2000). **Glutasyon redüktaz** (GR) bir flavo-protein oksidoredüktaz olup, hem prokaryotlarda hem de ökaryotlarda oksitlenmiş glutasyonun (GSSG) indirgenmiş forma (GSH), NADPH-bağımlı dönüşümünü katalizler. GR, hücre içerisinde baskın olarak kloroplastlarda, az miktarda da mitokondri, sitoplazma ve peroksizomlarda yer alır (Edwards vd., 1990; Creissen vd., 1994). **Askorbat peroksidaz** (APX), bitkilerde, alglerde, öglenada ve diğer organizmalarda ROS'ların süpürülmesinde ve hücrelerin korunmasında en önemli rolü oynayan enzimdir (Gill ve Tuteja, 2010). APX,  $H_2O_2$ 'in süpürülmesinde su-su döngüsü ve askorbat-glutasyon döngüsünde görev alır ve elektron vericisi olarak askorbik asidi kullanır ve  $H_2O_2$ 'e karşı ilgisi oldukça yüksektir (Şekil 1.3.A ve B) (Willekens vd., 1997; Noctor ve Foyer, 1998).



**Şekil 1.3** Bitki hücrelerindeki oksidatif sistem ile antioksidatif (enzimatik ve non-enzimatik) sistem elamanları

Enzimatik olmayan antioksidan savunma sisteminde ise; **Glutasyon (GSH)**, bütün canlı organizmalarda bulunan düşük moleküler ağırlıklı tiyol ihtiva eden bir bileşiktir (Gözükara, 1997). GSH, hayvan hücrelerinin hemen hemen hepsinde yüksek konsantrasyonlarda bitkilerde ise özellikle yapraklarda milimolar konsantrasyonlarda bulunan genel bir indirgeyicidir (Rennenberg ve Lamourex, 1990; Sağlam, 2011). GSH birçok farklı yolla antioksidan rolünü gerçekleştirir ve GSH'ın antioksidan fonksiyonunda, yapısında bulunan sistenin sülfhidril grubu etkilidir. GSH'daki tiyol grubunun oksitlenmesiyle oluşan GSSG, antioksidan özelliğini kaybeder (Foyer vd., 1994; Creissen vd., 1996; Sağlam, 2011). GSH, bitkilerde önemli bir süpürücü olup  $^1\text{O}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  ve  $\cdot\text{OH}$  radikallerini süpürür ve hücredeki bu radikallerin miktarının optimumda tutulmasını sağlar (Smirnoff, 1993; Noctor ve Foyer, 1998). **Askorbik**

**asit**, GSH gibi askorbik asit de suda çözünebilen, farklı hücre tiplerindeki orgenallerde ve apoplastta bulunan önemli bir bileşiktir. Normal fizyolojik koşullar altında yaprak ve kloroplastlarda daha çok indirgenmiş formu mevcuttur (Smirnoff, 2000). Askorbik asit doğrudan süperoksiti, hidroksil radikallerini ve tekli oksijeni baskılar ayrıca hidrojen peroksiti askorbat peroksidaz reaksiyonu yoluyla suya indirger (Foyer vd., 1997; Tanyolac, 2012). **Askorbat-glutasyon** siklusu veya Asada-Halliwell yolu olarak adlandırılan sistem enzimatik ve enzimatik olmayan bileşenleri kullanarak ROS'ların toksikliğine karşı koyar (Foyer ve Halliwell, 1976; Nakano ve Asada, 1981). Bu sistemin en önemli özelliklerinden biri H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> inaktivasyonundan karbon fiksasyonu enzimlerini korumasıdır. Bu özelliğinin yanı sıra NADPH/NADP<sup>+</sup> oranını düşürerek elektronların PS<sub>I</sub>'den moleküler oksijene verilme potansiyelini azaltır ve ROS oluşumunu önler. Ayrıca bu sistem bitkileri oksijenin toksikliğinden korumak için gereklidir. Askorbat suda çözünebilir antioksidan bir bileşik olduğu için aktifleşmiş oksijenle sulu fazda bulunan diğer bileşenlerden daha kolay reaksiyona girer ve oksidatif hasardan makromolekülleri korur. Askorbat sadece büyük bir antioksidan bileşik olarak fonksiyon görmeyip aynı zamanda  $\alpha$ -tokoferol ve karotenoid gibi membrana bağlı antioksidanları indirgenmiş formuna dönüştürür (Horemans vd., 2000; Sağlam, 2011).  **$\alpha$ -Tokoferol** yağda çözünür bir vitamin ve güçlü bir antioksidandır. Yüksek biyolojik aktiviteye sahiptir (Koç ve Üstün, 2008). Tokoferoller bitkinin tüm kısımlarında bulunan antioksidanlardır ve ROS süpürücüsüdürler (Kruk vd., 2005). Tokoferoller ROS'nin özellikle singlet oksijen ve hidroksil radikalini etkisiz hale getiren detoksifiye etme özelliğine sahip antioksidatif bir fonksiyon taşımaktadırlar (Serbinova ve Packer, 1994; Koç ve Üstün, 2008). Membranlardaki oksijen radikallerinin ana temizleyicisi olan  $\alpha$ -tokoferol, lipit peroksil radikallerini yıkarak lipit peroksidasyonun zincir reaksiyonlarını ilerlemesini önlediği için zincir kırıcı bir antioksidan olarak bilinmektedir (Blokhina vd., 2000). **Karotenoidlerin** absorbe ettikleri yüksek enerjili ışığı düşük enerjiye çevirip klorofille aktarmaktan başka bir diğer görevi de fotosentez sırasında doğal olarak üretilen <sup>1</sup>O<sub>2</sub> ve diğer zararlı serbest radikalleri süpürmesidir (Sieferman-Harms, 1987; Halliwell ve Gutteridge, 1998; Collins, 2001). Antioksidan etkileri genellikle yapılarındaki konjuge çift bağlardan kaynaklanan karotenoidler; peroksil, hidroksil ve süperoksit radikalleri ile singlet

oksijenin uzaklaştırılmasında ve lipitlerin peroksidatif yıkımdan korunmasında rol almaktadır (Young ve Britton, 1993; Hirayama vd., 1994; Edge vd., 1997; Eryılmaz, 2007).

Enzimatik olmayan savunma sisteminde görev alan ve sekonder metabolitler sınıfı içerisinde bulunan bir diğer önemli grup ise **fenolik bileşikler**'dir. Bitkilerde 8000'den fazla fenolik bileşik grubu bulunmaktadır. Temel fenolik bileşik grupları basit fenoller, benzokininler, fenolik asitler, asetofenonlar, fenil asetik asitler, hidrosinamik asitler, fenilpropenler, kumarinler, antrakinonlar ve flavonoidlerdir. Halkasal yapıya sahip olan fenolik bileşikler arasında en önemli grup flavonoidlerdir (Lee vd., 2004). Bazı fenolik bileşikler serbest radikalleri temizlemek için ideal bir kimyasal yapıya sahiptirler. Askorbik asit ve tokoferolden çok daha etkili antioksidan özellik gösterirler. Antioksidan özellikleri; onların hidrojen ya da elektron vericisi olarak yüksek reaktivitelerinden, polifenollerden türemiş radikalleri stabilize edebilme yeteneklerinden, eşleşmemiş elektronların delokalize etme ve lipit peroksidasyonunu önleyebilmelerinden ortaya çıkar (Rice-Evans, 1995; Blokhina, 2000; Bors vd., 2001).

Bitkilerin kuraklık toleransında diğer önemli unsurlardan biri de şeker ve diğer çözünen maddelerin kullanılmasını gerektiren **osmotik düzenleme** ile su potansiyelinin korunmasıdır (Ingram ve Bartels, 1996). Biyokimyasal olaylarda onarım mekanizmaları stresin yol açtığı zararı azaltabilir (Jenks ve Hasegawa, 2005). Moleküler ve fotosentetik seviyedeki değişiklikler kuraklığın neden olduğu zararı baskılayabilir (Cornic, 2000; Özcan ve ark, 2001). Osmolitlerin birikimi genellikle stoplazmadadır ve kuraklık stresi esnasında turgor basıncının sürdürülmesini kolaylaştırır. Bu durum stoma açılması, fotosentez ve büyümenin artırılması gibi fizyolojik olaylara katkı sağlar (Blum, 1996). Bazı osmolitlerin DNA'yı ROS'ların yıkıcı etkilerinden koruyarak, serbest radikal temizleyici olarak fonksiyon gördükleri tespit edilmiştir (Akashi vd., 2001; Matysik vd., 2002). İndirgen ve çözünür şekerler, prolin, betainler, trehaloz, K<sup>+</sup>, fruktanlar, osmotik ayarlama sağlamak için bitkiler

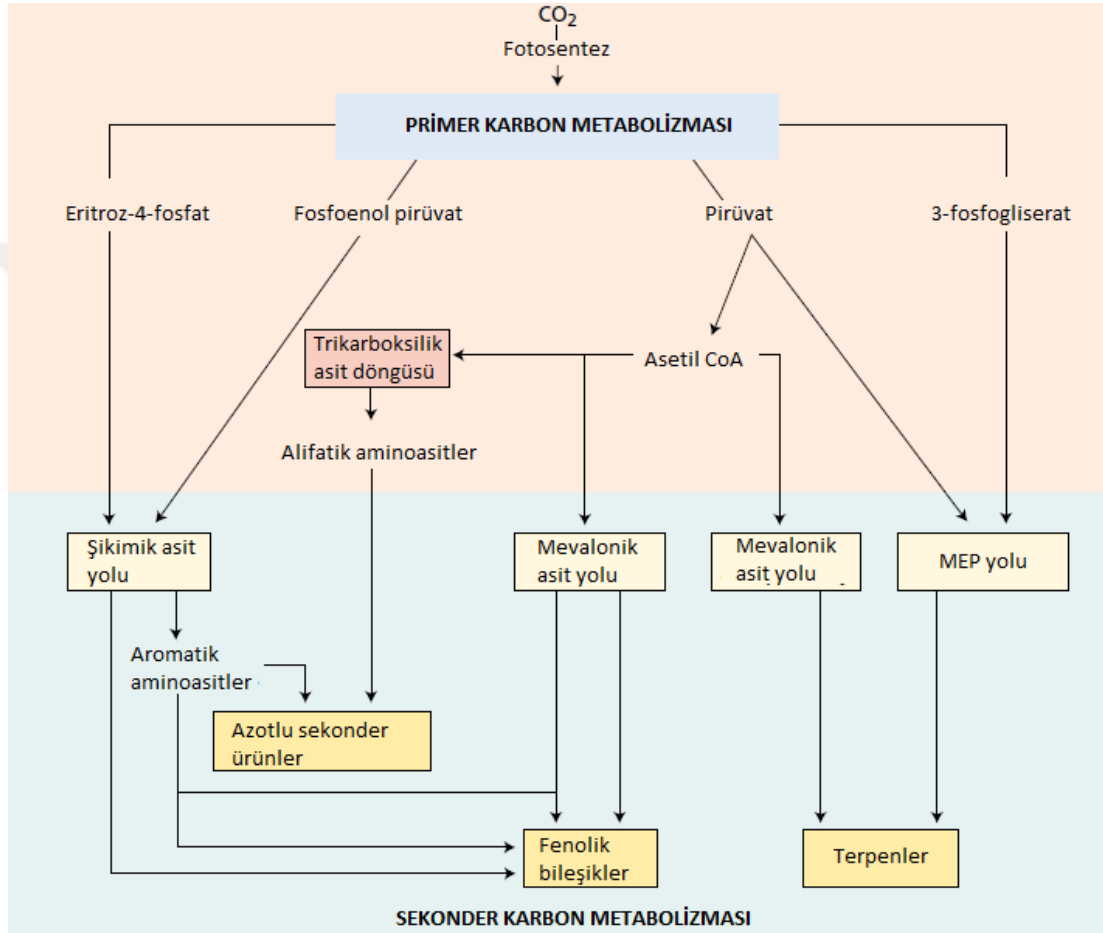
sentezlenen osmolitlerdir (Hasegawa vd., 1984; Smirnoff, 1998; Sairam ve Tyagi 2004).

Abiyotik stresler sırasında **çözünebilir şekerler** (karbohidrat) osmotik ayarlamaların yanısıra ROS sinyalizasyonunun düzenlenmesinde de rol almaktadır (Vinocur ve Altman, 2005; Seki vd., 2007). Çözünebilir şekerler oksidatif pentoz fosfat yolağı, fotosentez ve mitokondriyal solunum gibi ROS süpürücü yollarda iş görürler (Couée vd., 2006). Bu şekerlerden biri olan **mannitolün** stres boyunca özellikle OH•'in neden olduğu fotooksidatif hasara karşı hücreleri koruyabileceğı bilinmektedir. **Prolin**, kuraklık, yüksek tuzluluk, yüksek sıcaklık, donma, UV radyasyonu ve ağır metaller gibi çevresel streslere maruz kalan pek çok bitkide biriken önemli bir organik moleküldür (Nanjo vd., 1999; Rabert vd., 2014; Kanbur vd., 2016). Diğer bir osmoprotektan ise amfoterik kuartern amin olan **Glisin betain** (GB), bitkilerde tuzluluk veya yüksek sıcaklık gibi çeşitli stres koşullarında çözülmüş madde olarak önemli bir rol oynamaktadır (Sakamoto ve Murata, 2002).

Bitkiler streslere karşı mücadele etmesinde rol oynayan diğer önemli mekanizmalardan biri ise **sekonder metabolitlerdir**. Sekonder metabolitler büyüme ve gelişmeleri sırasında bitkileri herbivor ve patojenlere karşı savunan, farklı stres koşullarından zarar görmeden atlatmasını sağlayan hatta bazen bitkilerin büyüme ve gelişmelerinde kilit rol oynayan hormon yapısında olabilen bileşiklerdir (Taiz ve Zeiger, 2008). Sekonder metabolitler bitkiler aleminde sınırlı dağılım gösterirler. Bu özellik bu bileşikleri primer metabolitlerden ayırır. Zira, sekonder metabolitlere çoğu kez sadece belli bir tür ya da yakın türler arasında rastlanırken, primer metabolitler bitkiler aleminin tüm bireylerinde bulunur. (Taiz ve Zeiger, 2008).

**Sekonder metabolitlerin biyosentezi ve lokalizasyonu:** Bitkilerde sekonder metabolitler, primer metabolizmanın karbohidrat, protein ve lipit yıkım ürünlerinden sentez edilmektedir. Hidrofilik olanlar genellikle vakuolde depo edilirken lipofilik olanlar reçine kanalı, latisifer, trikoma ve kutikulada birikim gösterebilmektedir (Harborne ve Williams, 2000). Sekonder metabolitler azotlu bileşikler, fenolik

bileşikler ve terpenler olmak üzere üç ana gruba ayrılırlar. Azotlu ve fenolik bileşikler eritroz-4-fosfat ile fosfoenol pirüvatı kullanarak şikimik asit yolundan sentezlenirken, terpenik bileşikler ise pirüvat veya fosfogliseratı kullanarak mevalonik asit ya da Metil eritriol fosfat yolundan sentezlenirler (Şekil 1.4).



Şekil 1.4 Sekonder metabolitlerin biyosentez yolları (Taiz ve Zeiger'den 2008)

Sekonder metabolitlerin stres koşullarında üretimi için artar (Ramakrishna ve Ravishankar, 2011). Bitkiler, yaşadıkları çevrelerde yaşamlarının her döneminde büyüme ve gelişmelerini sınırlayıcı pek çok olumsuz şartlara maruz kalarak strese girebilirler. Son zamanlarda kuraklık stresinin etkisiyle bitkideki sekonder metabolit seviyesini artırdığını gösteren çok sayıda çalışma vardır (Singh-Sangwan vd., 1994; Nik vd., 2008; Nowak vd., 2010; Khorasaninejad vd., 2011; Farhoudi vd., 2014).

**Biyojenik uçucu organik bileşikler (BVOCs)**, bitkilerin yaprak, çiçek, kök, gövde gibi farklı kısımlarında bulunurlar ve bitkinin özel yağ hücrelerinde, yağ geçitlerinde veya salgı tüylerinde depolanırlar (Sangwan vd., 2001). Uçucu yağlar bitkilerden genel olarak çeşitli damıtma yöntemleriyle elde edilirler (Tanker ve Tanker, 2003). Bitkilerde biyojenik uçucu organik bileşikler % 0,001-25 oranında bulunurken, bitkinin kuru kısımlarında yer alırlar. Tüm lipofil çözücülerde (petrol eteri, kloroform, benzen, eter vs.) iyi çözünürler. Buna karşın suda çok az çözünürler (1/200 oranında) ancak bu çözünme bile kokularının suya geçmelerine yeter. Biyojenik uçucu organik bileşikler genel olarak renksiz veya açık sarı renklidir. (Tanker, 1976). Biyojenik uçucu organik bileşikler yağ asidi veya trigliserit yapısında değildirler. Ancak ışık ve hava karşısında zamanla oksitlenir ve reçineleşirler. Yine sulu etanolde çözünebilme özelliği bu yağları sabit yağlardan ayıran diğer önemli bir farklılıktır (Ceylan, 1997). Biyojenik uçucu organik bileşikler, bitkilerden elde edildiklerinde kimyasal olarak saf olmayıp birçok bileşen içermektedirler. Bazen bir uçucu yağ türünde 100 ayrı madde saptanabilmektedir (Sotomayor vd., 2004; Şahin Başak, 2008). Her uçucu yağ taşıyan bitkinin kendine özgü kokusu ve aromaterapik özellikleri o uçucu yağı oluşturan maddelerin kombinasyonu ve derişimlerine bağlıdır (Carrapiso vd., 2002). Uçucu yağ taşıyan bitkiler, daha çok sıcak iklim bölgelerinde yetişmektedir. Tropik ve subtropik bölgelerde ılıman iklim kuşağının sıcak bölgelerinde bulunmaktadır. Dünya florasında geniş bir yayılışa sahip olan uçucu yağ bitkilerinin sayısı 3000'den fazladır ve 100 kadar familya ile temsil edilirler (Mammadov, 2014).

**BVOCs'in rolleri:** Bitkiler izoprenler, terpenler, alkanlar, alkenler, alkoller, esterler, karboniller ve asitler gibi birçok bileşiği içine alan uçucu biyojenik organik uçucu bileşikleri üretirler (Kreuzwieser vd., 1999; Peñuelas ve Llusia 2001). En yaygın bulunan BVOCs izoprenoitlerdir. Bitki terpen konsantrasyonları genellikle kuru ağırlığın yaklaşık %1-2'sidir. Fakat bazı durumlarda bitkinin kuru ağırlığının % 15-20'sine kadar ulaşabilir (Ross ve Sombrero 1991; Langenheim, 1994). Fakat terpenleri depolamayan bitkiler bu maddeleri ürettikten hemen sonra yayarlar (Loreto vd., 2001). Terpenleri depolayan bitkilerde bu maddelerin ana fonksiyonu



patojenlere, herbivorlara ve yaralanmalara karşı savunmadır. Depolamayan bitkilerde izoprenoitlerin üretimi oksidatif stresten kaçınmak ve hücre membran hasarını önleyerek yüksek sıcaklıkta fotosentez yapmaya yardım etmektedir. Bu durum termotoleransla bağlantılı olabilir (Peñuelas ve Llusia 2002; Sharkey vd., 2001). Üstelik bazı çalışmalarda BVOCs'nin polinatör ve herbivor avcılarını cezbederek bitkilerin diğer organizmalarla iletişimini sağladığı rapor edilmiştir (Peñuelas vd., 1995; Peñuelas ve Llusia 2003).

Uçucu yağlar bitkide ısı ayarlayıcı etki yaparak su kaybını önler (Mammadov, 2014). Bu maddeler şiddetli bir şekilde buharlaşarak uçucu hale geçme özelliklerinden dolayı bitkiden ısı çeker ve böylece bitkinin doğal su dengesini korumasına yardım ederek bitkiler üzerindeki stresi azaltırlar. Uçucu yağlar güneş radyasyonunun oluşturmuş olduğu stresten bitkilerin korunması, gündüz vakti bitkilerin güneş sıcaklığına, gece ise serinlemeye adaptasyon gibi çok önemli olayları regüle ederler (Mammadov, 2014). Uçucu yağlar birçok biyolojik aktiviteye sahip olup, bunlardan bazıları antibakteriyel (Guenther, 1948; Deans ve Ritchie, 1987, Burt, 2004; Mourey ve Canillac 2002; Cha vd., 2007;), antiviral (Bishop, 1995), antifungal (Pyun ve Shin, 2006), antimitotik (Azzouz ve Bullermen 1982; Akgül ve Kıvanç 1988; Jayashree ve Subramanyam 1999) antitoksijenik (Akgül vd., 1991; Ultee ve Smid 2001) ve antiparazitik (Pessoa vd., 2002; Pandey vd., 2000), inseksidisidal (Burt, 2004; Guenther, 1948; Mahmoud ve Croteau, 2002) antioksidan (Kim vd., 2004; Singh vd., 2006) özellikleridir (Kaya, 2007; Mammadov, 2014). Uçucu yağların bileşiminde yer alan terpenik bileşiklerin, kimyasal yapılarından dolayı potansiyel antioksidan aktiviteye sahip oldukları bilinmektedir (Battino vd., 2002; Shyamala vd., 2007). Ayrıca bu bileşiklerin kimyasal yapılarındaki farklılıklardan dolayı, antioksidan aktiviteleri de oldukça değişiklik göstermektedir (Wei ve Shibamoto, 2007; Şahin Başak, 2008).

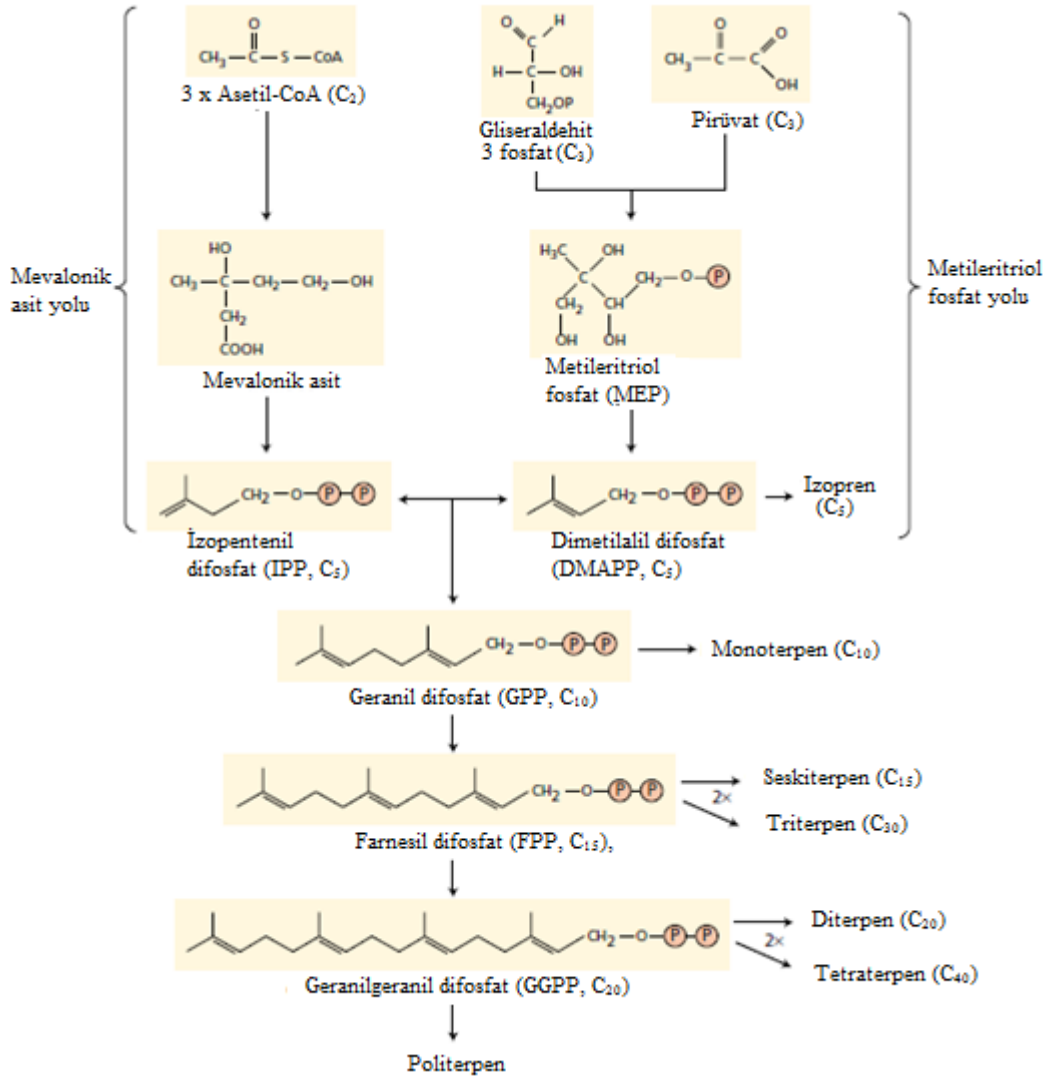
Uçucu yağların en önemli kısımları bitkiler aleminde yaygın olarak bulunan **terpenik bileşikler** ve bu bileşiklerin yüksek homologlarıdır. Monoterpenler 10 karbon atomu içerirken, bunların yüksek homologları olan seskuiterpenler 15,

diterpenler 20, triterpenler 30, tetraterpenler 40, politerpenler ise 40'tan fazla karbon atomu içermektedirler. Tüm bu moleküllerin oluşumundaki yapıtaşı ise 5 karbona sahip izopren'dir ve buda hemiterpen olarak adlandırılır (Caldefie-Chezet, 2006; Taiz ve Zeiger, 2008; Mammadov, 2014). Tüm terpenler, izopentanın dallanmış karbon iskeletine sahip beş karbonlu birimlerden oluşurlar. Terpenler yüksek sıcaklıklarda bozunarak izoprenleri oluşturdukları için temel yapısal birimleri bazen izopren birimleri olarak adlandırılırlar (Şekil 1.6) (Taiz ve Zeiger, 2008). İzotopik olarak işaretlenmiş deneyler, izopren karbonunun fotosentez sonucu yeni üretilen ara maddelerden geldiğini göstermiştir (Delwiche ve Sharkey 1993; Karl vd., 2002; Schnitzler vd., 2004). <sup>13</sup>C işaretli izoprenler, izoprenlerin fotosentez ara ürününden başka bir karbon kaynağından çok düşük bir yüzde ile sentezlendiğini gösterir (Affek ve Yakir, 2003). Muhtemel olan üretimin ise kloroplast içine alınan sitosolik pirüvata glyceraldehyde-3-phosphate (GAP) ve 1-deoxy-D-xylulose-4-phosphate (DOXP)'ın katılmasıyla 1-deoxy- D-xylulose-4-phosphate/2-C-methylerythriol 5-phosphate (DOXP/MEP) yolunda ilk ara ürün olan plastidine meydana gelmesi şekliyle olmaktadır. Fakat fotosentez inhibe olduğunda bu alternatif karbon kaynağının katkısı artar (Lichtenthaler, 2007).

Fotosentezle ilgili olarak **kuraklık stresinde** izopren emisyonunun daha az yanıt vermesi izopren biyosentezine kloroplastik ve ekstra kloroplastik süreçlerin katkısının değişmesiyle alakalı birkaç çalışma vardır. Kaybedilen karbon kaynağının bir bölümü, kuraklık stresi ve sıcaklık stresinde alternatif karbon kaynaklarının lehinde % 40-60 oranında artmıştır (Fang vd., 1996; Funk vd., 2004; Pegoraro vd., 2004a, 2004b; Brilli vd., 2007). Kuraklık stresinin şiddetli olması ve fotosentezi sekteye uğratması alternatif karbon kaynaklarını tüketerek izopren emisyonunun azalmasına sebep olur (Pegoraro vd., 2004b). Nişastanın parçalanması izopren üretimi için alternatif bir karbon kaynağı olabilir (Schnitzler et al. 2004). DMAPP'in konsantrasyonunun artması ve DOXP/MEP yolunun aktifleşmesiyle sıcaklık ve kuraklığa bağlı izopren emisyon artışı düzenlenir. Sert kurak koşullar altında izopren yayılımının inhibisyonuna düşük substrat içeriğinin neden olabileceği ileri sürülmüştür (Rosenstiel vd., 2002; Wolfertz vd., 2004). Lehning vd., (1999),

kloroplast DMAPP konsantrasyonundaki değişikliklerin izopren oluşumunu etkilediğini vurgulamışlardır. Fakat izoprenin DMAPP'a dönüşümünü katalizleyen izopren sentaz'ın aktivitesi, izopren emisyonunun kuraklıktan etkilenmediği zamanda inhibisyona uğrar (Silver ve Fall 1991; Brillı vd., 2007). İzopren sentaz aktivitesinin inhibisyonu artan kuraklık stresinde izopren sentaz geni ekspresyonuna sinyal kontrolü sağlayabilir. Ayrıca izopren sentaz protein konsantrasyonunun azalmasına sebep olabilir (Brillı vd., 2007). Brillı ve ark. (2007) izopren sentaz geni ekspresyonu ile protein konsantrasyonunun izopren salınım oranı ve izopren sentaz aktivitesiyle yakından ilişkili olduğunu belirterek izopren emisyonunun posttranskripsiyonal seviyede kontrol edilebileceğini ifade etmişlerdir. Benzer çalışmalarda tuz stresi altındaki *Eucalyptus globulus* yapraklarında izopren sentezinin arttığı fakat fotosentezin olumsuz etkilendiği vurgulanmıştır (Loreto ve Delfine, 2000).

**Terpenlerin biyosentezinde** iki metabolik yol bulunur. Bu yollardan en iyi bilineni olan mevalonik asit metabolik yolunda üç asetil-CoA molekölü adım adım birleşerek mevalonik asiti oluşturur (Şekil 1.7). Bu altı karbonlu anahtar ara ürün daha sonra fosforile, dekarboksile ve dehidrate olarak izopentenil difosfat'ı (IPP) meydana getirir. IPP'nin terpenlerin aktifleşmiş beş karbonlu yapı taşıdır. Son yıllarda IPP'nin kloroplast ve diğer plastitlerde çalışan ve bir seri farklı tepkime içeren metil eritrol fosfat (MEP) adlı yolla glikoliz veya fotosentetik karbon indirgenme döngüsünün ara ürünlerinden oluşabileceği anlaşılmıştır (Lichtenthaler, 1999). Tüm ayrıntıları tam olarak aydınlatılmamakla beraber burada gliseraldehit-3-fosfat ve pirüvattan gelen iki karbon atomunun birleşmesi sonucu IPP'ye dönüşecek bir ara ürün oluşur (Şekil 1.5) (Taiz ve Zeiger, 2008). Terpenler halkalı, düz zincirli veya kısmen halkalı ve kısmen düz zincirli bileşikler olabilirler. Yeryüzündeki en yaygın doğal ürün grubu olan terpenlerin tanımlanan sayısı günümüzde 30.000'i geçmiştir. Terpenler doğada genellikle hidrokarbonlar, alkoller ve glikozidler, eterler, aldehitler, ketonlar karboksilik asitler ve esterleri olarak gözlenirler (Breitmaier, 2006; Mammadov, 2014).



Şekil 1.5 Terpenlerin biyosentezi (Taiz ve Zeiger'den, 2008).

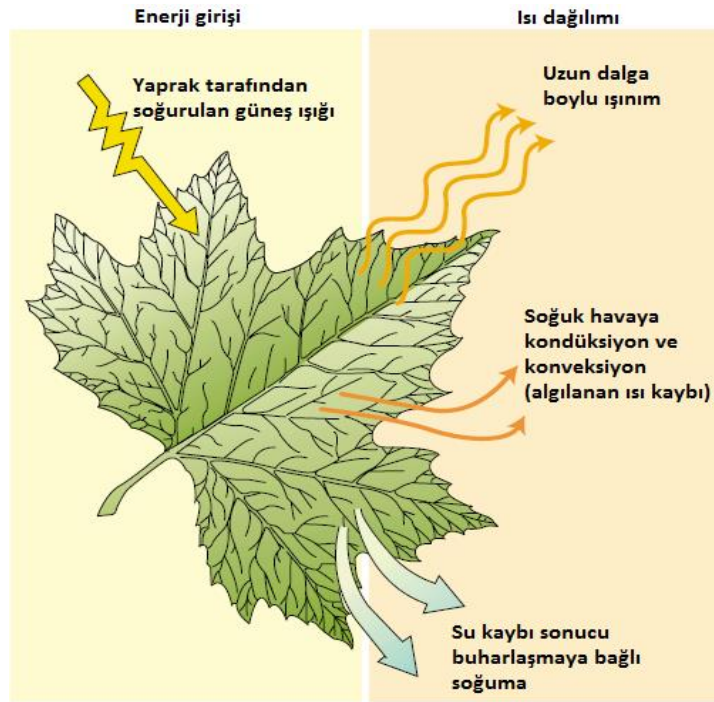
**Bazı önemli terpenler**, bitki büyüme ve gelişmesinde iyi bilinen işlevlere sahiptirler ve bu nedenle sekonder metabolitlerden ziyade primer metabolit olarak değerlendirilirler. Örneğin bitkisel hormonların önemli bir grubu olan giberellinler diterpendir ve bitkiye koruyucu özellik verir. Ayrıca diterpenlere bir diğer örnek olarak *Kalmia angustifolia* L. bitkisinden elde edilen grayanotoksin yapısındaki kalmanol bileşiği kardioaktif özellik göstermesi nedeniyle ilgi çekmiştir (Hanson, 1984). Hücre zarlarının temel bileşenleri olan steroller triterpen türevleridir ve fosfolipitlerle etkileşime girerek zar bütünlüğünü sağlarlar. Fotosentezde yardımcı pigment işlevi gören ve fotosentetik dokuları fotooksidasyondan koruyan kırmızı, turuncu ve sarı renkli karotenoidler tetraterpendir. Diğer bir bitkisel hormon absisik

asit, bir karotenoid öncülün parçalanması sonucu oluşan seskiterpendir. Dolikoller olarak bilinen uzun zincirli politerpen alkoller hücre çeperlerinde ve glikoprotein sentezinde şekerlerin taşınmasında işlev görürler. Klorofilin fitol yan zinciri örneğinde olduğu gibi, terpen türevi yan zincirler bazı moleküllerin zara tutunmasında yardımcı olurlar. Sonuç olarak çeşitli terpenler bitkilerde birincil derecede önemli rollere sahiptirler. Ancak bitkiler tarafından üretilen farklı terpen yapıların büyük çoğunluğu (monoterpenler) sekonder metabolitlerdir ve savunma işlevi gördükleri varsayılmaktadır (Taiz ve Zeiger, 2008; Velikova, 2008).

**Bitkilerde terpenlerin üretimi** hem biyotik hemde abiyotik şartlardan etkilenebilir (Peñuelas ve Llusia, 2003). En önemlileri, sıcaklık (Tingey vd., 1980), ışık (Banthorpe ve Njar, 1984), CO<sub>2</sub> konsantrasyonu (Peñuelas ve Llusia, 1997), toprakta mineral (Schonwitz vd., 1991) ve suyun fazlalığı (Kainulainen vd., 1992) gibi abiyotik faktörlerdir. Sıcaklık artışı, ısı alınımıyla enzimatik aktivitelerini artırıp, terpen buhar basıncını yükseltip salınım yollarının direncini düşürerek çoğu terpenin salınım oranını ve üretimini maksimuma çıkarır (Tingey vd., 1991; Loreto vd., 1996; Peñuelas ve Llusia, 2001). Terpen konsantrasyonlarının kuraklık durumunda genellikle arttığı bilinmektedir (Hodges ve Lorio 1975; Kainulainen vd., 1992; Llusia ve Peñuelas 1998; Turtola vd., 2003). Ancak terpen konsantrasyonları su stresi şiddetli olduğunda azalabilir (Bertin ve Staudt 1996; Llusia ve Peñuelas 1998). Bazı literatürlerde de gösterildiği üzere, sıcaklık ve kuraklığın bitkilerde monoterpen miktarına etkisi birkaç raporda gösterilmiştir (McKinnon vd., 1998; Turtola vd., 2003; King vd., 2004; Rennenberg vd., 2006). Rennenberg vd., (2006), kuraklık ve yüksek sıcaklığın uçucu organik bileşik oluşumuyla besin alınımı arasında önemli bir ilişki olduğunu gösterdi. Fakat bu üç faktör arasındaki ilişkinin etkilerini inceleyen çalışmalar oldukça azdır.

Terpenleri depolayabilen veya depolayamayan bitkilerde su stresinin monoterpen konsantrasyonlarını artırdığı birkaç araştırmacı tarafından belirlenmiştir (Hodges ve Lorio 1975; Gershenzon vd., 1978; Kainulainen vd., 1992; Llusia ve Peñuelas 1998; Loreto vd., 2001; Delfine vd., 2005). Ayrıca kuraklık kaynaklı monoterpen

konsantrasyonundaki artış terpen konsantrasyonları ve nisbi su miktarı arasındaki ters orantıyla doğrulanmıştır (Blanch vd., 2007). Üstelik kuraklık şartlarında yetiştirilen bitkiler kontrol bitkilerine nazaran bitki yüksekliği ve gövde çapı açısından daha kısadır. Kullanılan karbon bitki büyümesi yerine monoterpenlerin oluşumuyla sonuçlanmıştır (Bradford ve Hsiao, 1982; Llusia ve Peñuelas, 1998; Peñuelas ve Estiarte 1998). Gün ortasında fotosentez oranının ve stoma iletkenliğinin azaldığı sıcak akdeniz yazının tipik kuraklık stresinde fotosentetik C fiksasyonunun önemli bir kısmı terpen üretimi ve salınımı için kullanılmaktadır (Yani vd., 1993; Peñuelas ve Llusia 1999; Vallat vd., 2005). Su stresinin olduğu yapraklarda monoterpenlerin birikimi depo ya da savunma gibi ekolojik fonksiyonlara sahip olabilir (Peñuelas ve Estiarte 1998). Kuraklık, bitkilerde oksidatif strese neden olurken bitkiler oksidatif stresin neden olduğu bu hasarı monoterpenlerle azaltabilir. Böylece, bu bileşiklerin depolanmasıyla bitkinin oksidatif streslere karşı olan mücadelesi daha etkili olur. Bu nedenle, depolama kuraklık koşullarında oksidatif stres karşısında bitkileri daha dayanıklı kılar. Stres koşulları altında terpenler gibi sekonder bileşiklerin birikmesi bitkinin ışıktan göreceği hasara karşı korunmasında fotosolunumun yerini alabilir (Peñuelas ve Llusia, 2002).



**Şekil 1.6** Yaprak tarafından güneş ışığının soğurulması ve dağılımı (Taiz ve Zeiger'den 2008).

**Terpenlerin öncülü olan izoprenlerin sentezi kuraklık stresinde,** yüksek ışık ve sıcaklıklarda fotosentetik zarların kararlılığını sağlar. Amerikan meşesi, kavak ve kudzu gibi birçok bitki türü izopren salgırlar. Küresel olarak, atmosfere bırakılan bu emisyonların yıllık miktarı  $5 \times 10^{14}$  gramdır. Bu gaz formundaki hidrokarbonlar kozalaklı ağaçların oluşturduğu ormanlardaki çam kokusundan sorumlu moleküller olan  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinendir ve sıcak günlerde orman üstlerinde mavi bir pus oluştururlar. İzopren ve ilişkili hidrokarbonlar atmosferin kimyasında önemli rol oynadıklarından, atmosfer ile ilgili bilim insanlarının ilgisini çekmektedir. Yapraklardan izopren emisyonları fotosentezle asimile olan hidrokarbonun önemli bir bölümünü oluştururlar. Örneğin 30 °C'de kavak ya da meşe ağaçlarında fotosentez ile fikse edilen karbonun %2'si izopren olarak yayılmaktadır (Sharkey, 1996). Güneş yaprakları gölge yapraklarından daha çok izopren sentezlerler. Bu sentez yaprak sıcaklığı ve kuraklık stresıyla ilişkilidir. Farklı deneysel bulgular, izoprenin yüksek sıcaklıklarda fotosentetik zarların kararlılığını koruduğunu göstermiştir; **1)** Bir inhibitör ile izopren emisyonunun engellenmesi bitkilerin yüksek sıcaklıktan zarar görme duyarlılığını artırır. Diğer yandan izopren üretemeyen bitkilere izopren verilmesi ısı kararlılığı sağlar. **2)** İzopren yayamayan mutant bitkiler, yabani bitkilere göre, yüksek sıcaklıklarda çok daha kolay zarar görürler. **3)** Yaprak sıcaklığı yükseldiğinde enzimatik olarak izopren hızla sentezlenir (Teiz ve Zeiger, 2008).

**İzoprenlerin streslere toleransta termotolerans hipotezi:** İzoprenler yapraklardan ışığa bağlı olarak yayılır ve fotosentezin karbon döngüsünde direkt olarak kullanılır (Delwiche ve Sharkey, 1993; Affek ve Yakir, 2003; Schnitzler vd., 2004; Ferrieri vd., 2005). Bu açıdan izoprenlerin yayılımı yapraklarda termal koruma sağladığına işaret eder ve özellikle sıcak ortamdaki bitkilerin yaprağındaki fotosentezde iyi bilinmemektedir. (Sharkey vd., 2008). Termotolerans hipotezi bitkiyi sıcaklığın verdiği hasara karşı korunmasıyla ilişkilidir ve bu hipotezle alakalı bazı deneysel çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalarda fosmidomycin'nin izoprenlerin biyosentezinde en önemli yol olan metil eritrol fosfat (MEP)'ı (Schwender vd., 1997), indirgeyen bir bileşik olduğu vurgulanmıştır (Kuzuyama et al., 1998; Zeidler vd., 1998). Böylece izopren yayma yeteneğine sahip olan bitkilerin kısa süreli

sıcaklıklara maruz bırakılması durumundaki tepkilerinin test edilmesinin mümkün olabileceği bildirilmiştir. Bazı araştırmacılar da bunu kanıtlar nitelikte izopren yayma kapasitesinde olan bitkilerin kısa süreli yüksek sıcaklıklara dayanıklılık gösterdiklerini bildirmişlerdir (Sharkey vd., 2001; Velikova ve Loreto, 2005).

Termal koruma sağlamanın bir diğer nedeninin de bu bileşiklerin çift bağ yapısına (alken) sahip olmasıdır. İzopren ve alkenler hücre mebranları içinde çözünerek yüksek sıcaklıklarda sızıntının meydana gelmesine sebep olan su kanallarının oluşmasını önleyerek koruma sağlayabilir. Çift bağların büyüklüğü izoprenlerin yüksek sıcaklıkta hücre zarındaki kanalların doldurulmasına izin vererek mebranlardaki kaçığın önlenmesini sağlayabilir. İzopren ve alkenler sıcaklık stresinde tilakoid zarlarındaki iki tabakalı lipid yapıların hasar görmesini engelleyebilir (Şekil 1.7) (Gounaris vd., 1984). Bazı monoterpenler de termal koruma sağlayabilir (Delfine vd., 2000; Peñuelas ve Llusia, 2002; Copolovici vd., 2005). İzoprenlerin mebran zar bütünlüğünü koruma mekanizması kolesterol (Demel vd., 1996) ve karotenoidlerinkine (Ourisson ve Nakatani, 1994; Havaux ve Tardy, 1996) benzer. Yapraklar rüzgar arttığında soğurlar, güneşli durumlarda ısınırlar. Böyle durumlara karşı yaprakların zar stabiliteilerini sağlamaları için izoprenler miktarlarını en uygun seviyede tutarlar (Singsaas ve Sharkey, 1998). Böylece izoprenler mebran zar bütünlüğünü korumada hızlı ve geri dönüşümlü bir fayda sağlarlar (Sharkey vd., 2001).

Termotolerans hipotezinde izoprenler yüksek sıcaklıklarda bitkilerin fotosentezine yardım eder (Sharkey ve Singsaas, 1995; Singsaas vd., 1997). Bazı meşe türlerinde monoterpenlerin termokoruma sağladığı bildirilmiştir (Loreto vd., 1998; Delfine vd., 2000; Singsaas, 2000). İzoprenler tilakoid mebran yağ asitlerinin çift bağları ile elektriksel olarak etkileşerek ve rezonansla onları stabilize edebilir. Monoterpenlerin de izoprenlerle aynı mekanizmayla termal tolerans sağlayabilir (Loreto vd., 1998; Delfine vd., 2000). Son kanıtlar göstermiştir ki tilakoid mebranlar orta dereceli sıcaklıklarda protonlara geçirgen hale gelebilir ve bu da 45 °C'den daha yüksek



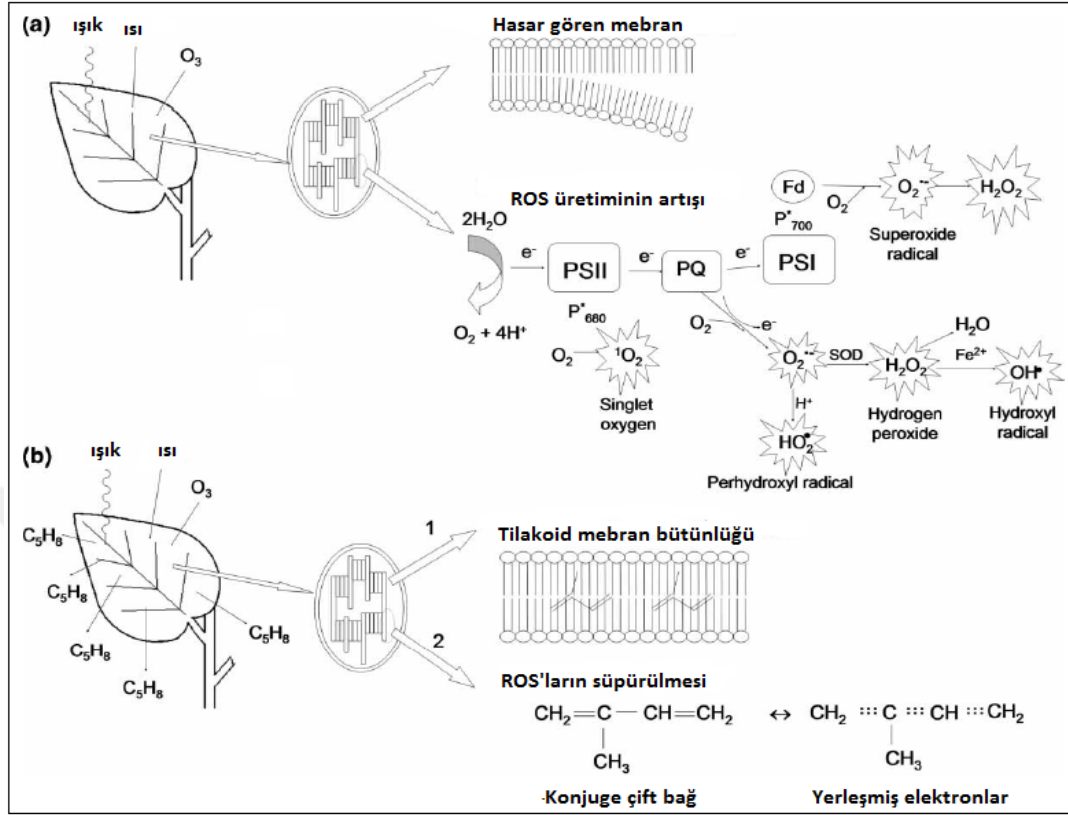
sıcaklıklarda fotosentezin inhibisyonuna sebep olabilir (Pastenes ve Horton, 1996; Bukhov vd., 1999).

**İzoprenlerin streslere toleransta antioksidan hipotezi:** Bitki metabolizmasında izoprenin olumlu rolünü açıklamak için bir başka hipotez de antioksidan hipotezdir (Velikova, 2008). İzoprenler sadece oksidatif stres altında üretilen reaktif oksijen türlerini gidermek için değil aynı zamanda zar yapısının daha güçlü ve denatürasyonlara daha az eğimli hale gelmesi için bitkiye stres anında koruma sağlarlar. Temelde her çevresel faktör (yüksek sıcaklık ve ışık, tuzluluk, kuraklık, ağır metal kirlenmesi gibi) bitki işlevselliğini değiştirerek, yapraklarda oksidatif hasara neden olabilir. Oksidatif strese  $^1O_2$ ,  $\bullet OH$ ,  $H_2O_2$  ve  $O_2^{\bullet -}$  gibi radikallerin miktarının artması sebep olur (Mittler, 2002). ROS aynı zamanda normal metabolizmanın ürünü olarak da meydana gelir. Bitkiler ROS'ları detoksifiye etmek için enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir (Noctor ve Foyer 1998). Biyomembranlar ve hücre içi organeller ROS için en hassas hedefleridir (Grassmann vd., 2002). Lipid peroksidasyonunun sonucu olarak membran bütünlüğü zarar görebilir. Ayrıca zar proteinlerinin aktiviteleri de olumsuz etkilenebilir. Fotokimyasal özellikleri ve işlevsel organizasyonu da dahil olmak üzere tilakoit membranlardaki değişiklikler bazı çalışmalarda vurgulanmıştır (Berry ve Björkman 1980; Bukhov vd., 1999; Schrader vd., 2004). Fakat oksidatif stres aynı zamanda stres hasarlarını da içerir.

İzoprenlerin stres koşulları altında singlet oksijen ve diğer toksik ROS üretimine karşı fotosentez mekanizmasını koruması değerlendirilmiştir. Yapraklarına Rose Bengal kimyasalı uygulayarak singlet oksijen oluşumunun tetiklenmesiyle stres oluşturulan bir çalışmada, yapraklarına izopren uygulanmış *Rhamnus alaternus* ve *Myrtus communis* bitkilerinin izopren yaymayan genç yaprakları izopren uygulanmamış yapraklarına oranla çok daha az hasara uğramıştır (Affek ve Yakir, 2002). Singlet oksijene karşı savunmada içsel izoprenin miktarı Velikova vd., (2004) tarafından da doğrulanmıştır. İzopren yayan *Phragmites* yapraklarında orta derecede singlet oksijen yoğunluğunda fotosentez, hidrojen peroksit ve membran bütünlüğünü

etkilenmezken izopren yaymayan yapraklarda ise fotosentezin azalmasının yanında lipid peroksidasyon ve hidrojen peroksit de birikiminin arttığı gözlenmiştir (Velikova vd., 2004). Singlet oksijene karşı koruma sağlayan mekanizmada izoprenlerin bu zararlı ROS'larla doğrudan reaksiyonlara girerek etkili olabileceği ileri sürülmüştür. Bu varsayım izopren yayılımının kontrollerine kıyasla stresli bitkilerde önemli derecede düşüş gösterdiği gerçeğini destekler niteliktedir. Düşük izopren emisyonunun bitkinin singlet oksijeni azaltmak için izopren tükettiğiyle açıklanmaya çalışılmıştır. İzoprenlerin oksidatif stresi azalttığı fikri yapılarındaki çift bağlardan kaynaklandığı bildirilmiştir. Benzer şekilde bir terpen olan karotenoidlerde olduğu gibi izopren moleküllerinde de konjuge çift bağların varlığı kolay elektron ve enerji transferiyle ısı dağılımına izin verebilir; böylece izoprenler hücrenin antioksidan gücünü yükseltebilir (Velikova, 2008). İzopren biyosentezinin kloroplasttaki lokalizasyonu göz önünde bulundurulduğunda, izoprenlerin ROS süpürme yetenekleri oksidatif streslere karşı bitkinin korunmasını son derece önemli kılar (Şekil 1.7) (Logan vd., 2000).

İzoprenlerin bitkileri çeşitli streslere karşı korumadasında iki moleküler mekanizma ileri sürülmüştür. **1.** Tilakoid membranının stabilitesi kısa zincirli izopren molekülünün hidrofobik özelliklerine göre belirlenir ve bu da izoprenlerin lipid membranına tutunmasını sağlar. Böylece iki tabakanın ayrışmasını önler. **2.** ROS süpürme ve konjuge çift bağların sayesinde fazla enerjiyi indirgeme yeteneği elektron ve enerji transferine izin verir (Velikova, 2008).



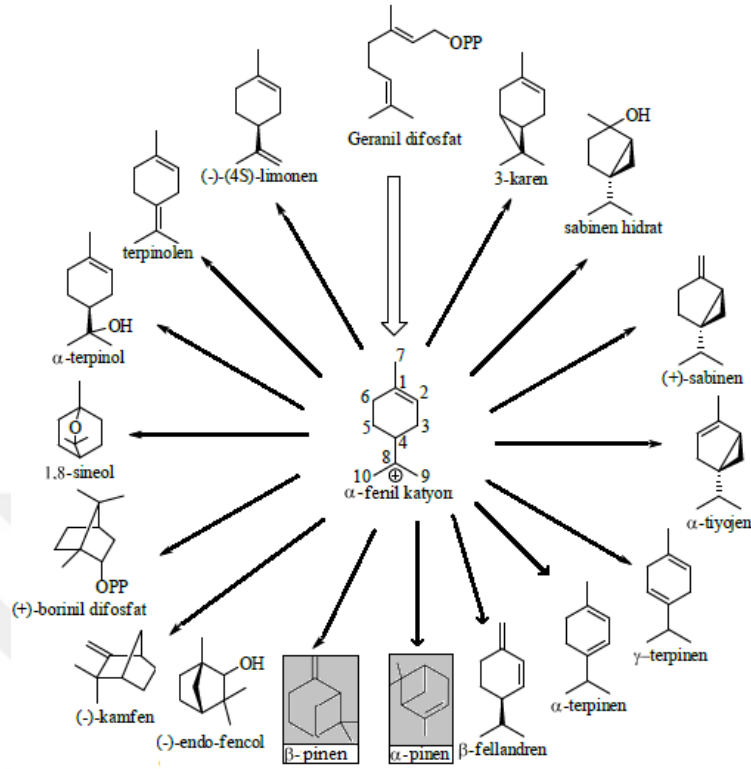
**Şekil 1.7** ROS'ların genel gösterimi (a) ve izoprenlerin streslere karşı koruyucu mekanizması (b). (Velikova, 2008)

**Monoterpenler** iki izopren biriminden oluşan on karbonlu aromatik bileşikleridir (Taiz ve Zeiger, 2008). Lipofilik oldukları için kolayca hücre membranından geçebilirler (Mühlbauer vd., 2003). Monoterpenlerde otuz sekiz farklı iskelet tipine rastlanmıştır. Bunların çoğu düzenli tiptedir, yani iki izopren molekülü 'baş-kuyruk' bağı ile bağlıdır. Birçok monoterpenin doğada tek bir izomeri bulunur. Fakat aynı bitkide iki izomerin bulunması haline sıkça rastlanır. Monoterpenlerin en yaygın kullanılanları  $\alpha$ -pinen ve  $\beta$ -pinen'dir. Çam ağaçlarında bulunurlar ve plastik sanayinin hammaddesi, parfümeri sanayinin ise başlangıç maddesi olarak kullanılırlar. Bunun yanı sıra monoterpenler antispazmotik, antibakteriyel, antifungal ve hatta antikanser özellikleri nedeni ile halk ilaçlarında kullanılırlar (Manitto, 1981). Monoterpenler genelde uçucu yağların yapısında yer alan düzgün terpenlerin, düzensiz terpenlerin ve iridoitlerin yapısında bulunurlar. Çoğu serbest haldedir. Fakat glikozidik formlarına da rastlanmaktadır. Glikozidik formları aromalı olup şeftali, üzüm, kiraz, ahududu gibi birçok meyvede bulunurlar. Doğada yaklaşık 1500

civarındadırlar ve 40 grupta temsil edilirler. Monoterpenlere bitkiler aleminde ballıbabagiller, çamgiller, maydanozgiller, yılanıyastığıgiller, lohusaotugiller, papatyagiller, turpgiller, turnagagasıgiller, kazayağıgiller, servigiller, buğdaygiller, binbirdelikotugiller, defnegiller, mersingiller, küçük hindistancevizigiller, salepgiller, gülgiller, sedefotugiller, su servisigiller, kediotugiller, menekşegiller, zeytingiller ve zencefilgiller familyalarında oldukça sık rastlanırlar (Mammadov, 2014).

Bitkiler aleminde oldukça yaygın bulunan monoterpenler onlardan elde edilen kokulu karışımlar olan uçucu yağların başlıca bileşenleridir (Gomes-Carneiro vd., 1998). Bitkilerin bileşikleri olan monoterpenlerin birçoğu insanların besinlerinde bulunmakta ya da birçoğu besin olarak kullanılmaktadır (Elegbede vd., 2003). Monoterpenlerin biyolojik ve farmakolojik aktivitelerinden dolayı tıbbi kullanımlarının dışında, çeşitli özel ve endüstriyel uygulamaları da bulunmaktadır. Örneğin kimyasal sentezlerde ve kimya sanayinde sentez başlangıç maddesi, aroma ve koku kimyasalı, gıda katkı maddesi, boya ve çözücü, insekdisidal ve pestisit olarak kullanımı yaygındır. Terpenlerin yenilenebilir hammadde olarak petrokimyasallara alternatif kullanımları da son yıllarda teşvik edilmektedir (Mammadov, 2014).

Monoterpenler yapılarına göre üç grupta incelenirler; **Asiklik monoterpenler:** Düz zincir halindedir ve 3 çift bağ taşırlar. Optikçe aktiflikleri yapılarında taşıdıkları asimetrik karbon atomundan ileri gelmektedir. **Monosiklik monoterpenler:** Bir halka ve iki çift bağ taşırlar. **Bisiklik monoterpenler:** İki halka ve bir çift bağ taşırlar (Mammadov, 2014).



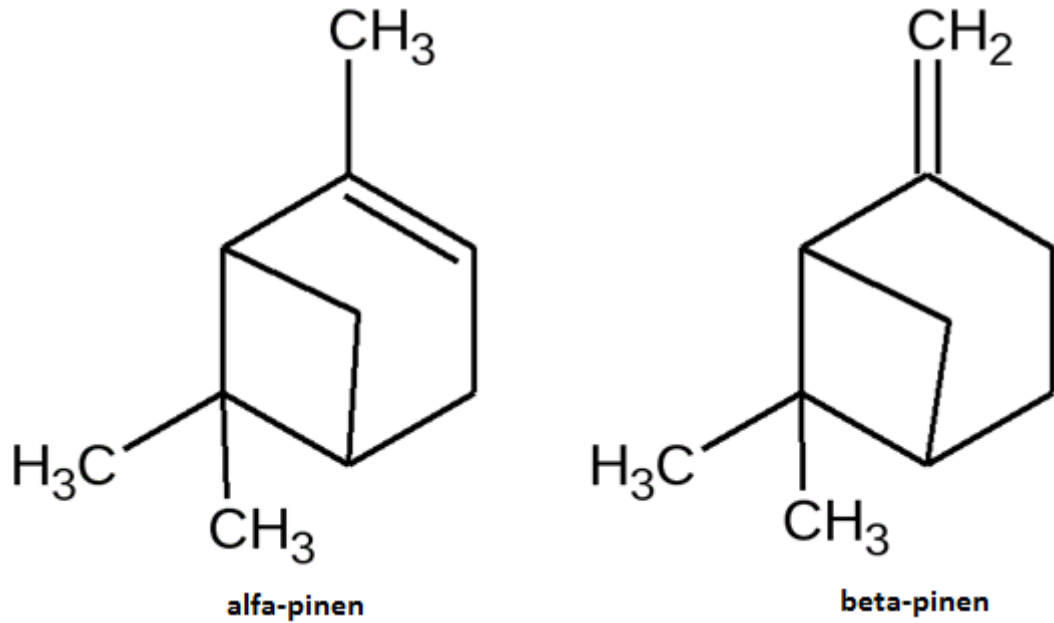
**Şekil 1.8**  $\alpha$ -fenil kasyonu üzerinden sentez olunan monoterpener (Mammadov, 2014).

Günümüzde monoterpenerin insektisidal, antifungal, pestisidal ve herbisidal etkileriyle ilgili çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Ancak monoterpenerin kuraklık stresine dayanıklılıktaki rolleri ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu tezin temelini oluşturan bir ön çalışmada aromatik bir bitki olan *Nepeta meyeri*'nin farklı kuraklık şartlarında yetiştirildiğinde esansiyel yağ profilinde artış gösteren  **$\alpha$ -pinen ve  $\beta$ -pinen'in** kuraklık stresi toleransında rol alabileceği bir hipotez olarak ileri sürülmüştür.

**$\alpha$ -pinen**, pinen'nin iki izomerinden biri olan terpenlerden organik bir bileşiktir. Bir alkendir ve 4 elemanlı reaktif bir halka içerir (Simonsen, 1957).  $\alpha$ -pinen turpentinin ana bileşenidir ve diğer birçok bitkinin yaprak ve uçucu yağlarının bir ürünüdür (Yoo, 2000).  $\alpha$ -Pinen doğada yaygın olarak bulunur ve kozalaklı ağaçların esansiyel yağlarında bolca bulunur (Azizoğlu, 2004). Günümüzde üretilen pine-oil'in %80-85 kadarı  $\alpha$ -pinenin seyreltik mineral asitlerle hidrasyonu ile elde edilen sentetik

üründür. Pine-oil antibakteriyel etkisi, çamsı kokusu, kokusunun sabitliği ve düşük fiyatı nedeniyle dezenfektanlar, temizleme maddeleri ve deterjanlarda geniş ölçüde kullanılmaktadır  $\alpha$ -pinen ayrıca bazı doğal ve sentetik uçucu yağların ana bileşeni olan ve çiçeksi kokusu ile parfümeride geniş kullanıma sahip linalool içeren çeşitli koku ve parfümlerin bileşimlerinde bir çıkış maddesi olarak da kullanılır (Gül, 1999). Yapılan araştırmalar sonucunda  $\alpha$ -pinen türevlerinin antioksidan, antikansorejen, antifungal özelliklerinin yanı sıra bakteri ve böcek öldürücü özellikte olduğu gözlenmiştir (Mercier, 2009).  $\alpha$ -pinenin toksik özelliklerinin tam olarak incelenmemiş olmasına rağmen, yüksek konsantrasyonlarda cilt, gözler, solunum sistemi ve mukoza membranlarında tahrip edici olduğu bilinmektedir (Lenga, 1988; Benli Badakbaş, 1990).

**$\beta$ -pinene;** açık formülünde halkanın dışında yerleşmiş bir çift bağ bulunur (Bonn ve Moortgat, 2002). Bol miktarda bulunan monoterpenlerden bir tanesidir ve bisiklik yapıdadır. Yapılan araştırmalarda  $\beta$ -pinenin antifungal, antimikrobiyal, antiradikal, antioksidan, antikarsinojen ve böcek öldürücü özellikler gösterdiği bilinmektedir (Mercier vd., 2009).



Şekil 1.9  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen monoterpenlerinin temel yapısı

Çalışma materyali olan **buğday** (*Triticum aestivum*) tüm dünyada ve ülkemizde tarımı en sık yapılan kültür bitkileri arasındadır. Dünya genelinde buğday bitkisi; tek yıllık, vejetasyon süresi 120-150 gün olan ve günlük ortalama optimum sıcaklık isteği 20 °C civarında bir C<sub>3</sub> bitkisi olarak tanımlanmaktadır (Van den Boogard, 1995; Slafer vd., 1996; Sadras ve Calderini, 2009; Tatar, 2011). Dünyada tarımsal faaliyetlerin başlangıcının 10.000 yıl öncesine kadar dayandığı bilinmektedir. Ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.), dahil olduğu C<sub>3</sub> bitkilerinin o dönemlerden günümüze kalan, ekiliş alanları ve gıda kaynakları bakımından baskın bitki türleri olarak kabul edilmektedir (Evans, 1998; Araus vd., 2002). Buğday'ın bu çağlarda ilk olarak, bugünkü Suriye, Türkiye'nin güneydoğusu ve İran'ın belirli kısımlarını içine alan Mezopotamya bölgesinde yetiştirilmeye başlandığı bilinmektedir. Günümüzde dünya'nın farklı bölgelerine yayılmış ve farklı çevrelere uyum göstermiş 20.000'in üzerinde *Triticum aestivum* L. türüne ait çeşit bulunmaktadır.

Literatürde birçok araştırmacı tarafından da kuraklık koşullarında bitkinin esansiyel yağ profilinde  $\alpha$ -pinen ve  $\beta$ -pinen monoterenlerinin arttığı rapor edilmiştir. Fakat bu monoteren yapıdaki iki kimyasalın kuraklık toleransındaki rolü henüz bilinmemektedir. **Bu çalışmanın amacı da;** 1) Kuraklık şartlarda uygulanan bu maddelerin ( $\alpha$ -pinen ve  $\beta$ -pinen) bitkide stresli şartlar için bitki tarafından oluşturulmuş antistres faktörü olup-olmadığını araştırmak. 2) Elde edilen bu kimyasalların etki mekanizması hassas-dayanıklı varyetelerde fizyolojik ve biyokimyasal olarak açıklamaya çalışmak. 3) Kuraklığa hassas bitkilere bu durumla karşılaşmadan önce yapılacak uygulamaların, bitkiyi kuraklığın zararından kurtarabilme veya en az zararla atlatılabilmesini sağlamaktır.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Literatür incelendiğinde kuraklık stresi altındaki uygulanan bitkilerde meydana gelen fizyolojik ve biyokimyasal değişimleri içeren çok sayıda çalışma yapıldığı görülmektedir. Buğdayın farklı gelişme dönemlerinde kuraklık stresinin etkilerinin incelendiği bir çalışmada, araştırılan 3 farklı buğday varyetesinde de oransal su içeriği ve klorofil miktarında düşüş gözlenmiştir (Keyvan, 2010),

Zarei vd. (2007), 20 buğday çeşidi ile iki farklı lokasyonda tek yetiştirme döneminde gerçekleştirdikleri tarla çalışmasında, kuraklığa dayanıklılık ile ilişkili olabilecek dolaylı parametreler üzerinde çalışmışlardır. Kuraklığa dayanıklılığın, hücre membran stabilitesi ile yakından ilişkili olduğunu belirtmişlerdir.

Tatar ve Gevrek (2008), kontrollü koşullarda gerçekleştirdikleri çalışmada, kuraklığın buğdayın erken gelişme dönemine ait fizyolojik ve biyokimyasal etkileri üzerine incelemelerde bulunmuşlardır. Kuraklık uygulaması sonrası birer hafta aralıklar ile 5 hafta boyunca gerçekleştirdikleri ölçümlerde yaprakta MDA içeriğinin yükseldiği ve oransal su içeriğinin düştüğünü tespit etmişlerdir.

Xiaoqin vd. (2009), ekmeçlik buğday çeşidini 2 farklı kuraklık ortamında yetiştirdikleri çalışmalarında, stresin buğday fidelerinde kuru ağırlıkta düşüğe neden olduğunu bildirmişlerdir.

Nikolaeva vd. (2010), 3 buğday çeşidi ile gerçekleştirdikleri araştırmada aşamalı olarak uygulanan kuraklığın yapraklarda membran stabilitesi, antioksidan aktivitesi ve klorofil içeriği üzerine etkilerini değerlendirmişlerdir. Yapraklarda klorofil miktarında kuraklığın ilk evrelerinde değişim gözlenmezken en son aşamasında (uygulamadan 7 gün sonra) düşüş göstermeye başlamıştır. Kuraklık uygulaması ile membranlarda oluşan zarar da stres uygulamasının ilk aşamalarında önemsiz düzeydeyken, uygulamanın 7. Gününden itibaren % 16 artışla önemli düzeye ulaşmıştır.



Kuraklık stresine tepkileri farklı olan iki buğdayın  $H_2O_2$  içeriğinin incelendiği çalışmalarda, kuraklık stresi ile birlikte içsel  $H_2O_2$  miktarının arttığı vurgulanmıştır. Bu artışın hassas varyetede daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Sairam vd., 1998; Sairam vd., 2001). Aynı streste yetiştirilen pirinç fidelerinde ise  $O_2^{\bullet-}$ , MDA ve klorofil içeriğinin önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir (Boo ve Jung, 1999; Sharma ve Dubey, 2005).

Kuraklığa dayanıklılıkları farklı olan üç buğday çeşidiyle yürülen başka bir çalışmada ise çiçeklenme sonrası uygulanan kuraklığın membran stabilitesi, klorofil ve karatenoid içeriği ile antioksidatif enzim aktiviteleri üzerine etkilerini incelemiştir. Elde edilen sonuçları değerlendirdiklerinde kuraklık stresinin tüm çeşitlerde MDA miktarını artırarak membran stabilitesinde hasara neden olduğunu, aynı zamanda klorofil ve karatenoid içeriklerinde de düşüş belirlediklerini ifade etmişlerdir. Dayanıklı çeşidin daha düşük MDA içeriği ile ve bununla bağlantılı olarak da membran hasarının daha düşük seviyede gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Ayrıca klorofil ve karatenoid içeriğinin artışından dolayı dayanıklı olarak belirtilen çeşidin daha yüksek tolerans gösterdiğini belirtmişlerdir. Antioksidan enzim açısından değerlendirildiğinde ise kuraklık stresi ile artan APX, GR ve POD aktivitelerinin dayanıklı varyetede hassas varyeteye göre daha yüksek seviyede gerçekleştiği kaydedilmiştir (Sairam ve Saxena, 2000).

Sanchez vd. (2010), kuraklık stresinin domateste, bitki gelişimi ve yaprak oransal su içeriğinin olumsuz etkilediğini, stres ile birlikte yaprak dokularında MDA miktarında artış meydana geldiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar, stres koşullarında GR, APX ve CAT enzim aktivitelerinin artış gösterdiğini saptamışlardır ve yaprak oransal su içeriğinin dayanıklı çeşitlerde daha yüksek çıktığını ifade etmişlerdir. Antioksidan enzim aktivitesi ise duyarlı çeşitlerde yüksek seviyede gerçekleştiği vurgulanmıştır.

Geçici olarak kuraklık stresine tabi tutulan buğdayda, antioksidan savunma sistemi ve prolin akumulasyonunun bu strese dayanıklılıktaki rollerinin belirlendiği bir araştırmada; buğdayın generatif döneminde antioksidan koruma sisteminin kuraklığa

dayanıklılıkta önemli rol oynadığını, fide döneminde ise böyle bir ilişkinin olasılığının daha düşük olduğu belirtilmiştir. Araştırmacılar prolin akümülyasyonunun ve metabolik aktivitelerin elastikiyetinin dayanıklılık üzerinde etkili olduğu sonucuna varmışlardır (Simova-Stoilova vd., 2008).

Kuraklık stresinde yetiştirilen pirinç fidelerinde AsA, GSH,  $\alpha$ -tokoferol ve karotenoid içeriğinin önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir (Boo ve Jung, 1999; Sharma ve Dubey, 2005).

Johari-Pireivatlou vd. (2010), çiçeklenme sonrası kuraklığın 4 farklı buğday üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Uygulanan kuraklık stresi ile bitkilerde ortalama % 25 verim kaybı gözlenirken stres koşullarının bitkilerde toplam çözünebilir karbohidrat miktarının artışına neden olduğu belirtilmiştir.

Kuraklık stresi altındaki bitkilere uygulanan bazı antistres ajanları yardımıyla tolerans kazandırma çalışmaları da mevcuttur. He vd. (2009),  $H_2O_2$  ile ön muamele yapılan buğday tohumlarının kuraklığa dayanıklılığını araştırmışlardır.  $H_2O_2$  uygulanmış olan filizlerin kontrol grubuna göre daha düşük gelişme gösterdiği ve bunun nedeni ise içsel antioksidan sistemleri olduğu rapor edilmiştir. Çalışmada bu filizlerin yüksek fotosentez oranına, yaprak alanına ve kuru ağırlığa sahip oldukları saptanmıştır. Bunun yanında  $H_2O_2$  uygulamasının, su kullanım verimliliğini ve prolin miktarını artırdığı belirtilmiştir.  $H_2O_2$  ön muamelesinin membran stabilitesini geliştirdiği, membran hasar oranında ve MDA içeriğinde azalma sağladığı belirtilmiştir. Filizlerde, CAT ve APX gibi antioksidan enzimlerin ifadesinde artış saptanmıştır. Çalışmanın ardından  $H_2O_2$ 'nin stres şartları altında antioksidan enzimlerin aktivasyonunu tetiklediği böylece oksidatif hasarın hafifletildiği ve kuraklık şartları altında filizlerin fizyolojik davranışlarını iyileştirdiği rapor edilmiştir.

SNP kullanarak dışsal NO'nun osmotik stres uygulanmış buğday fidelerinde oksidatif hasarın ve prolin birikiminin araştırıldığı bir çalışmada, bu stresin buğday

yapraklarında SOD ve CAT aktivitesinde azalmaya neden olurken süperoksit anyonu üretiminde ise artış meydana getirdiği saptanmıştır. Bu durumun ise lipit peroksidasyonunda artışa ve fotosentezde düşüşe neden olduğu bildirilmiştir. NO uygulamasının ise SOD ve CAT aktivitesi ile süperoksit anyonu miktarını artırıcı, lipit peroksidasyonunu inhibe edici etki yaptığı bildirilmiştir. Osmotik stres altında uygulanan NO'nun yaprak su kaybının azalmasına, oransal su ve prolin içeriğinin ise artmasına neden olduğu belirtilmiştir. Sonuç olarak NO'nun buğday yapraklarında osmotik stresin neden olduğu spesifik hasarları engellediği rapor edilmiştir (Tan vd., 2008)

Aldesuquy ve Ghanem, (2015) yaptıkları çalışmada; kuraklık stresi koşullarında hassas ve dayanıklı buğday varyetelerini yetiştirmişlerdir. Elektrolit sızıntı, MDA, fenolik bileşik ve flavonoid miktarındaki artışın hassas varyetede, APX ve POD enzimlerinin aktivitelerindeki artışın ise dayanıklı varyetede daha belirgin olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmalarında her iki varyeteye de ayrı ayrı ve kombin trehaloz-salisilik asit uygulamalarının lipid peroksidasyon seviyesini ve elektrolit sızıntı miktarını azalttığı kaydedilmiştir. Ayrıca bu uygulamaların APX ve POD enzimlerinin aktivitelerini de önemli ölçüde düşürdüğü ifade edilmiştir. Bu düşüşün ise dayanıklı varyetede daha fazla gerçekleştiği belirlenmiştir. Araştırmalarının sonucunda trehaloz-salisilik asit uygulamalarının buğdayda kuraklığa toleransta önemli katkı sağladığını tespit etmişlerdir.

Fasulye bitkilerine ise su stresi altında farklı salisilik asit dozları uygulaması yapılmış, bitkiler üç yapraklı döneme ulaştığında her üç günde bitkiler salisilik asit 0.025-0.1 mM dozları dokuz gün uygulanmıştır. Bitkiler solma noktasına ulaşıncaya uygulama kesilmiştir. Etkili ve potansiyel kuantum verimi ve elektron taşıma hızı stres sırasında ve sonrasında ölçülmüştür. Prolin içeriği, SOD aktivitesi, çözünen protein içeriği ve kuru madde içeriği 24 saat sonra ölçülmüş ve artan salisilik dozlarında bitkide toleransın artırıldığı bildirilmiştir (Neto ve Duares, 2006).

Bitkilerde değişik amaçlar için üretilen sekonder metabolitlerin biyolojik aktivitelerinin ortaya konması amacıyla yapılmış birçok çalışma vardır. Bu çalışmaların bazılarında  $\alpha$ -pinen'nin kanserli dokular üzerinde antiprolifetatif (hücre çoğalmasını nleme), apoptotik ve antimetastatik etkiye sahip olduğu vurgulanmıştır (Matsuo vd., 2011; Aydın vd., 2013)

Sieniawska vd. (2013), *Mutellina purpurea* bitkisinde izole ettikleri  $\alpha$ -pinen monoterpenini *Staphylococcus epidermidis* bakterisine 0.625 mg/mL konsantrasyonunda uygulamışlardır. Sonuç olarak önemli düzeyde antibakteriyel tesir gösterdiğini vurgulamışlardır.

Porres-Martínez vd. (2015), *Salvia lavandulifolia* bitkisinden elde ettikleri  $\alpha$ -pinen monoterpenin invitro koşullarda antioksidan özelliğini belirlemişlerdir. alışmalarında  $\alpha$ -pinen'in antioksidan içeriğini 0.03 (mmol Trolox/mg) olarak belirlemişlerdir.

Gomes-Carneiro ve ark. (2005), (+)&(-)- $\alpha$ -pinene  $\beta$ -myrcene ve  $\alpha$ -terpinene monoterpenlerini herhangi bir mutajenik etkisinin olup olmadığını gözlemlemek için *Salmonella typhimurium* bakterisine uygun konsantrasyonlarda uygulamışlardır. Mutajenik etki gözlememişlerdir.

Adegoke vd. (2000),  $\alpha$ -terpinen, (+)-limonen,  $\alpha$ -pinen, 1,8-cineol olmak üzere 4 farklı monoterpenin gıda bozulmalarına sebep olan bazı mayalar ve mikotoksijenik küfler üzerine antifungal aktivitesini incelemişlerdir. Sonuç olarak  $\alpha$ -terpinen ve (+)-limonen'nin daha etkili olduğunu tesbit etmişlerdir. Liapi ve arkadaşlarının (2007), *Eucalyptus camaldulensis* bitkisinin yapraklarından elde ettikleri  $\beta$ -pinen monoterpeninin antinosiseptif özelliğini incelemişlerdir. Bulgularında neredeyse morfine eşdeğer bir ağrıyı dindirici bir etkisinin olduğunu belirtmişlerdir.

Lu vd. (2002), *Hyssopus officinalis* bitkisinin kas gevşetici özelliğini inceledikleri çalışmalarında bu bitkinin majör esansiyel yağlarını tesbit ettiklerinde

isopinocampone ve limonene ile birlikte beta-pinene'ninde olduğunu belirlemişlerdir.

Martins vd. (2001), Zingiberaceae familyasına ait üç farklı türün esansiyel yağ içeriğini incelemişlerdir. Bu üç türün hepsinde de  $\beta$ -pinen majör esansiyel yağ olarak tesbit edilmiştir. Ayrıca esansiyel yağ içeriklerinin Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere, ipliksi mantarlara ve mayalara karşı antimikrobiyal etkilerinin olduğu belirlenmiştir.

Lee vd. (2008), *Pinus koraiensis* bitkisinden elde ettikleri esansiyel yağı Gram-pozitif, Gram-negatif bakteriler ve bazı mantarlar üzerinde önemli ölçüde antimikrobiyal etkilere sahip olduğunu belirlemişlerdir. Esansiyel yağ içeriği incelendiğinde  $\beta$ -pinene'nin majör yağlardan biri olduğu görülmektedir.

Schmidt vd., (2009), *Mentha x piperita* bitkisinin güçlü bir antioksidan etkiye sahip olduklarını belirtmişler ve bunun yanında bu bitkinin esansiyel yağ kompozisyonunu incelediklerinde  $\beta$ -pinen'nin majör yağlardan biri olduğunu göstermişlerdir.

Daise vd. (2008), *Artemisia* cinsine ait 7 farklı türün hem esnsiyel yağ kompozisyonu hem de antioksidan ve antimikrobiyal etkilerini belirlemişlerdir. Bu çalışmadaki *Artemisia cana*, *A. frigida*, *A. longifolia* ve *A. ludoviciana* türlerinin esansiyel yağ içerikleri incelendiğinde beta-pinene'nin majör yağlardan biri olduğu görülür.

Bektaş vd. (2005), *Salvia tomentosa* bitkisinin antimikrobiyal ve antioksidan etkilerini araştırdıkları çalışmada  $\beta$ -pinene'nin majör yağlardan biri olduğunu göstermişlerdir.

Mourey ve Canillac (2002), konifer ağaçların majör esansiyel bileşeni olan  $\alpha$  ve  $\beta$  pinene, R- ve S-limonene, 1,8 cineole, borneol esansiyel yağlarını insanlarda ve hayvanlarda patojen olan *Listeria monocytogenes* bakterisi üzerine uyguladıklarında önemli ölçüde bakteriyi inhibe edici etkisini gözlemlemişlerdir.

Porres-Martínez vd. (2015), tıbbi özelliğiyle bilinen *Salvia lavandulifolia* bitkisinin esansiyel yağ komponentlerini tespit ettikten sonra majör element olarak belirledikleri  $\alpha$ -pinene ve 1,8-cineole monotерpenlerini kanserli beyin doku hücre kültürüne uygulamışlardır. Çalışmalarında iki monotерpenin antiradikal ve hücre koruyucu etkisini ve SOD, CAT, POD ve GR aktivitelerini elektroforetik yöntemle belirlemişlerdir. Sonuç olarak  $\alpha$ -pinene ve 1,8-cineole monotерpenlerinin kanserli doku hücrelerinde redoks düzenleyici olarak koruyucu etki sağladığını vurgulamışlardır.

Sekonder metabolitler birçok biyolojik aktivitelerinin yanında, bitkilerin stres koşullarının üstesinden gelmesinde ve onların çevre koşullarına adaptasyonunda çok önemli rol oynarlar. Çevre faktörlerinden olan sıcaklık, nem, yüksek ışık yoğunluğu, fazla su ve mineral streslerinde sekonder metabolitlerin üretimi artış gösterir (Ramakrishna ve Ravishankar, 2011). Farklı stres etmenleri ile bitkilerde meydana gelen sekonder metabolit artışı ile ilgili bazı çalışmalar incelendiğinde;

**Tuz stresi altında yetiştirilen;** *Grevillea* türlerinde antosiyanin (Parida vd., 2005), domates’de jasmonik asit (Pedrazani vd., 2003), biber’de toplam fenolik madde (Navarro vd., 2006), *Helianthus annuus*’da poliamin (Mutlu ve Bozcuk, 2007), *Sesamum indicum*’de GABA (Bor vd., 2009), *Hordeum vulgare*’de Flavonoids (Ali ve Abbas, 2003), *Cakile maritima*’de polifenol (Ksouri vd., 2007), *Datura innoxia*’de tropane alkaloidleri (Brachet ve Cosson, 1986), *Glycine max*’de Trigonellin (Cho vd., 1999) miktarlarında artış belirlenmiştir.

**Ağır metal stresi altında yetiştirilen;** *Lithospermum*’da şikonin (Mizukami vd., 1977), *Digitalis lanata*’da digitalin (Ohlsson ve Berglund, 1989), *Beta vulgaris*’de betalanin (Trejo-Tapia, 2001; Thimmaraju ve Ravishankar, 2004), arpa, kolzada beyaz yulaf, bezelyede ve pirinçte putresin (Jacobsen vd., 1992; Weinstein vd., 1986; Lin ve Kao, 1999), *Lepidium sativum*’da lepidin (Saba vd., 2000), *Brugmansia candida* köklerinde tropane alkaloids, scopolamine ve hyoscyamine (Pitta-Alvarez

vd., 2000), *Taksus* türlerinde taksol (Angelova ve Georgiev, 2006) miktarlarında artış gözlenmiştir.

**Soğuk stresi altında yetiştirilen;** elma ağaçlarında klorojenik asit (Perez-Ilzarbe vd., 1991), mısırdaki antosiyanin (Christie vd., 1994), *Pinus pinaster*'de içsel jasmonik asit (Pedranzani ve ark., 2003), havuç hücre kültüründe poliamin (Lei vd., 2004), buğdayda putresin ve spermin (Nadeau vd., 1987), yoncada putresin (Nadeau vd., 1987), *Pringlea antiscorbutica*'da agmatine ve putrescine (Hummel vd., 2004) miktarlarında artış kaydedilmiştir.

**Işık stresi altında yetiştirilen;** *Zingiber officinale* kallus kültüründe gingerol ve zingiberene (Anasori vd., 2008), tatlı kiraz, *Perilla frutescens*, *Melastoma malabathricum*, çilek, havuç ve *Centaurea cyanus*'da antosiyanin (Arakawa vd., 1985; Kakegawa vd., 1991; Arakawa vd., 1993; Sato vd., 1996; Narayan vd., 2005; Chan vd., 2010), *Digitalis purpurea*'da digitoxin (Hagimori vd., 1982), *Artemisia annua*'da artemisin (Liu vd., 2002), *Taxus cuspidate*'nin hücre kültüründe taxol ve baccatin III (Fett-Neto vd., 1995) miktarlarında artış tespit edilmiştir.

**UV-B ışık stresi altında yetiştirilen;** arpa'da flavonoid (Liu ve ark., 1995), kabak'da poliamin (Kramer vd., 1991), *Picea abies*, üzüm yaprakların ve gümüş huş ağacında flavonol (Fischbach vd., 1999; Tegelberg vd., 2004), *Catharanthus roseus*'da vinblastine ve vincristine (Bernard vd., 2009), soya fasülyesinde ve bezelyede flavonoid (Shiozaki vd., 1999; Liang vd., 2006), sarıçam'da fotosentetik pigment ve kondense tanen (Lavola vd., 2003) miktarlarında artış bildirilmiştir.

**Mineral eksikliği stresi altında yetiştirilen;** havuçta ve üzümde antosiyanin (Rajendra vd., 1992; Tuteja vd., 2007), domateste antosiyanidin ve quersetin-3-O-glukosid (Bongue-Bartelsman ve Phillips, 1995), fasülyede putresin (Zeid vd., 2009) miktarlarında artış belirlenmiştir.

**Kuraklık stresi** altındaki bitkilerde bazı sekonder metabolitlerin artışı gösteren çalışmalar da vardır. *Scrophularia ningpoensis*'de glikozit (Wang vd., 2010), *Papaver somniferum*'da morfin alkaloid (Szabo vd., 2003), soya fasülyesinde trigonellin (Cho vd., 2003), *Brassica napus*'da glukozinolat (Jensen vd., 1996), *Lupinus angustifolius*'ta chinolizit alkaloid (Christiansen vd., 1997), çayda epikateşin (Hernaendez vd., 2006), *Hypericum brasiliense*'de betulinik asit ve rutin (De Abreu ve Mazzafera, 2005), bezelyede flavonoid ve antosiyanin (Larson, 1988; Noguees vd., 1998), ayçiçeğinde klorojenik asit (Del Moral, 1972), *Salvia miltiorrhiza*'da rosmarinik asit (Liu ve ark., 2011), söğüt yapraklarında flavonoid ve fenolik asit (Larson, 1988), *Echinea purpurea*'da toplam fenolik içerik (Gray vd., 2003), *Thymus capitatus*'da fenolik bileşikler (Delitala vd., 1986), *Senecio longilobus*'da pyrrolizidin alkaloid (Briske ve Camp, 1982), *Manihot esculenta*, *Triglochin maritima* ve *Eucalyptus cladocalyx*'da siyanojik glikozit (De Bruijn, 1973; Okogbenin vd., 2003; Clawson ve Moran, 1937; Woodrow vd., 2002) kuraklık stresi sırasında artışı görülen sekonder metabolitlerdir.

Farklı stres faktörleri ile birlikte bitkilerde esansiyel yağ üretimi ile monoterpen kompozisyonlarındaki artışları gösteren çalışmalar oldukça fazladır. **Tuz stresi altında yetiştirilen;** *Coriandrum sativum*'da octanal, 1,8-cineole, borneol, (E)-2-nonenal, linalyl acetate, (E)-2-undecenal ve tetradecanal (Neffati ve Marzouk, 2008), *Salvia officinalis*'de  $\alpha$ -pinene,  $\alpha$ -thujene ve camphene (Taarit vd., 2010), *Origanum majorana*'da tricyclene,  $\alpha$ -pinene, sabinene,  $\alpha$ -phellandrene,  $\alpha$ -terpinene, limonene, 1,8-cineole, terpinolene ve linalyl acetate (Baâtour vd., 2012), *Carthamus tinctorius*'da Z-3-hexenol, camphene, sabinene,  $\beta$ -pinene, myrcene,  $\alpha$ -terpinene, linalool,  $\alpha$ -terpineol ve caryophyllene oxide (Harrathi vd., 2012), *Nigella sativa*'da myrcene,  $\alpha$ -phellandren,  $\alpha$ -terpinene, limonene,  $\gamma$ -terpinene (Bourgou vd., 2010), *Mentha x piperita*'da myrcene, menthone, *Mentha pulegium*'da limonene, L-linalool, p-menthone, p-menth-1-en-8-ol, (S)-(-), piperitone ve piperitenone, *Mentha suaveolens*'da sabinene, myrcene, trans-ocimene, L-menthone, 4-terpineol, p-menth-1-en-8ol, (S)-(-), nerol, geranyl acetate ve germacrene D (Aziz vd., 2008) miktarlarında artış tespit edilmiştir.



**Soğuk stresi altında yetiştirilen;** *Origanum dictamnus*'da p-cymene, cis-sabinene hydrate, p-cymenene, borneol, p-cymen-8-ol, cumin aldehyde, thymoquinone ve caryophyllene oxide (Lianopoulou ve Bosabalidis, 2014) miktarlarında artış bulunmuştur.

**Çevre kirliliğine maruz kalmış;** *Pinus pinaster*'de  $\beta$ -pinene,  $\alpha$ -phellandrene, (E)- $\beta$ -ocimene,  $\beta$ -elemene,  $\beta$ -caryophyllene ve manool oxide (Dziri ve Hosni, 2012) miktarlarında artış belirlenmiştir.

**Patojen saldırısına maruz kalmış;** *Atractylodes lancea*'da atractylone, hinesol,  $\beta$ -eudesmol ve atractylodin (Ren ve Dai, 2012), Ağır metal stresine maruz kalmış; *Salvia officinalis*'de 1,8-cineole, camphor, borneol ve bornyl acetate (Stancheva vd., 2010) esansiyel yağ bileşenleri artış göstermiştir.

Kuraklık stresi altındaki bitkilerde bazı sekonder metabolitlerin artışı bildiren çalışmalar da oldukça fazladır. *Salvia officinalis*'de thujone, cineole, camphor (Novak vd., 2010), *Parthenium argentatum*'de  $\gamma$ -Eudesmol,  $\beta$ -eudesmol,  $\alpha$ -pinene, sabinene,  $\beta$ -pinene ve myrcene (Nik vd., 2008), *Bunium persicum*'de myrcene, 1,8-cineole,  $\gamma$ -terpinen-7-al,  $\beta$ -pinene ve p-cymene (Saeidnejad vd., 2013), *Cymbopogon nardus* ve *Cymbopogon pendulus*'de de geraniol ve sitral (Singh-Sangwan vd., 1994), *Matricaria recutita*'da estragole,  $\beta$ -pinene,  $\alpha$ -pinene, caryophyllene ve chamazulene (Farhoudi vd., 2014), *Mentha piperita*'da mentol ve pulegone (Khorasaninejad vd., 2011), Frenk kimyonunda camphene,  $\beta$ -pinene,  $\beta$ -myrcene, limonene,  $\Upsilon$ -terpinene, (E)- $\beta$ -ocimene, terpinolene, Z-3-hexenol, trans-limonene oxyde, linalool,  $\alpha$ -terpineol, carvone,  $\alpha$ -selinene,  $\beta$ -selinene ve citronellol (Laribi vd., 2009) *Cuminum cyminum*'da çalışmada camphene,  $\beta$ -pinene, p-cymene, limonene,  $\Upsilon$ -terpinene, trans-sabinene hydrate, trans-pinene hydrate, acetoxylinalool,  $\alpha$ -terpinolene, pulegone, cuminaldehyde ve p-menta-1,3-diene-7-al (Vazin, 2013), *Melissa officinalis*'de toplam esansiyel yağ miktarı (Farahani vd., 2009), adaçayında  $\alpha$ -pinene camphene,  $\beta$ -pinene, (E)- $\beta$ -ocimene, 1,8-cineole,  $\alpha$ -thujone,  $\beta$ -thujone, camphor,  $\alpha$ -campholenal, linalool, terpinene-4-ol,  $\alpha$ -terpineol, borneol, nerol, linalyl

acetate, bornyl acetate,  $\alpha$ -humulene, germacrene-D,  $\beta$ -elemene, viridiflorol, manool (Bettaieb vd., 2009), maydanozda düz yaprağında;  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinene ve myristicin, kıvrık yaprağında;  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinene, myristicin,  $\beta$ -myrcene,  $\alpha$ -phellandrene, p-cymene,  $\beta$ -phellandrene, terpinolene+p-cymenene, 1,3,8-p-menthatriene,  $\beta$ -elemene, turp kısmında;  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinene,  $\beta$ -phellandrene, terpinolene+p-cymenene, myristicin ve apiole, kök kısmında ise;  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinene,  $\beta$ -elemene, myristicin ve apiole (Petropoulos vd., 2008), *Ocimum basilicum*'de camphene, sabinene,  $\beta$ -pinene, linalool, camphore, eugenol, methyl-eugenol, *Ocimum americanum*'de 1,8-cineol, camphore, linalool, farnesene,  $\beta$ -bisabolene, methyl-chavicol, eugenol (Khalid, 2006), *Satureja hortensis*'de  $\alpha$ -thujene,  $\alpha$ -pinene,  $\beta$ -pinene, myrcene,  $\alpha$ -terpinene, carvacrol ve bicyclogermacrene (Baher vd., 2002), *Thymus zygis*'da myrcene,  $\alpha$ -phellandrene,  $\alpha$ -terpinene,  $\gamma$ -terpinene ve  $\alpha$ -humulene (Sotomayor vd., 2004) esansiyel yağ bileşenleri artış göstermiştir.

Kuraklık stresinde monoterpenlerin alt birimleri olan izoprenlerin yayılımını gösteren çalışmalar incelendiğinde: Kuraklık stresi hem izopren yayılımını hemde fotosentezi farklı bir şekilde etkiler (Velikova, 2008). İzopren emisyonu kuraklıkta yetiştirildikten sonra yeniden sulanan bitkilerde sürekli iyi sulanan bitkilere göre daha fazla gerçekleştiği tespit edilmiştir (Fang vd., 1996). *Quercus virginiana* üzerinde yürütülen bir çalışmada ise 12 günlük kuraklık periyodunun fotosentezde önemli azalmalara sebep olmuştur. Bu çalışmanın 8. gününe kadar izopren emisyonunda önemli oranda değişiklik gözlenmezken 12. günün sonunda ciddi kuraklık stresinde fotosentez olumsuz etkilendiği için izopren sentezi de azalmıştır (Pegoraro vd., 2004a). *Populus deltoides* (Pegoraro vd., 2004b) ve *Populus alba* (Brilli vd., 2007) türlerinde kuraklık stresinde izopren emisyonu fotosentezden daha duyarlıdır. Kısa süreli şiddetli kuraklık izopren emisyonundan daha çok fotosentezi olumsuz etkiler (Sharkey ve Loreto 1993). Fotosentezin aksine kuraklık stresine izopren emisyonunun cevabı stoma iletkenliğinden bağımsızdır. Fakat buna rağmen stoma iletkenliğinin izopren emisyonunun sabit kaldığı kurak periyotta büyük ölçüde azaldığı da bildirilmiştir (Fall ve Monson 1992; Fang vd., 1996). Sonuç olarak stoma

faktörü kuraklık durumunda izopren emisyonunu etkilemediği bildirilmiştir (Pegoraro vd., 2004a; Brilli vd., 2007).

$\alpha$  ve  $\beta$ -pinen monotерpenlerinin dışsal uygulamalarının bitkiler üzerindeki etkilerinin incelendiği çalışmalar da mevcuttur. Bu araştırmalarda genellikle etken maddelerin fitotoksik özellikleri vurgulanmış olup çalışmaların çoğunda monotерpenler petri ortamındaki tohumlara uygulanarak çimlenme üzerine etkisi ve kök gelişimi parametreleri araştırılmıştır. Bu çalışmalardan bazıları incelendiğinde; Singh vd. (2006a)  $\alpha$ -pinen monotерpeninin kültür ve yabancı bitkilerindeki fitotoksik etkilerini belirlemeyi amaçladıkları çalışmalarında; *Cassia occidentalis*, *Amaranthus viridis*, *Triticum aestivum*, *Pisum sativum* ve *Cicer arietinum* bitkilerini 1-10 mg/ml<sup>-1</sup>  $\alpha$ -pinen içeren kültür ortamında çimlenmeye bırakmışlardır. Fide haline gelen *Cassia occidentalis* bitkisinin kök dokularında, elektrolit sızıntı, MDA, hidrojen peroksit, prolin miktarlarının yanı sıra bazı antioksidan enzimlerin (SOD, APX, GPX, CAT ve GR) aktivitelerini belirlemişlerdir. Sonuç olarak  $\alpha$ -pinen'nin kök dokularında ROS birikiminden kaynaklanabileceği hasarın bitkide büyüme ve çimlenmeyi olumsuz etkilediğini vurgulamışlardır.

Areco vd. (2014) 0.16 mM  $\alpha$  ve  $\beta$ -Pinen monotерpenlerinin enantiyomerlerinin (- ve +) mısırın erken büyüme ve çimlenme evresinde etkisini gözlemledikleri çalışmalarında; bazı büyüme parametreleri (kök-koleoptil kuru ağırlık ve uzunluğu), ABA birikimi, toplam fenolik madde, klorofil ve feofitin miktarlarını araştırmışlardır. Çalışmalarında kullanılan bu 4 pinen izomerinin farklı fizyolojik ve biyokimyasal mekanizmaları tetikleyerek bitkide çimlenmeyi ve fide büyümesini olumsuz etkilediğini ifade etmişlerdir.

Chowhan vd. (2011) pirinç bitkisinin erken büyüme safhasında  $\beta$ -pinen monotерpeninin ml başına 0.08-0.8 mg dozlarının fitotoksik etkilerini araştırdıkları çalışmalarında; koleoptil kuru ağırlığı-boy uzunluğu, kök dokularında klorofil, protein ve karbohidrat içeriği ile peroksidaz aktivitesini incelemişlerdir. Sonuç olarak

$\beta$ -pinen'nin bitkinin erken büyüme safhasında bazı biyokimyasal süreçleri değiştirerek bitki büyümesini olumsuz yönde etkilediğini tespit etmişlerdir.

Chowhan vd. (2013) 0.02-0.8 mg/ml uyguladıkları  $\beta$ -pinen içeren kültür ortamında çimlenmeye bıraktıkları *Cassia occidentalis* bitkisinde büyümenin erken evresinde bitkide; bitki uzunluğu ve kuru ağırlık, kök dokularında lipid peroksidasyon seviyesi, elektrolit sızıntı, klorofil ve hidrojen peroksit miktarı, POD aktivitesini incelemişlerdir. Sonuç olarak  $\beta$ -pinen'nin bitkide çimlenmeyi ve fide gelişimini olumsuz etkilediğini rapor etmişlerdir.

Chowhan vd. (2014), hidroponik sistemle yetiştirdikleri buğday bitkisinin erken büyüme safhasında 10-100  $\mu$ M  $\beta$ -pinen monoterpenini farklı dozlarda uygulayarak bitkide meydana gelen antioksidan mekanizmadaki değişimleri araştırdıkları çalışmalarında; kök ve koleoptil uzunluğu, elektrolit sızıntı, MDA, süperoksit anyonu, hidrojen peroksit miktarlarını ve bazı antioksidan enzim aktivitelerini belirlemişlerdir. Doz artışına bağlı olarak buğday köklerinde SOD, POD, APX, CAT ve POD aktivitelerinde artışa neden olmuştur. Ayrıca elektrolit sızıntı, MDA, hidrojen peroksit ve süperoksit anyonu miktarının  $\beta$ -pinen uygulaması ile arttığını bildirmişlerdir.

Terpenlerin öncülü olan izoprenlerin bitkilerde çeşitli streslere karşı koruyucu rollerinin araştırıldığı çalışmalar vardır. Bu araştırmalarda izoprenlerin koruyucu rolleri ROS süpürme ve termokoruma hipotezleriyle açıklanmaya çalışılmıştır.

**Antioksidan hipotezine göre**, bitkilerde doğal antioksidan olarak nitelendirilen izoprenlerin olası fonksiyonları çeşitli çalışmalarda ele alınmıştır. *Phragmites australis* yapraklarına yüksek sıcaklık uygulamasında izopren yaymayan yapraklarda izopren yayanlara göre hidrojen peroksit birikiminin daha fazla olduğu bildirilmiş ve yüksek ışıkla miktarının daha da arttığı vurgulanmıştır. Yüksek sıcaklığa maruz kalan izopren yaymayan yapraklarda katalaz ve peroksidazın artışı serbest oksijen radikallerinin miktarının artması olarak değerlendirilmiştir. Isının sebep olduğu lipid

peroksidasyon ve zar hasarları izopren yaymayan yapraklarda daha fazladır (Velikova ve Loreto 2005).

İzopren emisyonunu inhibe eden fosmidomycin kimyasalının uygulandığı *Platanus orientalis* bitkisinde yüksek sıcaklıkta hidrojen peroksit ile birlikte zar hasarının da önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir (Velikova vd., 2006). İzopren yayan *Phragmites* yapraklarına ozon stresi ile birlikte izopren emisyonunu engelleyen fosmidomycin maddesinin uygulanması hidrojen peroksit ve lipid peroksidasyonu artırdı. Araştırmacılar izoprenlerin ROS'ları giderdiğini ve zarları denatürasyondan koruduğunu vurgulamışlardır (Loreto ve Velikova, 2001).

Pırnal meşe yapraklarına izopren fümigasyonu gecikmeli de olsa yüksek sıcaklıkta antioksidan savunmada yanıt oluşturduğu bildirilerek izoprenlerin ROS süpürülmesinde kullanılabileceği öne sürülmüştür. Sıcaklıkla birlikte izopren uygulanmış bitkilerde antioksidan savunma sistemine stresin çok daha ileri boyuta ulaşmasıyla ihtiyaç duyulduğu vurgulanmıştır (Peñuelas vd., 2005). Bazı çalışmalarda ozon stresiyle hasara uğrayan bitkilerde izoprenlerin oksidatif hasarı azaltıp güçlü antioksidan etki gösterdiği bildirilmiştir (Loreto vd., 2001; Loreto ve Velikova, 2001; Velikova vd., 2005b).

Doğal bir metabolit olarak izopren yayan Tüylü meşe fidanları ozon stresine maruz kaldıklarında fotokimyasal zararı en az hasarla atlattılar ve eski hallerine dönmüşlerdir (Velikova vd., 2005b). Ozon stresinde, bitki tarafından izopren yayılımının azaltılması ROS ve zar peroksidasyonunun artışına sebep olmuştur. İzopren emisyonu ozon stresi uygulanmış bitki yapraklarında yeniden sulamanın ardından ise kontrol bitkilerine kıyasla artış göstermiştir. Bütün bu araştırmacıların çalışmalarından elde edilen sonuç ise, yüksek izopren yayılımının, ozon stresine maruz kalan ve yeniden sulanan yapraklarda ROS süpürülmesiyle mebran zar bütünlüğünün korunmasına katkıda bulunduğunu bildirmişlerdir (Velikova, 2008).

**Termotolerans hipotezine göre de** izopren sentezleyen bitkilerin stres koşullarında avantaj sağlaması açısından sıkça tartışılır. Termotoleransa ilk kanıt fotosistem II'de klorofil flüoresans deneyi dayanır (Sharkey ve Singsaas, 1995). Bu deney izoprenlerin sıcaklıkla ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu deneyde yapraklar 45 °C'nin altında hasar görmemiştir (Logan ve Monson, 1999). Bitkilerde farklı ısı tolerans mekanizması vardır (Sharkey ve Schrader, 2006) ve bunların birçoğu tüm türlerde bulunur. En önemli örneği ısı şok proteinleri ve faktörleridir (Vierling, 1991; Nover vd., 2001).

Sharkey vd. (2008), izopren yayabilen bir yaprağa sıcaklık stresinde fosmidomycin uygulaması bitkiyi hasara uğrattığını ifade ederek, fosmidomycin ile birlikte yaprağa dışsal olarak izopren uygulamasının ise bu hasarı iyileştirdiğini kaydetmişlerdir. Farklı bir çalışmada da dışsal izopren uygulamasının izopren yayan bitkilerde termokoruma sağladığı bildirilmiştir (Sharkey vd., 2001).

Farklı terpen gruplarının bitkiler üzerindeki etkileri birçok araştırmacı tarafından belirlenmiştir. Fakat uçucu özellikte olan monoterpen bileşiklerinin dışsal olarak bitkilere uygulanıp farklı streslere tolerans kazandırılması ile ilgili literatürde henüz sadece bir çalışma (Mahajan vd., 2016) mevcuttur. Bu çalışmada da petri ortamında krom stresine maruz bırakılan *Zea mays*, *Oryza sativa* ve *Triticum aestivum* bitkilerine 10 µM β-pinen uygulanarak bu strese karşı tolerans kazandırma mekanizmasını aydınlatmaya çalışmışlardır. Araştırmacılar bu çalışmalarında tohumların çimlenme yüzdeleri, kök-koleoptil uzunluğu ve kuru ağırlıkları, klorofil ve protein miktarı, peroksidaz, polifenol oksidaz ve proteaz gibi enzimlerin aktivitelerini belirlemişlerdir. Sonuç olarak erken büyüme evresinde krom stresine maruz kalan *Zea mays*, *Oryza sativa* ve *Triticum aestivum* bitkilerin β-pinen monoterpeni uygulamasıyla bu hasarın indirildiğini tespit edilmiştir.

Bitkiler kuraklık stresine çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal yanıt oluştururlar. Bunlardan diğer önemli olanları ise protein ekspresyonu, birikimi ve sentezidir (Chen ve Tabaeizadeh, 1992; Cheng vd., 1993). Kuraklık stresinde yetiştirilen

bitkilerin protein profillerinde hem nicelik hem de nitelik olarak bazı değişiklikler gözlenmiştir (Riccardi vd., 1998). Kuraklık stresinde bazı proteinlerin sentezi bitkinin bu strese tolerans kazandırmasıyla alakalıdır (Bray, 1993; Han ve Kermode, 1996; Riccardi vd., 1998). Bitkiler kuraklık stresine yanıt olarak dehidrasyon kaynaklı protein ve geç emriyogenez proteinlerini sentezlerler (Close ve Chandler, 1990).

Kuraklık stresinde bazı proteinlerin sentezi bitkinin bu strese tolerans kazandırmasıyla alakalıdır (Riccardi vd., 1998; Bray, 1993; Han ve Kermode, 1996). Bitkiler kuraklık stresine yanıt olarak dehidrasyon kaynaklı protein ve geç emriyogenez proteinlerini sentezlerler (Close ve Chandler, 1990). Kuraklık stresi altında yetişen bitkilerde dehidrin proteinleri 9-200 kDa arasında değişiklik gösterir (Close, 1996). Kuraklık stresinde yetiştirilen mısırın elektroforetik ayırımında 50 proteinin bandında artış, 23 proteinde azalış meydana gelirken 10 tane de yeni protein bandının meydana geldiği bildirilmiştir (Riccardi vd., 1998). Mohammadkhani ve Heidari (2008), kuraklık stresinde yetiştirdikleri iki mısır varyetesinin elektroforetik ayırımını yapmışlardır. Çalışmalarında hem dayanıklı hem de hassas varyetede 15, 17, 20, 27, 30, 37, 54 ve 59 KDa ağırlığındaki proteinlerde artış belirlemişlerdir. Khan ve ark., 2012 kuraklık stresinde yetiştirdikleri iki farklı buğday varyetesinin proteinlerini SDS-PAGE yöntemiyle yürüterek belirlemişlerdir. Kuraklık ve kontrol grubunda 18, 25 ve 38 kDa ağırlığındaki proteinleri belirlermişlerdir. Kuraklıkla birlikte ABA uygulamasında 18 kDa ağırlığındaki protein belirlerken, SA uygulamasında ise 45 kDa ağırlığında protein belirlemişlerdir. Çalışmalarının sonucunda ABA ve SA uygulamalarının kuraklığa toleransı artırdığını belirterek bunda bazı proteinlerin de etkisinin olabileceğini vurgulamışlardır. Ullah vd. (2014) kuraklık stresinde yetiştirdikleri iki farklı buğday varyetesine mannitol uygulayarak SDS-PAGE yöntemiyle protein tayini yapmışlardır. sonuç olarak 20 tane bant gözlemişlerdir. Fakat bant profilini incelediklerinde iki varyete arasında kaydadeğer bir fark göremediklerini ifade etmişlerdir. Moradpour vd. (2014), 10 farklı buğday varyetesini kuraklık stresinde yetiştirerek SDS-PAGE yöntemiyle bitki yaprak proteinlerinde bant profillerini

gözlemişlerdir. Çalışmalarında 35 farklı bant belirlediklerini vurgulayarak bu bantların genel itibariyel birbirine benzediğini çok nadir de olsa bazı farklılıkların olduğunu kaydetmişlerdir. Valifard vd. (2012), iki farklı buğday varyetesini kuraklık stresinde yetiştirerek bu bitkilerin strese verdikleri cevabı SDS-PAGE yöntemiyle elde edilen bantlara göre belirlemeye çalışmışlardır. Çalışmalarında 175 Kda ağırlığındaki proteinin diğer gruplara göre daha belirgin bant verdiğini ve bu varyetede ayrıca diğer gruplarda gözlenmeyen 33 ve 48 Kda ağırlığında yeni proteinin bantlarının oluştuğunu vurgulamışlardır. Hassas varyetede ise bu bantların gözlenmediğini ifade etmişlerdir.

Literatür incelendiğinde de görüldüğü gibi monoterpenlerin dışsal uygulaması ile bitkilerin strese toleransını artırmaya yönelik çalışma yok denecek kadar azdır. Mevcut çalışmada ise saksı ortamında 7 günlük büyüme evresinden sonra bitki yapraklarına eksogen olarak atomizer yardımıyla 1-10  $\mu$ M konsantrasyonda 100'er ml  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen monoterpenleri uygulanmıştır. Uygulamadan sonra su kısıtlamasına uğratılan buğday fideleri 15. Gün istenilen tarla kapasitesi olan solma noktasına erişmişlerdir. Bu andan itibaren üç gün süre ile solma noktasındaki tarla kapasitesinde bulunan bitkiler 18. Gün hasat edildi. Çalışmada bitki büyüme parametreleri olarak; RWC, fide başı kuru ağırlık, klorofil içeriği ve klorofil a/b oranına, reaktif oksijen türlerine ( $H_2O_2$ ,  $O_2^{\bullet-}$ ,  $\bullet OH$  ve TOS), antioksidatif stres parametreleri olarak; antioksidan enzimlere (CAT, POD, SOD, APX, GR) ve antioksidan madde olarak; toplam glutatyon, toplam askorbik asit, karotenoid içeriği, toplam fenolik madde ve flavonoid, TAS ve osmoprotektanlar olarak; çözünür protein, çözünür şeker, indirgen şeker ve prolin miktarlarına bakılmıştır. Ayrıca kuraklık stresıyla birlikte uygulanan monoterpenlerin koruyucu rollerini protein profili olarak görebilmek için SDS-PAGE elektroferezi yapılmıştır. Sonuçlar bitki stres fizyolojisi alanında yapılan çalışmalarda, sekonder metabolitlerin etki mekanizmasını belirleme adına literatürde önemli bir boşluğu gidermesi amacı taşımaktadır.



### 3. MATERYAL ve YÖNTEMLER

#### 3.1. Yararlanılan Alet ve Cihazlar

Çalışmada yapılan bütün deneyler Erzincan üniversitesi bitki biyolojisi laboratuvarının imkanları kullanılarak yapıldı. Yapılan deneylerde kullanılan alet ve cihazlar Çizelge 3.1’de verilmiştir.

**Çizelge 3.1** Deneylerde yararlanılan alet ve cihazlar

<b>Cihaz</b>	<b>Marka/Model</b>	<b>Kullanılma gerekçesi</b>
Buzdolabı	Arçelik	Örneklerin ve çözeltilerin saklanması
Çalkalamalı sıcak su banyosu	Wisd	Lipid peroksidasyon aktivitesi ölçümünde
Derin dondurucu (-30 °C ve -86 °C)	Hotpoint UPS1711	Numunelerin ölçümler aşamasına kadar bozulmadan saklanması için
Elektroforez sistemi	Bio-Rad	SDS-PAGE yöntemi ile protein tayini
Etüv	Nüve FN500	Bitki kurutma işlemlerinde
GC-MS		Kurutulan bitki örneklerinin esansiyel yağ analizi
Hassas terazi	Axis	Çözelti hazırlama ve numune kaldırma işlemlerinde
İklim kabinleri	JSR	Bitkilerin yetiştirilmesinde
İyon konduktivimetre	Hanna	Elektrolit hasar ile donma hasarı deneylerinde
Kaba terazi (Maksimum 30 kg, 1g hassasiyetli)	Neck	Saksıların günlük olarak sulama işleminde
Manyetik karıştırıcı	Wisd	Çözeltileri karıştırmada
Otomatik pipetler	Iso-Lab	Çözeltileri istenilen ölçüde aktarmada
pH metre	Mettler-Toledo	Çözeltilerin pH ayarlanmasında
Saf su cihazı	GFL-2004	Saf su elde etmek için
Soğutmalı santrifüj	Hettich	Santrifüjleme deneylerinde
UV-visible spektrofotometre	Shimadzu UVmini 1240	Enzim aktivitelerinin, lipid peroksidasyon miktarı, ROS miktarı, prolin miktarı, askorbat ve glutatyon miktarı ölçülmesinde
Isıtıcı ultrasonik su banyosu	Iso-Lab	Bazı çözeltileri hazırlandıktan sonra daha homojen karışması için

## 3.2. Kullanılan Bitki Materyalleri

*Triticum aestivum* L. (Ekmeklik buğday); bitkisinin kuraklığa hassas (Cumhuriyet 75) ve dayanıklı (Karahan 99) olmak üzere iki farklı buğday varyetesi kullanıldı. “Cumhuriyet 75” Pamukkale Tohumculuktan temin edilirken “Karahan 99” ise Konya Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü’nden temin edildi. Çalışmada yürütülen bütün fizyolojik ve biyokimyasal deneyler için numune olarak bitkinin sadece yapraklarından yararlanıldı.

## 3.3. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanmaları

### 3.3.1. $\alpha$ ve $\beta$ -pinen çözeltileri

Kullanılan monoterpen bileşikler Sigma-Aldrich kimya şirketinden hazır olarak temin edildi.

**a.** 10  $\mu$ M  $\alpha$ -pinen: 1,62  $\mu$ L  $\alpha$ -pinen’inin 10 mL etanol içerisinde çözünmesi sağlandıktan sonra 1L saf suya tamamlanarak hazırlandı. Çünkü monoterpenlerin suda çözünmesi yok denecek kadar azdır. Hazırlanan çözeltinin bitkiye tutunmasının sağlanması için içerisine 1 mL Tween-20 atıldı.

**b.** 1  $\mu$ M  $\alpha$ -pinen: Hazırlanmış olan 10  $\mu$ M  $\alpha$ -pinen çözeltisinden 1/10 oranında seyreltilti. Eğer ilk çözeltiden hacim olarak 100 ml alındıysa, eşit hacimde Tween-20 içermesi için 1 L’ye tamamlanacak olan çözelti içerisine 0,9 ml Tween-20 atıldı.

**c.** 10  $\mu$ M  $\beta$ -pinen: 1,6  $\mu$ L  $\beta$ -pinen’inin 10 mL etanol içerisinde çözünmesi sağlandıktan sonra 1L saf suya tamamlanarak hazırlandı. Hazırlanan çözeltinin bitkiye tutunmasının sağlanması için içerisine 1 mL Tween-20 atıldı.

**d.** 1  $\mu$ M  $\beta$ -pinen: Hazırlanmış olan 10  $\mu$ M  $\beta$ -pinen çözeltisinden 1/10 oranında seyreltilti. Eğer ilk çözeltiden hacim olarak 100 ml alındıysa, eşit hacimde Tween-20

içermesi için 1 L'ye tamamlanacak olan çözelti içerisine 0,9 ml Tween-20 atıldı. Bütün çözeltiler hazırlandıktan sonra 1 gece çalkalayıcıda çalkalandı. Son olarak bitkiye uygulamadan önce ise ultrasonik su banyosunda 10 dk bekletildi.

### 3.3.2. Enzimlerin homojenizasyon tamponu

50 mM Tris-HCl: 0,6055 g Tris-HCl 100 ml saf suda pH: 7,8 olacak şekilde çözülerek hazırlandı. Hazırlanan bu çözeltiliye 0,037 g EDTA (0,1 mM), 0,2 ml Triton-X100 (0,2 %), 0,0174 g PMSF (1 mM), 0,0308 g DTT (2 mM) ilave edildi. Elde edilen çözelti enzimlerin homojenizasyon tamponudur. APX analizi için homojenizasyon tamponuna 5 mM (0,088 g) askorbat eklendi ve DTT yerine de %2 (w/v) PVPP (Polivinilpolipirolidon) kullanıldı.

### 3.3.3. Peroksidaz aktivitesi ölçümünde kullanılan çözeltiler

a. 100 mM sodyum fosfat tamponu ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , pH: 5,5): Peroksidaz aktivitesi ölçümünde kullanılan substrat tamponudur. 100 ml için: 1,42 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  alınarak 90 mL saf suda çözüldü ve pH: 5,5'e ayarlandıktan sonra toplam hacim 100 mL' ye tamamlandı.

b. Peroksidaz aktivitesi ölçümünde kullanılan substrat çözeltisi: 54  $\mu\text{L}$  guaikol ve 15  $\mu\text{L}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  'dan ( $d=1.13$  g/mol) 5 mM olacak şekilde yukarıda belirtilen 100 mL 0,1 M fosfat tamponu (pH: 5,5) içinde çözülerek hazırlandı.

### 3.3.4. Katalaz aktivitesi ölçümünde kullanılan çözeltiler

a. 103.5 mM potasyum fosfat tamponu ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , pH: 7,5): Katalaz aktivitesi ölçümünde kullanılan substrat tamponudur. 100 ml için; 1,4 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 80 mL saf suda çözülmüş, 1 N NaOH ile pH: 7,5'e kadar titre edildi ve son hacim saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.

**b.** 40 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisi: Katalaz aktivitesi ölçümünde kullanılan substrat çözeltisidir. 453 µL %30'luk H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> hacmi saf su ile 100 mL'ye tamamlanarak hazırlandı.

### **3.3.5. Süperoksit dismutaz aktivitesi ölçümünde kullanılan çözeltiler**

**a.** 50 mM potasyum fosfat tamponu (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, pH: 7,8): Süperoksit dismutaz aktivitesi ölçümünde kullanılan substrat tamponudur. 250 ml için; 2,9 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 200 mL saf suda çözüldü 1 N NaOH ile pH: 7,8'e kadar titre edildi ve son hacmi 250 mL'ye tamamlandı. Hazırlanan bu çözelti içerisine sırasıyla 0,485 g metionin (13 mM), 0,015 g NBT (75 µM), 0,075 g EDTA (0,1 mM), 125 µL Triton X-100 (%0,025) ilave edilerek çözüldü. Elde edilen çözelti enzim ölçümü için gerekli olan reaksiyon karışımıdır.

**b.** 2 mM riboflavin; 1 L için: 0.038 g riboflavin, 1 L saf suda çözülerek hazırlandı.

### **3.3.6. Askorbat peroksidaz aktivitesi ölçümünde kullanılan çözeltiler**

50 mM potasyum fosfat tamponu (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH: 7): Askorbat peroksidaz aktivitesi ölçümünde kullanılan substrat tamponudur. 100 ml için; 0,68 gr KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 100 ml'de çözülünceye kadar karıştırıldı. Hazırlanan bu çözelti içerisine 0,0088 g askorbik asit (0,5 mM), 0,037 g EDTA (0,1 mM) ve 20,5 µl H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (2 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ilave edilerek karıştırılır. Elde edilen çözelti enzim ölçümü için gerekli olan reaksiyon karışımıdır.

### **3.3.7. Glutatyon redüktaz aktivitesi ölçümünde kullanılan çözeltiler**

**a.** 25 mM sodyum fosfat tamponu (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, pH: 7,8): Glutatyon redüktaz aktivitesi ölçümünde kullanılan substrat tamponudur. 100 ml için; 0,355 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 100 ml'de çözülünceye kadar karıştırıldı. Hazırlanan bu çözelti içerisine 0,0306 g GSSG (0,5 mM) ve 0,01 g NADPH (0,12 mM) ilave edilerek karıştırıldı. Elde edilen çözelti enzim ölçümü için gerekli olan reaksiyon karışımıdır.

### 3.3.8. Malondialdehid seviyesinin belirlenmesinde kullanılan çözeltiler

a. %5'lik TCA (Trikloroasetik asit): Ekstraksiyan için kullanılan bu çözeltide, 100 mL'lik çözelti için; 5 g TCA saf su içerisinde 100 ml'ye tamamlandı. TCA tam olarak çözünene kadar karıştırılarak hazırlandı.

b. %20'lik TCA + %0,5'lik TBA (Tiobarbutirik asit): Lipid peroksidasyon aktivitesinin reaksiyon çözeltisidir. 20 g TCA saf su içerisinde 100 ml'ye tamamlandıktan sonra tam olarak çözünene kadar karıştırıldı. Daha sonra bu çözeltinin içerisine 0,5 g TBA ilave edilir ve şeffaf sarımsı renk oluşuna kadar iyice karıştırılarak hazırlandı.

### 3.3.9. Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) miktarının ölçümünde kullanılan çözeltiler

a. % 5'lik Ti(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> (Titanyum sülfat): % 20 lik Ti(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> solüsyonu 1/3 oranında seyreltildi.

b. % 19'luk NH<sub>4</sub>OH (Amonyum hidroksit): %26'lık amonyum hidroksit'den 18,27 ml alınıp saf su ilave edilerek 25 ml'ye tamamlandı.

c. 2 M'lik H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Sülfirik asit): 20 mL %98'lik H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 80 mL saf su içerisine ilave edilerek 100 mL' ye tamamlandı.

d. Saf aseton: Homojenizasyon için kullanıldı.

### 3.3.10. Hidroksil radikali (\*OH) süpürülme aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan çözeltiler

a. 20 mM sodyum fosfat tamponu (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, pH: 7): Hazırlanan bu çözelti yaprak numunelerini ekstrakte etmek için gerekli olan homojenizasyon tamponudur. 100 ml için; 0,284 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 100 ml suda çözülerek pH: 7'ye ayarlandı. Elde edilen çözelti, hidroksil radikalini belirlemek için gerekli olan homojenizasyon tamponudur ve aynı zamanda substrat tamponu için de kullanıldı.

b. 10 mM 2-deoxyribose: 0,1333 gr 2-deoxyribose 100 ml saf su içerisinde çözüldü.

- c. 10 mM FeSO<sub>4</sub> (Demir sülfat): 0,2783 gr FeSO<sub>4</sub> 100 ml saf su içerisinde çözüldü.
- d. 10 mM EDTA: 0,3717 gr EDTA 100 ml saf su içerisinde çözüldü.
- e. 10 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: 107,5 µL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 100 ml saf su içerisinde çözüldü.
- f. 50 mM NaOH + TCA (%2,8) çözeltisi: 0,2 gr NaOH 95 ml saf su içerisinde çözüldü. Daha sonra 2,8 gr TCA ilave edilir çözülene kadar karıştırıldıktan sonra çözeltinin son hacmi 100 ml'ye tamamlandı.
- g. TBA (%1) çözeltisi: 1 gr TBA 95 ml saf su içerisinde çözülene kadar hafif ısıda karıştırıldı. Çözeltinin son hacmi 100 ml'ye tamamlandı.

### **3.3.11. Süperoksit anyon radikali (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>) miktarı belirlenmesinde kullanılan çözeltiler**

- a. 65 mM Potasyum fosfat tamponu (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> pH: 7,8): 100 ml için; 1,132 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 90 mL saf su da çözülür pH: 7,8'e ayarlandıktan sonra saf su ile 100 mL'ye tamamlanarak hazırlandı. Elde edilen çözelti, süperoksit anyon radikalini belirlemek için gerekli olan homojenizasyon tamponudur ve aynı zamanda substrat tamponu için de kullanıldı.
- b. 10 mM Hydroxilamine: 100 ml için; 0,069 g Hydroxilamine alındı 100 ml saf suda çözdürülerek hazırlandı.
- c. 17 mM ABSA (Amonyum benzeno sülfonik asit): 100 ml için; 0,2944 g alındı ve 100 ml saf suda çözüldürülerek hazırlandı.
- d. 17 mM 1-Naftilamine: 100 ml için; 0,243 g 1- Naftilamine alınmış 10 ml asetonda çözüldü ve son hacmi saf su ile 100 ml ye tamamlanarak hazırlandı.

### **3.3.12. Çözülebilir protein miktarının belirlenmesinde kullanılan çözeltiler**

- a. Coomassie Brilliant Blue G-250: 100 ml için; 0,01 g Coomassie Reaktif G-250'den alındı, 5 ml etanolde çözüldü. Üzerine 10 ml fosforik asit ilave edildi ve

karıştırıldı. Saf su ile üzeri 100 ml'ye tamamlandı. Bu boyalı çözelti kurutma kağıdı ile huniden geçirildi. Bu işlemden sonra boya kullanıma hazır hale geldi.

- b. Yapraklarda çözülebilir protein miktarının belirlenmesinde enzimler için hazırlanan homojenizasyon örnekleri kullanıldı.

### **3.3.13. Prolin miktarının belirlenmesinde kullanılan çözeltiler**

- a. %3 lük Sülfosalisilik asit (homojenizasyon tamponu): 3 g sülfosalisilik asit 100 ml saf suya tamamlanarak çözüldü.
- b. 6 M Fosforik asit: 40,45 ml fosforik asit saf su ile toplam hacim 100 ml'ye tamamlandı.
- c. Asit Ninhidrin Hazırlanışı: 100 ml için: 2,5 g ninhidrin 100 ml'lik behere konuldu ve üzerine 60 ml glasiyal asetik asit eklenerek hafif ısıda karıştırıldı. Bunun üzerine 40 ml fosforik asit çözeltisi çok yavaş bir şekilde ilave edildi.

### **3.3.14. İndirgen şeker miktarının belirlenmesinde kullanılan çözeltiler**

- a. %80'lik etil alkol (Homojenizasyon tamponu): 83,3 ml % 96'lık etil alkol saf su ile 100 ml'ye tamamlandı.
- b. A çözeltisi: İlk olarak % 5'lik NaOH hazırlandı (12,5 g NaOH 250 ml saf suda çözüldü). Daha sonra bu çözeltiden bir behere 115 ml alınarak üzerine 3.572 g 2,4-a-dinitrofenol ilave edilir. Beher kaynar su banyosuna koyularak karıştırıldı. Bulanıklık tamamen kaybolunca, 1,25 g fenol ilave edildi.
- c. B çözeltisi: 50 g sodyum potasyum tartarat 250 ml saf suda çözüldü.
- d. A çözeltisi kaynar su banyosundan çıkartılıp hemen, B çözeltisi ile süratle karıştırıldı ve karışım saf suyla 500 ml'ye tamamlandı. Daha sonra elde edilen bu karışım dinitrofenol çözeltisi olarak indirgen şeker miktarının tayininde kullanıldı.

### 3.3.15. Toplam karbohidrat miktarının belirlenmesinde kullanılan çözeltiler

a. 2,5 N HCl (homojenizasyon tamponu): 100 ml için 20,71 ml HCl alınır ve dikkatli bir şekilde toplam hacim 100 ml'ye tamamlandı.

b. Anthron reagent: 100 ml soğuk % 95'lik  $H_2SO_4$ 'de 200 mg anthron çözülerek hazırlandı. Kullanmadan önce taze hazırlanmalıdır ve soğuk olmalıdır.

c. Standart belirme;

Glukoz stok hazırlama: Glukoz 1 ml de 1 mg olacak şekilde hazırlandı. Örnek 30 ml saf su da 30 mg glukoz çözüldü.

Working stok hazırlama: Glukoz stoğundan 10 ml alınır ve 100 ml saf suya seyreltilir.

Anthron reagent hazırlama: 80 ml (%95lik)  $H_2SO_4$  alındı ve üzerine 160 mg anthron ilave edilip karıştırıldı.

Standart Çalışması: Working reagentten sırası ile 0, 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 ve 1 ml alınıp total hacimleri 1ml olacak şekilde her biri saf su ile tamamlandı.

### 3.3.16. Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesinde kullanılan çözeltiler

a. 0,125 mL Folin-Ciocalteu reaktifi saf olarak kullanıldı.

b. % 80'lik etil alkol (Homojenizasyon tamponu): 83,3 ml % 96'lık etil alkol saf su ile 100 ml'ye tamamlandı.

c. % 7'lik  $Na_2CO_3$ : 3,5 g  $Na_2CO_3$  son hacim 50 ml olacak şekilde saf su içerisinde çözüldü.

### 3.3.17. Toplam flavonoid miktarının belirlenmesinde kullanılan çözeltiler

a. % 80'lik etil alkol (Homojenizasyon tamponu): 83,3 ml % 96'lık etil alkol saf su ile 100 ml'ye tamamlandı.

b. % 5'lik  $NaNO_2$ : 2,5 g  $NaNO_2$  son hacim 50 ml olacak şekilde saf su içerisinde çözüldü.

c. % 10'luk  $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ : 5 g Alüminyum klorit son hacim 50 ml olacak şekilde saf su içerisinde çözüldü.



- d. 1 M NaOH: 4 g NaOH 100 ml'ye tamamlanacak şekilde çözüldü.

### 3.3.18. Toplam glutatyon miktarının belirlenmesinde kullanılan çözeltiler

- a. %5 TCA (homojenizasyon tamponu): 10 gr TCA 150 ml saf suda çözüldükten sonra saf su ile son hacmi 200 ml'ye tamamlandı.
- b. 200 mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  pH: 7,5: 0,312 gr  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  7 ml saf suda çözülüp pH:7,5'a ayarlandı ve son hacmi saf su ile 10 ml'ye tamamlandı.
- c. 6 mM DTNB: 0,0753 gr DTNB 30 ml 100 mM sodyum fosfat tamponunda (pH: 6.8) çözüldü.

### 3.3.19. Askorbik asit (total AsA) miktarının belirlenmesinde kullanılan çözeltiler

- a. %5 TCA (homojenizasyon tamponu): 10 gr TCA 150 ml saf suda çözüldükten sonra saf su ile son hacmi 200 ml'ye tamamlandı.
- b. 1.5 M Triethanolamine: 2,24 ml Triethanolamine saf su ile son hacmi 10 ml'ye tamamlanarak hazırlandı.
- c. 150 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (pH: 7.4): 2,04 gr  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  tartılarak 80 ml saf suda çözüldü. pH: 7.4'e ayarlandıktan sonar hacmi 100 ml'ye tamamlandı.
- d. 10 mM DTT: 0,008 gr L-Dithiothreitol tartılarak 5 ml saf suda çözüldü.
- e. %0.5'lik N-Ethylmaleimide: 0,025 gr N-Ethylmaleimide 5 ml saf suda çözülerek hazırlandı.
- f. %10'luk TCA: 2,5 gr TCA bir miktar saf suda çözüldükten sonar son hacim saf su ile 25 ml tamamlanarak hazırlandı.
- g. %44'lük  $\text{H}_3\text{PO}_4$ : Bir miktar saf su üzerine 44 ml fosforik asit ilave edilmiş ve son hacim 100 ml'ye tamamlanarak hazırlandı.
- h. %4'lük 2.2'-dipyridyl: 0.4 gr 2.2'-dipyridylin, 10 ml %70'lik etanol içerisinde çözülmesiyle hazırlandı.
- i. %3'lük  $\text{FeCl}_3$ : 0,3 gr  $\text{FeCl}_3$  10 ml saf suda çözülerek elde edildi.

**3.3.20. SDS-Poliakrilamid jel elektroforezi'nde kullanılan çözeltiler**

**a.** 1.5 M Tris (pH: 8.8): 18,15 g tris 50 ml saf suda çözülür. HCl ile pH 8,8' e ayarlandı. Saf su ile 100 ml' ye tamamlandı.

**b.** 0,5 M Tris (pH: 6,8): 3 g tris 40 ml saf suda çözüldü. HCl ile pH 6.8' e ayarlandı. Saf su ile 50 ml' ye tamamlandı.

**c.** % 10 SDS: 1g SDS son hacim 10 ml olacak şekilde saf suda çözüldü.

**d.** % 10 Amonyum persülfat (polimerizasyon başlatıcı): 0,05 g amonyum persülfat son hacim 500 µl olacak şekilde saf suda çözüldü.

**e.** Akrilamid/bis akrilamid çözeltisi (% 30 akrilamid, % 2,7 bisakrilamid): 29,2 g akrilamid 75 ml saf suda çözüldü, çözeltiliye 0,8 g bis katılıp çözüldü. Son hacim 100 ml'ye tamamlandı.

**f.** % 0.1'lik brom timol mavisi: 0,1 g indikatör boya, 16 ml 0.1 N NaOH içerisinde çözüldükten sonra su ile hacmi 100 ml'ye tamamlandı.

**g.** Numune tamponu (0,125 M Tris, % 4 SDS, % 20 gliserol, % 10 2-merkaptotanol, % 0.2 brom fenol mavisi pH: 6,8): 2.5 ml yükleme jeli tamponu, 4 ml % 10 SDS, 2 ml gliserol, 1 ml 2-merkaptotanol alınıp son hacim 10 ml olacak şekilde saf su ile tamamlandı, pH: 6,8' e ayarlandı. Karışıma 0,02 g brom fenol mavisi katılarak karıştırıldı.

**h.** Yürütme tamponu (0,025M Tris, 0,192 M glisin, % 0,1 SDS, pH: 6,8): 3 g Tris, 14,4 g glisin, 1 g SDS alındı. 900 ml saf suda çözülerek pH 6,8' e ayarlandı. Son hacim 1000 ml'ye saf su ile tamamlandı.

**j.** Fixing çözeltisi: 40 ml saf su üzerine 10 g TCA ilave edilerek iyice çözüldükten sonra, 50 ml izopropil alkolün yavaş yavaş ilavesiyle 100 ml'ye tamamlandı.

**k.** Boyama çözeltisi: 10 g TCA 58 ml saf suda iyice çözüldükten sonra üzerine 15 g amonyum sülfat ilave edilerek bununda çözünmesi sağlandı ve daha sonra bu karışımın üzerine 15 ml izopropil alkol konulduktan sonra şeffaflaşmaya kadar manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Daha sonra ayrı bir beherde 6 ml fosforik asit üzerine 0,6 g Coomassie G-250 eklenerek iyice çözülmüş üzerine daha önce

hazırlanan çözelti yavaş yavaş ilave edilerek karıştırıldı ve toplam hacim saf su ile 100 ml'ye tamamlandı.

**l.** Yıkama çözeltisi: 100 ml asetik asit üzerine 500 ml metanol 400 saf su ilave edilerek toplam hacim 1 L'ye tamamlandı.

**m.** Yığma jeli hazırlanması: 1 M'lık Tris-HCl (pH: 6,8)'den 630 µl, % 30'luk akrilamid-% 0,8'lik bisakrilamid 'den 830 µl, %10'luk SDS 'den 50 µl, % 5'lik TEMED 'den 5 µl ve saf sudan 3.4 ml alınarak karıştırıldı. Son olarak yine günlük hazırlanmış % 10'luk amonyum persülfat (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> (PER)'den 50 µl ilave edildi.

**n.** Ayırma jeli hazırlanması: 2,03 ml 1M Tris-HCl (pH: 8,8), 3.2 ml % 30'luk akrilamid, % 0,8'lik bisakrilamid, 80 µl % 10 SDS, 4 µl % 5'lik TEMED (N,N,N',N'-tetrametil etilen daimin) ve 2,61 ml su karıştırıldı. Bu karışımın üzerine en son olarak 80 µl % 10'luk PER ilave edildi.

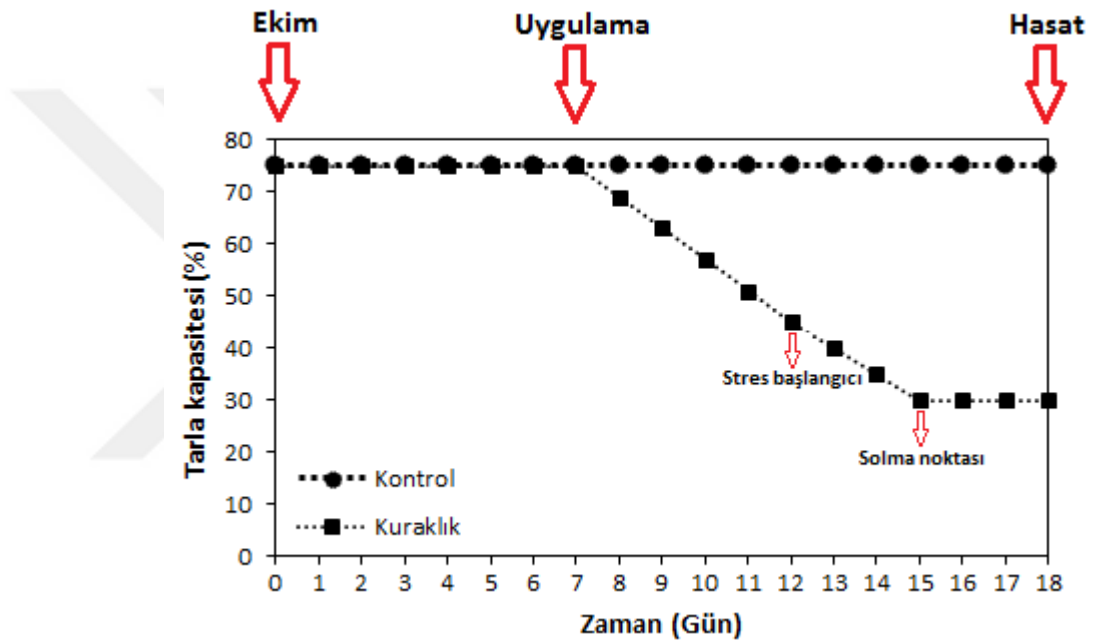
### 3.4. Yöntemler

#### 3.4.1. Bitkilerin büyütülmesi ve stres uygulaması

**Tarla kapasitesi ve tayini:** Serbest drenaj şartlarında bir toprağın yerçekimi kuvvetine karşı tutabildiği su miktarına tarla kapasitesi denir. Tarla kapasitesi bitkilerin istifade ettikleri suyun üst sınırı olarak kabul edilmektedir. % 100 tarla kapasitesindeki toprak etüvde tamamen kurutulduktan sonra su emdirilip ve higroskopik toprak partiküllerinin tamamının su ile doyurulmasıyla elde edilmektedir (İlbaş, 2004).

Buğday bitkisinin yetiştirileceği kontrol grubu şartlarını belirlemek için yapılan ön çalışmada bu bitkinin yetiştiği optimum tarla kapasitesinin % 75 olduğu belirlendi. Bitkiye uygulanacak kuraklık şartlarını belirlemek amacıyla yapılan daimi solma noktasının belirlenmesi çalışmasında tarla kapasitesinin %30 (Sürekli solma noktası) olduğu tespit edildi (Şekil 3.1).

Ekim tarihinden itibaren % 75 tarla kapasitesinde yetiştirilen bitkiler 7 gün boyunca bu şartlarda gelişimini sürdürdü. Bitkilere 7. günün sonunda iki farklı monoterpen ( $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen) uygulandı. Uygulamayı takiben kuraklık stresine bırakılacak bitkilere solma noktasına erişene kadar su verme işlemi sonlandırıldı. Onikinci günün sonunda kuraklık stresine girmeye başlayan bitkiler, 15. gün solma noktasına erişmişlerdir. Üç gün boyunca bu strese (% 30 tarla kapasitesi) kalan bitkiler 18 günün sonunda hasat edildi (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 Buğdayın tarla kapasitesine bağlı kuraklık stresi uygulama takvimini

**Buğday bitkisine monoterpen muamelesi:** Çalışmada kuraklık şartlarında yetiştirilen bitkilere 2 farklı monoterpen uygulandı. Bu kimyasalların uygulanacağı konsantrasyonlar geniş konsantrasyon aralıklı bir ön deneme yapıldıktan sonra karar verildi. Bitkilere 7. gün 100'er ml 1  $\mu$ M'dan 1 M'a kadar  $\alpha$ -pinen ve  $\beta$ -pinen monoterpenleri bir atomizer yardımıyla yapraktan püskürtülerek uygulandı. Hangi konsantrasyonların daha uygun olduğuna karar vermek için elektrolit sızıntı ve MDA miktarlarına bakıldı. Bu deneylerin sonucunda ise 1 ve 10  $\mu$ M uygulanılmasına karar verildi. Bitkilerin yapraklarından özdeş özelliklerde numuneler tartılıp derin dondurucuya (-20 °C) kaldırılarak daha sonraki deneylerde kullanıldı.

### 3.4.2. Büyüme parametreleri

#### 3.4.2.1. Fide başına düşen kuru ağırlık miktarı

Saksıdan rastgele seçilen 30 bitki fidesi 70 °C’de 72 saat bekletildikten sonra aritmetik ortalaması alınarak fide başı ortalama kuru ağırlıkları (mg) belirlendi.

#### 3.4.2.2. Yaprakların bağıl su içerikleri (RWC)

Yapraklardaki bağıl su içeriklerini belirlemek için her bir gruptaki bitkilerden 30 yaprak örneği alınarak yaş ağırlıkları (Y.A.) ölçüldü. Yapraklar 6 saat boyunca düşük ışık altında deiyonize su içinde petrilere bekletilerek turgor haline gelmeleri sağlanmıştır. Turgorlu yapraklar kurularak turgorlu ağırlıkları (T.A.) belirlenmiş ve bu yapraklar 72 saat boyunca 70 °C’de bekletilerek kuru ağırlıkları (K.A.) ölçüldü. Her bir gruba ait yaprak örneklerinin bağıl su içeriği aşağıdaki formüle göre % olarak hesaplandı (Smart ve Bingham, 1974).

$$\text{Bağıl Su İçeriği} = [(Y.A.-K.A.)/(T.A.-K.A.)] \times 100$$

#### 3.4.2.3. Yaprakta toplam klorofil miktarının ve klorofil a/b belirlenmesi

0.5 g bitki numunesi 10 ml % 80’lik aseton ile homojenize edildi. Daha sonra 10.000 x g’de 10 dk. santrifüj edildi. Süpernatant kısmı 0,3 er ml alınır ve üzeri 3 ml’ye asetonla tamamlandıktan sonra küvete konur. Klorofil-a için 663 nm’de, klorofil-b için 646 nm’de absorbans ölçümü yapıldı. Kör olarak aseton kullanıldı. Lichtenthaler ve Wellburn (1983)’e göre total klorofil olarak okuması yapıldı. Aşağıdaki formüle göre klorofil a,b ve toplam klorofil miktarı belirlendi;

$$\text{Klorofil a} = 12,25 A_{663} - 2,55 A_{646}$$

$$\text{Klorofil b} = 20,31 A_{646} - 4,91 A_{663}$$

$$\text{Klorofil a + b} = 17,76 A_{646} + 7,34 A_{663}$$

### 3.4.3. Zar sistemlerindeki hasarın belirlenmesi

#### 3.4.3.1. Hücre zarındaki elektrolit sızıntı miktarının belirlenmesi

Bitkilerden homojen özellikteki yaprak parçalarından 0,1 gr ağırlığında saf sudan geçirdikten sonra yaklaşık 4 ml su alan ince cam tüplere konularak bir gün boyunca +4 °C'de bekletildi. Bu süresinin sonunda tüplerin içerisindeki saf suya geçen iyon miktarı (EC), elektrik kondüktivimetre ile ölçüldü. Dayanıklı ve hassas buğdayların her ikisi için de 20 dk. kaynatma işlemi yapıldıktan sonra 4°C de 24 saat bekletilerek ölçüldü ve toplam hasar (EN) hesaplandı. Daha sonra **%Hasar = (EC/EN)\*100** formülü ile yüzde hasar belirlendi (Griffith vd., 1992; Mutlu, 2009).

#### 3.4.3.2. Yaprak dokularında lipid peroksidasyon aktivitesi

0.5 g bitki numunesi alınarak 10 ml %5 lik TCA içinde homojenize edildikten sonra elde edilen homojenat 10.000 x g'de 15 dakika santrifüj edildi. Tüpün süpernatant kısmından 2.4 ml alınarak üzerine 0.6 ml % 0.5 lik TBA çözeltisi ilave edildi. Reaksiyon karışımı kaynar suda 30 dk. inkübe edilir ve reaksiyon tüplerin buz banyosuna alınmasıyla durduruldu. Kiremit kırmızısı rengindeki reaksiyon karışımının absorbans değeri spektrofotometre ile 532 nm ve daha sonra 600 nm ölçüldü. Lipit peroksidasyonun hesaplanması için; 532 nm 'de ölçülen absorbans değerinden 600 nm 'de belirlenen değeri çıkarıldı ve 1 ml çözeltideki MDA (nmol/ml):  $[(A_{532}-A_{600})/155000] \times 10^6$  formülüyle hesaplandı. Sonuçlar MDA (nmol/gram doku) şeklinde verildi (Ananieva vd., 2002, Mutlu, 2009).

### 3.4.4. Antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesi

#### 3.4.4.1. Antioksidan enzim homojenizasyonu

Enzim ekstraktlarının hazırlanması için 0,1 g yaprak örneği ilk olarak sıvı azotta ezilerek toz haline getirildi. Bunun ardından ekstraksiyon tamponunda homojenize

edildi. Homojenizasyonun ardından örnekler 14000 g'de 20 dk. santrifüj edildi. Bu aşamadan sonra elde edilen süpernatantlar enzim aktivitesi ve protein miktarı belirlenmesinde kullanıldı.

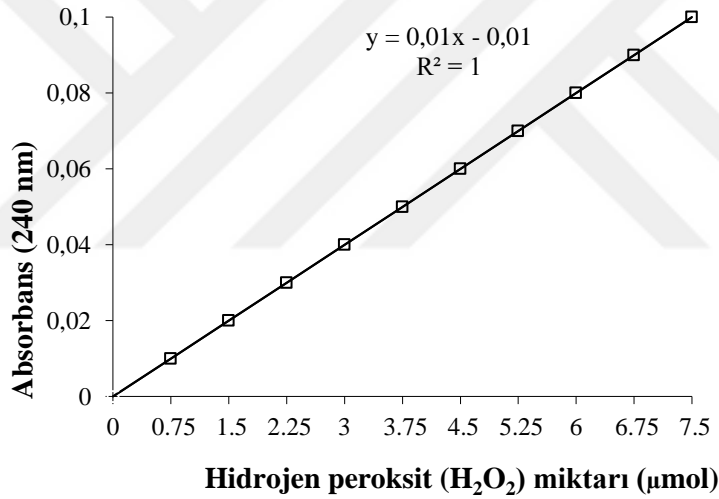
#### **3.4.4.4. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin belirlenmesi**

Süperoksit dismutaz aktivitesi, nitro blue tetrazolium chloride (NBT)'un süperoksit radikalleri ile mavi renkli formazona fotokimyasal olarak indirgenmesi reaksiyonunun SOD enzimiyle engellenmesinin spektrofotometrik olarak belirlenmesi esasına dayanır (Agarwal ve Pandey 2004; Yordanova vd., 2004). Aktivite ölçümü için spektrofotometre küvetine riboflavin içermeyen reaksiyon reaksiyon karışımından 2.84 ml alındı ve üzerine 100 µL enzim ekstraktı pipetlendi. Reaksiyon, tüpe riboflavin çözeltisinden 60 µL pipetlenip karıştırıldıktan hemen sonra, 375 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> şiddetinde beyaz bir ışık kaynağı önüne yerleştirmek suretiyle başlatıldı. Tüp, ışık kaynağının karşısında 10 dk. tutuldu ve reaksiyon ışığın söndürülmesiyle durduruldu. 10 dk. içerisinde NBT'nin renk açılma yoğunluğu 560 nm'de köre karşı okundu. Kör; aynı işlemin enzimsiz örneğidir. SOD için 1 enzim birimi; ışıkla indirgenmenin % 50 engellenmesine neden olan protein miktarı (mg) olarak tanımlandığından, sonuçlar mg protein başına düşen enzim ünitesi (EU mg<sup>-1</sup> Protein) olarak sunuldu (Mutlu, 2005; Erdal vd., 2015).

#### **3.4.4.2. Katalaz (CAT) aktivitesinin belirlenmesi**

Katalazın aktivite tayini için kullanılan yöntem; bu enzimin ortamdaki H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin O<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub>O'ya dönüşümünü sağlarken absorbansta yol açtığı azalmanın 240 nm'de izlenmesi esasına dayanır (Havir ve Mchale, 1987). Reaksiyonda azalan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarını belirlemede kullanılacak olan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> standart grafiği önceden hazırlandı. Bunun için, 5 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisinden 3 mL'lik spektrofotometre tüpüne sırasıyla; 0.15, 0.3, 0.45, 0.6, 0.75, 0.9, 1.05, 1.2, 1.35 ve 1.5 mL konuldu. Tüpün hacmi saf su ile 1.5 mL'ye tamamlandı ve her tüpe 1.47 mL, 103.5 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ve 30 µL su ilave edildi. Küvet spektrofotometreye yerleştirildikten sonra 240 nm'de absorban azalışı

köre karşı okunmuş ve standart grafik elde edildi (Şekil 3.2). Aktivite ölçümü için hazırlanan 103,5 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  tamponu ve 40 mM'lık  $\text{H}_2\text{O}_2$  substrat çözeltisi karıştırılıp 3 mL quartz küvetine konulduktan sonra, 50  $\mu\text{L}$  enzim ekstraktı ilave edildi. 240 nm de ölçüldü. Ölçümlerde absorbansın doğrusal olarak azaldığı aralıktan dakika başına absorbans azalması hesaplandı. Bu ortalama absorbans değerleri, standart grafik yardımıyla  $\mu\text{mol}$  cinsinden  $\text{H}_2\text{O}_2$  miktarına dönüştürüldü. 25 °C'de, 1 dakika içinde, absorbansı 1  $\mu\text{mol}$  azaltan enzim miktarı 1 enzim ünitesi olarak kabul edildi ve sonuçlar mg protein başına düşen enzim ünitesi ( $\text{EU mg}^{-1}$  Protein) olarak sunuldu (Gong vd., 2001; Mutlu, 2005; Erdal vd., 2012).



Şekil 3.2 Katalaz standart grafiği

#### 3.4.4.3. Peroksidaz (POD) aktivitesinin belirlenmesi

Peroksidaz aktivite tayini, guaikol ve  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'nin substrat olduğu reaksiyonun ürünü olan renkli tetra guaikol bileşiğin meydana getirdiği absorbans artışının 470 nm'de izlenmesi esasına dayanmaktadır (Yee vd., 2002). Aktivite ölçümü için spektrofotometre küvetine; 0,1 M,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (pH: 5,5) ve 54 mM guaikol içeren substrat çözeltisinden 3 mL konulduktan sonra, üzerine 10  $\mu\text{L}$  enzim ekstraktı ilave edildi. 470 nm'de 5 dakika boyunca absorbans artışı 1 dakika aralıklarla kaydedildi. 25 °C'de 1 dakikada, absorbansı 0.01 artıran enzim miktarı 1 enzim ünitesi olarak



kabul edildi ve sonuçlar mg protein başına düşen enzim ünitesi ( $\text{EU mg}^{-1}$  Protein) olarak sunuldu (Genişel vd., 2013).

#### **3.4.4.5. Askorbat peroksidaz (APX) aktivitesinin belirlenmesi**

APX aktivitesi Nakano and Asada (1981)'ya göre belirlendi. Askorbat okside olurken, spektrofotometreden 290 nm'deki absorbanstaki azalma okundu ve hesaplamalar askorbatın ekstinksiyon katsayısı kullanılarak ( $2,8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) yapıldı. Askorbatın oksidasyonu, enzim ekstraktının katılmasıyla başlatıldı ve absorbanstaki azalma 3 dk boyunca takip edildi. Sonuçlar mg protein başına düşen enzim ünitesi ( $\text{EU mg}^{-1}$  Protein) olarak sunuldu (Erdal vd., 2015).

#### **3.4.4.6. Glutasyon redüktaz (GR) aktivitesinin belirlenmesi**

Yöntem yükseltgenmiş glutasyonu indirgemek için GR enzimi tarafından oksitlenen NADPH'ın izlenmesine dayanır. Yani indirgeyici faktör olarak NADPH kullanılmıştır. GR aktivitesi Foyer and Halliwell (1976)'e göre belirlendi. NADPH'ın oksidasyonu 340 nm'de 5 dakika boyunca azalmanın ölçülmesiyle ölçüldü. Oksitlenen NADPH miktarı ekstinksiyon katsayısı  $6.2 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  kullanılarak belirlendi. Enzimin, 1 mg total protein başına dakikada oksitlediği NADPH miktarı, sonuçlar mg protein başına düşen enzim ünitesi ( $\text{EU mg}^{-1}$  Protein) olarak sunuldu (Erdal vd., 2015)

#### **3.4.5. Enzimatik olmayan antioksidan madde miktarlarının belirlenmesi**

Taze doku örneklerinden 0.25 g alınıp soğuk bir havan içerisinde sıvı azotla toz haline gelinceye kadar homojenize edildi. Daha sonra üzerine soğuk TCA (%5) konularak iyice ekstrakte edildi. Örnekler tüplere yerleştirilerek  $+4 \text{ }^\circ\text{C}$  10000 rpm'de 20 dk santrifüj edildi. Süpernatant kısmı alınarak glutasyon ve askorbik asit miktarları ölçümlerinde kaynak olarak kullanıldı.

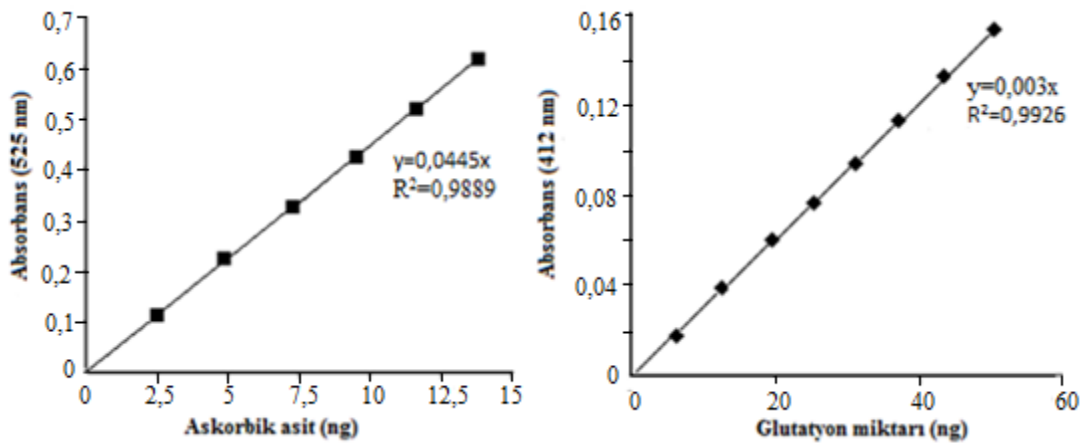
### 3.4.5.1. Toplam glutatyon miktarının belirlenmesi

Total Glutatyon (GSH) miktarını belirlemek için 200 mM  $\text{NAH}_2\text{PO}_4$  (pH: 7.4) tamponundan 160  $\mu\text{l}$  alındı ve üzerine 20  $\mu\text{l}$  6 mM ditiobis (DTNB) ilave edildi. Karışım üzerine 20  $\mu\text{l}$  süpernatant konularak 15 dk oda sıcaklığında inkübe edildi. Örneklerin absorbanansı 412 nm'de köre karşı okundu (Ellman, 1959). Standart grafiği oluşturmak için stok GSH (1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ) çözeltisinden 0, 10, 20, 30, 40, 50 ve 60  $\mu\text{l}$  alınarak mikrosantrifüj tüplerine aktarıldı ve üzerleri %5'lik TCA çözeltisiyle 100  $\mu\text{l}$ 'ye tamamlandı. Bu şekilde elde edilen seyreltilmiş GSH çözeltisinden (10 ng/ $\mu\text{l}$ ) tekrar 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 ve 80  $\mu\text{l}$  alındı ve üzerleri tekrar %5'lik TCA çözeltisiyle 100  $\mu\text{l}$ 'ye tamamlandı. Elde edilen yeni karışımlardan plaitlere 20  $\mu\text{l}$  alınarak üzerlerine 160  $\mu\text{l}$  mM  $\text{NAH}_2\text{PO}_4$  (pH: 7.4) tamponundan ve 20  $\mu\text{l}$  6 mM ditiobis (DTNB) ilave edildi. Karışım 15 dk oda sıcaklığında bekletildikten sonra 412 nm'de ölçüm yapıldı. GSH içeriği standart grafikten yararlanılarak gram dokudaki ng cinsinden belirlendi (Şekil 3.4).

### 3.4.5.2. Askorbik asit miktarının belirlenmesi

Askorbik asit içeriği Wu vd. (2009) tarafından önerilen yönteme göre belirlendi. Elde edilen süpernatanttan 400  $\mu\text{l}$  alınarak üzerine 50  $\mu\text{l}$  1.5 M triethanolamine konulmuştur. Total AsA ölçümünde kullanılacak sırasıyla 150 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 'den 200  $\mu\text{l}$  ve 10 mM DTT'den 100  $\mu\text{l}$  konularak karıştırıldı. Bunun üzerine %0.5 N-ethylmalemideden 100  $\mu\text{l}$  konularak iyice çözüldü. Daha sonra sırasıyla %10'luk TCA'dan 400  $\mu\text{l}$ , %44'lük  $\text{H}_3\text{PO}_4$ 'den 400  $\mu\text{l}$ , %4'lük 2.2'-dipyridylden 400  $\mu\text{l}$  konularak vortexlendi. Son olarak tüplere %3'lük  $\text{FeCl}_3$  çözeltisinden 150  $\mu\text{l}$  konularak tekrar vortexlendi. Tüpler 37 °C'de 60 dk inkübasyona bırakılmış ve sonra 525 nm'deki absorbanları kaydedildi (Meneguzzo *et al.* 1999). Kör numune olarak her bir grubun homojenat katılmamış örnekleri kullanıldı. Hesaplama amacıyla kullanılacak standart grafiğin oluşturulması için 100 mM askorbik asit çözeltisinden 10  $\mu\text{l}$  alınarak üzerine 990  $\mu\text{l}$  saf su konularak iyice karıştırıldı. Daha sonra elde edilen çözeltiden 0, 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5 ve 15  $\mu\text{l}$  alınarak üzerleri saf su

ile 100 µl'ye tamamlandı. Bu şekilde 0, 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5 ve 15 nmol askorbik asit standart çözeltileri elde edildi. Sonrasında yukarıdaki aktivite ölçümü için geçerli prosedür işlemi aynen uygulandı ve elde edilen karışımlar önce 37 °C'de 60 dk inkübasyona bırakıldı ve sonra 525 nm'deki absorbanları alınarak standart grafiği oluşturuldu (Şekil 3.3).



Şekil 3.3 Askorbik asit ve glutatyon içeriğini belirlemede kullanılan standart grafikler

### 3.4.5.3. Toplam karotenoid miktarının belirlenmesi

Bitki numuneleri 0,5 gr tartıldıktan sonra 10 ml % 80'lik aseton ile homojenize edildi. Daha sonra 10.000 x g'de 10 dk. santrifüj edildi. Bu metod için aynı zamanda toplam klorofil miktarının da bilinmesi gerekir. Süpernatant kısmı 0,3'er ml alınarak üzeri asetonla 3 ml'ye tamamlanarak küvetlere konur. Karotenoid için 440 nm'de absorban alındı. Kör olarak aseton kullanıldı. Lichtenthaler ve Wellburn (1983)'e göre total klorofil olarak okuması yapıldı. Aşağıdaki formüle göre toplam karotenoid miktarı belirlendi. Karoten (Car) = 4,69 A<sub>440</sub> - 0,267 Klorofil a+b

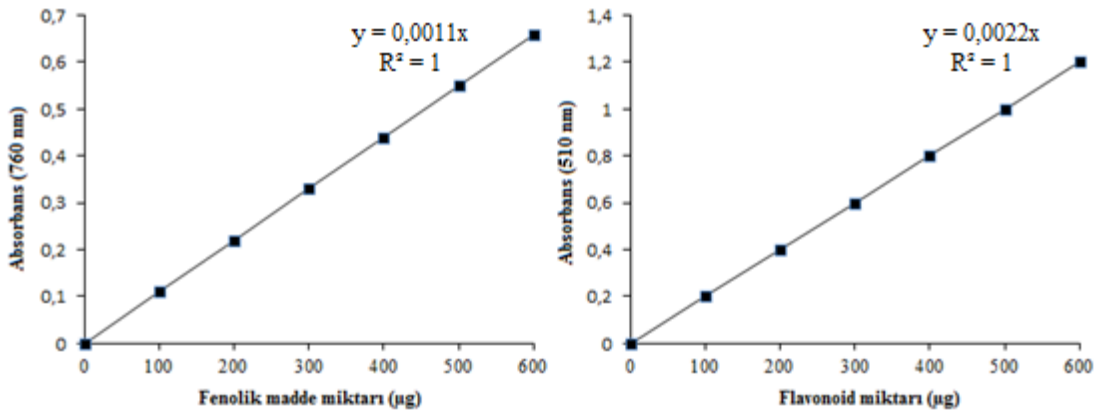
### 3.4.5.4. Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi

Toplam fenolik madde içeriği Dewanto vd. (2002)'e göre yapılmıştır. 1 g bitki yaprağı 10 ml % 80'lik etanol içerisinde (1:10 g/mL oranında) homojenize edildi. Homojenat ayrıca hücre içeriğinin çözücüyeye yüksek düzeyde geçmesi amacıyla bir

saat ultrasonik su banyosunda bekletildi. Bu süre sonunda homojenat soğutmalı santrifüje 10 dk 10000 rpm’de santrifüj edildi. Bu amaçla, 0.125 mL bitki yaprağı ekstraktı üzerine 0.125 mL Folin- Ciocalteu reaktifi ile 0.5 mL distile su ilave edilip oda sıcaklığında 6 dakika bekletildi. Daha sonra bu karışım üzerine 1.25 mL % 7’lik  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  eklenir ve toplam hacim 3 mL olacak şekilde distile su ile tamamlandı. Reaktif karışımı vortekslenildi ve oda sıcaklığında 90 dakika inkübasyona bırakıldı. Son olarak preparatın absorbansı 765 nm’de köre karşı okundu. Toplam fenolik miktarı, gallik asit standart eğrisi kullanılarak hesaplandı. Sonuçlar mg/g gallik asit eşdeğeri taze ağırlık olarak ifade edildi (Şekil 3.4).

#### 3.4.5.5. Flavonoid miktarının belirlenmesi

Flavonoid miktarı Zhinsen vd., 1999’a göre belirlendi. Toplam fenolik madde için hazırlanan homojenat prosedürünün aynısı uygulandı. 0.25 mL bitki ekstraktı üzerine 1 ml saf su ilave edildikten sonra hafifçe vortekslenildi. Daha sonra 0. dakikada 100  $\mu\text{L}$  %5’lik  $\text{NaNO}_2$  ilave edildikten sonra hafifçe karıştırıldı, 5. dakikada 150  $\mu\text{L}$  %10’luk  $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  ilave edildikten sonra hafifçe karıştırıldı, 6. dakikada ise 0,5 mL  $\text{NaOH}$  (1M) eklenir ve yine hafifçe karıştırdıktan sonra son hacim 2,5 ml olacak şekilde 1 ml saf su ile tamamlandı. Preparatın absorbans değeri köre karşı 510 nm’de okundu. Flavonoit miktarı, gallik asit standart eğrisi kullanılarak hesaplandı (Şekil 3.4).



Şekil 3.4 Toplam fenolik madde ve flavonoid standart grafiği

### 3.4.5.6. Total antioksidan kapasite tayini

Bu yöntem Erel (2004)'e göre yapıldı. Ölçümü yapılacak numunedeki antioksidanlar koyu mavi-yeşil renkli ABTS radikalini renksiz ABTS formuna indirger. 660 nm dalga boyundaki absorpsiyon değişimi, numune içinde mevcut toplam antioksidan molekül miktarı ile ilgilidir. Reaksiyon ortamında bol miktarda bulunan zenginleştirici moleküller ile oksidasyon reaksiyonu uzatılır. Asidik bir ortamda demir iyonu kromojen ile renkli bir kompleks oluşturur. Analiz bir E vitamini analogu olan Trolox Equivalent olarak adlandırılan sabit bir antioksidan standart solüsyonu ile kalibre edildi.

Total antioksidan aktivitesi Total Antioxidant Status (TAS) Assay Kit (Rel Assay Diagnostics) kullanılarak tam otomatik yöntemle ölçülmüştür. Kit içeriğinde bulunan Reaktif 1 (Test Tamponu): 50 ml x1, Reaktif 2 (Renkli ABTS radikal solüsyonu): 10 mLx1 ve Standart 2 (1,0 mmol Trolox Equiv./L) Solüsyonu: 10 mL x1 (800 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Equiv./L) ile deiyonize su kullanıldı.

Tam otomatik yöntemle ölçüm için öncelikle günlük standart solüsyon hazırlandı. Ölçümü yapılacak süpernatant numune içine 500 µL Reaktif 1 ve 30 µL standart solüsyondan eklenerek spektrofotometrede 660 nm dalga boyunda ilk absorbans değeri okundu. Daha sonra 75 µL Reaktif 2 eklenerek 10 dk oda sıcaklığında inkübe edilip 660 nm dalga boyunda ikinci kez absorbans değeri okundu. Elde edilen absorbans değerlerinin hesaplanmasında aşağıdaki formül kullanıldı (Altun Çolak, 2013).

$$\text{Sonuç} = \Delta \text{ Numune Absorbansı} / \Delta \text{ Standart 2 Absorbansı}$$

$\Delta$  **Numune Absorbansı** = (Numunenin ikinci absorbansı- Numunenin birinci absorbansı),  $\Delta$  **Standart 2 Absorbansı** = (Std 2'nin ikinci absorbansı - Std 2'nin birinci absorbansı).

### 3.4.6. Reaktif oksijen türlerinin miktarların belirlenmesi

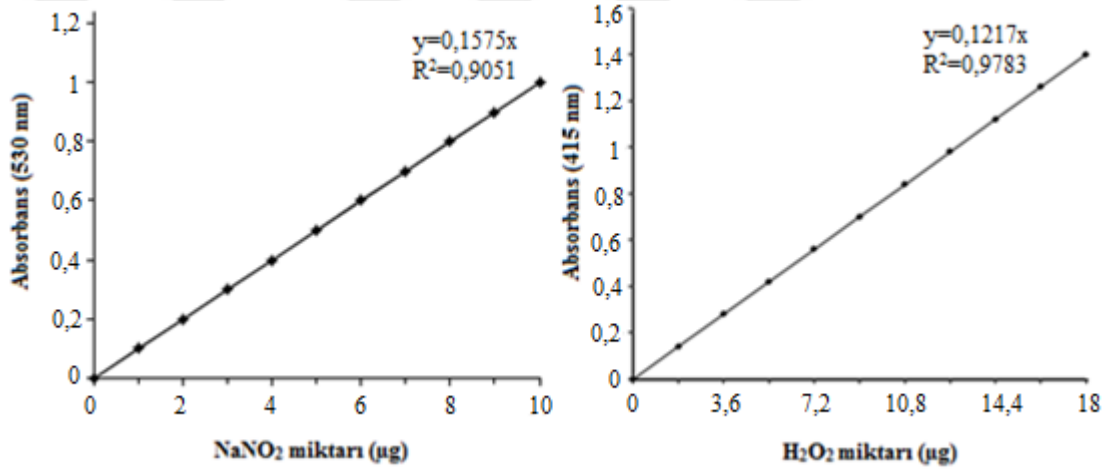
#### 3.4.6.1. Hidrojen peroksit miktarının belirlenmesi

0.5 g doku örneği sıvı azotla toz haline gelinceye kadar havanda homojenize edildi. Üzerine 5 ml soğuk aseton (-20 °C) ilave edilerek tamamen parçalanıncaya kadar homojenize edildi. Homojenat 2 ml'lik ependorf tüplere alınarak +4 °C'de 10000 rpm'de 15 dk santrifüj edildi. Oluşan süpernatanttan 1.5 ml alınarak üzerine önce 0.15 ml %5'lik  $Ti(SO_4)_2$  daha sonra da 0.3 ml %19'luk  $NH_4OH$  ilave edilerek karıştırıldı. Çökelek meydana geldikten sonra karışım 9500 rpm'de 15 dk santrifüj edildi. Süpernatant kısmı ayrıştırıldıktan sonra geriye kalan pelet üzerine 2 M'lık  $H_2SO_4$  çözeltisinden 3 ml ilave edilerek vortekslendi. Pelet iyice çözüldükten sonra absorbansı 415 nm'de ölçüldü (Xu vd., 2006). Hesaplamalarda kullanılan standart grafiği hazırlamak için 3 mM'lık %35'lik  $H_2O_2$  stok çözeltisi kullanıldı. Stok çözeltiden tüplere sırasıyla 3.6, 7.2, 10.8, 14.4, 18, 21.6, 25.2, 28.8, 32.4 ve 36 ng  $H_2O_2$  içeren hacimler alınmış ve üzerleri aseton ile 1.5 ml'ye tamamlandı. Daha sonra karışım üzerine 0.15 ml %5'lik  $Ti(SO_4)_2$  ve 0.3 ml %19'luk  $NH_4OH$  eklenmiştir. Tüp içerisinde çökelek oluştuğundan sonra +4 °C'de 9500 rpm'de 15 dk daha santrifüj edildi. Süpernatantı uzaklaştırılan tüplerdeki pelet 3 ml 2 M'lık  $H_2SO_4$  ile çözülüp absorbansı 415 nm'de köre karşı okundu. Her bir absorbansa karşılık gelen ng  $H_2O_2$  değerlerinden faydalanarak standart grafik oluşturuldu (Şekil 3.5).

#### 3.4.6.2. Süperoksit anyonu miktarının belirlenmesi

0.5 g yaprak dokusu 5 ml fosfat tamponunda homojenize edildi. Elde edilen karışım +4 °C'de 8500 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Elde edilen süpernatanttan 1 ml alınarak üzerine 10 mM hidroksilaminden 100 µl ve 65 mM fosfat tamponundan 900 µl ilave edilerek karıştırıldı. Karışım 25 °C'de 20 dk inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası elde edilen karışımın 1 ml alındı ve üzerine 1 ml 17 mM aminobenzen sülfonik asit ile 1 ml 17 mM 1-naftilamin eklenerek tekrar oda sıcaklığında 20 dk inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda karışımın absorbansı 530 nm'de okunarak

kaydedildi (Yildiztuğay vd., 2014). Süperoksit anyonu miktarını hesaplamak amacıyla sodyum nitrit ( $\text{NaNO}_2$ ) kullanılarak aynı yöntemle hazırlanan standart grafik kullanıldı. Standart grafiğin oluşturulması amacıyla  $50 \mu\text{M}$   $\text{NaNO}_2^-$  çözeltisinden 0, 2, 4, 6, 8 ve 10 ml alınarak üzerleri saf su ile 10 ml'ye tamamlandı. Elde edilen karışımlardan 1 ml alınıp üzerlerine 1 ml 17 mM aminobenzen sülfonik asit ile 1 ml 17 mM 1-naftilamin eklenerek oda sıcaklığında 20 dk inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda karışımın absorbansı 530 nm'de okunarak kaydedildi (Şekil 3.5. Sonuçlar  $\text{NaNO}_2$  standart grafiğine bakılarak  $\mu\text{g/g}$  doku olarak verildi (Liu vd., 2010; Esim ve Atıcı, 2015).



Şekil 3.5 Süperoksit anyonu ve  $\text{H}_2\text{O}_2$  standart grafiği

#### 3.4.6.3. Hidroksil radikali süpürülme aktivitesinin belirlenmesi

Bitki yapraklarındaki  $\bullet\text{OH}$  radikali süpürülme aktivitelerinin belirlenmesi, Chung vd., (1997)'lerinin belirttiği yöntemde küçük modifikasyonlar yapılarak tespit edildi. Çözeltilerin tümü analiz süresince taze olarak hazırlandı.  $\text{Fe}^{+3}$ /askorbat/EDTA/ $\text{H}_2\text{O}_2$  sisteminden üretilen  $\bullet\text{OH}$  radikallerine karşı deoksiriboz ve örnek arasındaki rekabet  $\bullet\text{OH}$  süpürülme aktivitesinin belirlenmesi için ölçüldü. Reaksiyon karışımı  $37^\circ\text{C}$ 'de 2 saat inkübe edildi. Test tüplerine 0.75 ml % 2.8'lik TCA ve 0.75 ml % 1'lik TBA eklenmiş ve 20 dakika kaynatıldı. Soğutma işleminden sonra karışımın, 520 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçüldü.  $\bullet\text{OH}$  süpürülme yeteneği hidroksil radikali tarafından 2-deoksiriboz oksidasyonunun inhibisyon oranı olarak aşağıdaki

formüle göre değerlendirildi. **Hidroksil radikali süpürülme aktivitesi (%)** =  $[(A_0 - A_1)/A_0] * 100$   $A_0$  = Körün Absorbansı,  $A_1$  = Örnek Absorbansı

#### 3.4.6.4. Toplam oksidan kapasitesi tayini

Ölçümü yapılacak numunede demir iyon şelatör kompleksini demir iyonuna okside eden oksidanlar bulunur. Reaksiyon ortamında bol miktarda bulunan zenginleştirici moleküller ile oksidasyon reaksiyonu uzatılır. Asidik bir ortamda demir iyonu kromojen ile renkli bir kompleks oluşturur. Spektrofotometrik olarak ölçülebilen renk yoğunluğu, numune içinde mevcut toplam oksidan molekül miktarı ile ilgilidir. Analiz hidrojen peroksit ile kalibre edilip alınan sonuçlar litre başına düşen mikromolar hidrojen peroksit ( $H_2O_2$   $\mu M$  Equiv./L) cinsinden ifade edildi (Erel, 2005). Tam otomatik yöntemle ölçüm için öncelikle günlük standart solüsyon hazırlandı. Stok Stabilize Standart Solüsyon (SSSS) deiyonize su ile 40 000 kat sulandırılmıştır. 50  $\mu L$  SSSS solüsyonuna 10 mL deiyonize su ilave edilip vortekslendi (İlk seyreltme basamağı). Hazırlanan bu solüsyondan da 50  $\mu L$  alınarak 10 mL deiyonize su ilave edilerek vortekslendi (İkinci seyreltme basamağı). Böylece final konsantrasyonu 20  $\mu M$   $H_2O_2$  olan solüsyon hazırlandı. Ölçümü yapılacak süpernatant numune içine 500  $\mu L$  Reaktif 1 ve 75  $\mu L$  hazırlanan standart solüsyondan eklenerek spektrofotometrede 530nm dalga boyunda ilk absorbans değeri okundu. Daha sonra 25  $\mu L$  Reaktif 2 eklenerek 10dk oda sıcaklığında ya da 5 dk 37 °C'de inkübe edilip 530 nm dalga boyunda ikinci kez absorbans değeri okundu. Elde edilen absorbans değerlerinin hesaplanması için aşağıdaki formül kullanıldı (Altun Çolak, 2013).

$$(\text{Sonuç} = \Delta \text{ Numune Abs.}) / (\Delta \text{ Stdrt 2 Abs.}) \times 20 \text{ (Stdrt 2 Değeri)}.$$

$\Delta$  **Numune Absorbansı** = (Numunenin ikinci absorbansı-Numunenin birinci absorbansı),  $\Delta$  **Standart 2 Absorbansı** = (Std 2'nin ikinci absorbansı - Std 2'nin birinci absorbansı) Standart 2 Değeri = 20  $\mu mol$   $H_2O_2$  Equiv./L



### **3.4.6.5. Oksidatif stres indeksinin belirlenmesi**

Oksidatif stres indeksi (OSI), oksidatif stres derecesinin bir indikatör parametresi olup, total oksidan aktivitenin (TOS) total antioksidan aktiviteye (TAS) bölünüp 100 ile çarpılmasıyla hesaplandı (Altun Çolak, 2013).

### **3.4.7. Yapraktaki osmoprotektan maddelerin miktarları**

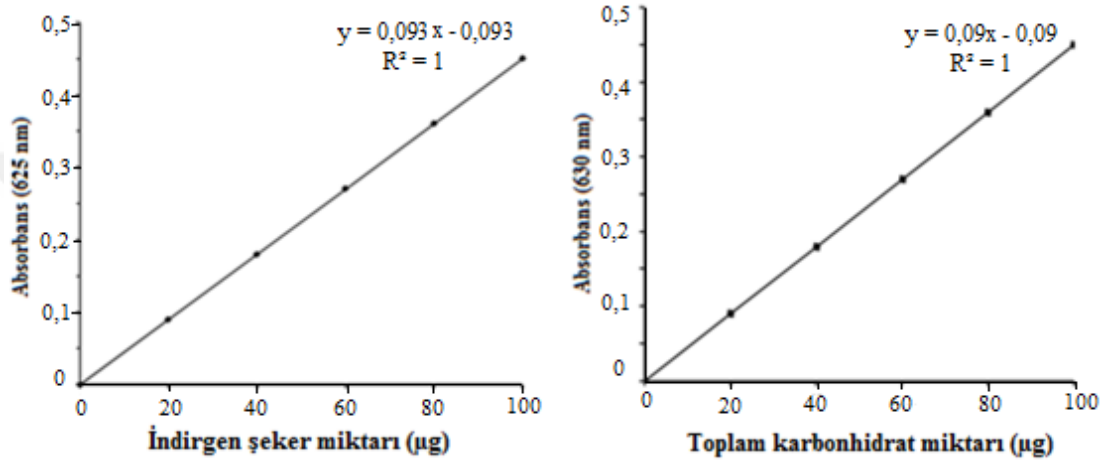
#### **3.4.7.1. Toplam karbohidrat miktarının belirlenmesi (antron metodu)**

Toplam karbohidrat miktarı, Dische (1962)'in metoduna göre yapılmıştır. Antron reaktifi ile şekerlerin analizi şu esasa dayanır; bitkisel örneklerden ekstrakte edilen şekerler kuvvetli asidik ortamda 5 mol su kaybederek furfurallara dönüşür. Antron reaktifi de kuvvetli asidik ortamda furfurallarla reaksiyon verecek şekilde moleküler düzenlenmeye uğrar. 0,1 gr doku 5 ml soğuk HCl de homojenize edildi. Homojenatlar 3 saat sıcak su banyosunda kaynatıldı ve soğuk su banyosuna konuldu. Tüpler santrifüj edildi. Bu işlemden sonra süpernatanttan 1 ml alındı üzerine 9 ml saf su konuldu ve tekrar santrifüj edildi. Aynı şekilde süpernatanttan yine 1 ml alındı ve üzerine 4 ml anthron reagent konuldu ve 630 nm de absorbans değişimleri okundu (renkleri yeşil olmalıdır). Son olarak değişimler standart grafik ile belirlendi (Şekil 3.7). Aynı işlem toplam karbohidrat standardı için de belirlenen çözeltiler ile yapıldı.

#### **3.4.7.2. İndirgen şeker miktarının belirlenmesi**

Bu yöntem Ross (1959)'a göre yapıldı. 0.5 g yaprak numunesi 10 ml % 80 lik etanol ile homojenize edildi. Homojenat 6000 rpm 'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernetant kısmından 1'er ml alınıp, 3 ml dinitrofenol çözeltisi ilave edilerek 6 dk. 95°C' deki su banyosunda bekletildi. Bu süre sonunda 10 dk. buz banyosunda soğutulularak reaksiyonun durması sağlandı. Daha sonra son hacmi 4' er ml olan tüplerdeki numunelerin absorbans ölçümü 625 nm dalga boyunda spektrofotometrede yapıldı. Kör olarak ise 1 ml etanol ve 3 ml dinitrofenol karışımı

hazırlanarak yukardaki işlem birebir yapıldı. K r karışımı ile spektrofotometre sıfırlanarak absorbands ölçümü gerçekleştirildi. Standart grafiğin hazırlanması için de içerisinde 0.0, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 ve 1 mg D(+) glikoz bulunan 1 ml'lik seri  zeltiiler hazırlandı ve yukarıda bahsedilen işlemler yapıldı. Standart  zeltiiler ile onların absorbandsları kullanılarak hesaplandı (Şekil 3.7).



Şekil 3.6 İndirgen şeker ve toplam karbohidrat standart grafikleri

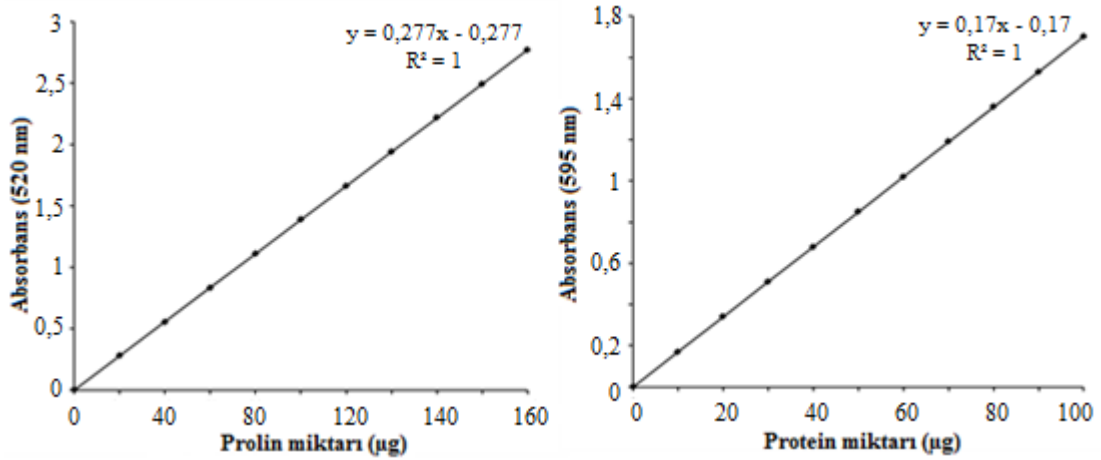
#### 3.4.7.3. Çözünebilir protein miktarının belirlenmesi

Protein miktarının belirlenmesi Bradford (1976) yöntemi kullanılarak yapıldı. Bu yöntemde bovin serum albuminin (BSA) farklı konsantrasyonlarının 595 nm dalga boyundaki absorbsiyon değerleri ölçülerek standart protein eğrisi çizildi (Şekil 3.8) ve total çözünebilir protein miktarları belirlenerek (mg protein g<sup>-1</sup>K.A.) cinsinden ifade edildi. Coomassie Brilliant Blue G250 boyar maddesi ile proteinlerin oluşturduğu kompleks 595 nm ölçüldü. Protein konsantrasyonu enzim aktivitelerinin hesaplanmasında kullanıldı (Sağlam, 2011).

#### 3.4.7.4. Prolin miktarının belirlenmesi

Bates vd., (1973) tarafından geliştirilen yönteme uygun olarak yapıldı.  nce 0.5 g doku  rneği, sıvı azotta toz haline getirildikten sonra üzerine %3'l k sülfosalisilik asit ilave edilerek homojenize edildi. Homojenat 6000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi.

Süpernatanttan 1 ml alınarak üzerine 1 ml glasiyel asetik asit ve 1 ml asit ninhidrin konuldu ve tüpler 100 °C'de 1 saat inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda tüpler buz banyosuna alınarak reaksiyon durduruldu. Daha sonra tüplerin üzerlerine 4 ml toluen ilave edildi ve örnekler iyice vortekslendi. 15 dk sonra tüplerde oluşan pembemsi renkli sıvının (üst faz) absorbansı 520 nm'de köre karşı kaydedildi. Kör olarak toluen kullanıldı. Standart grafik için 10 mg saf prolin 100 ml saf suda çözüldü. Hazırlanan bu stok çözeltiden tüplere sırasıyla 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180 ve 200 µl konuldu ve tüplerin son hacimleri saf suyla 2 ml'ye tamamlandı. Daha sonra tüplere 1 ml glasiyel asetik asit ve 1 ml asit ninhidrin ilave edildi. Tüpler 1 saat 100 °C'de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası her bir tüpe 4 ml toluen ilave edilerek vortekslendi. Her bir tüpün üst kısmında oluşan pembe fazın absorbansı 520 nm'de ölçüldü. Prolin miktarı hazırlanan standart grafikten yararlanılarak µg prolin/gr kuru ağırlık cinsinden hesaplandı (Şekil 3.8).



Şekil 3.7 Prolin ve çözünür protein standart grafikleri

#### 3.4.8. SDS-Poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE)

Hazırlanan cam plakalar üzerine ayırma jeli 4.75 ml pipetlendi ve bunun üzerine jelin üstünün düz olması için hemen 500 µl izopropil alkolden döküldü. Ayırma jeli katılaşmaya kadar yaklaşık 10 dk. beklendi. Hazırlanan yığma jeli ve ayırma jelinin üzerine dökülüp nemlendirilmiş tarak yerleştirildikten sonra yığma jelinin katılaşması beklendi. Yaklaşık 20 dk. sonra tarak jelden dikkatli bir şekilde çıkarıldı. Hazırlanan plakalar dikkatli bir şekilde elektroforez tankına yerleştirildi. Protein örnekleri ve numune yükleme tamponu 2/1 oranında homojen bir şekilde tüplerde

hazırlanıp titre edildikten sonra, 3 dk. kaynar suda inkübe edilmiş ve oda sıcaklığına kadar soğutuldu. Numuneler bir mikro enjektörle jelin kuyularına 30'ar  $\mu\text{L}$  yüklendi. Molekül ağırlıkları bilinen standart proteinlerde numune yükleme tamponu ile birlikte yine aynı şekilde 2/1 oranında çözülerek 30  $\mu\text{L}$  olacak şekilde numunelerle birlikte jele yüklendi. Tank kapağı kapatılarak elektroforez tankının alt ve üst kısmına yeterince yürütme tamponu konulmuş ve elektrik bağlantıları yapıldı. Daha sonra numuneler 80 voltta yürütüldü. Yürüme işlemi bittiğinde akım kesilerek jel, camlar arasından dikkatlice çıkarıldı ve sabitleme çözeltisinde 30 dk. çalkalandı. Bunu takiben, jel boyama çözeltisinde 2-5 saat tekrar çalkalandı ve boyama çözeltisinden alınarak protein bantları iyice görülünceye kadar yıkama çözeltisinde yıkandı. Son olarak jel görüntüleme cihazı ile kaydedildi (Laemmli, 1970; Mutlu, 2009; Erdal vd., 2015).

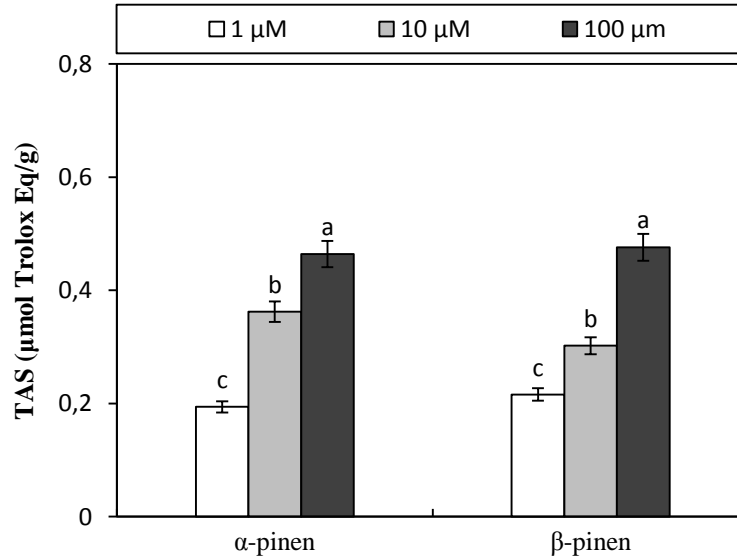
#### **3.4.9. İstatistik analiz**

Çalışmada sunulan veriler, her bir gruptan üç farklı örnek ve her bir örnekten 3 paralel (tekrar) yapıldıktan sonra elde edilen 9 değer in ortalamasıdır. Sonuçların karşılaştırılması, SPSS 19.0 paket programı kullanılarak tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile yapılmış ve istatistik anlamlar, 0.05 hata seviyesinde Duncan'ın çoklu karşılaştırma Testi kullanılarak belirlendi.

#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

##### 4.1. $\alpha$ ve $\beta$ -Pinen Monoterpenlerinin İn-vitro Ortamda Total Antioksidan (TAS) Kapasitelerinin Belirlenmesi

Yürütölmüş olan antioksidan enzim, reaktif oksijen türleri, antioksidan bileşik ve osmoprotektan deneylerinin ardından, kuraklıkla birlikte  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının genel itibari ile osmoprotektan, antioksidan enzim ve maddelerin genel itibari ile azalması çalışmada kullanılan bu monoterpenlerin antioksidan özelliğe sahip olabileceği fikrini uyandırmıştır. Bu fikri desteklemek amacıyla  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen monoterpenlerinin 1-100  $\mu$ M konsantrasyonlarının invitro koşullarda toplam antioksidan kapasitesi belirlenmiştir. Sonuçlar Şekil 4.1'deki gibi değerlendirildiğinde her iki monterpene de konsantrasyon arttıkça antioksidan kapasitenin de arttığı belirlenmiştir.



Şekil 4.1  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen monoterpenlerinin TAS miktarı değerleri

## 4.2. Kuraklık Stresinin Buğdayda Büyüme Parametreleri Üzerine Etkileri

### 4.2.1. Kuru ağırlık

Buğdayın kuraklığa dayanıklı ve hassas varyetesinde **kuraklık stresi uygulaması** kuru ağırlık miktarını düşürdüğü ( $P<0.05$ ) görülmüştür. Çizelge 4.1 ve Şekil 4.2 ayrıntılı incelendiğinde kontrole göre dayanıklı ve hassas varyetede düşüş meydana gelmiştir. Hassas varyetede bu düşüş % 22.9 oranında olurken dayanıklı varyetede ise % 6.6 oranında olmuştur.

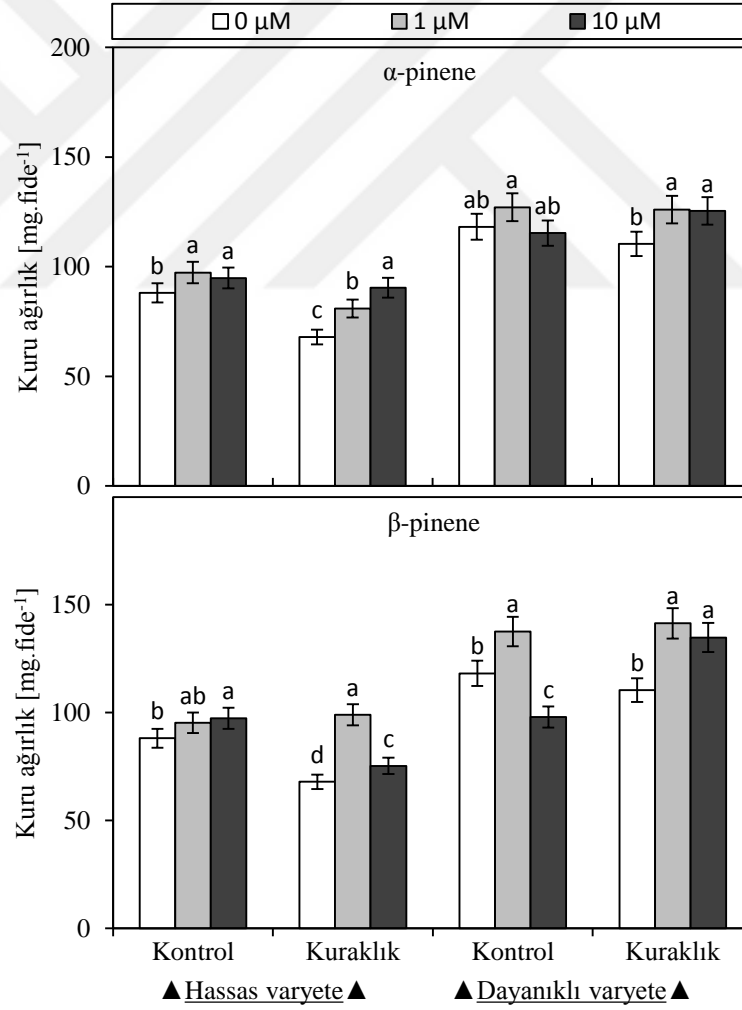
Kontrol şartlarında büyütülen bitkilere dışsal  **$\alpha$ -pinen uygulamasıyla** kuru ağırlık miktarında hassas varyetenin iki grubunda da artış olurken dayanıklı varyetede ise bir grupta artış belirlenmiştir. Dayanıklı varyetenin diğer konsantrasyonunda anlamlı bir fark yoktur. Kuraklık stresine maruz kalmış bitki yapraklarına ise  $\alpha$ -pinen uygulaması kuru ağırlık miktarında her iki varyetede de kendi kontrollerine göre ( $P<0.05$ ) artış sağlamıştır. Bu artışlar incelendiğinde hassas varyetede 1 ve 10  $\mu\text{M}$ 'lık  $\alpha$ -pinen uygulamalarında kontrolüne göre sırasıyla % 19.1 ve 33.1, dayanıklı varyetede ise % 14.1 ve 13.6 oranında olduğu görülür.

Kontrol koşullarındaki bitkilere dışsal  **$\beta$ -pinen uygulamasıyla** kuru ağırlık miktarında hassas varyetenin tüm grubunda, dayanıklı varyetenin ise bir grupta artış belirlenmiştir. Diğer grubunda ise düşüş görülmüştür. Kuraklık stresine maruz kalmış bitki yapraklarında  $\beta$ -pinen uygulaması kuru ağırlık miktarında her iki varyetede de kendi kontrollerine göre ( $P<0.05$ ) artış sağlamıştır. Örneğin, hassas varyetede 1 ve 10  $\mu\text{M}$ 'lık  $\beta$ -pinen uygulamalarında kontrolüne göre fide başı kuru ağırlık miktarındaki bu artış sırasıyla % 45.8 ve 10.9 oranında meydana gelirken dayanıklı varyetede ise % 28.1 ve 22.1 oranında belirlenmiştir.

**Çizelge 4.1** Kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde ortalama fide kuru ağırlığı ( $\text{mg.fide}^{-1}$ ) üzerine etkisi

Konsantrasyon ( $\mu\text{M}$ )	Hassas varyete		Dayanıklı varyete		
	Kontrol	Kuraklık	Kontrol	Kuraklık	
$\alpha$ -pinen	0	88,1 $\pm$ 3,45 <sup>b</sup>	67,9 $\pm$ 1,34 <sup>c</sup>	118 $\pm$ 1,23 <sup>ab</sup>	110,4 $\pm$ 1,34 <sup>b</sup>
	1	97,3 $\pm$ 2,50 <sup>a</sup>	80,9 $\pm$ 0,23 <sup>b</sup>	127 $\pm$ 2,54 <sup>b</sup>	126,0 $\pm$ 3,54 <sup>a</sup>
	10	94,8 $\pm$ 1,64 <sup>a</sup>	90,4 $\pm$ 2,43 <sup>a</sup>	115 $\pm$ 1,98 <sup>ab</sup>	125,4 $\pm$ 2,98 <sup>a</sup>
$\beta$ -pinen	0	88,1 $\pm$ 1,34 <sup>b</sup>	67,9 $\pm$ 1,23 <sup>d</sup>	118,2 $\pm$ 2,45 <sup>b</sup>	118,4 $\pm$ 4,89 <sup>b</sup>
	1	95,3 $\pm$ 3,76 <sup>ab</sup>	99,0 $\pm$ 3,76 <sup>a</sup>	137,6 $\pm$ 1,91 <sup>a</sup>	141,4 $\pm$ 5,98 <sup>a</sup>
	10	97,4 $\pm$ 3,09 <sup>a</sup>	75,3 $\pm$ 5,74 <sup>c</sup>	97,9 $\pm$ 1,27 <sup>c</sup>	134,8 $\pm$ 4,65 <sup>a</sup>

\*Aynı sütundaki her bir madde için geçerli olmak kaydıyla, aynı varyete içerisinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre  $P < 0.05$  önem seviyesinde anlamsızdır.  $\pm$  standart hatayı ifade eder.



**Şekil 4.2** Kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde ortalama fide kuru ağırlığı ( $\text{mg.fide}^{-1}$ ) üzerine etkisi

#### 4.2.2. Bağıl su miktarı sonuçları

Buğdayın kuraklığa dayanıklı Karahan-99 ve hassas Cumhuriyet-75 varyetelerinden kuraklık stresi ve  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulaması ile elde edilen bağıl su miktarı sonuçları Çizelge 4.2 ve Şekil 4.3’de sunulmuştur. Kuraklığa dayanıklı ve hassas buğday varyetelerinin her ikisinde de **kuraklık stresi uygulaması** bağıl su miktarını kontrole göre büyük oranda ( $P<0.05$ ) düşürmüştür. Çizelge 4.2 ve Şekil 4.3 ayrıntılı incelendiğinde kontrole göre bu düşüş hassas varyetede % 42.1 oranında olurken dayanıklı varyetede ise % 26.4 olarak görülmektedir.

Kontrol koşullarındaki bitkilere dışsal  **$\alpha$ -pinen uygulamasıyla** bağıl su miktarında her iki varyetede de anlamlı değişikliklere neden olmamıştır. Kuraklık stresine maruz kalmış bitki yapraklarında ise  $\alpha$ -pinen uygulaması bağıl su miktarında dayanıklı ve hassas varyetede birer grupta artış sağlamıştır. Örneğin, hassas varyetede 10  $\mu\text{M}$ ’lık  $\alpha$ -pinen uygulamasında kontrolüne göre bağıl su miktarında % 5.1 oranında artış, 1  $\mu\text{M}$ ’lık  $\alpha$ -Pinen uygulamasında % 13.5 oranında düşüş meydana gelirken dayanıklı varyetede ise 10  $\mu\text{M}$ ’lık  $\alpha$ -Pinen uygulamalarında % 5.5 oranında düşüş, 1  $\mu\text{M}$ ’lık  $\alpha$ -pinen uygulamasında ise % 6.1 oranında artış meydana gelmiştir.

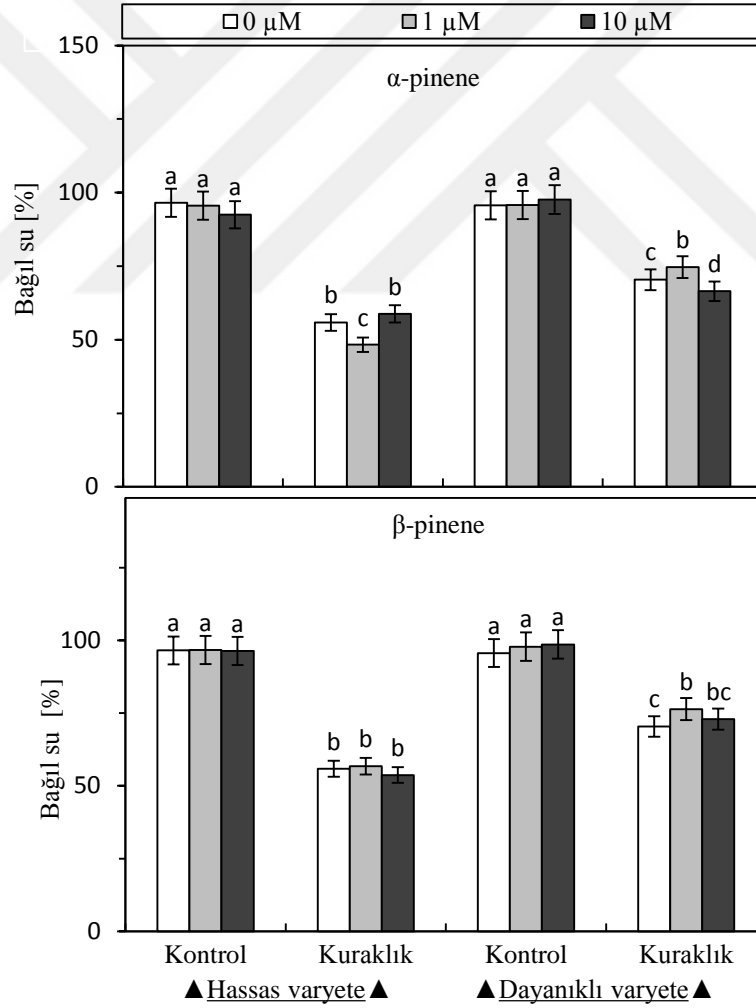
Kontrol şartlarında büyütülen bitkilere dışsal  **$\beta$ -pinen uygulamasıyla** bağıl su miktarında hassas varyetede bir grupta artış olurken, dayanıklı varyetede iki grupta da artış belirlenmiştir. Fakat bu artışlar istatistiksel açıdan anlamlı değildir. Kuraklık stresindeki bitki yapraklarında ise  $\beta$ -pinen uygulaması bağıl su miktarında hassas varyetede bir dayanıklı varyetede ise iki grupta artış sağlamıştır. Dayanıklı varyetedeki 1  $\mu\text{M}$ ’lık  $\beta$ -Pinen uygulamaları haricindeki bütün konsantrasyonlarda anlamlı sayılabilecek bir farklılık kaydedilmemiştir. Dayanıklı varyetenin 1  $\mu\text{M}$ ’lık  $\beta$ -Pinen uygulamasında ise % 8.5 oranında artış gerçekleşmiştir.



**Çizelge 4.2** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde % bağıl su miktarı (RWC) üzerine etkisi

Konsantrasyon ( $\mu$ M)	Hassas varyete		Dayanıklı varyete		
	Kontrol	Kuraklık	Kontrol	Kuraklık	
$\alpha$ -pinen	0	96,6 $\pm$ 4,53 <sup>a</sup>	55,9 $\pm$ 1,54 <sup>b</sup>	95,6 $\pm$ 5,65 <sup>a</sup>	70,4 $\pm$ 3,54 <sup>c</sup>
	1	95,5 $\pm$ 3,44 <sup>a</sup>	48,3 $\pm$ 3,45 <sup>c</sup>	95,8 $\pm$ 4,24 <sup>a</sup>	74,7 $\pm$ 6,44 <sup>b</sup>
	10	92,5 $\pm$ 2,81 <sup>a</sup>	58,8 $\pm$ 2,56 <sup>b</sup>	97,6 $\pm$ 2,45 <sup>a</sup>	66,5 $\pm$ 1,43 <sup>d</sup>
$\beta$ -pinen	0	96,6 $\pm$ 4,53 <sup>a</sup>	55,9 $\pm$ 1,54 <sup>b</sup>	95,6 $\pm$ 5,65 <sup>a</sup>	70,4 $\pm$ 3,54 <sup>c</sup>
	1	96,8 $\pm$ 1,46 <sup>a</sup>	56,7 $\pm$ 1,88 <sup>b</sup>	97,8 $\pm$ 2,60 <sup>a</sup>	76,4 $\pm$ 7,52 <sup>b</sup>
	10	96,4 $\pm$ 1,77 <sup>a</sup>	53,7 $\pm$ 1,05 <sup>b</sup>	98,6 $\pm$ 2,47 <sup>a</sup>	72,9 $\pm$ 5,11 <sup>bc</sup>

\*Aynı sütundaki her bir madde için geçerli olmak kaydıyla, aynı varyete içerisinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre  $P < 0.05$  önem seviyesinde anlamsızdır.  $\pm$  standart hatayı ifade eder.



**Şekil 4.3** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde % bağıl su miktarı (RWC) üzerine etkisi

### 4.2.3. Toplam klorofil miktarı sonuçları

Kuraklığa dayanıklı buğday varyetesinde **kuraklık stresi uygulaması** ile toplam klorofil miktarı kontrole göre hassas varyetede ( $P<0.05$ ) düşüş gösterirken dayanıklı varyetede ise artış belirlenmiştir. Çizelge 4.3 ve Şekil 4.4 ayrıntılı incelendiğinde hassas varyetede kontrole göre bu düşüş %8.5 oranında olurken, dayanıklı varyetede ise istatistiki açıdan anlamlı bir değişim yoktur.

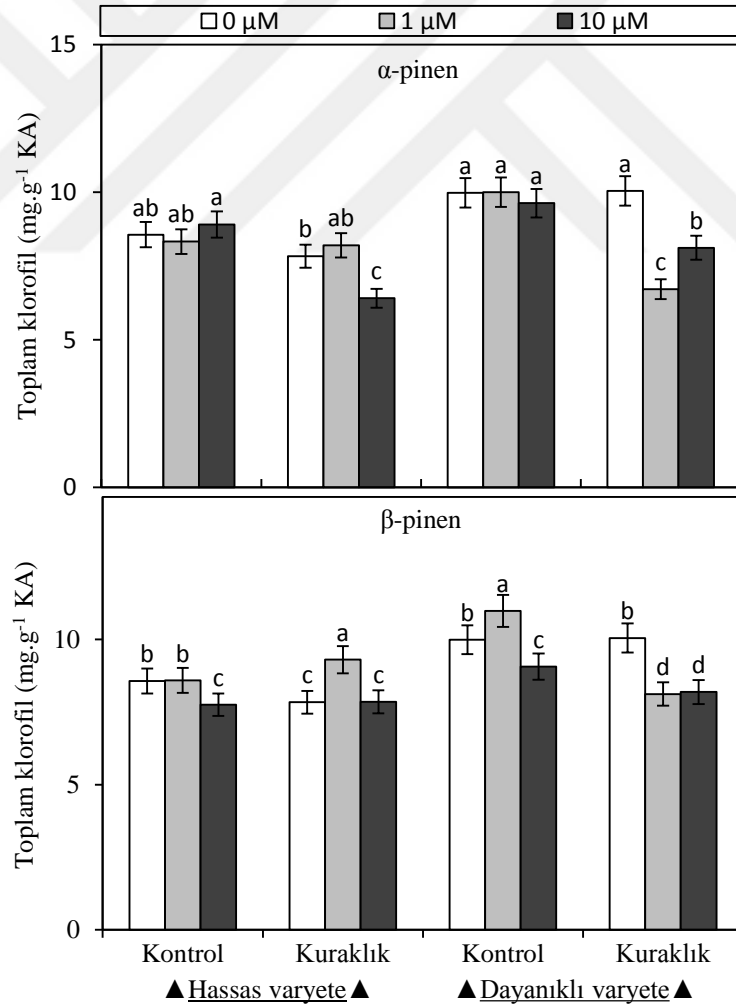
Kontrol şartlarında büyütülen bitkilere dışsal  **$\alpha$ -pinen uygulaması** toplam klorofil miktarında dayanıklı ve hassas varyetenin her ikisinde de anlamlı bir farka neden olmamıştır. Kuraklık stresine maruz kalmış bitki yapraklarında dışsal olarak  $\alpha$ -pinen uygulaması toplam klorofil miktarında hassas varyetenin bir grubunda, dayanıklı varyetenin ise iki grubunda da düşüşe neden olmuştur. Örneğin, hassas varyetede 10  $\mu\text{M}$   $\alpha$ -pinen uygulamalarıyla toplam klorofil miktarında % 18.1 oranında düşüş gözlenirken, 1  $\mu\text{M}$   $\alpha$ -pinen uygulamasında ise, önemli derecede değişiklik belirlenmemiştir. Dayanıklı varyetede ise 1 ve 10  $\mu\text{M}$   $\alpha$ -pinen uygulamalarında sırasıyla % 33.1 ve 19.1 oranında düşüş tespit edilmiştir.

Kontrol koşullarında yetiştirilen bitkilere dışsal  **$\beta$ -pinen uygulaması** toplam klorofil miktarında hassas varyetede 10  $\mu\text{M}$   $\beta$ -Pinen uygulamasında düşüş belirlenirken, 1  $\mu\text{M}$  konsantrasyonunda anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Dayanıklı varyetede ise 1  $\mu\text{M}$   $\alpha$ -pinen uygulamasında artış görülürken, 10  $\mu\text{M}$  konsantrasyonunda düşüş tespit edilmiştir. Kuraklık stresine maruz kalmış bitki yapraklarında  $\beta$ -pinen uygulaması toplam klorofil miktarında hassas varyetenin iki grubunda artış sağlarken, dayanıklı varyetenin ise iki konsantrasyonunda da düşüşe neden olmuştur. Örneğin, hassas varyetede 1  $\mu\text{M}$   $\beta$ -pinen uygulamalarıyla toplam klorofil miktarı % 18.7 oranında artış gösterirken, 10  $\mu\text{M}$  konsantrasyonda önemli farklılığa neden olmamıştır. Dayanıklı varyetede ise 1 ve 10  $\mu\text{M}$   $\beta$ -Pinen uygulamalarında sırasıyla % 19.2 ve 18.5 oranında düşüş görülmüştür.

**Çizelge 4.3** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde toplam klorofil ( $\text{mg.g}^{-1}$  Kuru ağırlık) üzerine etkisi

Konsantrasyon ( $\mu\text{M}$ )	Hassas varyete		Dayanıklı varyete		
	Kontrol	Kuraklık	Kontrol	Kuraklık	
$\alpha$ -pinen	0	$8,56 \pm 0,03^{ab}$	$7,83 \pm 0,01^b$	$9,99 \pm 0,12^a$	$10,0 \pm 0,03^a$
	1	$8,33 \pm 0,07^{ab}$	$8,20 \pm 0,04^{ab}$	$10,0 \pm 0,07^a$	$6,72 \pm 0,03^c$
	10	$8,90 \pm 0,02^a$	$6,41 \pm 0,01^c$	$9,63 \pm 0,03^a$	$8,12 \pm 0,02b$
$\beta$ -pinen	0	$8,56 \pm 0,03^b$	$7,83 \pm 0,15^c$	$9,99 \pm 0,12^b$	$10,0 \pm 0,03^b$
	1	$8,58 \pm 0,03^b$	$9,30 \pm 0,01^a$	$11,0 \pm 0,05^a$	$8,12 \pm 0,04^d$
	10	$7,75 \pm 0,03^c$	$7,85 \pm 0,04^c$	$9,06 \pm 0,04^c$	$8,18 \pm 0,03^d$

\*Aynı sütundaki her bir madde için geçerli olmak kaydıyla, aynı varyete içerisinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre  $P < 0.05$  önem seviyesinde anlamsızdır.  $\pm$  standart hatayı ifade eder.



**Şekil 4.4** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde toplam klorofil ( $\text{mg.g}^{-1}$  Kuru ağırlık) üzerine etkisi

#### 4.2.4. Klorofil a/b Sonuçları

Kuraklığa dayanıklı ve hassas buğday varyetesinde **kuraklık stresi uygulaması** ile klorofil a/b kontrole göre ( $P<0.05$ ) artış belirlenmiştir. Çizelge 4.4 ve Şekil 4.5 ayrıntılı incelendiğinde her iki varyetede bu artış istatistiki manada anlamlı kabul edilmemiştir.

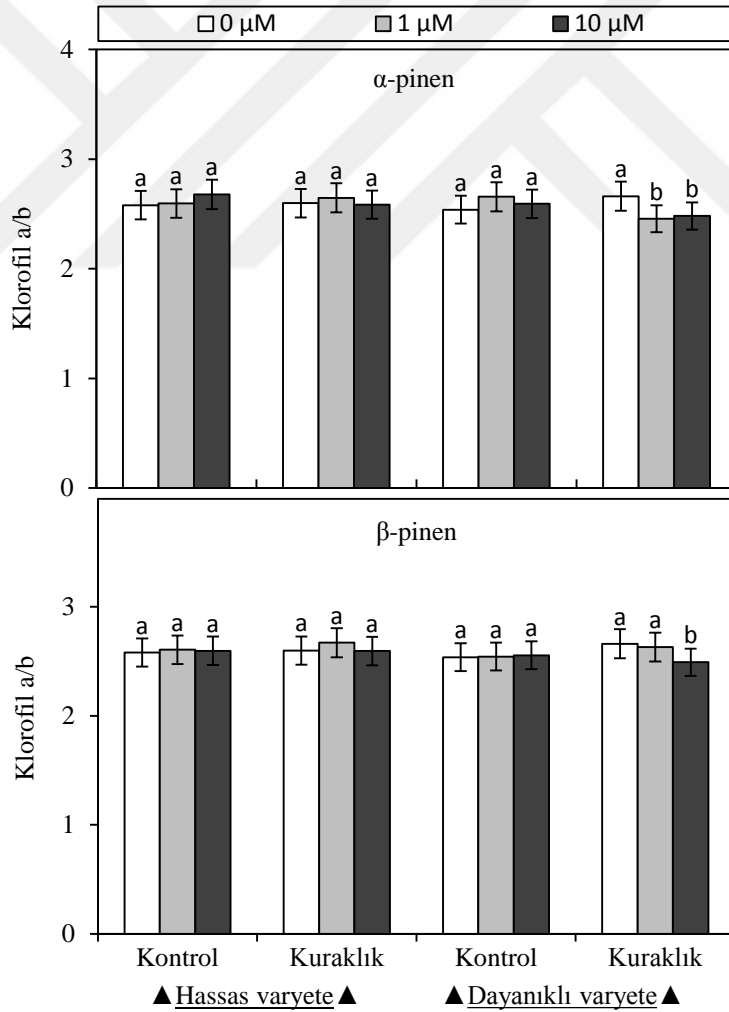
Kontrol koşullarındaki bitkilere dışsal  **$\alpha$ -pinen uygulaması** klorofil a/b oranında dayanıklı ve hassas varyetenin her iki grubunda da anlamlı değişiklikler yoktur. Kuraklık stresine maruz kalmış bitki yapraklarında  $\alpha$ -pinen uygulaması klorofil a/b'de hassas varyetenin bir grubunda artışa neden olurken, dayanıklı varyetenin ise iki grubunda da düşüş sağlamıştır. Hassas varyetede bu düşüşler önemsiz kabul edilirken, dayanıklı varyetede ise 1 ve 10  $\mu\text{M}$   $\alpha$ -pinen uygulamalarında sırasıyla % 7.7 ve 6.7 oranında gerçekleşmiştir.

Kontrol şartlarında büyütülen bitkilere dışsal  **$\beta$ -pinen uygulaması** klorofil a/b oranında her iki varyete de  $\alpha$ -pinen uygulamasında olduğu gibi değişimler önemsizdir. Kuraklık stresindeki bitki yapraklarında  $\beta$ -pinen uygulaması klorofil a/b'de hassas varyetenin bir grubunda, dayanıklı varyetenin ise iki grubunda da düşüş sağlamıştır. Dayanıklı varyetede 10  $\mu\text{M}$   $\beta$ -pinen uygulaması haricindeki tüm konsantrasyonlarda anlamlı kabul edilecek farklılıklar tespit edilmemiştir. Dayanıklı varyetede 10  $\mu\text{M}$   $\beta$ -pinen uygulamasında ise kontrolüne göre 6.3 oranında düşüş görülmüştür.

**Çizelge 4.4** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde klorofil a/b üzerine etkisi

Konsantrasyon ( $\mu$ M)	Hassas varyete		Dayanıklı varyete		
	Kontrol	Kuraklık	Kontrol	Kuraklık	
$\alpha$ -pinen	0	2,58 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	2,60 $\pm$ 0,15 <sup>a</sup>	2,54 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>	2,66 $\pm$ 0,21 <sup>a</sup>
	1	2,60 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	2,65 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	2,66 $\pm$ 0,09 <sup>a</sup>	2,46 $\pm$ 0,10 <sup>b</sup>
	10	2,68 $\pm$ 0,53 <sup>a</sup>	2,58 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	2,59 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	2,48 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>
$\beta$ -pinen	0	2,58 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	2,60 $\pm$ 0,15 <sup>a</sup>	2,54 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>	2,66 $\pm$ 0,21 <sup>a</sup>
	1	2,61 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	2,67 $\pm$ 0,17 <sup>a</sup>	2,54 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>	2,63 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>
	10	2,60 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	2,59 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	2,55 $\pm$ 0,09 <sup>a</sup>	2,49 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>

\*Aynı sütundaki her bir madde için geçerli olmak kaydıyla, aynı varyete içerisinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre  $P < 0.05$  önem seviyesinde anlamsızdır.  $\pm$  standart hatayı ifade eder.



**Şekil 4.5** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde klorofil a/b üzerine etkisi

### 4.3. Kuraklık Stresinin Zar Bütünlüğüne Etkisi

#### 4.3.1. Elektrolit sızıntı miktarı sonuçları

Buğdayın kuraklığa dayanıklı (Karahan-99) ve hassas (Cumhuriyet-75) varyetelerinden kuraklık stresi ile birlikte  $\alpha$  ve  $\beta$ -Pinen uygulamasından elde edilen % membran hasarına bağlı elektrolit sızıntı seviyesi sonuçları Çizelge 4.5 ve Şekil 4.6'de sunulmuştur. Kuraklığa dayanıklı ve hassas buğday varyetelerinin her ikisinde de **kuraklık stresi uygulaması** elektrolit sızıntı seviyesini kontrole göre büyük oranda ( $P<0.05$ ) artırmıştır. Bu artış hassas varyetede % 534 oranında olurken dayanıklı varyetede ise % 140 olarak görülmektedir.

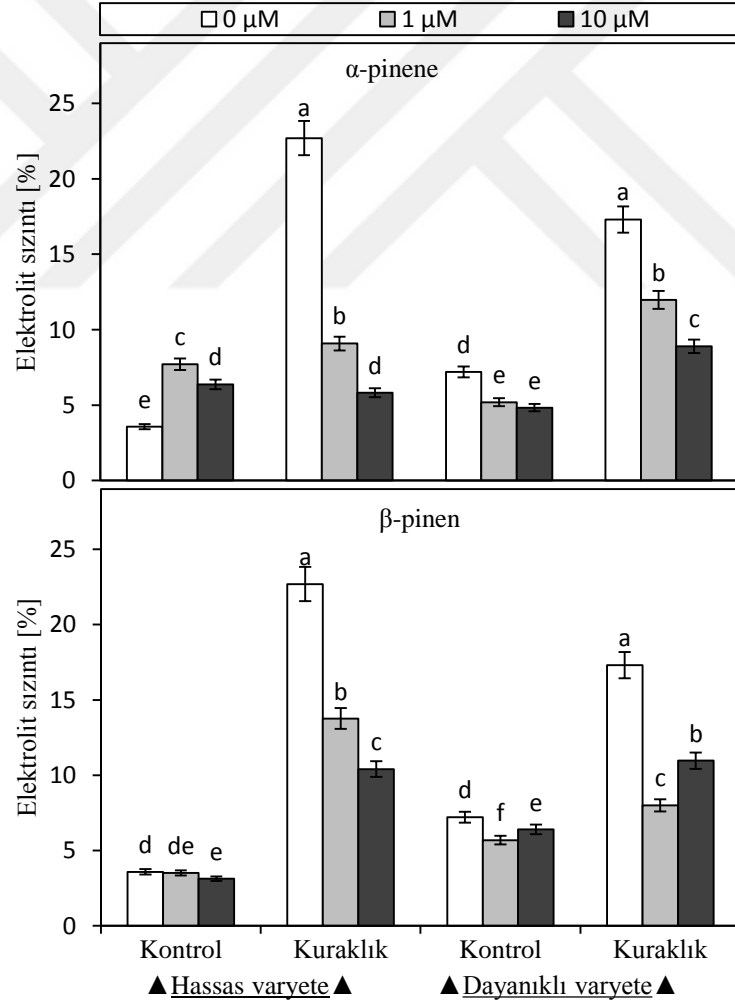
Kontrol şartlarında büyütülen bitkilere dışsal  **$\alpha$ -pinen uygulamasıyla** elektrolit sızıntı seviyesinde hassas varyetede artış olurken dayanıklı varyetede ise düşüş belirlenmiştir. Kuraklık stresine maruz kalmış bitki yapraklarında ise dışsal olarak  $\alpha$ -pinen uygulaması elektrolit sızıntı seviyesinde her iki varyetede de kendi kontrollerine (kuraklık kontrol) göre önemli derecede ( $P<0.05$ ) düşüş sağlamıştır. Örneğin, hassas varyetede 1 ve 10  $\mu\text{M}$ 'lık  $\alpha$ -pinen uygulamalarında kontrolüne göre elektrolit sızıntı seviyesindeki bu düşüş sırasıyla %60 ve 74.3 oranında meydana gelirken dayanıklı varyetede ise %30.8 ve 48.5 oranında belirlenmiştir.

Kontrol şartlarındaki bitkilere  **$\beta$ -pinen uygulamasıyla** elektrolit sızıntı seviyesinde dayanıklı ve hassas varyetenin ise iki grubunda da düşüş sağlanmıştır. Kuraklık stresine maruz kalmış bitki yapraklarında dışsal olarak  $\beta$ -pinen uygulaması elektrolit sızıntı seviyesinde her iki varyetede de kendi kontrollerine göre önemli derecede ( $P<0.05$ ) düşüş sağlamıştır. Elektrolit sızıntı seviyesindeki bu düşüş kontrolüne göre hassas varyetede 1 ve 10  $\mu\text{M}$ 'lık  $\beta$ -Pinen uygulamalarında sırasıyla % 39.3 ve 54.1 oranında meydana gelirken dayanıklı varyetede ise % 53.8 ve 36.6 oranında gözlenmiştir.

**Çizelge 4.5** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde elektrolit sızıntı (%) üzerine etkisi

Konsantrasyon ( $\mu\text{M}$ )	Hassas varyete		Dayanıklı varyete		
	Kontrol	Kuraklık	Kontrol	Kuraklık	
$\alpha$ -pinen	0	$3,57 \pm 0,07^e$	$22,7 \pm 0,56^a$	$7,20 \pm 0,45^d$	$17,3 \pm 0,39^a$
	1	$7,71 \pm 0,52^c$	$9,09 \pm 0,58^b$	$5,19 \pm 0,21^e$	$12,0 \pm 1,07^b$
	10	$6,38 \pm 0,30^d$	$5,83 \pm 0,54^d$	$4,83 \pm 0,14^e$	$8,91 \pm 1,26^c$
$\beta$ -pinen	0	$3,57 \pm 0,07^d$	$22,7 \pm 0,56^a$	$7,20 \pm 0,45^d$	$17,3 \pm 0,39^a$
	1	$3,51 \pm 0,63^{de}$	$13,8 \pm 1,01^b$	$5,68 \pm 0,59^f$	$7,99 \pm 0,72^c$
	10	$3,12 \pm 0,45^e$	$10,4 \pm 0,20^c$	$6,39 \pm 0,51^e$	$11,0 \pm 0,64^b$

\*Aynı sütundaki her bir madde için geçerli olmak kaydıyla, aynı varyete içerisinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre  $P < 0.05$  önem seviyesinde anlamsızdır.  $\pm$  standart hatayı ifade eder.



**Şekil 4.6** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde elektrolit sızıntı (%) üzerine etkisi

### 4.3.2. Lipid peroksidasyon seviyesi sonuçları

Kuraklığa dayanıklı ve hassas buğday varyetelerine **kuraklık stresi** ve  $\alpha$  ve  $\beta$ -Pinen uygulaması ile elde edilen membran hasarına bağlı lipid peroksidasyon seviyesi sonuçları Çizelge 4.6 ve Şekil 4.7’de sunulmuştur. Kuraklığa dayanıklı ve hassas buğday varyetelerinin her ikisinde de **kuraklık stresi uygulaması** lipid peroksidasyon seviyesini kontrole göre büyük oranda ( $P<0.05$ ) artırmıştır. Bu artış hassas varyetede %69 oranında olurken dayanıklı varyetede ise %70 olarak görülmektedir.

Kontrol şartlarındaki bitkilere dışsal  **$\alpha$ -pinen uygulamasıyla** lipid peroksidasyon seviyesinde hassas varyetenin 10  $\mu\text{M}$ ’lık konsantrasyonunda düşüş gözlenirken dayanıklı varyete de dahil diğer bütün gruplarda anlamlı bir farka sebebiyet vermemiştir. Kuraklık stresine maruz kalmış bitki yapraklarında ise  $\alpha$ -pinen uygulaması lipid peroksidasyon seviyesinde her iki varyetede de kendi kontrollerine göre ( $P<0.05$ ) düşüş sağlamıştır. Örneğin, Hassas varyetede 1  $\mu\text{M}$ ’lık uygulamada herhangi bir değişiklik gözlenmezken 10  $\mu\text{M}$ ’lık  $\alpha$ -pinen uygulamasında % 31.6 oranında düşüş meydana gelmiştir. Dayanıklı varyetede düşüş de sırasıyla % 16.1 ve 16.8 olarak belirlenmiştir.

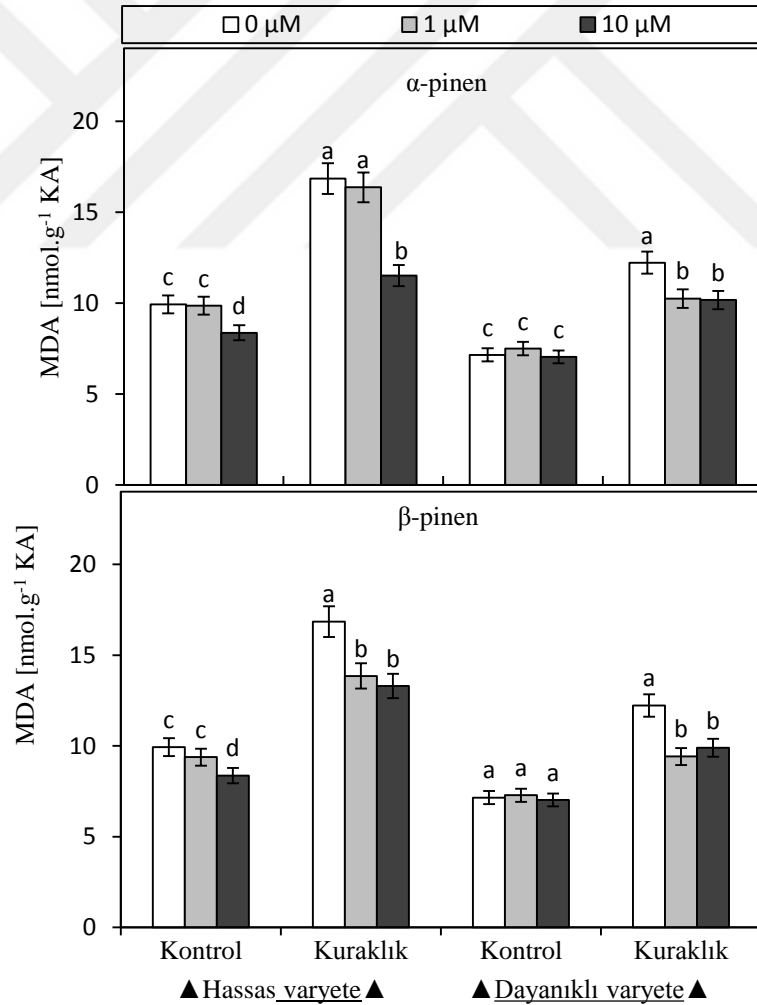
Kontrol şartlarında büyütülen bitkilere dışsal  **$\beta$ -pinen uygulamasıyla** lipid peroksidasyon seviyesinde yine  $\alpha$ -pinen uygulamasında olduğu gibi hassas varyetenin 10  $\mu\text{M}$ ’lık konsantrasyonunda düşüş gözlenirken dayanıklı varyete de dahil diğer bütün gruplarda anlamlı bir farka sebebiyet vermemiştir. Kuraklık stresine maruz kalmış bitki yapraklarında ise  $\beta$ -pinen uygulaması lipid peroksidasyon seviyesinde her iki varyetede de kendi kontrollerine göre önemli derecede ( $P<0.05$ ) düşüş sağlamıştır. Örneğin, hassas varyetede 1 ve 10  $\mu\text{M}$ ’lık  $\beta$ -pinen uygulamalarında kontrolüne göre lipid peroksidasyon seviyesindeki bu düşüş sırasıyla % 17.7 ve 21 oranında meydana gelirken dayanıklı varyetede ise % 23 ve 19.1 oranında belirlenmiştir.



**Çizelge 4.6** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde lipid peroksidasyon seviyesi ( $\text{nmol.g}^{-1}$  Kuru ağırlık) üzerine etkisi

Konsantrasyon ( $\mu\text{M}$ )	Hassas varyete		Dayanıklı varyete		
	Kontrol	Kuraklık	Kontrol	Kuraklık	
$\alpha$ -pinen	0	$9,93 \pm 0,14^c$	$16,8 \pm 0,11^a$	$7,15 \pm 0,16^c$	$12,2 \pm 0,13^a$
	1	$9,85 \pm 0,05^c$	$16,4 \pm 0,07^a$	$7,50 \pm 0,26^c$	$10,2 \pm 0,12^b$
	10	$8,37 \pm 0,14^d$	$11,5 \pm 0,17^b$	$7,05 \pm 0,07^c$	$10,2 \pm 0,07^b$
$\beta$ -pinen	0	$9,93 \pm 0,14^c$	$16,8 \pm 0,11^a$	$7,15 \pm 0,16^a$	$12,2 \pm 0,13^a$
	1	$9,38 \pm 0,26^c$	$13,8 \pm 0,09^b$	$7,28 \pm 0,07^a$	$9,41 \pm 0,10^b$
	10	$8,36 \pm 0,10^d$	$13,3 \pm 0,08^b$	$7,02 \pm 0,06^a$	$9,89 \pm 0,03^b$

\*Aynı sütundaki her bir madde için geçerli olmak kaydıyla, aynı varyete içerisinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre  $P < 0.05$  önem seviyesinde anlamsızdır.  $\pm$  standart hatayı ifade eder.



**Şekil 4.7** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde lipid peroksidasyon seviyesi ( $\text{nmol.g}^{-1}$  Kuru ağırlık) üzerine etkisi

#### 4.4. Kuraklık Stresinin ROS'lar Üzerine Etkisi

##### 4.4.1. Toplam oksidan kapasite (TOS) sonuçları

Buğdayın kuraklığa dayanıklı Karahan-99 ve hassas Cumhuriyet-75 varyetelerinden kuraklık stresi ve  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulaması ile elde edilen TOS miktarı sonuçları Çizelge 4.7 ve Şekil 4.8'de sunulmuştur. Kuraklığa hassas buğday varyetesinde **kuraklık stresi uygulaması** TOS miktarını kontrole göre büyük oranda ( $P<0.05$ ) azaltırken, dayanıklı varyetede ise tam tersi bir durum söz konusudur. Çizelge 4.7 ve Şekil 4.8 ayrıntılı incelendiğinde hassas varyetede kontrole göre bu düşüş % 21.4 oranında olurken dayanıklı varyetede artış ise % 5.5 olarak görülmektedir.

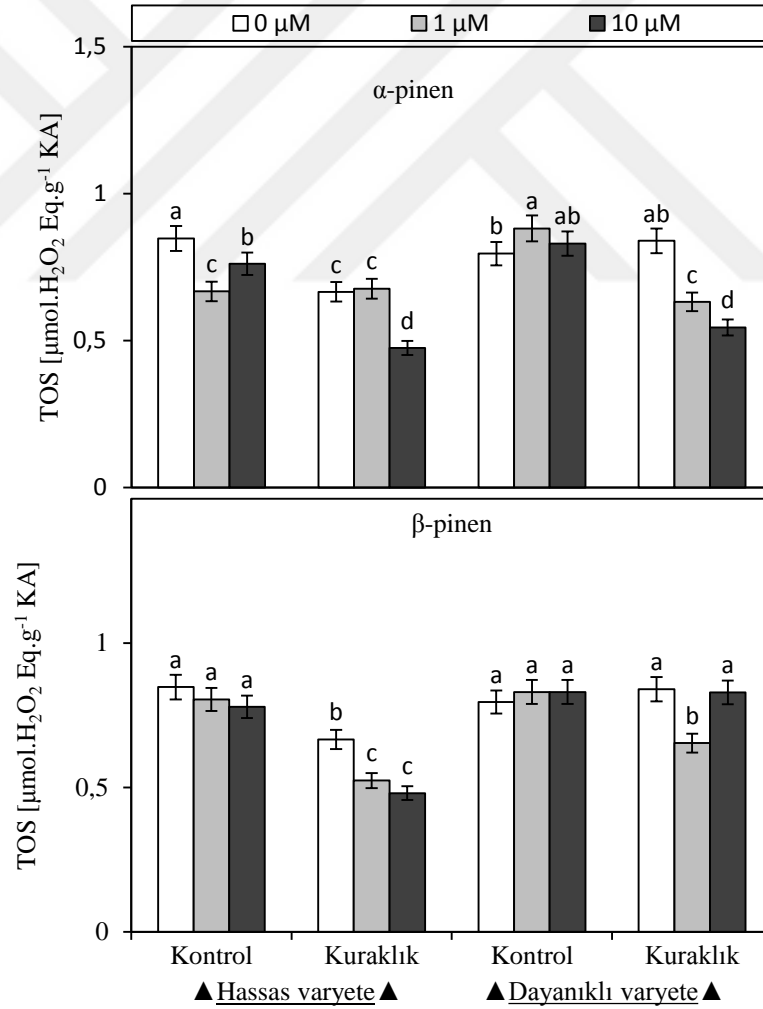
Kontrol şartlarında büyütülen bitkilere dışsal  **$\alpha$ -pinen uygulamasıyla** TOS miktarında hassas varyetenin her iki grubunda düşüş, dayanıklı varyetede ise artış meydana gelmiştir. Kuraklık stresi etkisindeki bitki yaprakları ise dışsal olarak  $\alpha$ -pinen uygulamasıyla TOS miktarında her iki varyetede de hassas varyetede 1  $\mu\text{M}$   $\alpha$ -pinen uygulaması haricinde her iki varyetede de kendi kontrollerine göre ( $P<0.05$ ) düşüş sağlamıştır. Örneğin, hassas varyetede bu düşüş 10  $\mu\text{M}$ 'lık uygulamada % 28.7 oranında gözlenirken, dayanıklı varyetede ise 1 ve 10  $\mu\text{M}$   $\alpha$ -pinen uygulamalarında sırasıyla % 24.7 ve 35.2 oranında tespit edilmiştir.

Kontrol şartlarındaki bitkilere dışsal  **$\beta$ -pinen uygulamasıyla** TOS miktarında hassas varyetenin her iki grubunda da düşüş gerçekleşirken dayanıklı varyetede ise istatistiksel olarak anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır. Kuraklık stresine maruz kalmış bitki yapraklarında ise  $\beta$ -pinen uygulaması dayanıklı varyetenin 10  $\mu\text{M}$ 'lık uygulamasında herhangi bir değişikliğe sebep olmazken hassas varyetede dahil diğer bütün konsantrasyonlarda düşüş sağlamıştır. Örneğin, hassas varyetede 1 ve 10  $\mu\text{M}$ 'lık  $\beta$ -pinen uygulamalarında kontrolüne göre TOS miktarı sırasıyla % 21.3 ve 27.8 oranında düşüş meydana gelirken dayanıklı varyetenin 1  $\mu\text{M}$  uygulamasında % 22.2 oranında düşüş tespit edilmiştir.

**Çizelge 4.7** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde toplam oksidan kapasite ( $\mu\text{mol.g}^{-1}$  Kuru ağırlık) üzerine etkisi

Konsantrasyon ( $\mu\text{M}$ )	Hassas varyete		Dayanıklı varyete		
	Kontrol	Kuraklık	Kontrol	Kuraklık	
$\alpha$ -pinen	0	$0,85 \pm 0,07^a$	$0,67 \pm 0,06^c$	$0,80 \pm 0,07^b$	$0,84 \pm 0,02^{ab}$
	1	$0,67 \pm 0,05^c$	$0,68 \pm 0,03^c$	$0,88 \pm 0,05^a$	$0,63 \pm 0,03^c$
	10	$0,76 \pm 0,02^b$	$0,47 \pm 0,04^d$	$0,83 \pm 0,07^{ab}$	$0,54 \pm 0,05^d$
$\beta$ -pinen	0	$0,85 \pm 0,07^a$	$0,67 \pm 0,06^b$	$0,80 \pm 0,07^a$	$0,84 \pm 0,02^a$
	1	$0,80 \pm 0,02^a$	$0,52 \pm 0,00^c$	$0,83 \pm 0,02^a$	$0,65 \pm 0,04^b$
	10	$0,78 \pm 0,02^a$	$0,48 \pm 0,05^c$	$0,83 \pm 0,02^a$	$0,83 \pm 0,08^a$

\*Aynı sütundaki her bir madde için geçerli olmak kaydıyla, aynı varyete içerisinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre  $P < 0.05$  önem seviyesinde anlamsızdır.  $\pm$  standart hatayı ifade eder.



**Şekil 4.8** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde toplam oksidan kapasite ( $\mu\text{mol.g}^{-1}$  Kuru ağırlık) üzerine etkisi

#### 4.4.2. Hidrojen peroksit miktarı sonuçları

Kuraklığa dayanıklılıkları farklı buğday varyetelerinden kuraklık stresi ve  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulaması ile elde edilen  $H_2O_2$  miktarı sonuçları Çizelge 4.8 ve Şekil 4.9'de sunulmuştur. Kuraklığa dayanıklı (Karahan-99) varyetede **kuraklık stresi uygulaması** ile kontrole göre düşmesine sebep olurken hassas varyetede (Cumhuriyet-75) ise artış sağlamıştır ( $P<0.05$ ). Çizelge 4.8 ve Şekil 4.9 ayrıntılı incelendiğinde hassas varyetede kontrole göre bu düşüş % 13 oranında olurken dayanıklı varyetede artış ise % 19 olarak görülmektedir.

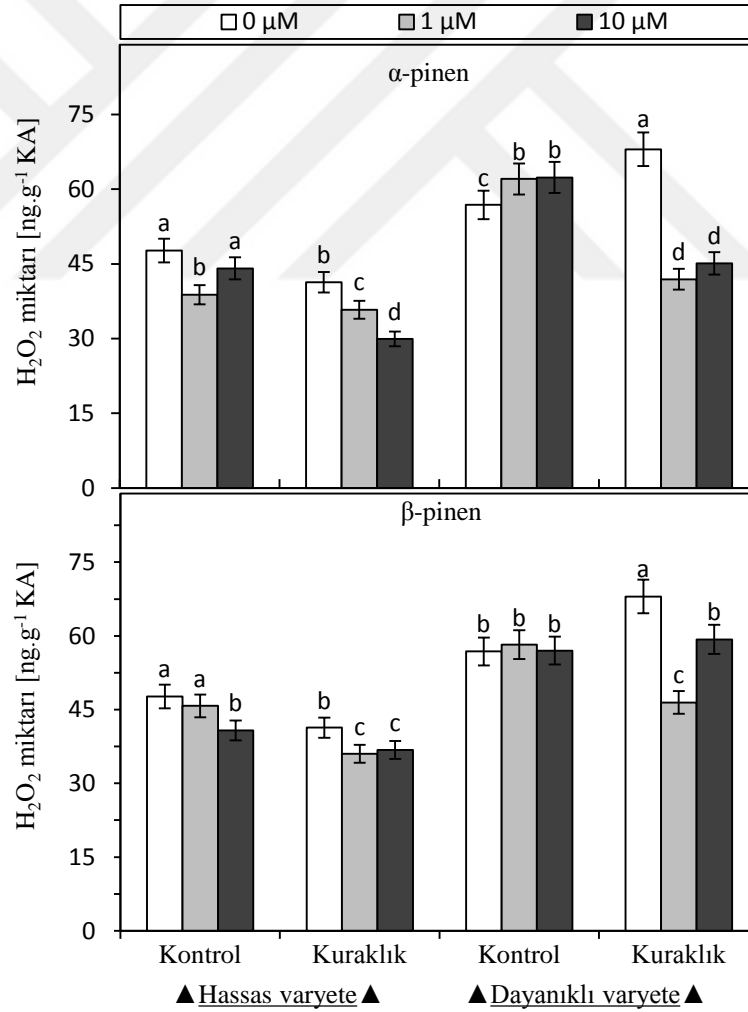
Kontrol şartlarında büyütülen bitkilere dışsal  **$\alpha$ -pinen uygulamasıyla**  $H_2O_2$  miktarında hassas varyetede düşüş olurken dayanıklı varyetede artış belirlenmiştir. Kuraklık stresine maruz kalmış bitki yapraklarında ise  $\alpha$ -pinen uygulaması  $H_2O_2$  miktarında kendi kontrolüne göre her iki varyetede de önemli derecede ( $P<0.05$ ) düşüş sağlamıştır. Bu düşüş hassas varyetede 1 ve 10  $\mu M$ 'lık  $\alpha$ -pinen uygulamalarında sırasıyla % 13 ve 27 oranında meydana gelirken dayanıklı varyetede ise % 38 ve 33 oranında olduğu belirlenmiştir.

Kontrol şartlarında yetiştirilen bitkilere dışsal  **$\beta$ -pinen uygulaması**  $H_2O_2$  miktarında hassas varyetede düşüş, dayanıklı varyetede artış meydana getirmiştir. Kuraklık stresine uğramış bitki yapraklarında ise  $\beta$ -pinen uygulaması  $H_2O_2$  miktarında kendi kontrolüne göre her iki varyetede de önemli derecede ( $P<0.05$ ) düşüş sağlamıştır. Örneğin, hassas varyetede 1 ve 10  $\mu M$ 'lık  $\beta$ -Pinen uygulamalarında kontrolüne göre  $H_2O_2$  miktarındaki bu düşüş sırasıyla % 13 ve 11 oranında meydana gelirken dayanıklı varyetede % 31 ve 12 oranında belirlenmiştir.

**Çizelge 4.8** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde hidrojen peroksit ( $\text{ng.g}^{-1}$  Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi

Konsantrasyon ( $\mu\text{M}$ )	Hassas varyete		Dayanıklı varyete		
	Kontrol	Kuraklık	Kontrol	Kuraklık	
$\alpha$ -pinen	0	$47,7 \pm 0,47^a$	$41,3 \pm 0,76^b$	$56,8 \pm 0,97^c$	$68,0 \pm 2,87^a$
	1	$38,8 \pm 1,02^b$	$35,8 \pm 0,15^c$	$62,1 \pm 0,56^b$	$41,9 \pm 0,31^d$
	10	$44,1 \pm 0,54^a$	$29,9 \pm 0,75^d$	$62,3 \pm 0,32^b$	$45,1 \pm 0,29^d$
$\beta$ -pinen	0	$47,7 \pm 0,47^a$	$41,3 \pm 0,76^b$	$56,8 \pm 0,97^b$	$68,0 \pm 2,87^a$
	1	$45,8 \pm 1,25^a$	$36,0 \pm 1,09^c$	$58,2 \pm 0,39^b$	$46,5 \pm 0,31^c$
	10	$40,8 \pm 0,77^b$	$36,8 \pm 0,34^c$	$57,0 \pm 0,99^b$	$59,3 \pm 0,29^b$

\*Aynı sütundaki her bir madde için geçerli olmak kaydıyla, aynı varyete içerisinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre  $P < 0.05$  önem seviyesinde anlamsızdır.  $\pm$  standart hatayı ifade eder.



**Şekil 4.9** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde Hidrojen peroksit ( $\text{ng.g}^{-1}$  Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi

#### 4.4.3. Hidroksil radikali ( $\bullet\text{OH}$ ) süpürülme aktivitesi sonuçları

Buğdayın kuraklığa dayanıklı Karahan-99 ve hassas Cumhuriyet-75 varyetelerinden kuraklık stresi ve  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulaması ile elde edilen hidroksil radikali süpürülme aktivitesi sonuçları Çizelge 4.9 ve Şekil 4.10'de sunulmuştur. Kuraklığa dayanıklı ve hassas çeşitlerin ikisinde de  $\bullet\text{OH}$  süpürülme aktivitesi kontrole göre **kuraklık uygulamasıyla** artış göstermiştir ( $P<0.05$ ). Çizelge 4.9 ve Şekil 4.10 ayrıntılı incelendiğinde hassas varyetede kontrole göre bu artış % 11.8 oranında olurken dayanıklı varyetede ise % 13.9 olarak görülmektedir.

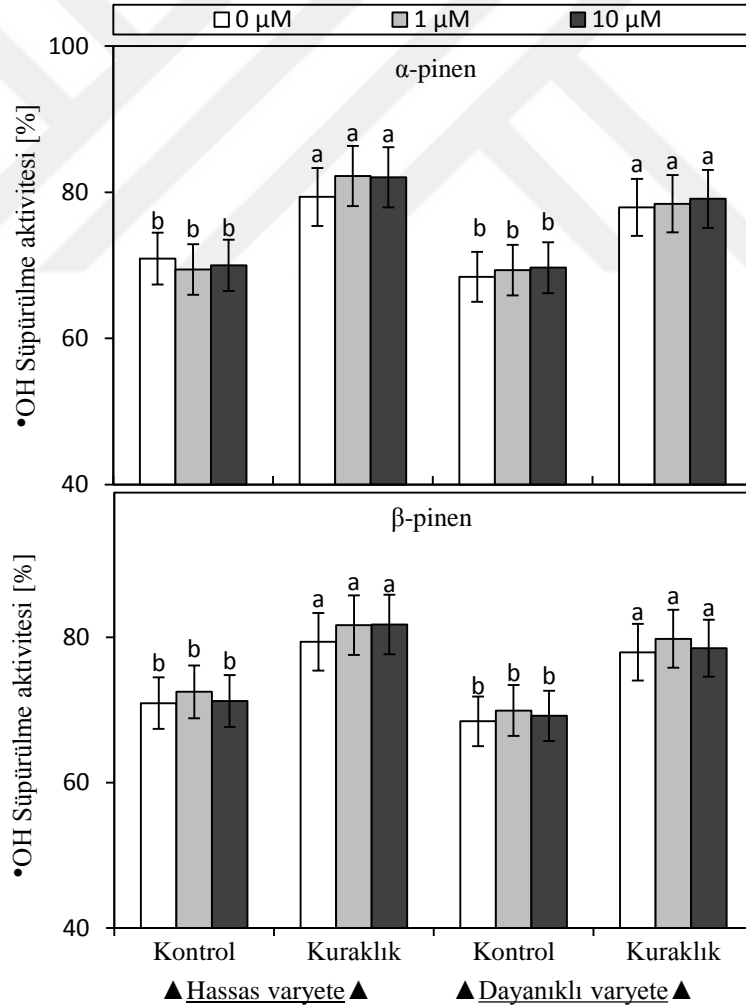
Kontrol şartlarında büyütülen bitkilere dışsal  **$\alpha$ -pinen uygulamasıyla** hidroksil radikali süpürülme aktivitesinde hassas varyetede düşüş olurken dayanıklı varyetede ise artış belirlenmiştir. Fakat bu düşüş ve artışlar istatistiksel olarak önemsizdir. Kuraklık stresine maruz kalmış bitki yapraklarında dışsal olarak  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulaması hidroksil radikali süpürülme aktivitesi her iki varyetede de kendi kontrollerine (kuraklık kontrol) göre ( $P<0.05$ ) artış sağlamıştır. Yine kontrol gruplarındaki sonuçlarda vurgulandığı gibi bu farklılıklar da anlamlı değildir.

Kontrol ve kurak koşullarında yetiştirilen bitkilere dışsal  **$\beta$ -pinen uygulamasıyla**  $\bullet\text{OH}$  süpürülme aktivitesinde her iki varyetenin tüm gruplarında kendi kontrollerine göre artışlar tesbit edilmiştir. Yine  $\alpha$ -pinen uygulamalarında olduğu gibi bu artışlar da istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmemiştir. Bu sonuçların ardından  $\alpha$ -pinen ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hidroksil radikali süpürülme aktivitesine katkısının olmadığı söylenebilir.

**Çizelge 4.9** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde % Hidroksil radikali süpürülme ( $\bullet$ OH) aktivitesi üzerine etkisi

Konsantrasyon ( $\mu$ M)	Dayanıklı varyete		Hassas varyete		
	Kontrol	Kuraklık	Kontrol	Kuraklık	
$\alpha$ -pinen	0	70,9 $\pm$ 0,58 <sup>b</sup>	79,4 $\pm$ 0,22 <sup>a</sup>	68,4 $\pm$ 0,56 <sup>b</sup>	77,9 $\pm$ 0,13 <sup>a</sup>
	1	69,4 $\pm$ 0,11 <sup>b</sup>	82,2 $\pm$ 0,27 <sup>a</sup>	69,3 $\pm$ 0,25 <sup>b</sup>	78,4 $\pm$ 0,54 <sup>a</sup>
	10	70,0 $\pm$ 0,86 <sup>b</sup>	82,0 $\pm$ 0,28 <sup>a</sup>	69,7 $\pm$ 0,51 <sup>b</sup>	79,1 $\pm$ 0,19 <sup>a</sup>
$\beta$ -pinen	0	70,9 $\pm$ 0,58 <sup>b</sup>	79,4 $\pm$ 0,22 <sup>a</sup>	68,4 $\pm$ 0,56 <sup>b</sup>	77,9 $\pm$ 0,13 <sup>a</sup>
	1	72,5 $\pm$ 0,25 <sup>b</sup>	81,7 $\pm$ 0,18 <sup>a</sup>	69,9 $\pm$ 0,47 <sup>b</sup>	79,8 $\pm$ 0,27 <sup>a</sup>
	10	71,2 $\pm$ 0,35 <sup>b</sup>	81,8 $\pm$ 0,40 <sup>a</sup>	69,2 $\pm$ 0,59 <sup>b</sup>	78,5 $\pm$ 0,42 <sup>a</sup>

\*Aynı sütundaki her bir madde için geçerli olmak kaydıyla, aynı varyete içerisinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre  $P < 0.05$  önem seviyesinde anlamsızdır.  $\pm$  standart hatayı ifade eder.



**Şekil 4.10** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde % Hidroksil radikali süpürülme ( $\bullet$ OH) aktivitesi üzerine etkisi

#### 4.4.4. Süperoksit anyonu ( $O_2^{\bullet-}$ ) miktarı sonuçları

Kuraklığa dayanıklı ve hassas buğday varyetelerinin her ikisinde de **kuraklık stresi uygulaması** süperoksit anyonu miktarını kontrole göre büyük oranda ( $P<0.05$ ) artırmıştır. Çizelge 4.10 ve Şekil 4.11 ayrıntılı incelendiğinde kontrole göre bu artış hassas varyetede %50.2 oranında olurken dayanıklı varyetede ise %23.2 olarak görülmektedir.

Kontrol koşullarında büyütülen bitkilere dışsal  **$\alpha$ -pinen uygulamasıyla**  $O_2^{\bullet-}$  miktarında hassas varyetenin tamamında düşüşe neden olurken, dayanıklı varyetede istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir. Kuraklık stresine maruz kalmış bitki yapraklarında ise  $\alpha$ -pinen uygulaması  $O_2^{\bullet-}$  miktarı her iki varyetede de (hassas varyeteye 10  $\mu$ M  $\alpha$ -pinen uygulaması hariç) kendi kontrollerine göre tüm gruplarda önemli derecede ( $P<0.05$ ) düşüş sağlamıştır. Bu düşüşer değerlendirildiğinde hassas varyetede 1 ve 10  $\mu$ M'lık  $\alpha$ -pinen uygulamalarında sırasıyla % 40.1 ve 25.7, dayanıklı varyetede ise % 17.6 oranında meydana geldiği görülmüştür.

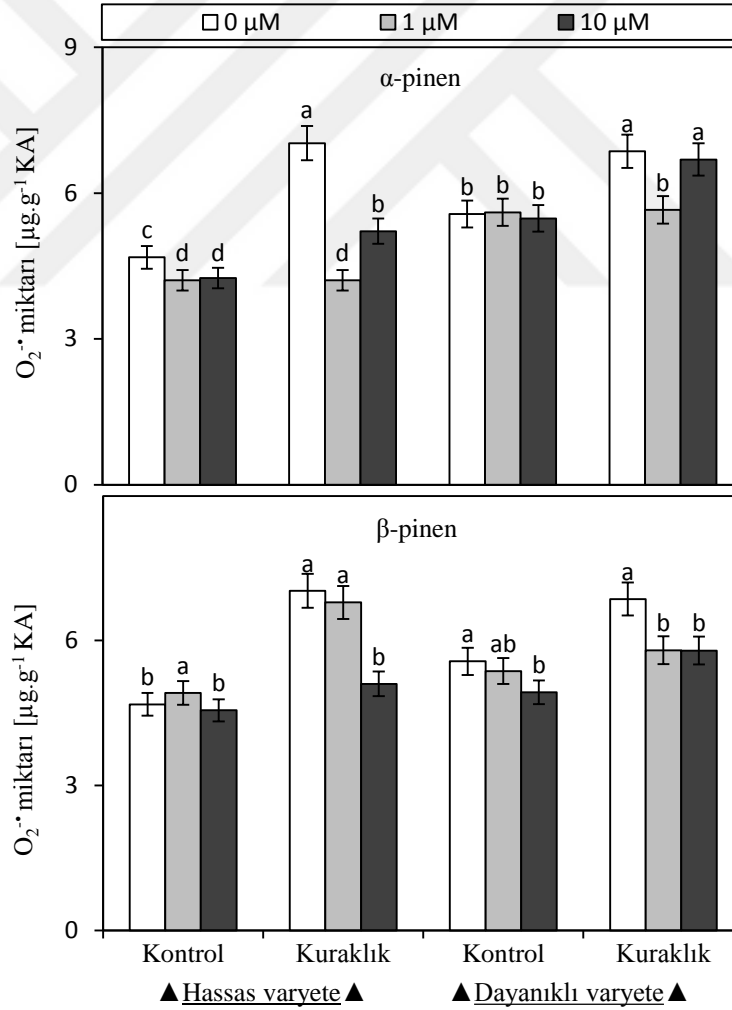
Kontrol şartlarında yetiştirilen bitkilere dışsal  **$\beta$ -pinen uygulaması**  $O_2^{\bullet-}$  miktarında hassas varyetenin 1  $\mu$ M uygulamasında artış meydana getirirken, 10  $\mu$ M uygulamasında değişikliğe neden olmamıştır. Dayanıklı varyetede iki grupta da düşüş sağlamıştır. Kuraklık stresine maruz kalmış bitki yapraklarında  $\beta$ -pinen uygulaması  $O_2^{\bullet-}$  miktarı dayanıklı ve hassas varyetede kendi kontrolüne göre tüm gruplarda ( $P<0.05$ ) düşüş meydana getirmiştir. Bu düşüş hassas varyetede 1 ve 10  $\mu$ M'lık  $\beta$ -pinen uygulamalarında sırasıyla % 3.4 ve 27.4, dayanıklı varyetede ise % 15.4 ve 15.5 oranında gerçekleşmiştir.



**Çizelge 4.10** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde süperoksit anyonu ( $O_2^{\bullet-}$ ) ( $\mu\text{g.g}^{-1}$  Kuru ağırlık) üzerine etkisi

Konsantrasyon ( $\mu\text{M}$ )	Hassas varyete		Dayanıklı varyete		
	Kontrol	Kuraklık	Kontrol	Kuraklık	
$\alpha$ -pinen	0	$4,68 \pm 0,07^c$	$7,03 \pm 0,04^a$	$5,57 \pm 0,07^b$	$6,86 \pm 0,20^a$
	1	$4,21 \pm 0,04^d$	$4,20 \pm 0,06^d$	$5,60 \pm 0,05^b$	$5,65 \pm 0,05^b$
	10	$4,25 \pm 0,03^d$	$5,22 \pm 0,02^b$	$5,48 \pm 0,04^b$	$6,69 \pm 0,08^a$
$\beta$ -pinen	0	$4,68 \pm 0,07^b$	$7,03 \pm 0,46^a$	$5,57 \pm 0,07^a$	$6,86 \pm 0,20^a$
	1	$4,92 \pm 0,03^a$	$6,79 \pm 0,47^a$	$5,37 \pm 0,04^{ab}$	$5,80 \pm 0,06^b$
	10	$4,56 \pm 0,36^b$	$5,10 \pm 0,18^b$	$4,93 \pm 0,04^b$	$5,79 \pm 0,06^b$

\*Aynı sütundaki her bir madde için geçerli olmak kaydıyla, aynı varyete içerisinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre  $P < 0.05$  önem seviyesinde anlamsızdır.  $\pm$  standart hatayı ifade eder.



**Şekil 4.11** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde süperoksit anyonu ( $O_2^{\bullet-}$ ) ( $\mu\text{g.g}^{-1}$  Kuru ağırlık) üzerine etkisi

#### 4.4.5. Oksidatif stres indeksi (OSİ) miktarı sonuçları

Buğdayın kuraklığa dayanıklı Karahan-99 ve hassas Cumhuriyet-75 varyetelerinden kuraklık stresi ve  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulaması ile elde edilen OSİ sonuçları Çizelge 4.11 ve Şekil 4.12’de sunulmuştur. Kuraklığa dayanıklı ve hassas buğday varyetesinde **kuraklık stresi uygulaması** ile OSİ kontrole göre büyük oranda ( $P<0.05$ ) azalmıştır. Çizelge 4.11 ve Şekil 4.12 ayrıntılı incelendiğinde hassas varyetede kontrole göre bu düşüş % 41.9 oranında olurken dayanıklı varyetede artış ise % 10.3 olarak görülmektedir.

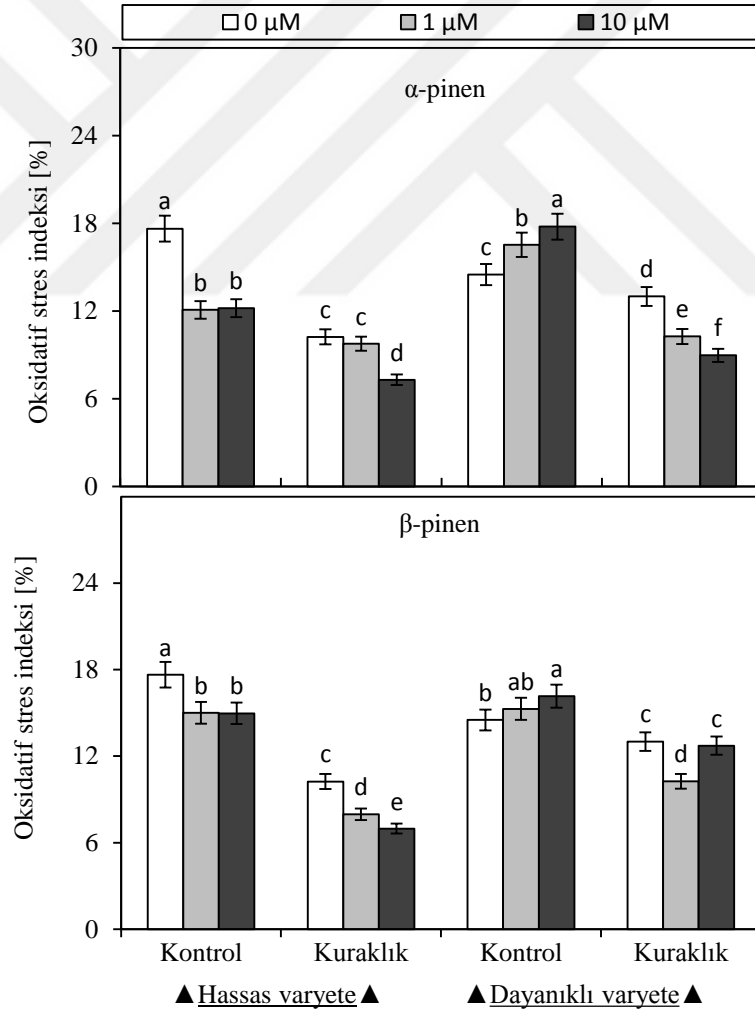
Kontrol şartlarında büyütülen bitkilere dışsal  **$\alpha$ -pinen uygulaması** OSİ değerinde hassas varyetede düşüş, dayanıklı varyetede artış meydana getirmiştir. Kuraklık stresine maruz kalmış bitki yapraklarında ise  $\alpha$ -pinen uygulaması OSİ değerinde dayanıklı ve hassas varyetede kendi kontrolüne göre ( $P<0.05$ ) düşüş sağlamıştır. Hassas varyetede 1  $\mu\text{M}$ ’lık uygulamasındaki bu düşüş anlamlı kabul edilmezken, 10  $\mu\text{M}$  uygulamasında % 28.7 olarak tespit edilmiştir. Dayanıklı varyetede düşüşler de 1 ve 10  $\mu\text{M}$   $\alpha$ -Pinen uygulamalarında sırasıyla % 21 ve 31 oranında oranında belirlenmiştir.

Kontrol şartlarında büyütülen bitkilere dışsal  **$\beta$ -pinen uygulaması** OSİ değerinde hassas varyetede azalış, dayanıklı varyetede ise artış meydana getirmiştir. Kuraklık stresli bitki yapraklarında dışsal olarak  $\beta$ -Pinen uygulaması OSİ değerlerinde her iki varyetede de kendi kontrolüne göre ( $P<0.05$ ) düşüş sağlamıştır. Dayanıklı varyetede 10  $\mu\text{M}$ ’lık uygulamasındaki bu düşüş anlamlı kabul edilmezken, 1  $\mu\text{M}$  uygulamasında % 21.2 olarak tespit edilmiştir. Hassas varyetede düşüşlerin ise sırasıyla % 22.1 ve 31.9 oranında olduğu görülür.

**Çizelge 4.11** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde % oksidatif stres indeksi (OSİ) üzerine etkisi

Konsantrasyon ( $\mu\text{M}$ )	Hassas varyete		Dayanıklı varyete		
	Kontrol	Kuraklık	Kontrol	Kuraklık	
$\alpha$ -pinen	0	17,6 $\pm$ 0,17 <sup>a</sup>	10,2 $\pm$ 0,11 <sup>c</sup>	14,5 $\pm$ 0,16 <sup>c</sup>	13,0 $\pm$ 0,41 <sup>d</sup>
	1	12,1 $\pm$ 0,14 <sup>b</sup>	9,8 $\pm$ 0,10 <sup>c</sup>	16,5 $\pm$ 0,25 <sup>b</sup>	10,3 $\pm$ 0,4 <sup>e</sup>
	10	12,2 $\pm$ 0,09 <sup>b</sup>	7,3 $\pm$ 0,17 <sup>d</sup>	17,8 $\pm$ 0,55 <sup>a</sup>	9,0 $\pm$ 0,13 <sup>f</sup>
$\beta$ -pinen	0	17,6 $\pm$ 0,17 <sup>a</sup>	10,2 $\pm$ 0,11 <sup>c</sup>	14,5 $\pm$ 0,16 <sup>b</sup>	13,0 $\pm$ 0,41 <sup>c</sup>
	1	15,0 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>	8,0 $\pm$ 0,08 <sup>d</sup>	15,3 $\pm$ 0,24 <sup>ab</sup>	10,2 $\pm$ 0,09 <sup>d</sup>
	10	15,0 $\pm$ 0,17 <sup>b</sup>	7,0 $\pm$ 0,23 <sup>e</sup>	16,2 $\pm$ 0,36 <sup>a</sup>	12,7 $\pm$ 0,03 <sup>c</sup>

\*Aynı sütundaki her bir madde için geçerli olmak kaydıyla, aynı varyete içerisinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre  $P < 0.05$  önem seviyesinde anlamsızdır.  $\pm$  standart hatayı ifade eder.



**Şekil 4.12** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde % oksidatif stres indeksi (OSİ) üzerine etkisi

## 4.5. Kuraklık Stresinin Antioksidan Enzimler Üzerine Etkisi

### 4.5.1. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi sonuçları

Kuraklığa dayanıklı (Karahan-99) ve hassas buğday (Cumhuriyet-75) varyetesinde **kuraklık stresi uygulaması** ile SOD aktivitesi kontrole göre ( $P<0.05$ ) düşüş göstermiştir. Çizelge 4.12 ve Şekil 4.13 ayrıntılı incelendiğinde hassas varyetede kontrole göre bu düşüş % 46.7 oranında olurken dayanıklı varyetede ise % 29.2 olarak görülmektedir.

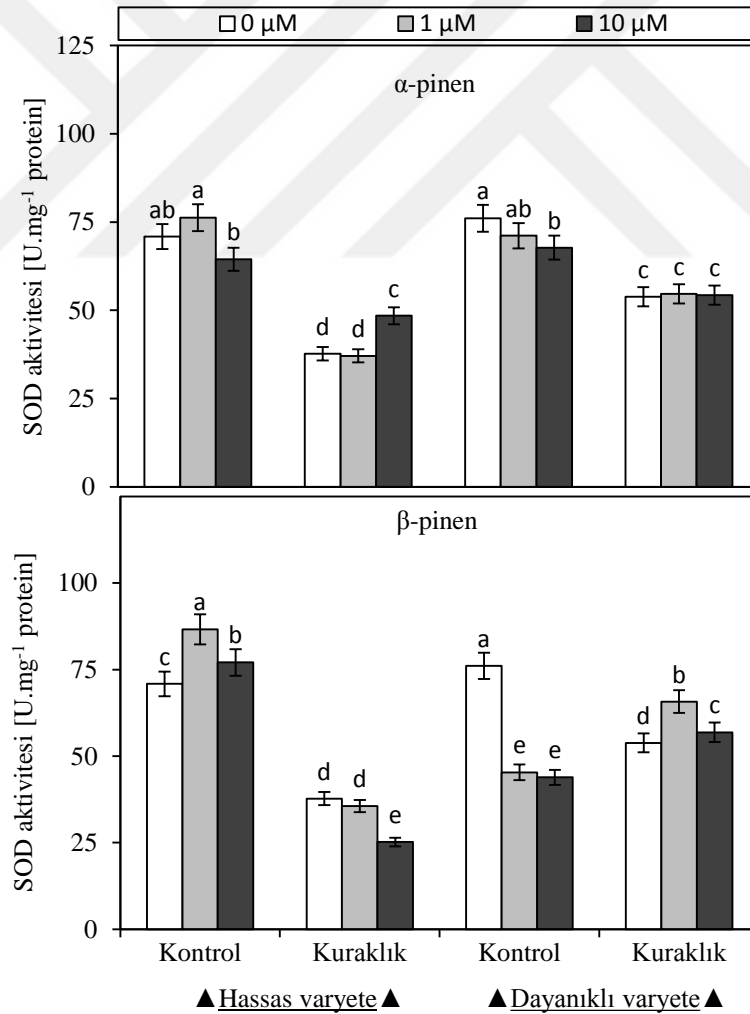
Kontrol koşullarında yetiştirilen bitkilere dışsal  **$\alpha$ -pinen uygulaması** SOD aktivitesinde hassas varyetenin bir grubunda artış meydana getirirken, dayanıklı varyete de dahil olmak üzere diğer bütün gruplarda düşüşe neden olmuştur. Kuraklık stresindeki bitki yapraklarında ise  $\alpha$ -pinen uygulaması SOD aktivitesinde hassas varyetede kendi kontrollerine göre ( $P<0.05$ ) 10  $\mu\text{M}$ 'lık uygulamada artış sağlarken diğer grupta istatistiksel anlamda herhangi bir farka sebep olmamıştır. Dayanıklı varyetede her iki grupta da meydana gelen artış önemli düzeyde gerçekleşmemiştir.

Kontrol şartlarındaki bitkilere dışsal  **$\beta$ -pinen uygulaması** SOD aktivitesinde hassas varyetede artış ve dayanıklı varyetede ise önemli düzeyde düşüş meydana getirmiştir. Kuraklık stresine maruz kalmış bitki yapraklarında ise  $\alpha$ -pinen uygulaması SOD aktivitesinde hassas varyetede kendi kontrollerine göre ( $P<0.05$ ) düşüş, dayanıklı varyetede ise artış meydana getirmiştir. Örneğin, hassas varyetede 1 ve 10  $\mu\text{M}$   $\beta$ -pinen uygulamasında SOD aktivitesinde sırasıyla % 5.7 ve 33.2 oranında düşüş meydana gelirken, dayanıklı varyetede % 22.1 ve 5.6 oranında artış belirlenmiştir.

**Çizelge 4.12** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde süperoksit dismutaz (SOD) enzimi aktivitesi üzerine etkisi ( $\text{U.mg}^{-1}$  Protein)

Konsantrasyon ( $\mu\text{M}$ )	Hassas varyete		Dayanıklı varyete		
	Kontrol	Kuraklık	Kontrol	Kuraklık	
$\alpha$ -pinen	0	$70,9 \pm 1,57^{ab}$	$37,7 \pm 0,40^d$	$76,1 \pm 2,46^a$	$53,8 \pm 0,92^c$
	1	$76,3 \pm 1,85^a$	$37,1 \pm 0,38^d$	$71,1 \pm 1,05^{ab}$	$54,7 \pm 0,76^c$
	10	$64,4 \pm 1,09^b$	$48,5 \pm 0,56^c$	$67,7 \pm 1,24^b$	$54,3 \pm 0,98^c$
$\beta$ -pinen	0	$70,9 \pm 1,57^c$	$37,7 \pm 0,40^d$	$76,1 \pm 2,46^a$	$53,8 \pm 0,92^d$
	1	$86,6 \pm 2,91^a$	$35,6 \pm 0,38^d$	$45,3 \pm 0,85^e$	$65,7 \pm 0,46^b$
	10	$77,0 \pm 1,83^b$	$25,2 \pm 0,56^e$	$43,9 \pm 2,26^e$	$56,9 \pm 0,99^c$

\*Aynı sütundaki her bir madde için geçerli olmak kaydıyla, aynı varyete içerisinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre  $P < 0.05$  önem seviyesinde anlamsızdır.  $\pm$  standart hatayı ifade eder.



**Şekil 4.13** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde süperoksit dismutaz (SOD) enzimi aktivitesi üzerine etkisi ( $\text{U.mg}^{-1}$  Protein)

#### 4.5.2. Katalaz (CAT) aktivitesi sonuçları

Karahan-99 (Dayanıklı) ve Cumhuriyet-75 (Hassas) buğday varyetelerinde **kuraklık stresi uygulaması** ile CAT aktivitesi kontrole göre önemli ölçüde ( $P<0.05$ ) artış göstermiştir. Çizelge 4.13 ve Şekil 4.14 ayrıntılı incelendiğinde hassas varyetede kontrole göre bu artış % 19.5 oranında olurken dayanıklı varyetede artış ise % 9.6 olarak görülmektedir.

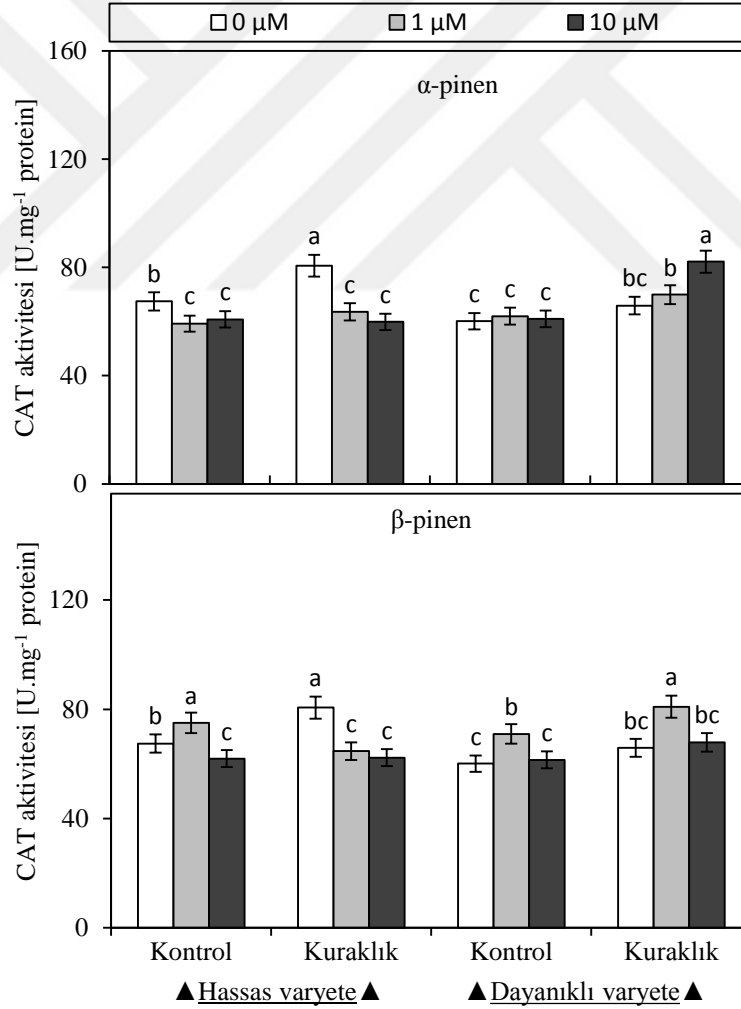
Kontrol şartlarındaki bitkilere dışsal  **$\alpha$ -pinen uygulaması** CAT aktivitesinde hassas varyetenin tamamında düşüşe neden olurken, dayanıklı varyetede ise istatistiki manada anlamlı değişiklikler göstermemiştir. Kuraklık stresine maruz kalmış bitki yapraklarında  $\alpha$ -Pinen uygulaması CAT aktivitesinde hassas varyetede kendi kontrolüne göre düşüş ( $P<0.05$ ), dayanıklı varyetede ise artış meydana getirmiştir. Örneğin, hassas varyetede 1 ve 10  $\mu\text{M}$ 'lık  $\alpha$ -Pinen uygulamalarında kontrolüne göre CAT aktivitesi sırasıyla % 21.1 ve 25.7 oranında düşüş, dayanıklı varyetede ise 1 ve 10  $\mu\text{M}$   $\alpha$ -Pinen uygulamalarında sırasıyla % 6.1 ve 24.6 oranında artış meydana gelmiştir.

Kontrol şartlarında büyütülen bitkilere dışsal  **$\beta$ -pinen uygulaması** CAT aktivitesinde hassas varyetenin 1  $\mu\text{M}$   $\beta$ -Pinen uygulamasında artış, 10  $\mu\text{M}$  uygulamasında düşüş meydana gelirken, dayanıklı varyetede ise 1  $\mu\text{M}$   $\beta$ -Pinen uygulamasında artış, 10  $\mu\text{M}$  uygulamasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Kuraklık stresine maruz kalmış bitki yapraklarında  $\beta$ -Pinen uygulaması CAT aktivitesinde kendi kontrollerine göre hassas varyetede düşüş, dayanıklı varyete ise artış meydana getirmiştir. Örneğin, hassas varyetede 1 ve 10  $\mu\text{M}$ 'lık  $\beta$ -Pinen uygulamalarında kontrolüne göre CAT aktivitesi sırasıyla % 19.8 ve 22.7 oranında düşüş meydana gelirken dayanıklı varyetede ise 1  $\mu\text{M}$   $\beta$ -Pinen uygulaması % 22.8 oranında artışa neden olurken 10  $\mu\text{M}$  uygulaması önemli derecede bir artışa neden olmamıştır.

**Çizelge 4.13** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde katalaz (CAT) enzimi aktivitesi üzerine etkisi ( $U \cdot mg^{-1} \cdot Protein$ )

Konsantrasyon ( $\mu M$ )	Hassas varyete		Dayanıklı varyete		
	Kontrol	Kuraklık	Kontrol	Kuraklık	
$\alpha$ -pinen	0	$67,5 \pm 0,93^b$	$80,6 \pm 1,76^a$	$60,1 \pm 2,34^c$	$65,9 \pm 0,86^{bc}$
	1	$59,3 \pm 0,82^c$	$63,6 \pm 2,28^c$	$62,0 \pm 1,94^c$	$70,0 \pm 2,79^b$
	10	$60,8 \pm 0,83^c$	$59,9 \pm 1,27^c$	$61,0 \pm 0,58^c$	$82,1 \pm 0,76^a$
$\beta$ -pinen	0	$67,5 \pm 0,93^b$	$80,6 \pm 1,76^a$	$60,1 \pm 2,34^c$	$65,9 \pm 0,86^{bc}$
	1	$75,1 \pm 1,29^a$	$64,7 \pm 0,65^c$	$71,0 \pm 0,55^b$	$80,9 \pm 0,95^a$
	10	$62,0 \pm 1,16^c$	$62,3 \pm 1,48^c$	$61,5 \pm 0,52^c$	$67,9 \pm 1,24^{bc}$

\*Aynı sütundaki her bir madde için geçerli olmak kaydıyla, aynı varyete içerisinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre  $P < 0.05$  önem seviyesinde anlamsızdır.  $\pm$  standart hatayı ifade eder.



**Şekil 4.14** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde katalaz (CAT) enzimi aktivitesi üzerine etkisi ( $U \cdot mg^{-1} \cdot Protein$ )

#### 4.5.3. Peroksidaz (POD) aktivitesi sonuçları

Buğdayın kuraklığa dayanıklı Karahan-99 ve hassas Cumhuriyet-75 varyetelerinden kuraklık stresi ve  $\alpha$ -Pinen ve  $\beta$ -pinen uygulaması ile elde edilen POD aktivitesi sonuçları Çizelge 4.14 ve Şekil 4.15’de sunulmuştur. Kuraklığa dayanıklı ve hassas buğday varyetesinde **kuraklık stresi uygulaması** ile POD aktivitesi kontrole göre önemli ölçüde ( $P<0.05$ ) artış göstermiştir. Çizelge 4.14 ve Şekil 4.15 ayrıntılı incelendiğinde hassas varyetede kontrole göre bu artış % 65.5 oranında olurken dayanıklı varyetede artış ise % 36.9 olarak görülmektedir.

Kontrol şartlarında büyütülen bitkilere dışsal  **$\alpha$ -pinen uygulaması** POD aktivitesinde hassas varyetede artışa, dayanıklı varyetede ise düşüşe neden olmuştur. Kuraklık stresindeki bitki yapraklarında  $\alpha$ -Pinen uygulaması POD aktivitesinde dayanıklı ve hassas varyetede kendi kontrollerine göre tüm gruplarda düşüşe ( $P<0.05$ ) neden olmuştur. Örneğin, hassas varyetede 1 ve 10  $\mu\text{M}$ ’lık  $\alpha$ -Pinen uygulamalarında kontrolüne göre POD aktivitesi sırasıyla % 18.9 ve 10.6 oranında düşüş meydana gelirken, dayanıklı varyetede düşüşler istatistiki manada anlamlı kabul edilmemiştir.

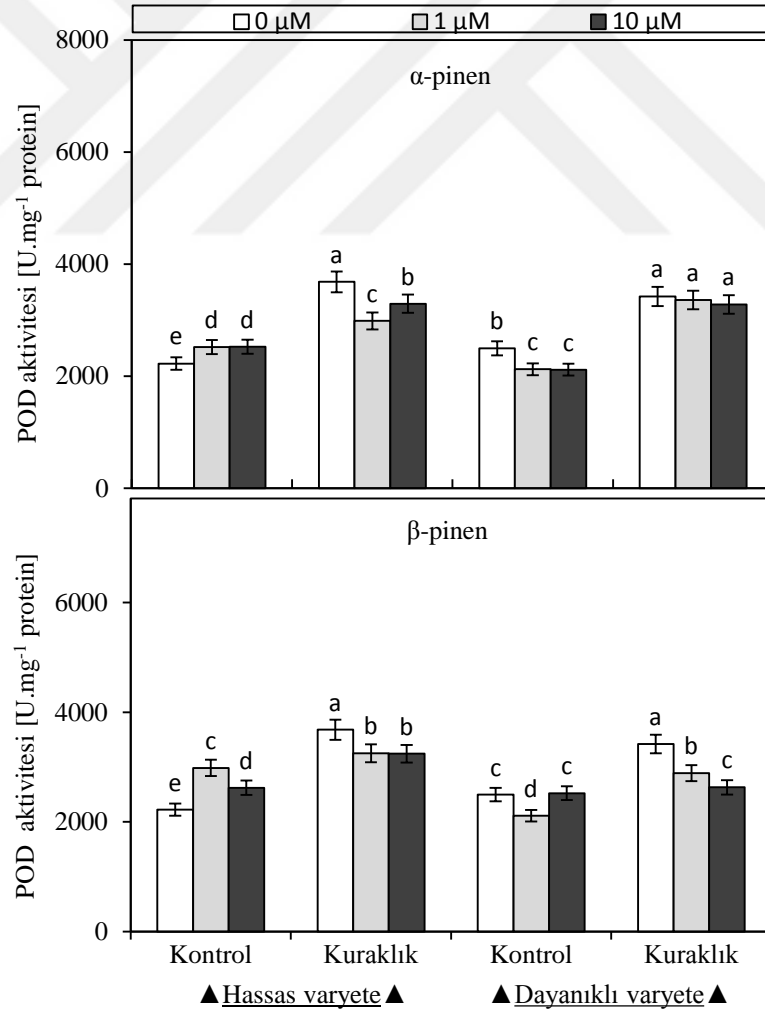
Kontrol koşullarındaki bitkilere dışsal  **$\beta$ -pinen uygulaması** POD aktivitesinde hassas varyetenin tamamında artışa neden olurken, dayanıklı varyetede 10  $\mu\text{M}$ ’lık  $\beta$ -pinen uygulaması önemli derecede değişiklik meydana getirmezken 1  $\mu\text{M}$ ’lık  $\beta$ -pinen uygulaması düşüşe neden olmuştur. Kuraklık stresine maruz kalmış bitki yapraklarında  $\beta$ -Pinen uygulaması POD aktivitesinde dayanıklı ve hassas varyetede kendi kontrollerine göre tüm gruplarda düşüşe ( $P<0.05$ ) neden olmuştur. Bu düşüşler incelendiğinde hassas varyetede 1 ve 10  $\mu\text{M}$ ’lık  $\beta$ -Pinen uygulamalarında kontrolüne göre POD aktivitesi sırasıyla % 11.7 ve 11.9, dayanıklı varyetede ise % 15 ve 23 oranında gerçekleşmiştir.



**Çizelge 4.14** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde peroksidaz (POD) enzimi aktivitesi üzerine etkisi ( $U \cdot mg^{-1}$  Protein)

Konsantrasyon ( $\mu M$ )	Hassas varyete		Dayanıklı varyete		
	Kontrol	Kuraklık	Kontrol	Kuraklık	
$\alpha$ -pinen	0	2224 $\pm$ 19,7 <sup>e</sup>	3682 $\pm$ 21,7 <sup>a</sup>	2498 $\pm$ 42,8 <sup>b</sup>	3421 $\pm$ 38,4 <sup>a</sup>
	1	2519 $\pm$ 58,3 <sup>d</sup>	2985 $\pm$ 14,9 <sup>c</sup>	2124 $\pm$ 34,0 <sup>c</sup>	3360 $\pm$ 6,21 <sup>a</sup>
	10	2525 $\pm$ 39,8 <sup>d</sup>	3293 $\pm$ 11,2 <sup>b</sup>	2114 $\pm$ 11,4 <sup>c</sup>	3280 $\pm$ 15,3 <sup>a</sup>
$\beta$ -pinen	0	2224 $\pm$ 19,7 <sup>e</sup>	3682 $\pm$ 21,7 <sup>a</sup>	2498 $\pm$ 42,8 <sup>c</sup>	3421 $\pm$ 38,4 <sup>a</sup>
	1	2986 $\pm$ 22,1 <sup>c</sup>	3252 $\pm$ 29,9 <sup>b</sup>	2113 $\pm$ 29,6 <sup>d</sup>	2891 $\pm$ 28,4 <sup>b</sup>
	10	2623 $\pm$ 17,6 <sup>d</sup>	3244 $\pm$ 27,1 <sup>b</sup>	2524 $\pm$ 17,8 <sup>c</sup>	2632 $\pm$ 9,48 <sup>c</sup>

\*Aynı sütundaki her bir madde için geçerli olmak kaydıyla, aynı varyete içerisinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre  $P < 0.05$  önem seviyesinde anlamsızdır.  $\pm$  standart hatayı ifade eder.



**Şekil 4.15** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde peroksidaz (POD) enzimi aktivitesi üzerine etkisi ( $U \cdot mg^{-1}$  Protein)

#### 4.5.4. Glutasyon redüktaz (GR) aktivitesi sonuçları

Kuraklığa dayanıklı ve hassas buğday varyetesinde **kuraklık stresi uygulaması** ile GR aktivitesi kontrole göre önemli ölçüde ( $P<0.05$ ) artış göstermiştir. Çizelge 4.15 ve Şekil 4.16 ayrıntılı incelendiğinde hassas varyetede kontrole göre bu artış % 16.2 oranında olurken dayanıklı varyetede artış ise % 14.4 olarak görülmektedir.

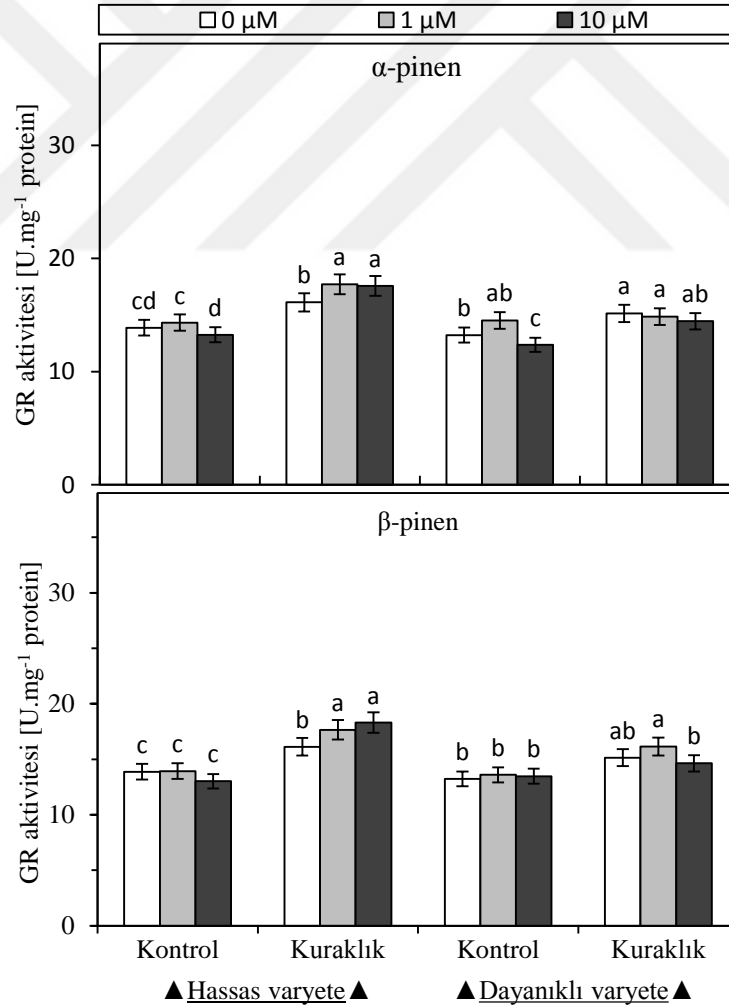
Kontrol şartlarında büyütülen bitkilere dışsal  **$\alpha$ -pinen uygulaması** GR aktivitesinde hassas varyetede istatistiksel olarak anlamlı farka neden olmazken, dayanıklı varyetede 1  $\mu\text{M}$   $\alpha$ -Pinen uygulamasında artış, 10  $\mu\text{M}$   $\alpha$ -Pinen uygulamasında düşüş meydana getirmiştir. Kuraklık stresindeki bitki yapraklarında  $\alpha$ -Pinen uygulaması GR aktivitesinde hassas varyetede kendi kontrolüne göre artış ( $P<0.05$ ) sağlarken, dayanıklı varyetede ise önemli görülür düzeyde değişiklik gerçekleştirilmemiştir. Dayanıklı varyetede bu artış ise 1 ve 10  $\mu\text{M}$ 'lık  $\alpha$ -Pinen uygulamalarında kontrolüne göre % 9.8 ve 8.9 oranında meydana gelmiştir.

Kontrol koşullarındaki bitkilere dışsal  **$\beta$ -pinen uygulaması** GR aktivitesinde her iki varyetede de anlamlı değişikliklere neden olmamıştır. Kuraklık stresine maruz kalmış bitki yapraklarında  $\beta$ -Pinen uygulaması GR aktivitesinde hassas varyetede kendi kontrolüne göre tüm grupta, dayanıklı varyetede ise bir grupta artış sağlamıştır. Örneğin, hassas varyetede 1 ve 10  $\mu\text{M}$ 'lık  $\beta$ -Pinen uygulamalarında kontrolüne göre GR aktivitesi sırasıyla % 9.4 ve 13.5 oranında artış meydana gelmiştir. Dayanıklı varyetede ise 1  $\mu\text{M}$   $\beta$ -Pinen uygulamasında % 6.6 oranında artış gerçekleşirken 10  $\mu\text{M}$  uygulamasında ise istatistiksel olarak önemli bir fark gözlenmemiştir.

**Çizelge 4.15** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde glutatyon redüktaz (GR) enzimi aktivitesi üzerine etkisi ( $U \cdot mg^{-1}$  Protein)

Konsantrasyon ( $\mu m$ )	Hassas varyete		Dayanıklı varyete		
	Kontrol	Kuraklık	Kontrol	Kuraklık	
$\alpha$ -pinen	0	$13,9 \pm 0,23^{cd}$	$16,1 \pm 0,20^b$	$13,2 \pm 0,44^b$	$15,1 \pm 0,24^a$
	1	$14,3 \pm 0,58^c$	$17,7 \pm 0,43^a$	$14,5 \pm 0,80^{ab}$	$14,9 \pm 0,58^a$
	10	$13,3 \pm 0,30^d$	$17,6 \pm 0,37^a$	$12,4 \pm 0,38^c$	$14,4 \pm 0,65^{ab}$
$\beta$ -pinen	0	$13,9 \pm 0,23^c$	$16,1 \pm 0,20^b$	$13,2 \pm 0,44^b$	$15,1 \pm 0,24^{ab}$
	1	$13,9 \pm 0,28^c$	$17,7 \pm 0,21^a$	$13,6 \pm 0,57^b$	$16,1 \pm 0,66^a$
	10	$13,0 \pm 0,40^c$	$18,3 \pm 0,22^a$	$13,5 \pm 0,47^b$	$14,6 \pm 0,42^b$

\*Aynı sütundaki her bir madde için geçerli olmak kaydıyla, aynı varyete içerisinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre  $P < 0.05$  önem seviyesinde anlamsızdır.  $\pm$  standart hatayı ifade eder.



**Şekil 4.16** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde glutatyon redüktaz (GR) enzimi aktivitesi üzerine etkisi ( $U \cdot mg^{-1}$  Protein)

#### 4.5.5. Askorbat peroksidaz (APX) aktivitesi sonuçları

Buğdayın kuraklığa dayanıklı Karahan-99 ve hassas Cumhuriyet-75 varyetelerinden kuraklık stresi ile birlikte  $\alpha$  ve  $\beta$ -Pinen uygulamasından elde edilen APX aktivitesi sonuçları Çizelge 4.16 ve Şekil 4.17’de sunulmuştur. Kuraklığa dayanıklı ve hassas buğday varyetesinde **kuraklık stresi uygulaması** ile APX aktivitesi kontrole göre önemli ölçüde ( $P<0.05$ ) artış göstermiştir. Çizelge 4.16 ve Şekil 4.17 ayrıntılı incelendiğinde hassas varyetede kontrole göre bu artış % 148.2 oranında olurken dayanıklı varyetede artış ise % 120.2 olarak görülmektedir.

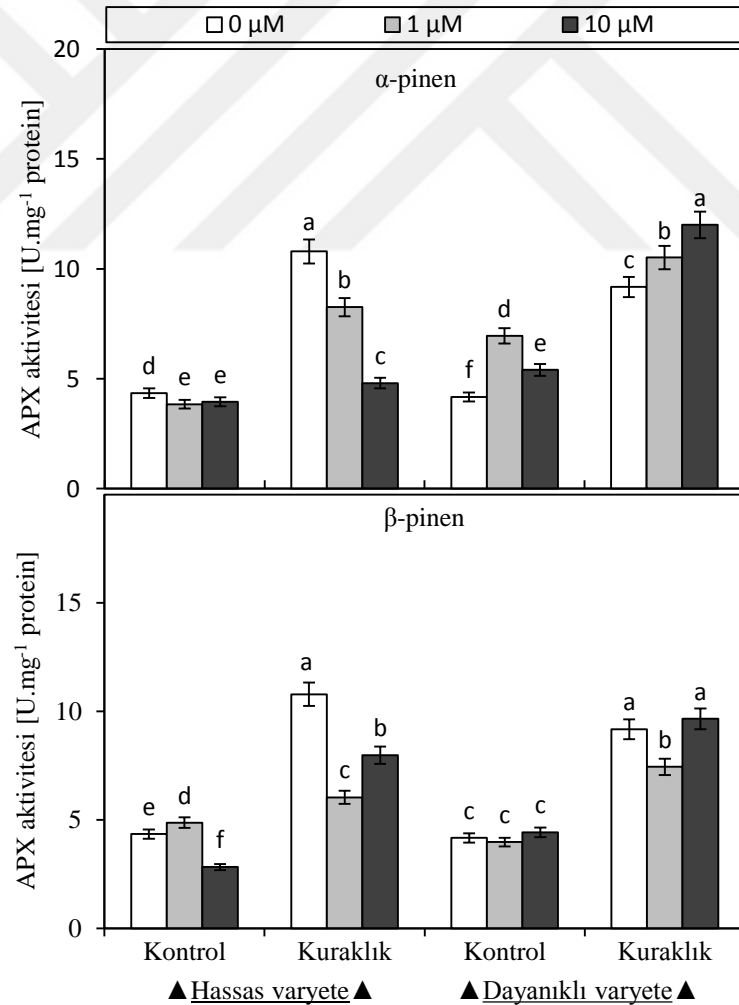
Kontrol koşullarındaki bitkilere dışsal  **$\alpha$ -pinen uygulaması** APX aktivitesinde hassas varyetede düşüş, dayanıklı varyetede ise önemli düzeyde artış meydana getirmiştir. Kuraklık stresine maruz kalmış bitki yapraklarında dışsal olarak  $\alpha$ -Pinen uygulaması APX aktivitesinde hassas varyetede kendi kontrollerine göre düşüşe ( $P<0.05$ ) neden olurken dayanıklı varyetede ise artış meydana getirmiştir. Örneğin, hassas varyetede 1 ve 10  $\mu\text{M}$ ’lık  $\alpha$ -Pinen uygulamalarında kontrolüne göre APX aktivitesinde sırasıyla % 23.4 ve 55.5 oranında düşüş meydana gelirken, dayanıklı varyetede ise % 14.5 ve 30.8 oranında artış belirlenmiştir.

Kontrol şartlarında büyütülen bitkilere dışsal  **$\beta$ -pinen uygulaması** hassas varyetede 1  $\mu\text{M}$ ’lık  $\beta$ -Pinen uygulamasında artış, 10  $\mu\text{M}$  uygulamasında düşüş meydana gelirken dayanıklı varyetenin ise tüm gruplarında istatistiksel anlamda farklılık tespit edilmemiştir. Kuraklık stresindeki bitki yapraklarında  $\beta$ -pinen uygulaması APX aktivitesinde hassas varyetede kendi kontrollerine göre tüm grubunda, dayanıklı varyetenin ise bir grubunda düşüşe neden olmuştur. Örneğin, hassas varyetede 1 ve 10  $\mu\text{M}$ ’lık  $\beta$ -Pinen uygulamalarında kontrolüne göre APX aktivitesi sırasıyla % 44 ve 26 oranında düşüş meydana gelirken dayanıklı varyetede ise 10  $\mu\text{M}$   $\beta$ -Pinen uygulamalarında % 5.2 oranında artış, 1  $\mu\text{M}$   $\beta$ -Pinen uygulamasında ise % 18.9 oranında düşüş belirlenmiştir.

**Çizelge 4.16** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde askorbat peroksidaz (APX) enzimi aktivitesi üzerine etkisi ( $\text{U.mg}^{-1}\text{Protein}$ )

Konsantrasyon ( $\mu\text{M}$ )	Hassas varyete		Dayanıklı varyete		
	Kontrol	Kuraklık	Kontrol	Kuraklık	
$\alpha$ -pinen	0	$4,35 \pm 0,07^d$	$10,8 \pm 0,23^a$	$4,17 \pm 0,35^f$	$9,17 \pm 0,49^c$
	1	$3,84 \pm 0,11^e$	$8,26 \pm 0,27^b$	$6,95 \pm 0,48^d$	$10,5 \pm 0,15^b$
	10	$3,95 \pm 0,17^e$	$4,80 \pm 0,09^c$	$5,41 \pm 0,26^e$	$12,0 \pm 0,37^a$
$\beta$ -pinen	0	$4,35 \pm 0,07^e$	$10,8 \pm 0,23^a$	$4,17 \pm 0,35^c$	$9,17 \pm 0,49^a$
	1	$4,87 \pm 0,14^d$	$6,04 \pm 0,12^c$	$3,98 \pm 0,87^c$	$7,44 \pm 0,31^b$
	10	$2,83 \pm 0,10^f$	$7,98 \pm 0,40^b$	$4,43 \pm 0,17^c$	$9,66 \pm 0,34^a$

\*Aynı sütundaki her bir madde için geçerli olmak kaydıyla, aynı varyete içerisinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre  $P < 0.05$  önem seviyesinde anlamsızdır.  $\pm$  standart hatayı ifade eder.



**Şekil 4.17** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde askorbat peroksidaz (APX) enzimi aktivitesi üzerine etkisi ( $\text{U.mg}^{-1}\text{Protein}$ )

## 4.6. Kuraklık Stresinin Antioksidan Bileşikler Üzerine Etkisi

### 4.6.1. Toplam antioksidan kapasite (TAS) sonuçları

Kuraklığa dayanıklı ve hassas buğday varyetelerinin her ikisinde de **kuraklık stresi uygulamasının** TAS miktarına etkisi incelendiğinde kontrole göre büyük oranda ( $P<0.05$ ) arttığı tespit edilmiştir. Çizelge 4.17 ve Şekil 4.18 ayrıntılı incelendiğinde kontrole göre bu artış hassas varyetede % 35.4 oranında olurken dayanıklı varyetede ise % 17.6 olarak görülmektedir.

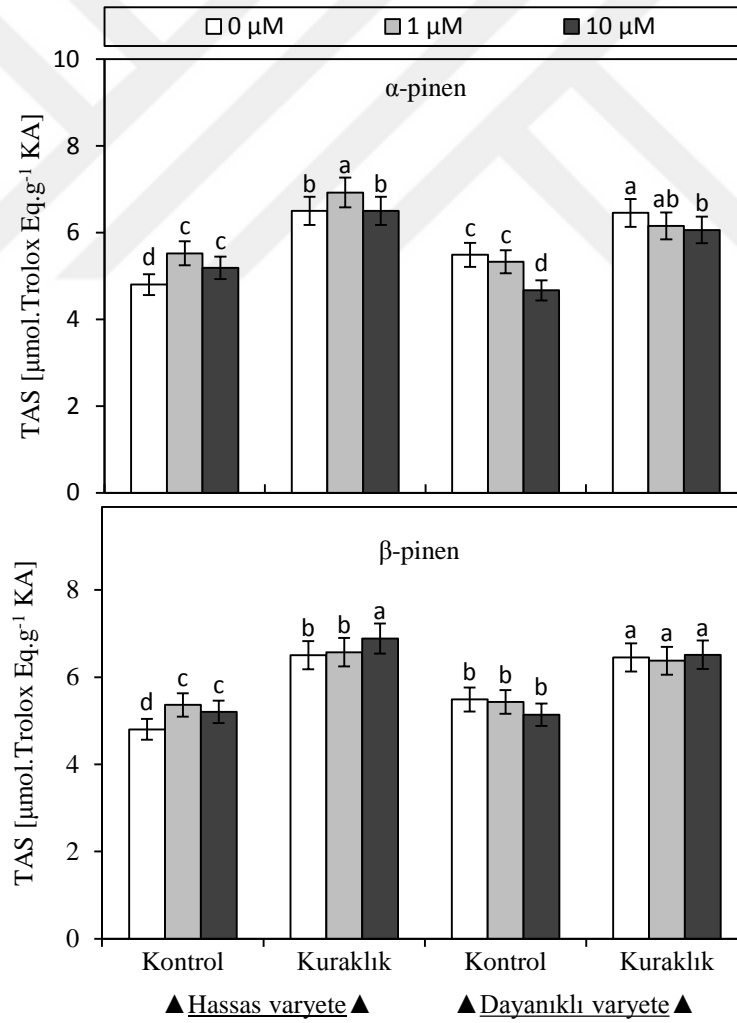
Kontrol şartlarında büyütülen bitkilere dışsal  **$\alpha$ -pinen uygulamasıyla** TAS miktarında hassas varyetede artış, dayanıklı varyetede düşüş meydana getirmiştir. Kuraklık stresine maruz kalmış bitki yapraklarında ise  $\alpha$ -pinen uygulaması TAS miktarında hassas varyetede kendi kontrolüne göre ( $P<0.05$ ) artış, dayanıklı varyetede düşüşe neden olmuştur. Hassas varyetede 1  $\mu\text{M}$ 'lık  $\alpha$ -Pinen uygulamasında % 6.5 oranında artış gözlenirken 10  $\mu\text{M}$  uygulamada farklılık gözlenmemiştir. Dayanıklı varyetede 10  $\mu\text{M}$ 'da % 6.1 oranında düşüş olurken 1  $\mu\text{M}$  uygulamasında anlamlı bir fark görülmemiştir.

Kontrol şartlarında büyütülen bitkilere dışsal  **$\beta$ -pinen uygulamasıyla** TAS miktarında hassas varyetede artış, dayanıklı varyetede ise düşüş meydana getirmiştir. Fakat dayanıklı varyetedeki bu düşüşler istatistik olarak önemsizdir. Kuraklık stresine maruz kalmış bitki yapraklarında ise  $\beta$ -pinen uygulaması TAS miktarında hassas varyetede 10  $\mu\text{M}$ 'lık  $\beta$ -pinen uygulaması haricindeki bütün gruplarda (dayanıklı varyete dahil) anlamlı farklılıklara neden olmamıştır. Bu konsantrasyondaki artış ise % 5.9 olarak kaydedilmiştir.

**Çizelge 4.17** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde toplam antioksidan kapasite (TAS) ( $\mu\text{mol.g}^{-1}\text{KA}$ ) üzerine etkisi

Konsantrasyon ( $\mu\text{M}$ )	Hassas varyete		Dayanıklı varyete		
	Kontrol	Kuraklık	Kontrol	Kuraklık	
$\alpha$ -pinen	0	$4,80 \pm 0,09^d$	$6,50 \pm 0,05^b$	$5,49 \pm 0,01^c$	$6,46 \pm 0,04^a$
	1	$5,52 \pm 0,02^c$	$6,93 \pm 0,03^a$	$5,33 \pm 0,65^c$	$6,15 \pm 0,01^{ab}$
	10	$5,19 \pm 0,02^c$	$6,51 \pm 0,05^b$	$4,67 \pm 0,12^d$	$6,06 \pm 0,06^b$
$\beta$ -pinen	0	$4,80 \pm 0,09^d$	$6,50 \pm 0,05^b$	$5,49 \pm 0,01^b$	$6,46 \pm 0,04^a$
	1	$5,36 \pm 0,05^c$	$6,57 \pm 0,02^b$	$5,43 \pm 0,04^b$	$6,38 \pm 0,02^a$
	10	$5,20 \pm 0,10^c$	$6,88 \pm 0,02^a$	$5,14 \pm 0,13^b$	$6,51 \pm 0,02^a$

\*Aynı sütundaki her bir madde için geçerli olmak kaydıyla, aynı varyete içerisinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre  $P < 0.05$  önem seviyesinde anlamsızdır.  $\pm$  standart hatayı ifade eder.



**Şekil 4.18** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde Toplam antioksidan kapasite (TAS) ( $\mu\text{mol.g}^{-1}\text{Kuru ağırlık}$ ) üzerine etkisi

#### 4.6.2. Toplam fenolik bileşik miktarının sonuçları

Buğdayın kuraklığa dayanıklı Karahan-99 ve hassas Cumhuriyet-75 varyetelerinden kuraklık stresi ve  $\alpha$  ve  $\beta$ -Pinen uygulaması ile elde edilen toplam fenolik bileşik miktarı sonuçları Çizelge 4.18 ve Şekil 4.19'de sunulmuştur. Kuraklığa dayanıklı ve hassas buğday varyetesinde **kuraklık stresi uygulaması** ile fenolik bileşik miktarında miktarı kontrole göre ( $P<0.05$ ) artış göstermiştir. Çizelge 4.18 ve Şekil 4.19 ayrıntılı incelendiğinde hassas varyetede kontrole göre bu artış % 8.8 oranında olurken dayanıklı varyetede artış % 25.2 oranında görülmektedir.

Kontrol şartlarında büyütülen bitkilere dışsal  **$\alpha$ -pinen uygulaması** toplam fenolik bileşik miktarında dayanıklı ve hassas varyetede bütün gruplarda artış sağlamıştır. Fakat bu artışlar anlamlı kabul edilmemiştir. Kuraklık stresine maruz kalmış bitki yapraklarında ise  $\alpha$ -pinen uygulaması toplam fenolik bileşik miktarında dayanıklı ve hassas varyetede bütün gruplarda düşüşe neden olmuştur. Bu düşüşler hassas varyetede 1 ve 10  $\mu\text{M}$   $\alpha$ -Pinen uygulamalarında sırasıyla % 17.8 ve 24.5 oranında, dayanıklı varyetede ise % 16.5 ve 11.3 oranında gerçekleşmiştir.

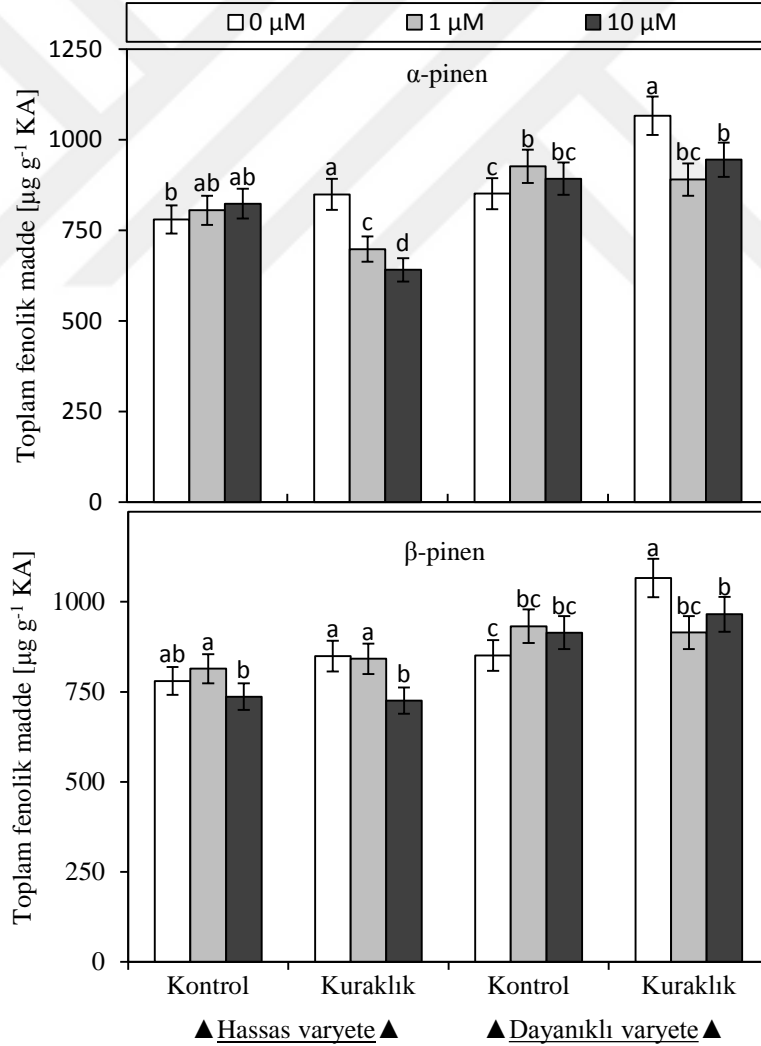
Kontrol koşullarındaki bitkilere dışsal  **$\beta$ -pinen uygulaması** toplam fenolik bileşik miktarında hassas varyetenin 10  $\mu\text{M}$   $\beta$ -Pinen uygulamasında düşüşe neden olurken 1  $\mu\text{M}$  uygulamasında anlamlı değişikliğe neden olmamıştır. Dayanıklı varyetede ise artış sağlamıştır. Kuraklık stresine maruz kalmış bitki yapraklarında  $\beta$ -pinen uygulaması toplam fenolik bileşik miktarında dayanıklı ve hassas varyetede bütün gruplarda düşüşe neden olmuştur. Örneğin, hassas varyetede 10  $\mu\text{M}$   $\beta$ -pinen uygulamasındaki toplam fenolik bileşik miktarı % 14.5 oranında düşüş gösterirken, 1  $\mu\text{M}$   $\beta$ -Pinen uygulamasında istatistiksel olarak önemli değişikliğe neden olmamıştır. Dayanıklı varyetede ise 1 ve 10  $\mu\text{M}$   $\beta$ -Pinen uygulamalarında sırasıyla % 14.2 ve 9.4 oranında düşüş görülmüştür.



**Çizelge 4.18** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde toplam fenolik bileşik ( $\mu\text{g.g}^{-1}$  Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi

Konsantrasyon ( $\mu\text{m}$ )	Hassas varyete		Dayanıklı varyete		
	Kontrol	Kuraklık	Kontrol	Kuraklık	
$\alpha$ -pinen	0	780 $\pm$ 12,9 <sup>b</sup>	849 $\pm$ 17,5 <sup>a</sup>	851 $\pm$ 5,03 <sup>c</sup>	1066 $\pm$ 7,06 <sup>a</sup>
	1	805 $\pm$ 14,2 <sup>ab</sup>	698 $\pm$ 10,6 <sup>c</sup>	927 $\pm$ 18,3 <sup>b</sup>	890 $\pm$ 9,13 <sup>bc</sup>
	10	824 $\pm$ 6,31 <sup>ab</sup>	641 $\pm$ 6,99 <sup>d</sup>	892 $\pm$ 26,0 <sup>bc</sup>	945 $\pm$ 5,70 <sup>b</sup>
$\beta$ -pinen	0	780 $\pm$ 12,9 <sup>ab</sup>	849 $\pm$ 17,5 <sup>a</sup>	851 $\pm$ 5,03 <sup>c</sup>	1066 $\pm$ 7,06 <sup>a</sup>
	1	814 $\pm$ 14,3 <sup>a</sup>	842 $\pm$ 8,79 <sup>a</sup>	932 $\pm$ 12,9 <sup>bc</sup>	915 $\pm$ 5,37 <sup>bc</sup>
	10	737 $\pm$ 11,4 <sup>b</sup>	726 $\pm$ 14,8 <sup>b</sup>	914 $\pm$ 8,82 <sup>bc</sup>	965 $\pm$ 23,0 <sup>b</sup>

\*Aynı sütundaki her bir madde için geçerli olmak kaydıyla, aynı varyete içerisinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre  $P < 0.05$  önem seviyesinde anlamsızdır.  $\pm$  standart hatayı ifade eder.



**Şekil 4.19** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde toplam fenolik bileşik ( $\mu\text{g.g}^{-1}$  Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi

#### 4.6.3. Flavonoid miktarı ölçüm sonuçları

Kuraklığa dayanıklı ve hassas buğday varyetelerinin her ikisinde de **kuraklık stresi uygulamasının** flavonoid miktarına etkisi incelendiğinde kontrole göre dayanıklı varyetede artış belirlenirken hassas varyetede ise anlamlı bir değişiklik olmamıştır. Çizelge 4.19 ve Şekil 4.20 ayrıntılı incelendiğinde dayanıklı varyetede artış ise % 28.6 oranında görülmektedir.

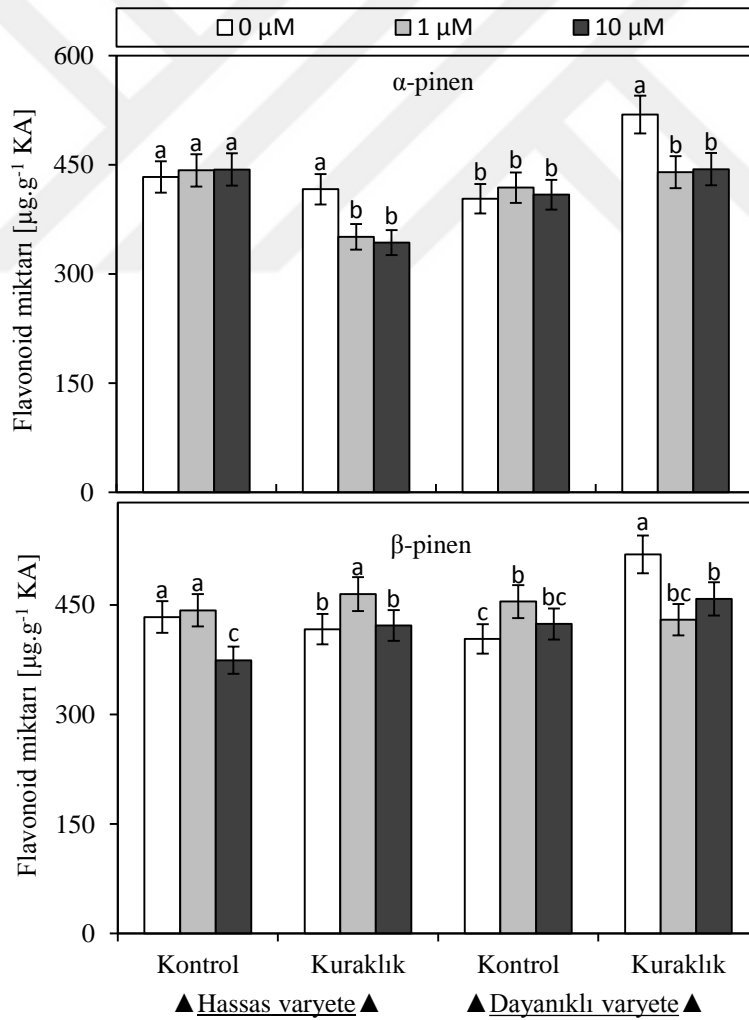
Kontrol şartlarında büyütülen bitkilere dışsal  **$\alpha$ -pinen uygulaması** flavonoid miktarında dayanıklı ve hassas varyetede artış sağlamıştır. Fakat bu artışlar istatistiksel olarak değerlendirildiğinde önemsiz kabul edilmektedir. Kuraklık stresine maruz kalmış bitki yapraklarında ise  $\alpha$ -pinen uygulaması flavonoid miktarında dayanıklı ve hassas varyetede tüm gruplarda düşüşe neden olmuştur. Bu düşüşler incelendiğinde, hassas varyetede 1 ve 10  $\mu$ M  $\alpha$ -pinen uygulamalarıyla sırasıyla % 15.7 ve 17.6, dayanıklı varyetede ise % 15.2 ve 14.4 oranında gerçekleştiği görülür.

Kontrol koşullarında yetiştirilen bitkilere dışsal  **$\beta$ -pinen uygulaması** flavonoid miktarında hassas varyetede bir grupta, dayanıklı varyetede ise bütün gruplarda artış sağlamıştır. Dayanıklı varyetede bu artış ise önemsiz seviyededir. Kuraklık stresine maruz kalmış bitki yapraklarında ise  $\beta$ -pinen uygulaması flavonoid miktarında hassas varyetede artış sağlarken, dayanıklı varyetede ise düşüşe neden olmuştur. Örneğin, hassas varyetede 10  $\mu$ M  $\beta$ -pinen uygulamasındaki bu artış anlamlı bulunmazken, 1  $\mu$ M  $\beta$ -Pinen uygulamasında % 11.6 oranında gerçekleşmiştir. Dayanıklı varyetede ise 1 ve 10  $\mu$ M  $\beta$ -Pinen uygulamalarında sırasıyla % 17.2 ve 11.7 oranında düşüş görülmüştür.

**Çizelge 4.19** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde flavonoid ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi

Konsantrasyon ( $\mu\text{M}$ )	Hassas varyete		Dayanıklı varyete		
	Kontrol	Kuraklık	Kontrol	Kuraklık	
$\alpha$ -pinen	0	$433 \pm 7,66^a$	$416 \pm 3,77^a$	$403 \pm 2,41^b$	$519 \pm 6,76^a$
	1	$442 \pm 11,6^a$	$351 \pm 2,01^b$	$419 \pm 13,8^b$	$440 \pm 2,84^b$
	10	$443 \pm 5,86^a$	$343 \pm 3,40^b$	$409 \pm 2,29^b$	$444 \pm 4,04^b$
$\beta$ -pinen	0	$433 \pm 7,66^a$	$416 \pm 3,77^b$	$403 \pm 2,41^c$	$519 \pm 6,76^a$
	1	$442 \pm 10,5^a$	$465 \pm 5,38^a$	$454 \pm 11,8^b$	$429 \pm 1,79^{bc}$
	10	$374 \pm 8,19^c$	$422 \pm 10,3^b$	$424 \pm 6,97^{bc}$	$458 \pm 12,8^b$

\*Aynı sütundaki her bir madde için geçerli olmak kaydıyla, aynı varyete içerisinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre  $P < 0.05$  önem seviyesinde anlamsızdır.  $\pm$  standart hatayı ifade eder.



**Şekil 4.20** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde flavonoid ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi

#### 4.6.4. Toplam karotenoid miktarının sonuçları

Buğdayın kuraklığa dayanıklı Karahan-99 ve hassas Cumhuriyet-75 varyetelerinden kuraklık stresiyle birlikte  $\alpha$  ve  $\beta$ -Pinen uygulaması ile elde edilen toplam karotenoid miktarı sonuçları Çizelge 4.20 ve Şekil 4.21’de sunulmuştur. Her iki varyetede de **kuraklık stresi uygulaması** ile toplam karotenoid miktarı kontrole göre ( $P<0.05$ ) önemli decede artışlar göstermiştir. Çizelge 4.20 ve Şekil 4.21 ayrıntılı incelendiğinde hassas varyetede kontrole göre bu artış % 133 oranında olurken dayanıklı varyetede ise % 124 oranında görülmektedir.

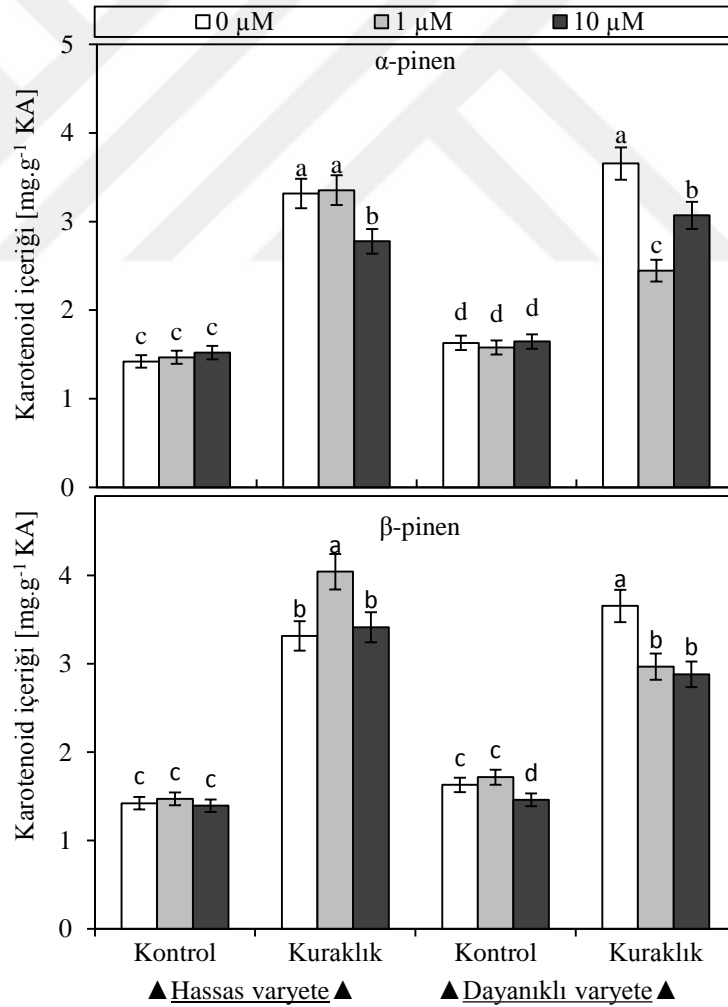
Kontrol koşullarındaki bitkilere dışsal  **$\alpha$ -pinen uygulaması** toplam karotenoid miktarında hassas varyetede iki, dayanıklı varyetede ise bir grupta artış meydana getirmiştir. Fakat meydana gelen bu artış ve azalışların hiçbiri istatistiki olarak anlamlı kabul edilmemiştir. Kuraklık stresine maruz kalmış bitki yapraklarında ise  $\alpha$ -pinen uygulaması toplam karotenoid miktarında hassas varyetenin bir grubunda, dayanıklı varyetenin ise tüm grubunda düşüşe neden olmuştur. Örneğin, hassas varyetede 10  $\mu\text{M}$   $\alpha$ -pinen uygulamalarıyla toplam karotenoid miktarında % 16.2 oranında düşüş gözlenirken 1  $\mu\text{M}$  uygulamasında önemli sayılır değişiklik oluşturmamıştır. Dayanıklı varyetede 1 ve 10  $\mu\text{M}$   $\alpha$ -pinen uygulamalarında sırasıyla % 33.1 ve 16 oranında düşüş görülmüştür.

Kontrol şartlarında büyütülen bitkilere dışsal  **$\beta$ -pinen uygulaması** toplam karotenoid miktarında hassas varyetede anlamlı farka neden olmamıştır. Dayanıklı varyetenin 10  $\mu\text{M}$   $\beta$ -pinen uygulamasında düşüş görülürken diğer konsantrasyonunda önemli sayılabilecek değişiklik oluşturmamıştır. Kuraklık stresine maruz kalmış bitki yapraklarında  $\beta$ -pinen uygulaması toplam karotenoid miktarında hassas varyetede artış, dayanıklı varyetede ise düşüş meydana getirmiştir. Örneğin, hassas varyetede 10  $\mu\text{M}$   $\beta$ -pinen uygulamalarıyla toplam karotenoid miktarında % 21.9 oranında artış gösterirken, diğer konsantrasyonda ise anlamlı farka neden olmamıştır. Dayanıklı varyetede ise 1 ve 10  $\mu\text{M}$   $\beta$ -Pinen uygulamalarında sırasıyla % 18.8 ve 21.2 oranında düşüş görülmüştür.

**Çizelge 4.20** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde toplam karotenoid ( $\text{mg g}^{-1}$  Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi

Konsantrasyon ( $\mu\text{M}$ )	Hassas varyete		Dayanıklı varyete		
	Kontrol	Kuraklık	Kontrol	Kuraklık	
$\alpha$ -pinen	0	$1,42 \pm 0,04^c$	$3,32 \pm 0,05^a$	$1,63 \pm 0,17^d$	$3,66 \pm 0,21^a$
	1	$1,47 \pm 0,12^c$	$3,35 \pm 0,20^a$	$1,58 \pm 0,02^d$	$2,45 \pm 0,20^c$
	10	$1,52 \pm 0,21^c$	$2,78 \pm 0,07^b$	$1,65 \pm 0,07^d$	$3,07 \pm 0,20^b$
$\beta$ -pinen	0	$1,42 \pm 0,04^c$	$3,32 \pm 0,05^b$	$1,63 \pm 0,17^c$	$3,66 \pm 0,21^a$
	1	$1,47 \pm 0,12^c$	$4,04 \pm 0,10^a$	$1,72 \pm 0,05^c$	$2,97 \pm 0,33^b$
	10	$1,39 \pm 0,04^c$	$3,41 \pm 0,15^b$	$1,46 \pm 0,10^d$	$2,88 \pm 0,42^b$

\*Aynı sütundaki her bir madde için geçerli olmak kaydıyla, aynı varyete içerisinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre  $P < 0.05$  önem seviyesinde anlamsızdır.  $\pm$  standart hatayı ifade eder.



**Şekil 4.21** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde toplam karotenoid ( $\text{mg g}^{-1}$  Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi

#### 4.6.5. Toplam glutayon miktarının sonuçları

Toplam glutayon miktarı incelendiğinde; her iki varyetede de **kuraklık stresi uygulaması** ile toplam glutayon miktarı kontrole göre ( $P<0.05$ ) artmıştır. Çizelge 4.21 ve Şekil 4.22 ayrıntılı incelendiğinde hassas varyetede kontrole göre bu artış % 13.8 oranında olurken dayanıklı varyetede ise % 39.5 oranında görülmektedir.

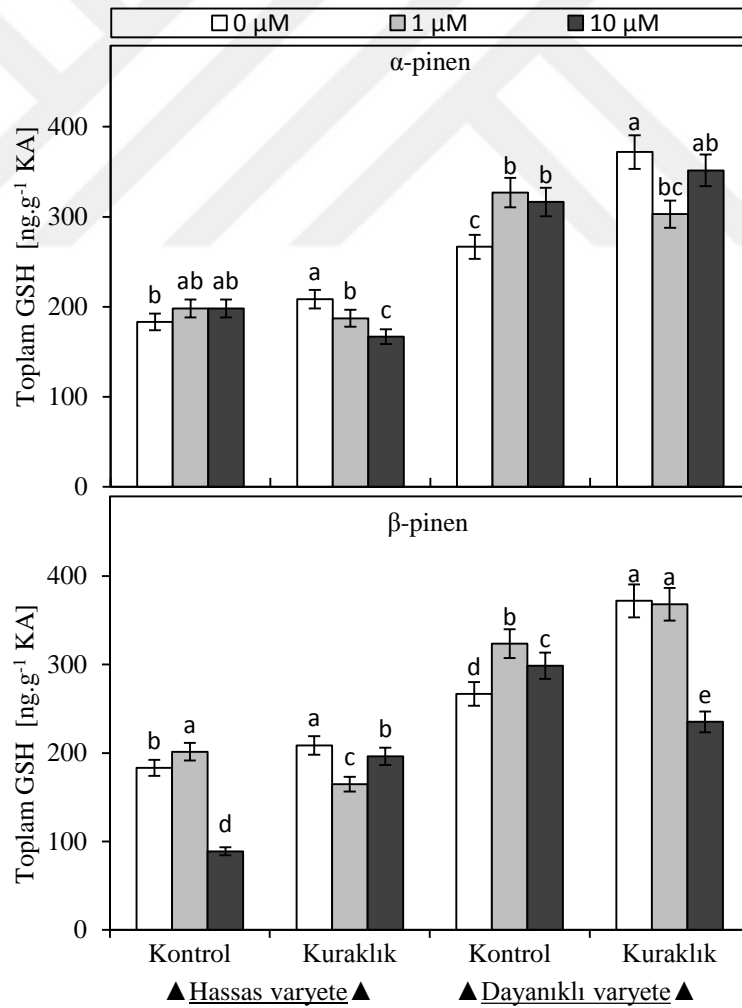
Kontrol şartlarında büyütülen bitkilere dışsal  **$\alpha$ -pinen uygulaması** toplam glutayon miktarında her iki varyetede de artış sağlamıştır. Kuraklık stresine maruz kalmış bitki yapraklarında ise  $\alpha$ -pinen uygulaması toplam glutayon miktarında her iki varyetenin tüm gruplarında düşüşe neden olmuştur. Bu düşüşler incelendiğinde hassas varyetede 1 ve 10  $\mu\text{M}$   $\alpha$ -pinen uygulamalarıyla sırasıyla % 10.2 ve 20 dayanıklı varyetede ise % 18.5 ve 5.5 oranında gerçekleştiği görülür.

Kontrol koşullarındaki bitkilere dışsal  **$\beta$ -pinen uygulaması** toplam glutayon miktarında hassas varyetenin 10  $\mu\text{M}$  konsantrasyonunda artış, 1  $\mu\text{M}$   $\beta$ -Pinen uygulamasında düşüş gerçekleştirmiştir. Dayanıklı varyetenin bütün konsantrasyonlarında artış meydana getirmiştir. Kuraklık stresindeki bitki yapraklarında  $\beta$ -Pinen uygulaması toplam glutayon miktarında her iki varyetenin tüm gruplarında düşüşe neden olmuştur. Hassas varyetede bu düşüş 1 ve 10  $\mu\text{M}$   $\beta$ -pinen uygulamalarıyla toplam glutayon miktarında sırasıyla % 21 ve 5.9 oranında gerçekleşmiştir. Dayanıklı varyetede ise 10  $\mu\text{M}$   $\beta$ -pinen uygulamalarında % 36.7 oranında düşüş gözlenirken 1  $\mu\text{M}$   $\beta$ -Pinen konsantrasyonunda istatistiki manada önemli bir farka neden olmamıştır.

**Çizelge 4.21** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde toplam glutasyon (GSH) ( $\text{ng.g}^{-1}$ Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi

Konsantrasyon ( $\mu\text{m}$ )	Hassas varyete		Dayanıklı varyete		
	Kontrol	Kuraklık	Kontrol	Kuraklık	
$\alpha$ -pinen	0	$183 \pm 2,77^b$	$208 \pm 1,81^a$	$267 \pm 1,99^c$	$372 \pm 4,76^a$
	1	$198 \pm 1,92^{ab}$	$187 \pm 1,46^b$	$327 \pm 3,75^b$	$303 \pm 0,87^{bc}$
	10	$198 \pm 3,62^{ab}$	$167 \pm 1,38^c$	$317 \pm 4,43^b$	$351 \pm 1,16^{ab}$
$\beta$ -pinen	0	$183 \pm 2,77^b$	$208 \pm 1,81^a$	$267 \pm 1,99^d$	$372 \pm 4,76^a$
	1	$201 \pm 3,66^a$	$165 \pm 1,06^c$	$324 \pm 2,28^b$	$368 \pm 1,13^a$
	10	$89,0 \pm 1,18^d$	$196 \pm 1,38^b$	$299 \pm 1,68^c$	$235 \pm 1,75^e$

\*Aynı sütundaki her bir madde için geçerli olmak kaydıyla, aynı varyete içerisinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre  $P < 0.05$  önem seviyesinde anlamsızdır.  $\pm$  standart hatayı ifade eder.



**Şekil 4.22** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde toplam glutasyon (GSH) ( $\text{ng.g}^{-1}$ Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi

#### 4.6.6. Toplam askorbik asit (toplam AsA) miktarının sonuçları

Buğdayın kuraklığa dayanıklı Karahan-99 ve hassas Cumhuriyet-75 varyetelerinden kuraklık stresiyle birlikte  $\alpha$  ve  $\beta$ -Pinen uygulamalarından elde edilen toplam AsA miktarı sonuçları Çizelge 4.22 ve Şekil 4.23’de sunulmuştur. Her iki varyetede de **kuraklık stresi uygulaması** ile toplam AsA miktarı kontrole göre ( $P<0.05$ ) düşüş göstermiştir. Çizelge 4.23 ve Şekil 4.24 ayrıntılı incelendiğinde hassas varyetede kontrole göre bu düşüş % 9 oranında olurken dayanıklı varyetede ise % 12.7 oranında görülmektedir.

Kontrol şartlarında büyütülen bitkilere dışsal  **$\alpha$ -pinen uygulaması** toplam AsA miktarında hassas varyetede 1  $\mu\text{M}$   $\alpha$ -pinen uygulamasında % 8.1 oranında artış gözlenirken, dayanıklı varyetede 10  $\mu\text{M}$   $\alpha$ -pinen uygulamasında % 10.3 oranında düşüş gözlenmiştir. Bunun dışındaki bütün konsantrasyonlarda ise anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Kuraklık stresine maruz kalmış bitki yapraklarında ise  $\alpha$ -pinen uygulaması toplam AsA miktarında hassas varyetede düşüş, dayanıklı varyetede ise artış meydana getirmiştir. Örneğin, hassas varyetede 10  $\mu\text{M}$   $\alpha$ -pinen uygulamasında % 9.6 oranında düşüş, dayanıklı varyetede 10  $\mu\text{M}$  konsantrasyonunda % 21 oranında artış meydana gelmiştir. Diğer gruplarda ise istatistiki açıdan anlamlı bir değişiklik kaydedilmemiştir.

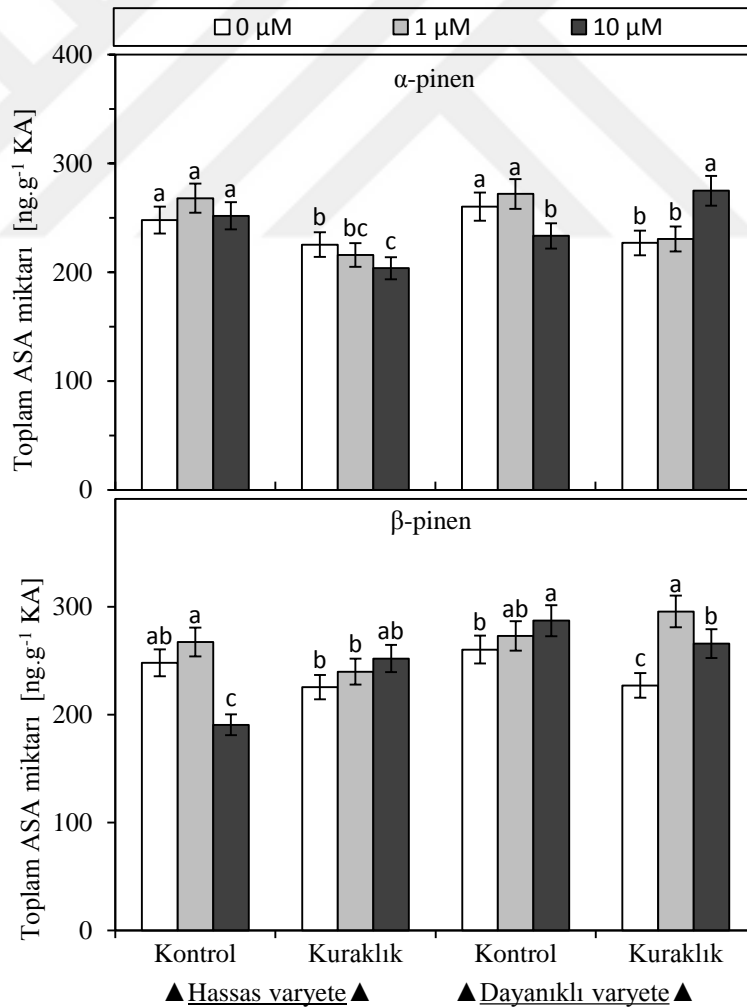
Kontrol koşullarındaki bitkilere dışsal  **$\beta$ -pinen uygulaması** toplam AsA miktarında hassas varyetenin 1  $\mu\text{M}$   $\beta$ -Pinen uygulamasında artış, 10  $\mu\text{M}$  uygulamasında düşüş meydana getirmiştir. Dayanıklı varyetenin ise tamamında artış gözlenmiştir. Kuraklık stresindeki bitki yapraklarında  $\beta$ -pinen uygulaması toplam AsA miktarında her iki varyetenin de tüm gruplarında artış sağlamıştır. Bu artış değerlendirildiğinde hassas varyetede 1 ve 10  $\mu\text{M}$   $\beta$ -pinen konsantrasyonlarında sırasıyla % 6.3 ve 11.7, dayanıklı varyetede ise % 30.2 ve 17 oranında gerçekleşmiştir.



**Çizelge 4.22** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde toplam askorbik asit (AsA) ( $\text{ng.g}^{-1}$  Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi

Konsantrasyon ( $\mu\text{m}$ )	Hassas varyete		Dayanıklı varyete		
	Kontrol	Kuraklık	Kontrol	Kuraklık	
$\alpha$ -pinen	0	248 $\pm$ 2,19 <sup>a</sup>	226 $\pm$ 2,01 <sup>b</sup>	260 $\pm$ 5,68 <sup>a</sup>	227 $\pm$ 2,97 <sup>b</sup>
	1	268 $\pm$ 4,75 <sup>a</sup>	216 $\pm$ 1,93 <sup>bc</sup>	272 $\pm$ 10,6 <sup>a</sup>	231 $\pm$ 2,02 <sup>b</sup>
	10	252 $\pm$ 3,61 <sup>a</sup>	204 $\pm$ 3,65 <sup>c</sup>	234 $\pm$ 5,79 <sup>b</sup>	275 $\pm$ 9,11 <sup>a</sup>
$\beta$ -pinen	0	248 $\pm$ 2,19 <sup>ab</sup>	226 $\pm$ 2,01 <sup>b</sup>	260 $\pm$ 5,68 <sup>b</sup>	227 $\pm$ 2,97 <sup>c</sup>
	1	267 $\pm$ 6,12 <sup>a</sup>	240 $\pm$ 4,10 <sup>b</sup>	273 $\pm$ 5,23 <sup>ab</sup>	296 $\pm$ 8,73 <sup>a</sup>
	10	191 $\pm$ 2,48 <sup>c</sup>	252 $\pm$ 2,06 <sup>ab</sup>	287 $\pm$ 2,57 <sup>a</sup>	266 $\pm$ 7,34 <sup>b</sup>

\*Aynı sütundaki her bir madde için geçerli olmak kaydıyla, aynı varyete içerisinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre  $P < 0.05$  önem seviyesinde anlamsızdır.  $\pm$  standart hatayı ifade eder.



**Şekil 4.23** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde toplam askorbik asit (AsA) ( $\text{ng.g}^{-1}$  Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi

## 4.7. Kuraklık Stresinin Osmoprotektan ve Osmolitler Üzerine Etkisi

### 4.7.1. Çözünabilir protein miktarının sonuçları

Kuraklığa dayanıklı ve hassas buğday varyetesinde kuraklık stresi uygulaması ile çözünabilir protein miktarı kontrole göre değişiklik Çizelge 4.23 ve Şekil 4.24'de gösterilmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde **kuraklık stresiye birlikte** hassas varyetede çözünabilir protein miktarı % 25.8 oranında düşüş gösterirken dayanıklı varyetede ise istatistiki açıdan anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

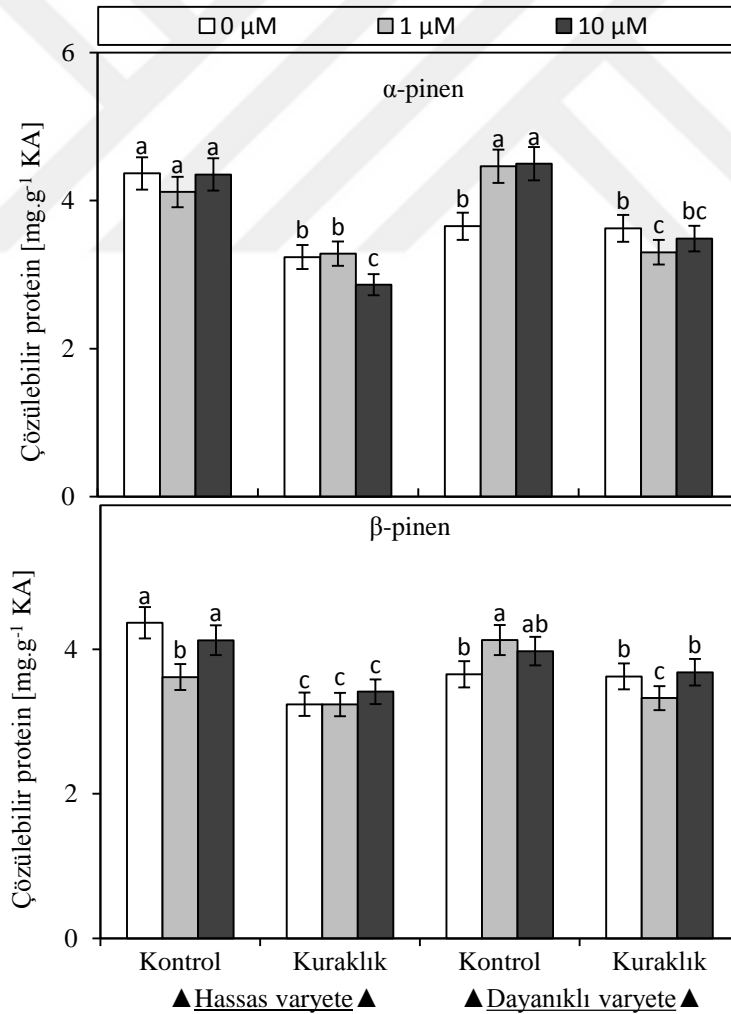
Kontrol koşullarında büyütülen bitkilere dışsal  **$\beta$ -pinen uygulaması** çözünabilir protein miktarında hassas varyetede düşüşe, dayanıklı varyetede ise artışa neden olmuştur. Fakat hassas varyetede bu düşüşler anlamlı kabul edilmemiştir. Kuraklık stresine maruz kalmış bitki yapraklarında  $\alpha$ -pinen uygulaması çözünabilir protein miktarında hassas varyetede kendi kontrollerine göre bir grupta artış sağlarken ( $P<0.05$ ) dayanıklı varyetede ise tamamında düşüşe neden olmuştur. Örneğin, hassas ve dayanıklı varyetenin 10 ile 1  $\mu\text{M}$ 'lık  $\alpha$ -pinen uygulamalarında kontrollerine göre çözünabilir protein miktarı sırasıyla % 11.5 ve 8.8 oranında düşüş gösterirken diğer konsantrasyonlarda ise anlamlı bir değişiklik kaydedilmemiştir.

Kontrol şartlarında yetiştirilen bitkilere dışsal  **$\beta$ -pinen uygulaması** çözünabilir protein miktarında hassas varyetede düşüşe, dayanıklı varyetede ise artışa neden olmuştur. Kuraklık stresindeki bitki yapraklarına  $\beta$ -pinen uygulaması çözünabilir protein miktarında kendi kontrollerine göre dayanıklı ve hassas varyetenin birer grubunda artış ( $P<0.05$ ) sağlamıştır. Örneğin, hassas varyetede 10  $\mu\text{M}$ 'lık  $\alpha$ -pinen uygulamasında % 5.4 oranında artış gözlenirken, dayanıklı varyetede ise 1  $\mu\text{M}$  konsantrasyonunda kontrolüne göre % 8.3 düşüş meydana gelmiştir. Diğer gruplarda ise istatistiki manada anlamlı bir fark kaydedilmemiştir.

**Çizelge 4.23** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde çözümlü protein ( $\text{mg.g}^{-1}$  Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi

Konsantrasyon ( $\mu\text{m}$ )	Hassas varyete		Dayanıklı varyete		
	Kontrol	Kuraklık	Kontrol	Kuraklık	
$\alpha$ -pinen	0	$4,37 \pm 0,04^a$	$3,24 \pm 0,02^b$	$3,65 \pm 0,09^b$	$3,62 \pm 0,04^b$
	1	$4,12 \pm 0,04^a$	$3,28 \pm 0,01^b$	$4,46 \pm 0,05^a$	$3,30 \pm 0,04^c$
	10	$4,35 \pm 0,03^a$	$2,86 \pm 0,01^c$	$4,50 \pm 0,03^a$	$3,49 \pm 0,03^{bc}$
$\beta$ -pinen	0	$4,37 \pm 0,04^a$	$3,24 \pm 0,02^c$	$3,65 \pm 0,09^b$	$3,62 \pm 0,04^b$
	1	$3,61 \pm 0,05^b$	$3,24 \pm 0,01^c$	$4,13 \pm 0,05^a$	$3,32 \pm 0,02^c$
	10	$4,12 \pm 0,03^a$	$3,41 \pm 0,02^c$	$3,97 \pm 0,05^{ab}$	$3,68 \pm 0,02^b$

\*Aynı sütundaki her bir madde için geçerli olmak kaydıyla, aynı varyete içerisinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre  $P < 0.05$  önem seviyesinde anlamsızdır.  $\pm$  standart hatayı ifade eder.



**Şekil 4.24** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde çözümlü protein ( $\text{mg.g}^{-1}$  Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi

#### 4.7.2. Prolin miktarının sonuçları

Buğdayın kuraklığa dayanıklı Karahan-99 ve hassas Cumhuriyet-75 varyetelerinden kuraklık stresi ve  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulaması ile elde edilen prolin miktarı sonuçları Çizelge 4.24 ve Şekil 4.25'de sunulmuştur. Kuraklığa dayanıklı ve hassas buğday varyetesinde **kuraklık stresi uygulaması** ile prolin miktarında miktarı kontrole göre ( $P<0.05$ ) çok ciddi oranda artış göstermiştir. Çizelge 4.24 ve Şekil 4.25 ayrıntılı incelendiğinde hassas varyetede kontrole göre bu artış yaklaşık 10 kat olurken dayanıklı varyetede artış ise 22 kat olarak görülmektedir.

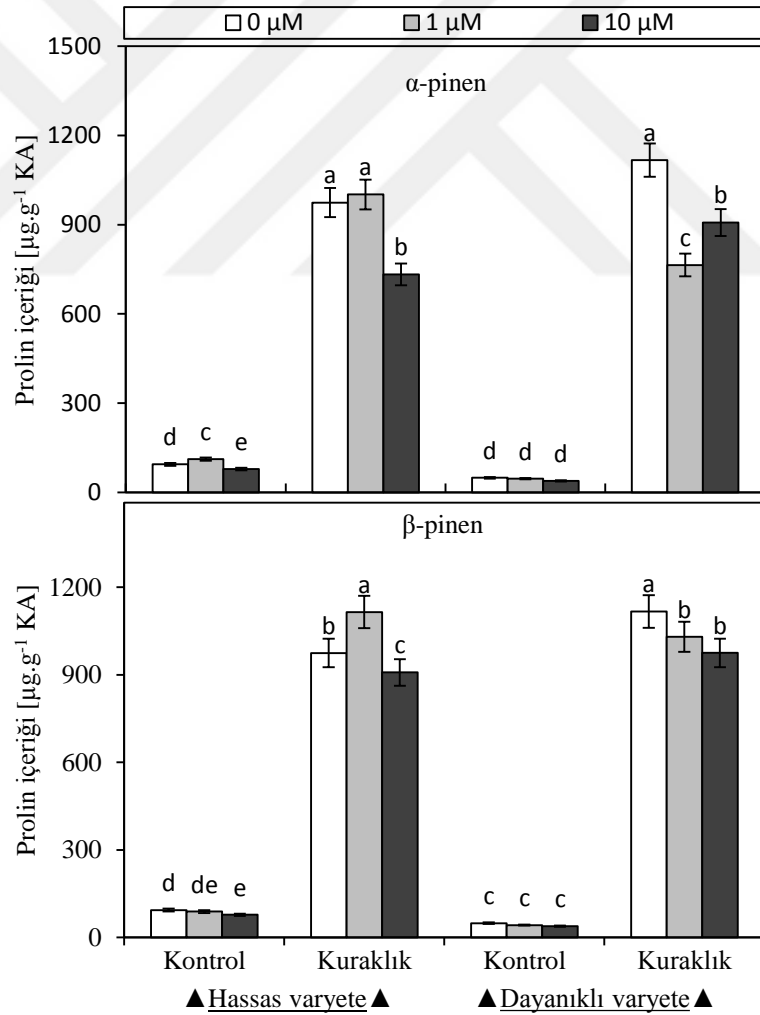
Kontrol şartlarında yetiştirilen bitkilere dışsal  **$\alpha$ -pinen uygulaması** prolin miktarında hassas varyetede 1  $\mu\text{M}$   $\alpha$ -Pinen uygulamasında artış, 10  $\mu\text{M}$  uygulamasında ise düşüş meydana getirmiştir. Dayanıklı varyetede anlamlı bir farka neden olmamıştır. Kuraklık stresine maruz kalmış bitki yapraklarında  $\alpha$ -Pinen uygulaması prolin miktarında dayanıklı ve hassas varyetede genellikle düşüşe neden olmuştur. Örneğin, hassas varyetede 10  $\mu\text{M}$   $\alpha$ -pinen uygulamalarıyla prolin miktarında % 24.7 oranında düşüş meydana gelirken, 1  $\mu\text{M}$   $\alpha$ -pinen uygulamasında istatistiki olarak fark gözlenmemiştir. Dayanıklı varyetede ise 1 ve 10  $\mu\text{M}$   $\alpha$ -Pinen uygulamalarında % 31.5 ve 18.8 oranında düşüş görülmüştür.

Kontrol koşullarında büyütülen bitkilere dışsal  **$\beta$ -pinen uygulaması** prolin miktarında dayanıklı ve hassas varyetede bütün gruplarda düşüşe neden olmuştur. Fakat dayanıklı varyetede bu düşüş anlamlı kabul edilmemiştir. Kuraklık stresindeki bitki yapraklarına  $\beta$ -pinen uygulaması ise prolin miktarında hassas varyetenin bir konsantrasyonunda, dayanıklı varyetenin ise tamamında düşüş meydana getirmiştir. Örneğin, hassas varyetede 1  $\mu\text{M}$   $\beta$ -pinen uygulamalarıyla prolin miktarında % 14.4 oranında artış, 10  $\mu\text{M}$   $\beta$ -pinen uygulamasında % 6.8 oranında düşüş gözlenirken, dayanıklı varyetede ise 1 ve 10  $\mu\text{M}$   $\beta$ -pinen uygulamalarında % 7.7 ve 12.7 oranında düşüş görülmüştür.

**Çizelge 4.24** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde prolin ( $\mu\text{g.g}^{-1}$  Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi

Konsantrasyon ( $\mu\text{m}$ )	Hassas varyete		Dayanıklı varyete		
	Kontrol	Kuraklık	Kontrol	Kuraklık	
$\alpha$ -pinen	0	94,0 $\pm$ 1,10 <sup>d</sup>	975 $\pm$ 13,8 <sup>a</sup>	49,0 $\pm$ 1,56 <sup>d</sup>	1117 $\pm$ 7,25 <sup>a</sup>
	1	111,9 $\pm$ 0,63 <sup>c</sup>	1002 $\pm$ 26,5 <sup>a</sup>	45,9 $\pm$ 0,67 <sup>d</sup>	764 $\pm$ 20,4 <sup>c</sup>
	10	78,4 $\pm$ 1,64 <sup>e</sup>	733 $\pm$ 10,2 <sup>b</sup>	38,6 $\pm$ 0,48 <sup>d</sup>	907 $\pm$ 38,8 <sup>b</sup>
$\beta$ -pinen	0	94,0 $\pm$ 1,10 <sup>d</sup>	975 $\pm$ 13,8 <sup>b</sup>	49,0 $\pm$ 1,56 <sup>c</sup>	1117 $\pm$ 7,26 <sup>a</sup>
	1	88,6 $\pm$ 4,05 <sup>de</sup>	1115 $\pm$ 13,1 <sup>a</sup>	42,5 $\pm$ 0,65 <sup>c</sup>	1030 $\pm$ 12,9 <sup>b</sup>
	10	78,1 $\pm$ 1,23 <sup>e</sup>	908 $\pm$ 11,7 <sup>c</sup>	38,8 $\pm$ 0,67 <sup>c</sup>	975 $\pm$ 13,4 <sup>b</sup>

\*Aynı sütundaki her bir madde için geçerli olmak kaydıyla, aynı varyete içerisinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre  $P < 0.05$  önem seviyesinde anlamsızdır.  $\pm$  standart hatayı ifade eder.



**Şekil 4.25** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde prolin ( $\mu\text{g.g}^{-1}$  Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi

#### 4.7.3. İndirgen şeker miktarının sonuçları

Kuraklığa dayanıklı ve hassas buğday varyetesinde **kuraklık stresi uygulaması** ile indirgen şeker miktarı kontrole göre ( $P<0.05$ ) artış göstermiştir. Çizelge 4.25 ve Şekil 4.26 ayrıntılı incelendiğinde hassas varyetede kontrole göre bu artış % 37.3 oranında olurken dayanıklı varyetede ise % 46 oranında görülmektedir.

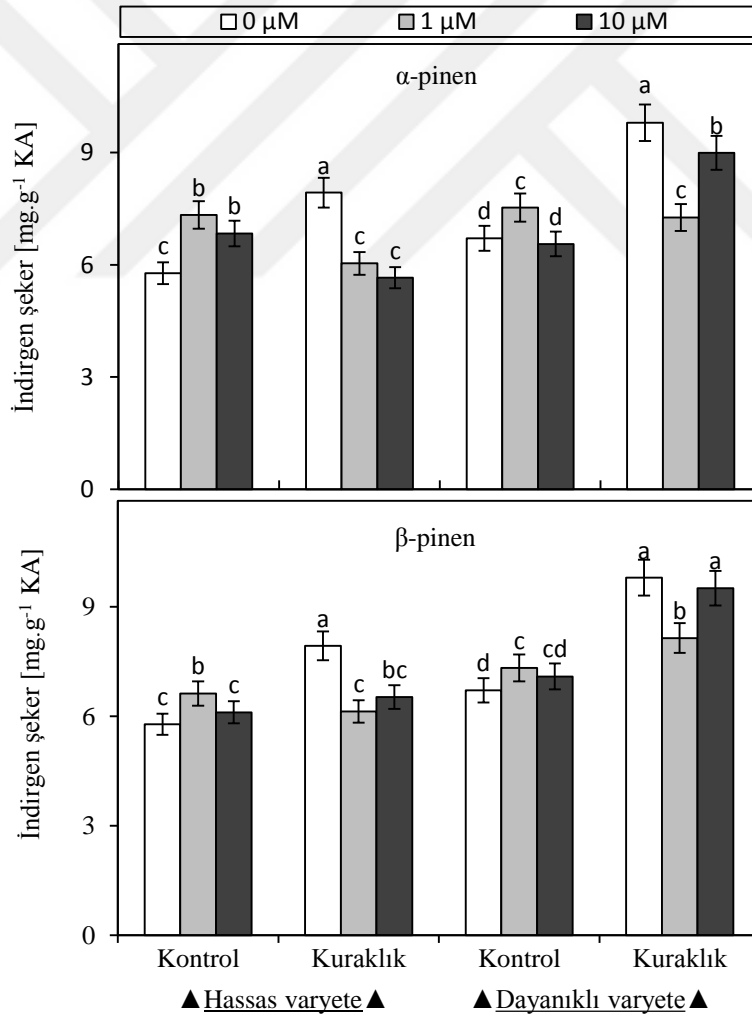
Kontrol koşullarındaki bitkilere dışsal  **$\alpha$ -pinen uygulaması** indirgen şeker miktarında hassas varyetenin tamamında, dayanıklı varyetenin ise bir grubunda artış meydana getirmiştir. Kuraklık stresine maruz kalmış bitki yapraklarında ise  $\alpha$ -pinen uygulaması indirgen şeker miktarında dayanıklı ve hassas varyetede bütün gruplarda düşüşe neden olmuştur. Bu düşüş oransal olarak değerlendirildiğinde hassas varyetede 1 ve 10  $\mu\text{M}$   $\alpha$ -pinen uygulamalarıyla sırasıyla % 23.8 ve 28.6, dayanıklı varyetede ise % 25.8 ve 8.2 olarak gerçekleştiği görülür.

Kontrol şartlarında büyütülen bitkilere dışsal  **$\beta$ -pinen uygulaması** indirgen şeker miktarında dayanıklı ve hassas varyetenin tamamında artış sağlamıştır. Kuraklık stresine maruz kalmış bitki yapraklarında ise  $\beta$ -pinen uygulaması indirgen şeker miktarında her iki varyetede de düşüşe sebep olmuştur. Bu düşüşler incelendiğinde hassas varyetede 1 ve 10  $\mu\text{M}$   $\beta$ -pinen uygulamalarıyla sırasıyla % 22.6 ve 17.7 oranında meydana geldiği görülür. Dayanıklı varyetede ise 1  $\mu\text{M}$   $\beta$ -pinen uygulamasında % 16.9 düşüş gerçekleşirken diğer konsantrasyonda ise anlamlı bir değişiklik söz konusu değildir.

**Çizelge 4.25** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde indirgen şeker ( $\text{mg.g}^{-1}$  Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi

Konsantrasyon ( $\mu\text{M}$ )	Hassas varyete		Dayanıklı varyete		
	Kontrol	Kuraklık	Kontrol	Kuraklık	
$\alpha$ -pinen	0	$5,78 \pm 0,21^c$	$7,93 \pm 0,10^a$	$6,71 \pm 0,13^d$	$9,79 \pm 0,14^a$
	1	$7,33 \pm 0,39^b$	$6,04 \pm 0,22^c$	$7,53 \pm 0,10^c$	$7,26 \pm 0,12^c$
	10	$6,84 \pm 0,19^b$	$5,65 \pm 0,06^c$	$6,55 \pm 0,18^d$	$8,99 \pm 0,38^b$
$\beta$ -pinen	0	$5,78 \pm 0,21^c$	$7,93 \pm 0,10^a$	$6,71 \pm 0,13^d$	$9,79 \pm 0,14^a$
	1	$6,62 \pm 0,10^b$	$6,13 \pm 0,15^c$	$7,32 \pm 0,22^c$	$8,14 \pm 0,14^b$
	10	$6,10 \pm 0,14^c$	$6,52 \pm 0,18^b$	$7,09 \pm 0,12^{cd}$	$9,50 \pm 0,22^a$

\*Aynı sütundaki her bir madde için geçerli olmak kaydıyla, aynı varyete içerisinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre  $P < 0,05$  önem seviyesinde anlamsızdır.  $\pm$  standart hatayı ifade eder.



**Şekil 4.26** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde indirgen şeker ( $\text{mg.g}^{-1}$  Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi

#### 4.7.4. Toplam karbohidrat miktarının sonuçları

Buğdayın kuraklığa dayanıklı Karahan-99 ve hassas Cumhuriyet-75 varyetelerinden kuraklık stresi ve  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulaması ile elde edilen toplam karbohidrat miktarı sonuçları Çizelge 4.26 ve Şekil 4.27’de sunulmuştur. Kuraklığa dayanıklı buğday varyetesinde **kuraklık stresi uygulaması** ile toplam karbohidrat miktarı miktarında kontrole göre ( $P<0.05$ ) artış göstermiştir. Çizelge 4.26 ve Şekil 4.27 ayrıntılı incelendiğinde hassas varyetede kontrole göre anlamlı bir fark gözlenmezken dayanıklı varyetede ise % 26.5 oranında artış görülmektedir.

Kontrol şartlarında büyütülen bitkilere dışsal  **$\alpha$ -pinen uygulaması** toplam karbohidrat miktarında hassas varyetede düşüş, dayanıklı varyetede ise artış meydana getirmiştir. Kuraklık stresine maruz kalmış bitki yapraklarında ise  $\alpha$ -pinen uygulaması toplam karbohidrat miktarında dayanıklı ve hassas varyetede bütün gruplarda düşüşe neden olmuştur. Bu düşüslere bakıldığında hassas varyetede 1 ve 10  $\mu\text{M}$   $\alpha$ -pinen uygulamalarıyla sırasıyla % 20.2 ve 12.1, dayanıklı varyetede ise % 17.9 ve 16.3 oranında gerçekleştiği görülür.

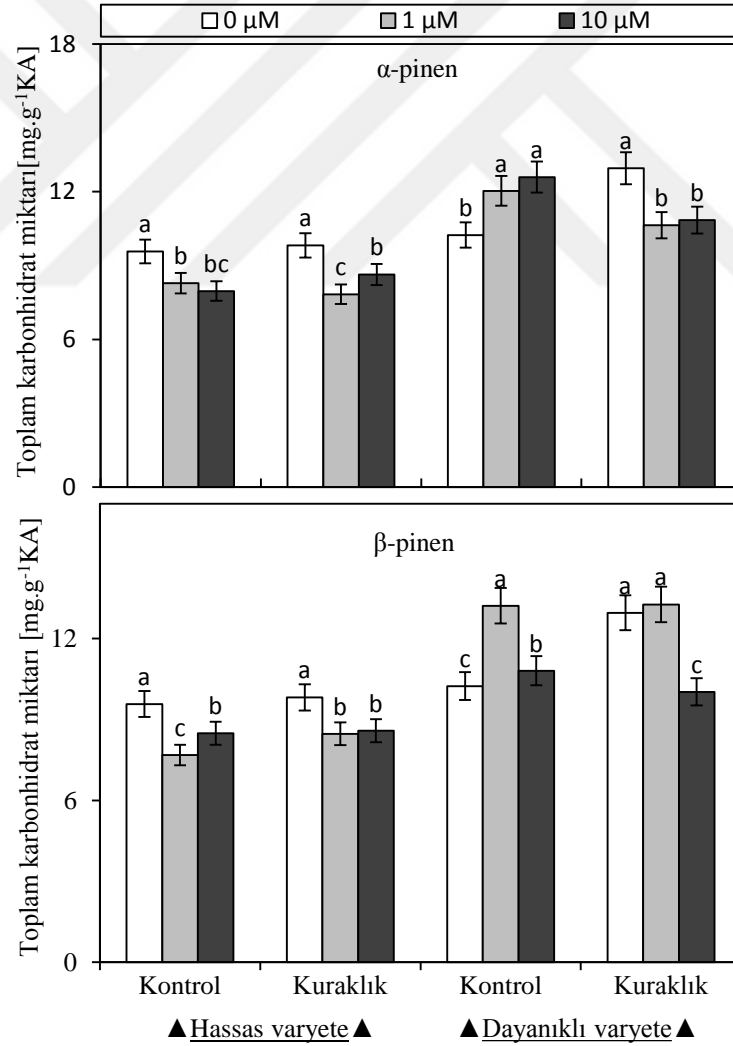
Kontrol koşullarındaki bitkilere dışsal  **$\beta$ -pinen uygulaması** yine  $\alpha$ -Pinen uygulamasında olduğu gibi toplam karbohidrat miktarında hassas varyetede düşüş, dayanıklı varyetede ise artış meydana getirmiştir. Kuraklık stresine maruz kalmış bitki yapraklarına ise  $\beta$ -pinen uygulaması toplam karbohidrat miktarı hassas varyetenin tamamında, dayanıklı varyetenin ise bir grubunda düşüş meydana göstermiştir. Örneğin, hassas varyetede 1 ve 10  $\mu\text{M}$   $\beta$ -pinen uygulamalarıyla toplam karbohidrat miktarında sırasıyla % 13.7 ve 12.5 oranında düşüş gözlenmiştir. Dayanıklı varyetede ise 10  $\mu\text{M}$   $\beta$ -Pinen uygulamalarında % 22.6 oranında düşüş, 1  $\mu\text{M}$   $\beta$ -Pinen uygulamasında istatistiksel anlamda fark görülmemiştir.



**Çizelge 4.26** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde toplam karbohidrat ( $\text{mg.g}^{-1}$  Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi

Konsantrasyon ( $\mu\text{m}$ )	Hassas varyete		Dayanıklı varyete		
	Kontrol	Kuraklık	Kontrol	Kuraklık	
$\alpha$ -pinen	0	$9,57 \pm 0,12^a$	$9,82 \pm 0,09^a$	$10,2 \pm 0,15^b$	$12,9 \pm 0,07^a$
	1	$8,28 \pm 0,05^b$	$7,83 \pm 0,03^c$	$12,3 \pm 0,12^a$	$10,7 \pm 0,10^b$
	10	$7,95 \pm 0,06^{bc}$	$8,64 \pm 0,04^b$	$12,6 \pm 0,09^a$	$10,9 \pm 0,71^b$
$\beta$ -pinen	0	$9,57 \pm 0,12^a$	$9,82 \pm 0,09^a$	$10,2 \pm 0,15^b$	$12,9 \pm 0,07^a$
	1	$7,68 \pm 0,06^c$	$8,47 \pm 0,14^b$	$13,2 \pm 0,12^a$	$13,3 \pm 0,05^b$
	10	$8,49 \pm 0,09^b$	$8,59 \pm 0,08^b$	$10,8 \pm 0,05^a$	$10,0 \pm 0,08^b$

\*Aynı sütundaki her bir madde için geçerli olmak kaydıyla, aynı varyete içerisinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre  $P < 0.05$  önem seviyesinde anlamsızdır.  $\pm$  standart hatayı ifade eder.

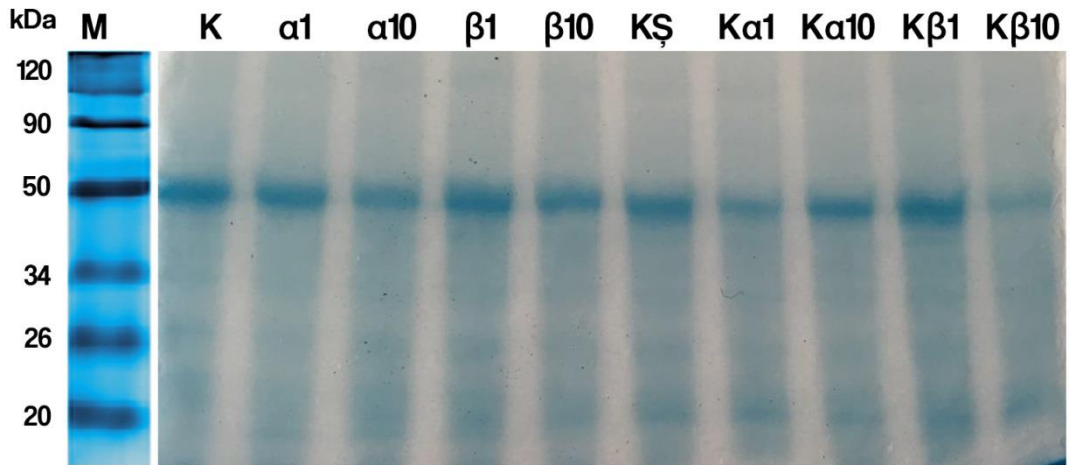


**Şekil 4.27** Kuraklık, kuraklık +  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının hassas ve dayanıklı buğday varyetesinde toplam karbohidrat ( $\text{mg.g}^{-1}$  Kuru ağırlık) miktarı üzerine etkisi

#### 4.8. SDS-PAGE Jel Elektrofrez Sonuçları

##### 4.8.1 Dayanıklı buğday varyetesinden elde edilen sonuçlar

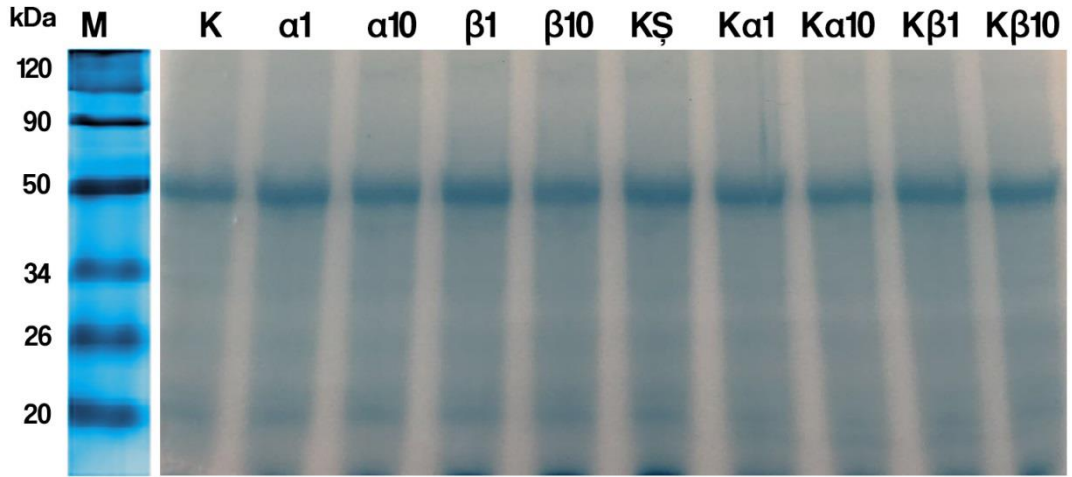
Kuraklığa dayanıklı varyetenin (Karahane-99) SDS-PAGE elektrofrez sonuçları şekil 4.28’de verilmiştir. Şekil 4.28’de Kuraklığa dayanıklı varyeteden elde edilen proteinlerin SDS-PAGE sonuçlarında standart proteinlerle kıyaslandığında, proteinlerin büyüklüklerinin yaklaşık 20 ile 50 kDa arasında olduğu görülmektedir. Ayrıca 20-50 kDa arasındaki proteinlerde önemli farklar gözle çarpmaktadır. Bu aralıkta 50 kDa ağırlığında olan bantların şiddeti kontrol grubuna göre kurak kontrol grubunda kısmen azalmıştır. Kontrol grubu kendi içerisinde kıyaslandığında 10  $\mu$ M  $\alpha$ -pinen uygulamasında bantın yoğunluğu azalırken 1  $\mu$ M  $\beta$ -pinen uygulamasında bantın yoğunluğu artmıştır. Kuraklık uygulamalarında ise 1  $\mu$ M  $\alpha$ -pinen ve 10  $\mu$ M  $\beta$ -pinen uygulamalarında bant yoğunluğu azalırken 1  $\mu$ M  $\beta$ -pinen uygulamasında bantın yoğunluğu artmıştır. Ağırlığı 20 kDa olan proteinler ise kuraklık uygulamalarında bantlar belirgin iken kontrol grubunda belirgin değildir.



**Şekil 4.28** Kuraklığa dayanıklı buğday varyetesi yapraklarından elde edilen proteinlerin SDS-Poliakrilamid Jel Elektrofrez fotoğrafı (**kDa**: Kilodalton, **M**: Standart proteinler, **K**: Kontrol, **α1**: 1  $\mu$ M  $\alpha$ -pinen, **α10**: 10  $\mu$ M  $\alpha$ -pinen, **β1**: 1  $\mu$ M  $\beta$ -pinen, **β10**: 10  $\mu$ M  $\beta$ -pinen, **KŞ**: Kurak şartlar, **Kα1**: Kurak+1  $\mu$ M  $\alpha$ -pinen, **Kα10**: Kurak+10  $\mu$ M  $\alpha$ -pinen, **Kβ1**: Kurak+1  $\mu$ M  $\beta$ -pinen, **Kβ10**: Kurak+10  $\mu$ M  $\beta$ -pinen)

#### 4.8.2 Hassas buğday varyetesinden elde edilen sonuçlar

Kuraklığa hassas varyetenin (Cumhuriyet-75) SDS-PAGE elektroforez sonuçları şekil 4.29’da verilmiştir. Şekil 4.29’da Kuraklığa hassas varyeteden elde edilen proteinlerin SDS-PAGE sonuçlarında standart proteinlerle kıyaslandığında, proteinlerin büyüklüklerinin yaklaşık 20 ile 50 kDa arasında olduğu görülmektedir. Ayrıca 20-50 kDa arasındaki proteinlerde önemli farklar göze çarpmaktadır. Bu aralıkta 50 kDa ağırlığında olan bantların şiddeti kontrol grubuna göre kurak kontrol grubunda artmıştır. Kontrol grubu kendi içerisinde kıyaslandığında  $\alpha$ -pinen ve  $\beta$ -pinen uygulamalarında bantların yoğunluğu artış göstermiştir. Kuraklık uygulamalarında ise 1  $\mu$ M  $\beta$ -pinen uygulamasında bant yoğunluğu artarken diğer gruplarda gözle görülür bir değişikliğe sebep olmamıştır. Ağırlığı 20 kDa olan proteinler ise kuraklık uygulamalarında bantlar belirgin iken kontrol grubunda belirgin değildir.



**Şekil 4.29** Kuraklığa hassas buğday varyetesi yapraklarından elde edilen proteinlerin SDS-Poliakrilamid Jel Elektroforezi fotoğrafı (**kDa**: Kilodalton, **M**: Standart proteinler, **K**: Kontrol, **α1**: 1  $\mu$ M  $\alpha$ -pinen, **α10**: 10  $\mu$ M  $\alpha$ -pinen, **β1**: 1  $\mu$ M  $\beta$ -pinen, **β10**: 10  $\mu$ M  $\beta$ -pinen, **KŞ**: Kurak şartlar, **Kα1**: Kurak+1  $\mu$ M  $\alpha$ -pinen, **Kα10**: Kurak+10  $\mu$ M  $\alpha$ -pinen, **Kβ1**: Kurak+1  $\mu$ M  $\beta$ -pinen, **Kβ10**: Kurak+10  $\mu$ M  $\beta$ -pinen)

## 5. TARTIŞMA

Araştırmada kuraklığa dayanıklı ve hassas bitkiler arasındaki farkları görmek için bitki materyali olarak sulak alanlarda sıklıkla kullanılan ve tane verimi yüksek olan *Triticum aestivum* cv. Cumhuriyet-75 (Hassas varyete) ile genellikle sulama olanaklarının kısıtlı olduğu bölgelerde tarımı yapılan *Triticum aestivum* cv. Karahan-99 (Dayanıklı varyete) çeşitleri tercih edilmiştir.

Buğday üretimi genellikle kuru tarım alanlarında yapılmakta ve kuraklık bu alanlardaki buğday üretiminde ciddi problemlere neden olmaktadır. Kuru tarım alanlarındaki yıllık yağışın önemli bir kısmı Kasım-Nisan ayları arasında düşmektedir. Yağışların yetersiz ve düzensiz dağılımı yüzünden farklı gelişme dönemlerinde kurak periyotlar yaşanmakta ise de, genellikle çiçeklenmeye yakın dönemde başlayan kuraklık stresi, tane dolum döneminde etkisini artırmaktadır. Kurak koşullarda önce toprağın, ardından bitkinin su potansiyeli azalır ve daha ileri safhalarda turgor basıncında düşme, stomalarda kapanma, yaprak büyümesinde azalma ve fotosentez oranında düşüş meydana gelir (Monti, 1986; Öztürk, 1999).

Çalışmanın ana fikri yabancı bitkilerin kuraklık stresinde kendi bünyelerinde sentezini artırdığı bileşiklerin kültürü yapılan bitkilere uygun dozlarda uygulanıp kuraklığa toleransı üzerinde etkisinin araştırılması ve eğer olumlu bir etkisi gözlenirse bunun tolerans mekanizmasında hangi fizyolojik ve biyokimyasal etmenler neticesinde olduğunu belirlemektir. Kurulan bu hipotezin sonucunda bir ön çalışma olarak kontrolle birlikte farklı kuraklık stresi koşullarında yetiştirilen *Nepeta meyeri* bitkisinin yapraklarında esansiyel yağ profilini belirlemek için GC-MS analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu analizler sonucunda kurulan hipotezi destekler nitelikte kuraklık stresi ile birlikte tedrici olarak özellikle  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen monoterpenerinde artışlar olduğu gözlenmiştir. Bunun ardından bu kimyasallar çalışma kapsamında potansiyel antistres bileşikleri olarak nitelendirilmiştir. Diğer taraftan yapılan literatür taramasında  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen monoterpenerinin bitki stres fizyolojinde kullanımına dair çalışmalara çok az rastlanmıştır. Bu alanda yapılan çalışmalar

sadece esansiyel yağ profilinin belirlenmesi ve bu profilde majör bileşiklerin hangi oranda değiştiğini vurgulamaktan öteye geçmemiştir. Çalışmanın hipotezi sadece *Nepeta meyeri* bitkisi üzerine kurulmamıştır. Ayrıca yukarıda da bahsedildiği gibi farklı araştırmacıların kuraklık stresinde yetiştirdikleri bitkilerdeki esansiyel yağ profilindeki değişimlerle de karşılaştırılmıştır (Çizelge 5.1 ve Çizelge 5.2). Esasında birçok çalışmada sekonder metabolizmanın ürünleri olan bazı bileşiklerin (salisilik asit, askorbik asit, jasmonik asit, ABA vb.) dışsal uygulamasının bitkiyi birçok çevresel stresten koruyabildiği ile ilgili çalışmalara rastlanılmaktadır (Esim ve Atıcı, 2015; Kanbur vd., 2016; Özfıdan vd., 2012; Mutlu vd., 2009). Fakat literatürde,  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen monoterenleri ile ilgili bu anlamda herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen ile ilgili çalışmalar kaynak özetlerinde ayrıntılı olarak verilmiştir. Ancak bu bilgiler yetersiz ve kısıtlıdır. Bu yüzden çalışmanın sonuçları literatürdeki bilimsel bir boşluğu doldurmakla kalmamış, aynı zamanda  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen'nin pratikte kullanılabilme potansiyeli fikrini de ortaya koymuştur.

Çalışmada bitkilere uygulanacak  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen monoterenlerinin hangi konsantrasyonlarda uygulanacağına 1  $\mu\text{M}$ 'dan 1000 mM' a kadar kurulan ön deney düzeneklerinden sonra karar verilmiştir. Bu denemelerin ardından çalışma konsantrasyon aralığı 1-10  $\mu\text{M}$  olarak belirlenmiştir. Ayrıca  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen'nin buğday fidelerini kuraklıktan koruyabilme potansiyeli araştırılırken, koruma derecesi ve kriteri olarak literatürde en çok kullanılan ve stres indikatörü olan parametreler seçilmiştir. Bunlardan toleransın derecesini gösterenler olarak, kontrol ve  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalı bitkiler arasında, yapraklarındaki elektrolit sızıntı miktarı, lipid peroksidasyon derecesi, dokularda hidrojen peroksit ve süperoksit anyonu birikimi ile hidroksil radikali giderme aktivitesi, ayrıca hücrelerde antioksidan kapasitenin değişimini takip etmek için de antioksidan enzim (katalaz, peroksidaz, askorbat peroksidaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon redüktaz) aktiviteleri ölçüldü. Ayrıca enzimatik olmayan antioksidanlardan toplam fenolik madde, flavonoid, karotenoid, toplam askorbik asit ve toplam glutatyon miktarı belirlendi. Yapraktan toplam klorofil miktarı ölçüldü. Osmoprotektan maddelerden; prolin, protein, indirgen şeker ve toplam karbohidrat miktarı ölçüldü. Son olarak polipeptidlerin jel elektroforezi

(SDS-PAGE) yapılarak protein bantları elde edilmiştir. Aşağıda araştırmamızdan elde edilen sonuçların yorumlanması ve diğer araştırmacıların sonuçları ile karşılaştırmalı değerlendirmeleri yapılmıştır.

### 5.1. Kurak Şartlarda $\alpha$ ve $\beta$ -Pinen Monoterpenleri

Sekonder metabolitlerin miktarı bitkilerin yaşadıkları ortama uyumunu sağlamaları ve herhangi bir stresle karşılaştıklarında üstesinden gelmeleri için artar (Ramakrishna ve Ravishankar, 2011). Son zamanlarda kuraklık stresinin etkisiyle de bitkideki sekonder madde seviyesinin arttığını gösteren çok sayıda çalışma vardır (Çizelge 4.28 ve Çizelge 4.29) (Sangwan vd., 1994; Baher vd., 2002; Nik vd., 2008; Petropoulos, 2008; Bettaieb vd., 2009; Nowak vd., 2010; Khorasaninejad vd., 2011; Saeidnejad vd., 2013; Singh-Farhoudi vd., 2014). Fakat bu çalışmaların hiçbirinde stres anında miktarı artan bu bileşiklerin bitkilerde kuraklığa tolerans sağlamadaki rolü araştırılmamıştır.

Yapılan bir ön çalışmada çalışmada (*Nepeta meyeri*) ve yukarıda bahsedilen farklı çalışmalarda kuraklık stresiyle birlikte  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen monoterpenerinde artış kaydedilmiştir (Ekler, Çizelge 1). Yapılan çalışmalarda araştırma materyali olarak özellikle Lamiaceae, Apiaceae ve Pinaceae familyalarına ait bitkiler kullanılmıştır. Çünkü bu familyalar sekonder metabolitçe zengin bitki grupları olduğu için başta tıbbi olmak üzere birçok çalışmaya araştırma konusu olmuşlardır. Bu çalışmanın ana materyali olan  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen monoterpeneri de çoğu bitkinin esansiyel yağ profilinde mevcut olup özellikle ismini almış olduğu Pinaceae (Çamgiller) familyasının üyelerinin majör esansiyel yağlarından. Kuraklığa ve soğuğa çok yüksek dayanıklılık gösteren Pinaceae familyanın üyelerinin bu özellikleri belki de  $\alpha$ -Pinen ve  $\beta$ -Pinen kimyasallarının sentezinin artışı ile açıklanabilir. Bu açıdan değerlendirildiğinde çamgillerde kuraklığa toleransı artıran ana bileşenlerden biri olabileceği ileri sürülebilir. Zira daha önce yürütülen bir çalışmada (Mutlu vd., 2016) doğal ortamından farklı mevsimlerde toplanan *Pinus sylvestris* (Sarıçam) yaprağı örneklerinin antioksidan enzim aktivitelerinin diğer bitkilere kıyasla çok daha düşük

aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Çalışmalarında bu bulgulardan sonra çam ağacının daha farklı bir mekanizma ile kuraklık stresine karşı koyabileceği vurgulanmıştır.

**Çizelge 5.1** Kuraklık stresine maruz bırakılmış bazı bitkilerin esansiyel yağ kompozisyonundaki  $\alpha$ -pinen'nin (%) değişimi

Bitki adı ve familyası	Kontrol	Kuraklık	Kaynak
<i>Nepeta meyeri</i> (Lamiaceae)	0,17	2,1	Ön çalışma
<i>Petroselinum crispum</i> (Apiaceae) (kök)	Nd.	1,1	Petropoulos, 2008
<i>Petroselinum crispum</i> (Apiaceae) (yumru)	5,36	7,06	Petropoulos, 2008
<i>Petroselinum crispum</i> (Apiaceae) (düz yaprak)	4,11	4,32	Petropoulos, 2008
<i>Petroselinum crispum</i> (Apiaceae) (kıvrıkcık yaprak)	1,17	1,86	Petropoulos, 2008
<i>Salvia officinalis</i> (Lamiaceae) (mg/g1.DW)	3,45	50,74	Bettaieb ve ark., 2009
<i>Matricaria recutita</i> (Asteraceae)	0,5	2,5	Farhoudi ve ark.,2014
<i>Satureja hortensis</i> (Lamiaceae)	1,3	2,1	Baher ve ark. 2002
<i>Pinus halepensis</i> (Pinaceae) ( $\mu\text{g/g}^{-1}$ DW)	1100	2200	Llusia ve Penuelas, 1998
<i>Pistacia lentiscus</i> (Anacardiaceae) ( $\mu\text{g/g}^{-1}$ DW)	800	1640	Llusia ve Penuelas, 1998

**Çizelge 5.2** Kuraklık stresine maruz bırakılmış bitkilerin esansiyel yağ kompozisyonundaki  $\beta$ -pinen'nin (%) değişimi

Bitki adı ve familyası	Kontrol	Kuraklık	Kaynak
<i>Nepeta meyeri</i> (Lamiaceae)	5,43	8,06	Ön çalışma
<i>Parthenium argentatum</i> (Asteraceae)	3,4	7,8	Nik, 2008
<i>Ocimum basilicum</i> (Lamiaceae)	0,5	1,0	Khalid, 2006
<i>Petroselinum crispum</i> (Apiaceae) (kök)	16,43	21,0	Petropoulos, 2008
<i>Petroselinum crispum</i> (Apiaceae) (turp)	4,69	6,7	Petropoulos, 2008
<i>Petroselinum crispum</i> (Apiaceae) (düz yaprak)	3,35	4,32	Petropoulos, 2008
<i>Petroselinum crispum</i> (Apiaceae) (kıvrıkcık yap.)	1,04	1,95	Petropoulos, 2008
<i>Salvia officinalis</i> (Lamiaceae) (mg/g <sup>-1</sup> DW)	8,79	77,69	Bettaieb ve ark., 2009
<i>Matricaria recutita</i> (Asteraceae)	1,2	2,8	Farhoudi ve ark.,2014
<i>Satureja hortensis</i> (Lamiaceae)	0,7	1,4	Baher ve ark. 2002
<i>Bunium persicum</i> (Apiaceae)	3,1	7,1	Saeidnejad ve ark., 2013
<i>Pinus halepensis</i> (Pinaceae) ( $\mu\text{g/g}^{-1}$ DW)	125	250	Llusia ve Penuelas, 1998
<i>Pistacia lentiscus</i> (Anacardiaceae) ( $\mu\text{g/g}^{-1}$ DW)	130	550	Llusia ve Penuelas, 1998

## 5.2. Zar Bütünlüğü

Hücre zarları birçok bitkide stresler sırasında zarar gören ilk yapılardır. Genellikle kuraklık stresi altında zarlarının bütünlüğü ve kararlılığının devamı bitkilerde kuraklık toleransının ana ögesidir.

Su stresinden kaynaklanan hücre zarı hasarının ölçüsü hücrelerden **elektrolit sızıntısının** ölçülmesiyle kolayca hesaplanabilir (Sullivan ve Ross 1979). Bitkiler strese maruz kaldıktan sonra dokularından stoplazmik çözünenlerin sızması sıklıkla membran lezyonlarının göstergesi olarak kullanılır. Sızdırma eyleminin derecesi kuraklık gibi streslerden kaynaklanan hasarın boyutuyla doğru orantılı olduğu gösterilmiştir (Dlugokecka ve Kacperska-Palacz, 1978; Blum ve Ebercon, 1981). Kuraklık stesi koşullarında yetiştirilen buğday fideleri ile yapılan bazı çalışmalar bu stres sonucunda hücre zarlarının turgor kaybından dolayı ciddi hasar görmesiyle elektrolit sızıntı oranının kontrol gruplarına göre oldukça yükseldiği bildirilmiştir (Sairam vd.,1998; Chandrasekar vd., 2000; Kocheva vd., 2004). Mevcut çalışmada da kuraklık stresi uygulamasıyla hücre zarı hasarına bağlı olarak elektrolit sızıntı miktarı stres uygulanmayan kontrol gruplarına göre oldukça artmıştır. Horváth vd. (2007), kuraklığa tolerant buğday varyetesini 4-hidroksibenzoik asit, salisilik asit ve hidrojen peroksit uygulaması yaparak yetiştirdikleri çalışmalarında, özellikle hidrojen peroksit ve 4-hidroksibenzoik asit uygulamaları kurak kontrol grubuna göre elektrolit sızıntı miktarını önemli ölçüde düşürdüğünü kaydetmişlerdir. Çalışmalarında bu etkinin APX ve GPX enzimlerindeki artıştan dolayı kaynaklanabileceğini vurgulamışlardır. Mevcut çalışmada ise kuraklık stresi ile artış gösteren elektrolit sızıntı miktarının  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarında her iki varyetede de önemli derecede düşüşler meydana getirmiştir (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.6).

$\alpha$  ve  $\beta$ -pinen monotерpenlerinin bu etkiyi hangi yolla meydana getirdiği henüz bilinmemekle birlikte; 5 karbonlu yapıya sahip olan izoprenlerin hücre mebranları içinde çözünerek yüksek sıcaklıklarda sızıntının meydana gelmesine sebep olan su kanallarının oluşmasını önleyerek koruma sağlayabileceği ve çift bağlarının



büyüklüğü sayesinde izoprenlerin hücre zarındaki kanalların doldurulmasına izin vererek mebranlardaki kaçağın önlenmesini sağlayabileceği bildirilmiştir (Gounaris vd., 1984). On karbonlu bir yapıya sahip olan  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen monoterpenerlerinin de aynı mekanizmayla elektrolit sızıntı miktarını azalttığı düşünülmektedir.

**Lipid peroksidasyon seviyesi** hücre zarı hasarının bir diğer indikatörüdür. Lipid peroksidasyonu, hücre zarı lipidlerinin serbest radikallerle etkileşmesi sonucu ortaya çıkar ve sonuçta hücre zarının bozulmasına yol açar (De Azevedo Neto vd., 2006). Stres şartlarında, doymamış yağ asitlerinin peroksidasyon ürünü olarak ortaya çıkan malondialdehit (MDA) miktarındaki artış, bazı araştırmacılar tarafından kuraklık stresi koşullarında yetiştirilen buğday fidelerinde gözlenmiştir (Kiralay ve Czövek, 2002; Tas ve Tas, 2007; Tatar ve Gevrek, 2008; Nikolaeva vd., 2010). Farklı bitkilerde de (nohut, sorgum, ayçiçeği, çeltik ve asma) kuraklıkla birlikte meydana gelen MDA artışı belirlenmiştir (Zhang ve Kirkham, 1996; Boo ve Jung, 1999; Güneş vd., 2006). Mevcut çalışmada da benzer şekilde kuraklık stresi ile birlikte MDA miktarının her iki varyetede arttığı vurgulanmıştır (Çizelge 4.7 ve Şekil 4.8). Kuraklık stresinin verdiği bu hasarı azaltmaya yönelik farklı kimyasal bileşiklerin uygulandığı bazı çalışmalarda ise; Pei vd. (2010), PEG içeren ortamda kuraklık stresinde yetiştirdikleri buğday fidelerine 1 mM silikon ( $\text{Na}_2\text{SiO}_4$ ) uygulayarak strese karşı gösterdiği tepkiyi belirlemişlerdir. Çalışmalarında kuraklık stresi ile birlikte artan MDA miktarının büyük ölçüde indirildiği belirlenmiştir. Aldesuquy ve Ghanem, (2015) kuraklık stresi koşullarında yetiştirdikleri buğdayda artış gösteren lipid peroksidasyon seviyesinin ayrı ayrı ve kombin trehaloz-salisilik asit uygulamalarıyla önemli derecede düşüş gösterdiği belirlenmiştir. Mevcut çalışmada ise yine kuraklık stresine bağlı olarak dayanıklı ve hassas varyetede artan lipid peroksidasyon seviyesi  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarında her iki varyetede de önemli derecede düşüş sağlamıştır (Çizelge 4.6 ve Şekil 4.7).

İzoprenler tilakoid mebran yağ asitlerinin çift bağları ile elektriksel olarak etkileşerek ve rezonansla onları stabilize edebilir. Monoterpenlerin de izoprenlerle aynı mekanizmayla termal tolerans sağlayabilir (Loreto vd., 1998; Delfine vd., 2000).

Ayrıca  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen'nin izoprenlere benzer bir mekanizmayla kuraklığın etkisi ile sıcaklığı yükselen yapraklarda fotosentetik zarların kararlılığını koruduğu düşünülmektedir.

### 5.3. Reaktif Oksijen Türleri

Bitkiler su stresine maruz kaldığında ilk olarak stomalarını kapatarak su kaybını en alt düzeyde tutmaya çalışırlar. Stomaların kapanması sonucu başlayan olaylar zinciri kloroplastlarda Calvin döngüsüyle karbondioksit fiksasyonunu ve  $\text{NADP}^+$  yenilenmesini sınırlar,  $\text{CO}_2/\text{O}_2$  oranını azaltır (Begg ve Turner, 1976). Oksijen yükseltgen özelliğinden dolayı, oksidatif reaksiyonlara katılabilir. Bu koşullar, yüksek enerjili elektronların moleküler oksijene geçişini artırarak oksijen indirgenmesine sebep olur (Mittler, 2002; Asada, 2006). Aslında kuraklık stresinde gerçekleşen bu olaylar temel kuraklık stresi mekanizmasıdır. Bunun sonucunda da bazı ROS'nin oluşumu tetiklenir. Bu hücreler için toksik olan ROS lipidlerin, proteinlerin ve nükleik asitlerin oksidatif hasara uğramalarına neden olmaktadır. Az miktardaki ROS normal metabolizma ile dengede tutulabilmektedir (Rabinowitch, 1983; Fridovich, 1986; Türkan vd., 2005). Serbest radikaller ve antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin serbest radikaller yönüne kayması durumunda oksidatif stres meydana gelir (Serafini ve Del Rio, 2004; Mercan, 2004). Bitkinin kuraklığa cevabı o türün kalıtsal stratejisine, kuraklık periyodunun uzunluk ve şiddetine bağlıdır. Eğer uzun süreli ciddi bir kuraklık varsa ROS'ların aşırı üretiminden dolayı oksidatif hasarla sonuçlanır. (Smirnoff, 1993; De Carvalho, 2008). Kuraklık stresi ile birlikte bazı monoterpen yapıdaki bileşiklerin dışsal olarak uygulanarak bu kimyasalların kuraklık stresine tolerans sağlamadaki rollerinin araştırıldığı çalışmalara henüz rastlanmamıştır. Mevcut çalışmada  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen monoterpenlerinin kuraklık stresine tolerans sağlamadaki rolleri araştırılırken ROS değişimi de incelenmiştir.

**Hidrojen peroksit**, reaktif oksijen türü olmayan fakat hücresel sistemlerde çok zararlı olan  $\bullet\text{OH}$  radikaline dönüşme potansiyelinde olan bir bileşik olduğu için bir

an önce detoksifiye edilmeleri gerekir. Bazı çalışmalarda kuraklık stresinde hidrojen peroksitin değişimi vurgulanmıştır. Kuraklık stresinde yetiştirilen buğdayda hidrojen peroksit miktarının arttığını vurgulanarak hassas varyetenin daha yüksek H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeriğine sahip olduğu bildirilmiştir (Sairam vd., 2001). Tian vd., (2015), buğday kullandıkları çalışmalarında hidrojen peroksit içeriğinin kuraklık stresi ile birlikte arttığını vurgulamışlardır. Demiral vd., (2014) ve Hamurcu vd., (2014) farklı buğday varyetelerini kuraklık stresinde yetiştirdikleri çalışmalarında, kuraklık stresi ile birlikte artan hidrojen peroksit miktarının Nitrik oksit uygulamasıyla büyük ölçüde indirildiğini kaydetmişlerdir. Pei vd. (2010), kuraklık stresinde yetiştirdikleri buğday fidelerine 1 mM silikon (Na<sub>2</sub>SiO<sub>4</sub>) uygulayarak bu strese karşı tolerans kazandırmayı hedefledikleri çalışmalarında, kuraklık stresi ile birlikte artan hidrojen peroksit miktarının büyük ölçüde indirildiği belirlenmiştir. Çalışmalarında sonuç olarak silikon'nun iyileştirici etkisinin osmotik düzenlemeden ziyade antioksidan savunmayla sistemiyle gerçekleştirdiğini ifade etmişlerdir. Mevcut çalışmada ise kuraklık stresi ile birlikte hassas varyetede H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarı düşüş gösterirken dayanıklı varyetede ise literatürle benzer bir şekilde artış göstermiştir (Çizelge 4.9 ve Şekil 4.10). Hassas varyetede hidrojen peroksit miktarının dayanıklı varyeteye göre düşük çıkmasının ve kuraklık stresi ile birlikte içeriğinin düşmesinin sebebi CAT, POD ve APX enzim aktivitelerinin diğer varyeteye göre daha yüksek olmasından kaynaklanabilir. Hidrojen peroksit miktarı  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarıyla her iki varyetede de önemli düşüşler sağlamıştır. Hidrojen peroksitin süpürülmesinde etkili olan enzimler GPX, APX, POD ve CAT'dır. Dayanıklı varyetede kuraklıkla birlikte monoterpen uygulamasında APX ve CAT aktiviteleri artış göstermesine rağmen hassas varyetede düşüş göstermiştir. Dayanıklı varyetede hidrojen peroksitin düşüş göstermesinde enzim aktiviteleri etkin olurken hassas varyetede ise bu duruma antioksidan bileşiklerin sebep olabileceği düşünülmektedir. Çünkü antioksidan bileşiklerin miktarı hassas varyetede daha yüksek gözlenmiştir. Diğer bir etken ise belirlenmemiş olmasına rağmen GPX enziminin aktivitesi sebep olabilir.

**Süperoksit anyonu**, moleküler oksijenin ortamdan bir elektron alarak indirgenmesiyle oluşan bir bileşiktir ve zar sistemleri için oldukça zararlıdır.

Kuraklık stresinin süperoksit anyonu miktarını etkilediği farklı çalışmalar vardır. Gao vd. (2005), kuraklık stresine tabi tuttukları buğdayda süperoksit anyonu miktarının kontrol grubuna göre arttığını belirlemiştir. Jincai vd. (2014), kontrol ve farklı kuraklık stresi şartlarında yetiştirdikleri kabak fidelerinde artan kuraklıkla birlikte süperoksit anyonunun da arttığını bildirmiştir. Mutlu vd. (2016), doğal koşullarında farklı mevsimlerde toplanan sarıçam türlerinin kuraklığa verdikleri tepkileri belirlemeye çalıştıkları araştırmalarında bu stres ile birlikte süperoksit anyonu miktarında da artış belirlemiştir. Mevcut çalışmada ise kuraklık stresi ile birlikte artış gösteren süperoksit anyonu miktarı  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarıyla her iki varyetede de önemli ölçüde düşüş sağlamıştır (Çizelge 4.10 ve Şekil 4.11). Dayanıklı varyetede  $\beta$ -pinen ile hassas varyetede ki  $10 \mu\text{M}$   $\alpha$ -pinen uygulamasındaki bu düşüş SOD enziminin artışı ile açıklanabilirken diğer gruptaki düşümlere ise antioksidan özellikteki bileşikler neden olabilir.

**Toplam oksidan madde miktarı (TOS);** Erel (2005)'e göre belirlenen ve genellikle hayvansal dokular için değerlendirilen toplam antioksidan kapasite miktarı stres fiziolojisi çalışmalarında sıklıkla bakılan bir parametre değildir. Spektrofotometrik olarak ölçülebilen renk yoğunluğu, numune içinde mevcut toplam oksidan molekül miktarı ile ilgilidir. Kuraklık stresinde toplam oksidan bileşik miktarının değişimini gösteren çalışmalara rastlanmamıştır. Başka bir stres çalışmasında ise Dikilitaş vd. (2011), PMMoV virüsü ile enfekte olmuş biber çeşiti ile sağlıklı biberleri karşılaştırdıkları çalışmalarında enfekte olmuş bitkide toplam oksidan madde miktarının daha fazla olduğunu belirterek oksidatif stres indeksinin de buna bağlı olarak yaklaşık 4 kat daha fazla olduğunu vurgulamışlardır. TOS miktarı  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarıyla her iki varyetede de önemli düşümler sağlamıştır. Oksidatif stres indeksi (OSİ) değeri ise  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarıyla her iki varyetede düşüş meydana getirmiştir (Çizelge 4.7 ve Şekil 4.8). OSİ değerinin düşmesinin de antioksidan mekanizma yoluyla strese tolerans sağlanabildiği fikrini destekleyebilir.

**Hidroksil radikali** ( $\bullet\text{OH}$ ), bitkisel dokulara en fazla zarar veren radikaldir. Dolayısıyla zarlara, proteinlere ve DNA'lara yüksek oranda hasar vermemesi için süpürülmesi gerekir. Bu radikali doğrudan süpüren bir enzim sistemi yoktur fakat antioksidan bileşikler tarafından detoksifiye edilebilirler. Özfıdan vd. (2012), osmotik stres altında yetiştirdikleri ABA'dan yoksun ve ABA mutanlığı olmayan *Arabidopsis thaliana* varyetelerine dışsal ABA uygulamasıyla her iki varyetede de hidroksil radikali giderme aktivitesinin de osmotik stres uygulanan gruba göre artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Sonuç olarak çalışmalarında ABA'nın her iki çeşitte de kuraklığın verdiği hasarı iyileştirici özellik gösterdiğini vurgulayarak, bazı antioksidan enzimlerin (SOD, CAT, APX ve NOX) aktivitelerinin artmasının bu toleransta rol oynadığını ifade etmişlerdir. Mutlu vd. (2016), arazi ortamından farklı aylarda topladıkları sarıçam türlerinde kurak geçen aylarda hidroksil radikali miktarının önemli oranda arttığını belirlemişlerdir. Mevcut çalışmada ise kuraklıkla birlikte hidroksil radikali süpürülme aktivitesi önemli oranda artış göstermiştir.  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarıyla ise kaydadeğer bir değişikliğe sebebiyet vermemiştir (Çizelge 4.9 ve Şekil 4.10). Bu aktivitenin değişiklik göstermesinin nedeni  $\bullet\text{OH}$  radikalının önemli oranda birikmemesinden kaynaklanabilir.

Çalışmada kuraklık stresi ile artan oksidan bileşikler genel olarak değerlendirildiğinde, bu stresle birlikte  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarıyla indirgenliği vurgulanmaktadır. Bu indirgenmenin birçok sebebi olabilir. Fakat muhtemel nedeninin bir terpen olan karotenoidlerde olduğu gibi izopren moleküllerinde de konjuge çift bağların varlığı sayesinde kolay elektron ve enerji transferiyle ısı dağılımına izin verebilmesidir. Böylece izoprenler hücrenin antioksidan gücünü yükseltebileceği savunulmuştur (Velikova, 2008). İzopren biyosentezinin kloroplasttaki lokalizasyonu göz önünde bulundurulduğunda, izoprenlerin ROS süpürme yetenekleri oksidatif streslere karşı bitkinin korunmasını son derece önemli kılar (Logan vd., 2000). Bir diğer sebebi ise bu monoterpen bileşiklerin antioksidan özellik göstermesi olabilir.

#### 5.4. Antioksidan enzimler

Antioksidan mekanizma, bitkilerde stres toleransını artırmayı sağlayacak bir strateji sağlamaktadır (Manivannan vd., 2007). Süpürücü enzimler içersinde SOD  $O_2$ 'i  $H_2O_2$ 'e dönüştürür (Bowler vd., 1992; Bian ve Jiang, 2009). Diğer enzimatik sistemler POX, CAT, APX ve GPX farklı hücresel kısımlarda  $H_2O_2$ 'i  $H_2O$ 'ya dönüştürürler (Asada, 1999; Mittler, 2002; Bian ve Jiang, 2009; Özkur, 2010). Buğdayda ve farklı bitkilerde kuraklık stresi ile birlikte ve monoterpen uygulamalarıyla antioksidan enzimlerde meydana gelen bazı aktivite farklılıkları aşağıdaki çalışmalarla özetlenmeye çalışılmıştır.

Kuraklık stresi altındaki farklı buğday çeşitlerindeki enzim aktiviteleri incelendiğinde: **SOD enzim aktivitesi** buğday (Badiani vd., 1990; Tian ve Lei., 2007), dayanıklı buğday (Lascano vd., 2001) bitkilerinde artış gösterirken; hassas buğday (Lascano vd., 2001) ve buğdayın farklı çeşidinde (Chakraborty ve Pradhan, 2012) ise düşüş göstermiştir. **GR enzim aktivitesi** hassas buğday (Loggini vd., 1999; Chakraborty ve Pradhan, 2012), dayanıklı buğday (Lascano ve ark., 2001), yazlık buğday (Chen vd., 2004) bitkilerinde artış gösterirken; hassas buğday çeşidinde (Lascano ve ark., 2001) düşüş göstermiştir. **CAT enzim aktivitesi** Keleş vd., (2002) ve Xiaoqin vd., (2009) çalışmalarındaki buğday çeşitlerinde artış gösterirken; Chakraborty ve Pradhan, (2012)'nin çalışmasında düşüş göstermiştir. **POD enzim aktivitesi** Chakraborty ve Pradhan, (2012)'nin araştırmalarında artış gösterirken; Chen ve ark., (2004) ve Lascano vd., (2001)'nin çalışmalarında düşüş göstermiştir. **APX enzim aktivitesi** ise Chakraborty ve Pradhan, (2012)'nin araştırmalarında artış göstermiştir.

Mevcut çalışmada ise kuraklık stresiyle birlikte CAT, POD, APX ve GR enzim aktiviteleri artış gösterirken SOD aktivitesi düşüş göstermiştir (Çizelge 4.13-4.17 ve Şekil 4.14-4.18). Araştırmada enzimlerin aktivitelerinin kuraklık uygulamasıyla artması, ROS'ları süpürmek için geliştirilen bir mekanizmadır. Böylece stresin verebileceği potansiyel hasardan korunmada önemli katkılar sağlar.

Kuraklık stresinde yetiştirilen buğday varyetelerinde stres toleransını artırmak amacıyla farklı kimyasal bileşikler uygulanmış ve antioksidan enzim aktivitelerindeki değişimler araştırılmıştır. Fakat özellikle monoterpenlerin kuraklık stresine toleranstaki rollerini değerlendiren çalışmalara rastlanmamıştır. Mevcut çalışmada ise her iki varyetede de kuraklık stresi ile birlikte artış gösteren APX, POD, CAT, GR ve aksine kuraklık uygulamasıyla düşüş gösteren SOD enzimi ayrı ayrı değerlendirildiğinde;

**SOD** enzimi  $\alpha$ -pinen uygulamasında hassas varyetenin 10  $\mu$ M'lık dozu haricindeki gruplarda herhangi bir değişiklik göstermemiştir. Bu dozda ise kuraklık stresi ile birlikte artış gözlenmiştir.  $\beta$ -pinen uygulamasında ise hassas varyetede kısmi bir azalış olurken dayanıklı varyetede ise artış gözlenmiştir. Bu enzim antioksidan savunma sisteminin ilk basamağında süperoksit anyonunu hidrojen preoksite çevirir. Kuraklıkla birlikte monoterpen uygulamasında süperoksit anyonunun düşüş göstermesi hassas varyetede 10  $\mu$ M  $\alpha$ -pinen ve dayanıklı varyetede  $\beta$ -pinen uygulamalarındaki SOD enziminin artışı ile açıklanabilir. Diğer gruplarda ise bu enzimin aktivitesinde kaydedeğer bir artışın görülmemesi kuraklığa toleransın bu gruplarda antioksidan bileşikler gibi daha farklı bir yolla sağlandığını gösterebilir (Çizelge 4.12 ve Şekil 4.13). Abbasi vd. (2015), kuraklık stresinde yetiştirdikleri buğday varyetelerine ayrı ayrı pakrobutrazol ve salisilik asit uygulaması yaptıkları çalışmalarında, kuraklık stresi ile birlikte azalan SOD enzimi aktivitesini pakrobutrazol ve salisilik asit uygulamalarında önemli oranda arttığını bildirmişlerdir. Çalışmalarında bu maddelerin enzimlerin aktivitelerini artırdığını vurgulayarak bitkiye tolerans kazandırdığını vurgulamıştır. Mevcut çalışmada ise antioksidan enzimlerin strese toleransta önemli rol oynamadığı düşünülmektedir.

**POD** enzimi her iki varyetede de kuraklık stresi ile birlikte  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarında düşüş göstermiştir. Bu enzim antioksidan savunma sisteminde hidrojen peroksiti suya dönüştürmede iş görür. Bu açıdan değerlendirildiğinde monoterpen uygulamasıyla ROS'nin düşüş göstermesine rağmen POD enziminin aktivitesinin de düşmesi stresten korunmanın ya başka bir enzim ya da bileşiklerle

sağlandığını gösterebilir (Çizelge 4.14 ve Şekil 4.15). Mahajan vd., (2015), *Zea mays*, *Oryza sativa* ve *Triticum aestivum* bitkilerine Cr(VI) stresiyle birlikte uyguladıkları  $\beta$ -pinen'nin bu strese önemli ölçüde tolerans sağladığı bildirilerek, Cr(VI) stresiyle birlikte düşen POD aktivitesinin  $\beta$ -pinen uygulamasıyla bütün türlerde önemli ölçüde arttığını belirlemişlerdir. Bano vd. (2012), kuraklık stresine tolerant ve hassas özellikte olan iki farklı buğday varyetesine bu stresle birlikte uyguladıkları ABA'nın her iki varyetede de POD enziminin aktivitelerini artırdığını kaydetmişlerdir. Ayrıca çalışmalarında ABA'nın strese tolerans kazandırırken bağış su içeriği içeriğini de artırdığını öne sürmüştür. Mevcut çalışmada POD aktivitesinin monoterpen uygulamasıyla düşüş göstermesi kuraklığa toleransın farklı bir yolla gerçekleştirildiğinin yanında bitkilerin bu stresten daha az etkilendiğini gösterebilir.

**CAT** enzimi hassas varyetede  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarıyla düşüş gösterirken dayanıklı varyetede ise artmıştır. Bu enzimde POD enzimi gibi hidrojen peroksiti suya çeviren enzimlerdendir. Dayanıklı varyetede ROS'ni süpürmede önemli iş gördüğü belirlenmiştir. Hassas varyetede ise bu enzim aktivitesinin düşüş göstermesi toleransın başka bir yolla gerçekleştirildiğini gösterebilir (Çizelge 4.13 ve Şekil 4.14). Nathawat vd. (2007), kuraklık stresine tabi tuttıkları buğday varyetelerine dithiothreitol, tioglikolik asit and tiyoüre gibi sülfür grubu ihtiva eden bileşikleri uygulamışlardır. Çalışmalarında CAT aktivitelerinin kuraklık stresiyle azaldığını, APX, GPX ve GR aktivitelerinin ise bu stresle birlikte arttığını belirlemişlerdir. Ayrıca kuraklık stresi ile birlikte uyguladıkları bu bileşiklerin bahsedilen bütün enzimlerin aktivitelerini artırdığını ifade etmişlerdir. Çalışmalarında uyguladıkları kimyasalların içerisindeki sülfidril grupların, kuraklıktan olumsuz etkilen fotosistemi rahatlattığını da vurgulamışlardır. CAT enzimi ROS'ni süpürmede hücrede en önemli iş gören enzimlerden biridir. Mevcut çalışmada ise monoterpen uygulaması ile dayanıklı varyetede CAT enzimi aktivitesinin artması bu varyetede kuraklığa toleransta önemli katkı sağladığı söylenebilir.



**GR** enzimi hassas varyetede  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarıyla artış meydana gelirken dayanıklı varyetede anlamlı bir değişikliğe sebep olmamıştır. Bu enzim enzimatik savunma sisteminde NADPH'ı NADP<sup>+</sup>'ye dönüştürerek oksitlenmiş glutatyondan glutasyon oluşumunu sağlar. Bu açıdan değerlendirildiğinde monoterpen uygulamasıyla birlikte hassas varyetede GR enziminin aktivitesinin artması, strese toleransta önemli kabul edilmiştir. Çünkü GSH bitkilerde ROS'nin süpürülmesinde önemli rol oynarlar. Buna rağmen dayanıklı varyetede GSH miktarının kurak kontrol grubuna göre düşüş göstermesi bu bileşiğin GPX enzimi tarafından hidrojen peroksite suya dönüştürülmesinde tekrar kullanıldığı düşünülebilir. Dayanıklı varyetede ise GR enziminin monoterpen uygulamasıyla anlamlı bir değişikliğe sebep olamamasının nedeni bu uygulamayla kuraklığa toleransı ya başka bir bileşiğin yada başka bir antioksidan enzimin gerçekleştirdiği sonucuna varılabilir (Çizelge 4.15 ve Şekil 4.16). Shan vd. (2015), kuraklık stresinde yetiştirdikleri buğday bitkisine kuraklıkla birlikte jasmonik asit uygulamasında bulunmuşlardır. Bu stresle birlikte artış gösteren GR enziminin jasmonik asit uygulamasıyla daha da artış gösterdiğini belirlemişlerdir. Çalışmalarının sonucunda jasmonik asitin askorbat-glutasyon siklusunu önemli ölçüde harekete geçirerek strese tolerans sağladığını vurgulamışlardır. Mevcut çalışmada bu etki sadece hassas varyetede gözlenmiştir. Dolayısıyla hassas varyetede glutasyon-askorbat siklusunun regüle edildiğinden bahsedilebilir. Dayanıklı varyetede ise kuraklığa toleransın daha farklı bir yolla sağlandığı ifade edilebilir.

**APX** enzimi hassas varyetede  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarında düşüş gösterirken dayanıklı varyetede ise  $\alpha$ -pinen uygulamalarıyla artış  $\beta$ -pinen uygulamasıyla 1  $\mu$ M'lık dozda düşüş olurken 10  $\mu$ M'lık dozda ise herhangi anlamlı bir değişikliğe sebep olmamıştır. Bu enzim askorbik asitten bir H<sup>+</sup> alarak hidrojen peroksidi suya çevirir. Hidrojen peroksite ilgisi oldukça yüksek olan bu enzim ROS'nin süpürülmesinde en önemli pay sahibidir. Hidrojen peroksite monoterpen uygulamalarıyla düşüş göstermesine rağmen bu enzimin aktivitesinin artması strese toleransın farklı bir bileşikle veya enzimle sağlandığını gösterebilir. Bu bağlamda bu çalışmada incelenmemesine rağmen MDHAR ve DHAR enzimlerinin aktivitelerinin

artış gösterdiği düşünülebilir. Askorbik asit miktarının hassas ve dayanıklı varyetede  $\beta$ -pinen uygulamasıyla artış göstermesi APX enziminin bu uygulamalar neticesinde düşmesiyle açıklanabilir.  $\alpha$ -pinen uygulamasının ise antioksidan savunma sistemini farklı açıdan etkilediği söylenebilir (Çizelge 4.16 ve Şekil 4.17). Wang vd. (2011), kuraklığa toleransları farklı olan iki buğday varyetesini bu strete yetiştirdikleri çalışmalarında, bitkilere nitrik oksit uygulayarak tolerans kazandırmaya çalışmışlardır. Araştırmalarında kuraklık stresi ile birlikte her iki varyetede de artan APX aktivitesi, nitrik oksit uygulamasıyla daha da artış göstermiştir. Sonuç olarak bu enzimlerin aktivitelerinin artmasıyla da fotosistem II'de koruyucu rol üstlenen önemli genlerin ifadesini artırdığını vurgulamışlardır. Mevcut çalışmada ise tam tersi bir şekilde bu enzimin düşüş göstermiştir. Dolayısıyla uygulanan bu bileşiklerin mekanizmada daha farklı bir etki göstererek koruma sağladığı düşünülmektedir.

Çalışma antioksidan enzimler yönüyle değerlendirildiğinde, kuraklık stresiyle birlikte uygulanan  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen'in genel itibari ile antioksidan enzim aktivitelerini düşürdüğü belirlenmiştir. Bunun nedeni  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen'in çalışmada da gösterildiği gibi yüksek bir antioksidan özellik göstermesine bağlanabilir. Bir diğer nedeni ise bu bileşiklerin hücre zar sistemlerinin stabilitesini kendi yapısal özelliklerinden dolayı önemli derecede korumalarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Böylece diğer koruma mekanizmalarına ihtiyaç duyulmadığı ileri sürülmektedir.

### **5.5. Antioksidan bileşikler**

Bitkilerde antioksidan bileşikler reaktif oksijen türlerinin vereceği hasara karşı antioksidan mekanizmayı dengeleme de oldukça önemli yer tutarlar. Bu açıdan antioksidan bileşiklerin sentezi bitkilerde farklı stres koşullarında sentezi artar. Bitkilere kuraklık stresi uygulandıktan sonra bu stresle başa çıkmak için monoterpen yapıdaki bileşiklerin kullanıldığı çalışma yoktur. Bu bağlamda antioksidan bileşiklerin rolleri farklı çalışmalarla aşağıda ayrıntılı bir şekilde incelenmiştir.

**GSH ve askorbik asit**, bitkilerde  $^1O_2$ ,  $H_2O_2$  ve  $\bullet OH$  radikallerini süpüre önemli antioksidanlardandır (Smirnoff, 1993; Foyer et al.,1997; Noctor ve Foyer, 1998; Tanyolaç, 2012). Kuraklık stresinde yetiştirilen çeltik, *Withania somnifera*, kavun, *Capsicum annuum*, *Solanum tuberosum*, *Ipomoea batatas* ve *Solanum lycopersicum* bitkilerinde askorbik asit (Zushi ve Matsuzoe, 1998; Veit-Kohler vd., 1999; Favati vd., 2009; Jaleel vd., 2009; Rautenbach vd., 2010; Kuşvuran, 2010; Andre vd., 2009; Marin vd., 2009) miktarı artış göstermiştir. Wu ve ark. (2014), kuraklık stresinde yetiştirdikleri buğdayın besiyeri ortamına 1  $\mu M$  molibden sağlayıcısı ekledikleri araştırmalarında, bu stresle birlikte artış gösteren askorbik asit, glutatyon ve karotenoid miktarının molibden uygulamasıyla daha da yükseldiği bildirilmiştir. Araştırmalarında bu antioksidan bileşiklerin artmasıyla da reaktif oksijen türlerinin hasar verici etkilerinin bertaraf edildiği bildirilmiştir. Kang vd. (2013), PEG içeren ortamda kuraklık stresindeki yetiştirdikleri buğdayın yetiştirme ortamına 0.5 mM salisilik asit uyguladıkları çalışmalarında, salisilik asitin hem askorbat hem de glutatyon miktarını önemli ölçüde artırdığını kaydetmişlerdir. Pei vd. (2010), PEG içeren ortamda kuraklık stresinde yetiştirdikleri buğday fidelerine 1 mM silikon ( $Na_2SiO_4$ ) uygulayarak strese karşı gösterdiği tepkiyi belirledikleri çalışmalarında kuraklık stresi ile birlikte düşen askorbik asit ve glutatyon miktarının büyük ölçüde artış gösterdiğini tespit etmişlerdir. Mevcut çalışmada kuraklık stresi ile birlikte glutatyon miktarları artış gösterirken, askorbik asit miktarı ise düşüş göstermiştir (Çizelge 4.21-4.22 ve Şekil 4.22-4.23). Bitkiler farklı streslerde antioksidan bileşiklerin sentezini artırır. Askorbik asit miktarının azalması ise APX enzimi aktivitesinin kontrol şartlarında yetiştirilen bitkilere göre kuraklıkta yüksek oranda artmasıyla açıklanabilir. Kuraklık stresi ile birlikte düşüş gösteren toplam askorbik asit miktarı  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamaları ile dayanıklı varyetede artış göstermiştir. Hassas varyetede  $\alpha$ -pinen uygulamasında düşüş gösterirken  $\beta$ -Pinen uygulamasında ise artış göstermiştir (Çizelge 4.21-4.22 ve Şekil 4.22-4.23). Askorbik asit miktarının kuraklık stresiyle birlikte madde uygulamalarında ROS'ları süpürmek için artış gösterdiği düşünülebilir. Aynı zamanda MDHAR ve DHAR enzimlerinin de aktivitelerinde artış olabilmesinden de kaynaklanabilir. Glutatyon miktarının  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulaması ile düşmesi GR aktivitesinin artmasıyla açıklanabilir. Bir diğer

nedeni ise çalışma kapsamında ölçülmemekle birlikte GPX (Glutasyon Peroksidaz) aktivitesinin artması olabilir.

**Fenolik maddeler**, oksidan metabolizma sonucunda oluşan  $H_2O_2$ 'i yok etmek üzere guaiakol peroksidazlara (GPX) elektron vererek antioksidan bileşikler olarak rol almaktadır (Nakano ve Asada, 1981). Bahsedilen bu antioksidan bileşikler hücresel seviyede ROS'larla başa çıkmada antioksidan enzimlere ilaveten önemli fonksiyonlar görürler. Kuraklık stresinde yetiştirilen bitkilerdeki bazı çalışmalarda; domates (Rodriguez, 2010), *Vitis vinifera* (Esteban vd., 2001; Deluc vd., 2009) ve *Hypericum brasiliense* (De Abreu ve Mazzafera, 2005) bitkilerinde fenolik madde miktarı artışa, *Camellia sinensis* (Cheruiyot vd., 2007) bitkisinde azalışa, *Brassica oleracea* (Robbins vd., 2005) ve *Olea europea* (Palese vd., 2010) bitkilerinde ise herhangi bir değişikliğe sebep olmamıştır. Ma vd. (2016), kuraklık stresinde yetiştirdikleri buğdayın toprak ortamına sodyum silikat ilave ettikleri araştırmalarında, kuraklıkla azalan toplam glutasyon, fenolik madde ve flavonoid miktarının sodyum silikat uygulamasıyla arttığını, kuraklıkla artan askorbik asit miktarının da yine aynı şekilde sodyum silikat uygulamasıyla arttığını bildirmişlerdir. Çalışmalarında sonuç olarak silikonun önemli bir bitki büyüme teşvik edici madde olduğunu vurgulamışlardır. Bitkiler genel itibari ile kuraklık stresi ile karşılaştıklarında artan ROS miktarını dengelemek için antioksidan bileşiklerini sentezlerler. Bu çalışmada kuraklık stresi uygulamasıyla birlikte bitkilerde antioksidan rolü olan fenolik madde ve flavonoidlerin miktarını artırmıştır. Çalışmada aynı zamanda monoterpen uygulamalarıyla birlikte kurak kontrol gruplarına göre fenolik bileşik ve flavonoid miktarları düşüş göstermiştir (Çizelge 4.18-4.19 ve Şekil 4.19-4.20). Fenolik bileşiklerin stresle birlikte artış, uygulanan monoterpenlerle ise düşüş göstermesi bu maddelerin kuraklıktan korunmada başka bileşiklerin veya başka sistemleri harekete geçirerek stres sağladığı fikrini desteklemektedir.

**Karotenoidler** fotosentez sırasında doğal olarak üretilen  $^1O_2$  ve diğer zararlı serbest radikalleri süpürür (Collins, 2001; Siefertman-Harms, 1987; Halliwell ve Gutteridge,

1998). *Capsicum annuum* (Marin vd., 2009) *Ipomoea batatas* (Rautenbach vd., 2010) bitkisinde kuraklık stresi ile birlikte karotenoit miktarı artarken, *Rosmarinus officinalis* (Munne-Bosch ve Alegre, 2000) ve buğday (Sairam ve Saxena, 2000) bitkilerinde ise azalma göstermiştir. Loutfy vd., (2012), kuraklık stresinde yetiştirdikleri dört farklı buğday çeşidi tohumlarına uyguladıkları 0.5 mM salisilik asitin tüm varyetelerde karotenoid miktarını artırdığını belirlemişlerdir. Sonuç olarak kuraklık sonucu oluşan fotooksidasyondan hasar görmemek için karotenoit içeriği arttığı belirlenmiştir. Karotenoidler bitkileri fotooksidasyondan korumasının yanında aynı zamanda önemli bir ROS süpürücü bir bileşik olduğu bilinir. Yürütülen bu çalışmada kuraklıkla birlikte karotenoidlerin oranı önemli ölçüde artış göstermiştir. Bu artışın nedeni karotenoidlerin kuraklık stresinde bitkiyi ışığın zararından ve ROS'ların artışından korumak olduğu ifade edilebilir. Kuraklık uygulaması ile artış gösteren karotenoid içeriği  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamaları ile dayanıklı varyetede düşüş gösterirken hassas varyetede ise 10  $\mu$ M  $\alpha$ -pinen uygulamasında düşüş 1  $\mu$ M  $\beta$ -pinen uygulamasında ise artış gösterirken diğer gruplarda istatistiki açıdan önemli bir farklılık gözlenmemiştir (Çizelge 4.20 ve Şekil 4.21). Sonuç itibariyle her iki madde uygulaması da bitkide karotenoid içeriğinin artışından ziyade düşmesine sebep olmuştur. Dayanıklı varyetede  $\alpha$  ve  $\beta$ -Pinen uygulamaları ile karotenoid miktarının düşmesi de bu varyetenin kuraklıktan korunurken karotenoid bileşikleri daha fazla sentezlemeye ihtiyaç duymadan bitkiyi stresin zararlı etkisinden koruyabildiği söylenebilir. Bu konuda, Peñuelas ve Llusia (2002), stres koşulları altında terpenik bileşiklerin bitkinin ışıktan göreceği hasara karşı korunmasında fotosolunumun yerini alabileceğini ifade etmişlerdir.

**E-Vitaminleri** (trolloks) ROS'nin özellikle singlet oksijen ve OH<sup>•</sup> radikalini etkisiz hale getiren detoksifiye etme özelliğine sahip antioksidatif bir fonksiyon taşımaktadırlar (Serbinova ve Packer, 1994; Koç ve Üstün, 2008). *Rosmarinus officinalis* (Munne-Bosch ve Alegre, 2000), *Glycine max* (Britz ve Kremer, 2002) ve çeltik (Jung, 1999) bitkilerinde tokoferol birikiminde artış gözlenmiştir. Dikilitaş vd. (2011), PMMoV virüsü ile enfekte olmuş biber çeşiti ile sağlıklı biberleri karşılaştırdıkları çalışmalarında enfekte olmuş bitkide toplam antioksidan madde

miktarının enfekte olmamış bitkiye göre yarısından daha az olduğunu ifade etmişlerdir. Mevcut çalışmada kuraklık stresi ile birlikte E Vitamini olan troloks ekuvalentine göre ölçülen toplam antioksidan kapasitesi artış göstermiştir. Diğer antioksidan bileşiklerde olduğu gibi E vitaminleri de kuraklık stresinde artış gösteren ROS'ların vereceği zararlı etkilerden korur ve miktarları stres şartlarında artarak oksidatif dengenin bozulmasını önler. Çalışmada aynı zamanda kuraklıkla birlikte monoterpen uygulamaları hassas varyetede kısmi bir artış sağlarken dayanıklı varyetede ise istatistiki manada kaydadeğer bir değişikliğe neden olmamıştır (Çizelge 4.17 ve Şekil 4.18). Bu sonuçla birlikte hassas varyetenin strese toleransta antioksidan bileşiklerin sentezini artırdığı düşünülebilir.

Sonuç olarak bütün antioksidan bileşikler birlikte değerlendirildiğinde; genel olarak kuraklık stresiyle artış gösteren bu bileşikler  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamasıyla düşüş göstermiştir. Bilindiği gibi antioksidan bileşikler stres koşullarında artan ROS miktarlarını dengelemek için sentezlenirler. Bu çalışmada antioksidan bileşiklerin sentezinin azalması kuraklığa toleransın başka bir savunma mekanizmasıyla gerçekleştirilebileceği düşüncesini verir.

## 5.6. Osmoprotektanlar

Kuraklık stresine maruz kalan bitkilerin bu strese verdiği en önemli tepkilerden biri osmoprotektanlar ve osmolitlerin ya da uygun eriyiklerin sentezini gerçekleştirmesidir. Kuraklık stresi anında bitkinin osmotik olarak dengede kalmasını sağlayan bu koruyucu moleküller, bu strese cevapta bitki hücrelerinde birikmekte ve stres ortadan kalktıktan sonra parçalanmaktadır (Tabaeizadeh, 1998; Valliyodan ve Nguyen, 2006; Özkur, 2010). Dışsal farklı madde uygulamalarıyla kuraklık stresinin verdiği hasarlara karşı tolerans kazandırma çalışmaları oldukça fazladır. Fakat farklı yapıda uçucu özellikte olan monoterpenler yapıdaki bileşikler kullanılarak bu stresin verdiği hasarı indirgemeye yönelik çalışmalara henüz rastlanmamıştır. Osmoprotektan bileşiklerin etkileri aşağıda farklı çalışmalarda özetlenmeye çalışılmıştır.

**Prolin** kuraklık stresinde hem ROS hem de turgor düzenleyicisi olarak miktarı diğer bileşiklere oranla daha çok artış gösteren osmoprotektan bir aminoasittir. Kuraklık stresinde yetiştirilen buğday ve farklı bitkilerde osmoprotektanların değişimini gösteren çalışmalar oldukça fazladır. Bu araştırmaların bazılarında; buğday (Chandrasekar vd., 2000; Tatar ve Gevrek, 2008; Xiaoqin vd., 2009; Nikolaeva vd., 2010; Keyvan, 2010; Geravandi vd., 2011), ayçiçeği (Rabert vd., 2014), *Brassica napus* (Vartanian vd., 1992), fasulye (Zlatev ve Stoyanov, 2005), fesleğen (Khalid, 2006), *Populus przewalskii* (Lei vd., 2006) bitkilerinde prolin içeriği stres uygulanmamış kontrol gruplarına göre arttığı bildirilmiştir. Araştırmacılar çalışmalarında prolinin kuraklık stresinde artmasını bu aminoasitin su stresinde turgoru düzenleyen önemli bir bileşik olmasından kaynaklandığını ifade etmişlerdir. Kuraklık stresinde yetiştirilen buğday bitkisine SNP uygulaması (Hamurcu vd., 2014) prolin miktarını azaltırken salisilik asit uygulamasının ise (Loutfy vd., 2012) artırdığı bildirilmiştir. Bazı araştırmacılar tarafından da hidrojen peroksit ön uygulamasının prolin miktarını *Ctenanthe setosa* bitkisinde (Terzi vd., 2014), azalttığı, mısır bitkisinde ise (Terzi vd., 2014) artırdığı kaydedilmiştir. Mevcut çalışmada ise kuraklık stresi ile her iki varyetede de ciddi artış gösteren prolin miktarı  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamaları ile hassas varyetenin 1  $\mu\text{M}$ 'lık dozları haricinde her iki varyetede de düşüş göstermiştir. Kuraklık stresine tolerans sağladığı düşünülen  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının prolin miktarını düşürmesi bu maddelerin iyileştirici etkilerini farklı bir mekanizma ile olabileceğini göstermektedir. Mevcut çalışmada da benzer şekilde kuraklık stresinde prolin miktarının yaklaşık 20-30 kat arttığı kaydedilmiştir (Çizelge 4.24 ve Şekil 4.25). Prolinin her iki varyetede de bu derece artması bitkide kuraklık stresinin vereceği muhtemel hasarı en aza indirme çabası ile ifade edilebilir. Çünkü prolin,  $\bullet\text{OH}$ 'in süpürülmesine ilave olarak,  $\bullet\text{OH}$  oluşumunun neden olduğu hasara karşı biyolojik dokuları korur ve redoks-aktiviteli metal iyonlarını bağlayabilmektedir (Matysik vd., 2002). Çalışmada kuraklık stresi ile birlikte monoterpen bileşiklerin uygulanması genel olarak bütün gruplarda prolin sentezini azaltmıştır (Şekil 4.24 ve Şekil 4.25). Prolinin miktarının azalması aynı zamanda monoterpen uygulanan grupların stresten daha az etkilendiğinin göstergesi olabilir. Aynı zamanda  $\bullet\text{OH}$  radikalleri süpürülmesinin bütün gruplarda kayda değer bir artış göstermemesi bu durumu kanıtlar niteliktedir.

**Çözünür protein;** kuraklık stresinde yetiştirilen bitkilerde çözünür protein içeriğinin araştırıldığı bazı çalışmalarda; buğday (Xiaoqin vd., 2009) ve fesleğen (Khalid, 2006) bitkilerinde çözülebilir protein içeriği stres uygulanmamış kontrol gruplarına göre düşüş gösterirken, buğdayın farklı çeşitlerinde (Altenbach vd., 2003; Gooding vd., 2003; Rharrabti vd., 2003; Öztürk ve Aydın 2004; Guttieri vd., 2005; Asseng ve Milroy 2006; Weightman vd., 2008; Saint Pierre vd., 2008; Flagella vd., 2010) ve soya fasülyesi bitkilerinde artış gösterdiği bildirilmiştir. Mevcut çalışmada çözünür protein miktarı kuraklık stresi ile hassas varyetede azalırken dayanıklı varyetede ise değişikliğe uğramamıştır. Farklı abiyotik streslerle bitkilerde su metabolizmasından sonra etkilenen en önemli metabolizma protein metabolizmasıdır. Kuraklık stresi ile birlikte proteinler parçalanır veya sentezleri azalır. Bu durum bitkilerde fotosentez için oldukça önemli bir enzim olan Rubisco'nun hem aktivite kaybına hem de sentezinin azalmasına neden olur.

Hameed ve Iqbal, (2014), kuraklık stresinde yetiştirmek üzere buğday tohumlarına mannoz, mannitoz ve hidrojen peroksit ön uygulamalarında bulunmuşlardır. Çalışmalarında kuraklıkla birlikte artış gösteren çözünür protein miktarı mannoz, mannitoz ve hidrojen peroksit uygulamalarıyla kurak kontrol grubuna göre düşüş göstermiştir. Xiaoqin vd., (2009), su stresinde yetiştirdikleri buğdayın toprağına selenyum uyguladıkları çalışmalarında, kuraklık stresi ile azalan çözünür protein miktarının selenyum uygulamasıyla daha da azaldığını kaydetmişlerdir. Wu vd. (2014), kuraklık stresinde yetiştirdikleri buğdayın besiyeri ortamına molibden sağlayıcısı  $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}]$  ilave ettikleri çalışmalarında, bu stresle birlikte artış gösteren çözünür protein miktarının molibden uygulamasıyla daha da yükseldiği bildirilmiştir. Loutfy vd. (2012), kuraklık stresinde yetiştirdikleri dört farklı buğday çeşidi tohumlarına uyguladıkları 0.5 mM salisilik asitin çözünür şeker-protein ve bazı mineral içeriği gibi osmolitleri artırarak stresin verdiği hasarı azalttığı bildirmişlerdir. Mevcut çalışmada kuraklık stresi ile birlikte hassas varyetede  $\alpha$ -Pinen uygulamasının 1  $\mu\text{M}$  dozunda çözünür protein miktarı kısmi artış sağlarken 10  $\mu\text{M}$  dozunda ise düşüş gerçekleşmiştir. Dayanıklı varyete  $\alpha$ -pinen uygulaması ise her iki dozda da düşüş göstermiştir. Her iki varyetede kurak kontrol grubuna göre 1  $\mu\text{M}$   $\beta$ -



pinen dozlarında çözümlü protein miktarı düşüş, 10 µM dozlarında ise artış göstermiştir (Çizelge 4.23 ve Şekil 4.24). Kuraklık stresi ile birlikte uygulanan α ve β-pinen monoterenleri her iki varyetede de protein metabolizmasını aktifleştirmekten ziyade daha farklı bir metabolizmaya bu strese tolerans sağlamada etkili olduğu düşünülmektedir.

**Osmorotektan şekerler**, bitkilerde kuraklık stresinde turgor durumunu düzenlemek için sentezlenen bileşiklerdir. Bu koşullarda bitkilerde içerisinde bulunan suyun transpasyonla atımını önlemek ve topraktan ihtiyacı olan suyu daha kuvvetli bir şekilde ksilemin iletim elamanlarıyla çekmek için bünyesinde hücre seviyesinde bazı şeker yapıda bileşiklerin sentezini artırır. Bu mekanizma bitkilerin kuraklık anında stresin zararlı etkisinden kurtulması için oldukça önemlidir. Kuraklık stresiyle birlikte bitkilerde şeker miktarının değişimini gösteren bazı çalışmalar mevcuttur. Khan ve Naqvi, (2012), kuraklık stresinde yetiştirdikleri tolerant ve hassas buğday varyetelerinde bu stresle birlikte indirgen şeker miktarlarında önemli derecede artış belirlemişlerdir. Yang vd. (2013), kuraklık stresinde yetiştirdikleri tolerant ve hassas çayır salkım otunda indirgen şeker miktarı tolerant varyetede indirgen şeker miktarı bu stresle düşerken hassas varyetede ise artış göstermiştir. Kuraklık stresinde yetiştirilen buğday (Pireivatlou vd. 2010), soya (Liu vd., 2004) ve *Haloxylon persicum-Haloxylon aphyllum* (Arabzadeh, 2012) bitkilerinde çözümlü şeker içeriklerinde artış gözlenirken, fesleğende (Khalid, 2006) ise düşüş tespit edilmiştir. Mevcut çalışmada kuraklık stresi ile birlikte indirgen şeker ve toplam karbohidrat miktarı artış göstermiştir (Çizelge 4.25-4.26 ve Şekil 4.26-4.27). Bitkide şeker miktarının artması kuraklık stresine verilen en önemli tepkilerdendir. Bitkiler böylece çözümlü bileşik miktarını artırarak yapraklara su alınımını hızlandırmışlardır.

Çeşitli uygulamalarla bitkilerde kuraklığa dayanıklılığı artırma çalışmaları da mevcuttur. Hameed ve Iqbal (2014), su stresinde yetiştirdikleri buğday tohumlarına mannoz, mannitoz ve hidrojen peroksit uyguladıkları çalışmalarında kuraklıkla artış gösteren indirgen şeker miktarı mannoz, mannitoz ve hidrojen peroksit

uygulamalarıyla kurak kontrol grubuna önemli derecede artış göstermiştir. Araştırmalarında çeşitli uygulamalarla indirgen şeker içeriğinin artış göstermesini, bitkinin osmotik düzenleme yapmasıyla açıklamışlardır. Wu vd. (2014), kuraklık stresinde yetiştirdikleri buğdayın besiyeri ortamına molibden sağlayıcısı uyguladıkları çalışmalarında, bu stresle birlikte artış gösteren çözünür şeker miktarının molibden uygulamasıyla daha da yükseldiği bildirilmiştir. Li vd. (2015) kuraklık stresinde yetiştirdikleri tarla üçgülü bitkisine dışsal spermin uygulamasıyla bu bitkinin hem hassas hem de dayanıklı varyetesinde çözünür şeker miktarını önemli ölçüde artırdığını bildirmişlerdir. Sağlam vd. (2014), kuraklık stresinde yetiştirdikleri *Ctenanthe setosa* bitkisine 0.2 mM hidrojen peroksit uygulaması çözünür şeker içeriğini kurak kontrol grubuna artırdığını bildirmiştir. Terzi vd. (2014), kuraklık stresinde yetiştirdikleri mısır bitkisine 10 mM hidrojen peroksit uygulaması çözünür şeker içeriğini kurak kontrol grubuna artırdığını bildirmiştir. Bu çalışmada ise kuraklık stresi dayanıklı ve hassas varyetede artış gösteren indirgen şeker ve toplam karbohidrat miktarı  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamaları ile her iki varyetede de düşüş göstermiştir.  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarının kuraklık stresine toleransta etki mekanizmalarının araştırıldığı bu çalışmada indirgen ve toplam karbohidratta olduğu gibi tüm osmoprotektan bileşiklerin uygulanan bu maddelerle düşüş göstermesi bu strese toleransın daha farklı yollarla gerçekleştirildiği fikrini uyandırmıştır. Ayrıca  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulaması ile hücrel osmoprotektantların düşmesi bitkinin stresten daha az etkilendiğini göstermesi bakımından önemlidir.

Çalışmada bütün osmoprotektan bileşikler birlikte değerlendirildiğinde; genel olarak kuraklık stresiyle artış gösteren bu bileşikler  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamasıyla düşüş göstermiştir. Bilindiği gibi osmoprotektan bileşikler stres koşullarında azalan turgoru dengelemek için sentezlenirler. Bu çalışmada osmoprotektan bileşiklerin sentezinin azalması kuraklığa toleransın başka bir savunma mekanizmasıyla gerçekleştirilebileceği düşüncesini verir.

### 5.7. Büyüme Parametreleri

Büyüme parametreleri bitkilerde stresin gerçekleşip gerçekleşmediğini veya stresin derecesini belirlemede önemli bir yer tutar. Büyüme parametresi olarak bitkilerde fotosentezin durumunu belirlemek için klorofil ve kuru madde miktarı, su metabolizmasındaki değişikliği belirlemek için ise bağıl su içeriğinin belirlenmesi araştırmacılar tarafından genellikle incelenen metodlardır. Kuraklık stresinde yetiştirilen bitkilere dışsal olarak farklı stres ajanlarının uygulanarak bu strese dayanıklılık kazandırılması ile ilgili çalışmalar vardır (Loutfy vd., 2012; Wang vd., 2011; Türk vd., 2014). Fakat monoterpen yapıda olan bileşiklerin bu amaçla kullanıldığı araştırmalara rastlanmamıştır. Mevcut çalışmada ise  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen monoterpenlerinin kuraklık stresinde bazı büyüme parametreleri üzerine etkileri incelenmiştir ve bu bağlamda kuraklık stresinin verdiği hasarı indirgeyerek iyileştirici etki gösterdiği kaydedilmiştir.

**Kuru ağırlık**, kuraklık stresine giren bitkilerin bu stresten hangi ölçüde etkilendiğini belirlemede yardımcı olan önemli parametrelerdendir. Bitkilerde çevresel stresin ilk etkilerinden birisi büyümenin azalmasıdır. Bunun nedeni birçok literatürde de belirtildiği gibi kuraklık stresinde bitkiler stomalarını kapatır ve CO<sub>2</sub> fikse etme kapasitesini su kaybetmemek için en aza indirir. Kuraklık stresine maruz kalan bitki fotosentez faaliyetlerini büyük ölçüde indirmek zorunda kalırlar (Chebab vd., 2009). Aynı zamanda turgor durumunu yitiren bitkiler bölünerek büyüme faaliyetlerini en aza indirirler. Bunun sonucunda ise kuru ağırlık miktarlarını azaltırlar. Kuraklık stresi koşulları altında büyümenin olumsuz etkilendiğini gösteren birçok çalışma rapor edilmiştir. Buğdayla ilgili çalışmaların bazıları incelendiğinde; kuru ağırlık miktarlarındaki azalmalar vurgulanmıştır (Gonzalez vd., 2005; Ghamarnia ve Gowing, 2005; Taş ve Taş 2007; Xiaoqin vd., 2009). Mevcut çalışmada kuraklık stresi uygulamasıyla bitki kuru ağırlığında düşüş meydana gelmiştir (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.2). Fakat bu düşüşün miktarı dayanıklı varyetede daha fazladır. Kuru ağırlığın miktarının azalmasının sebebi bu stres koşullarında stomalarını kapattığından dolayı karbondioksitten yeterince yararlanamadığı için verimli fotosentez yapamaması olabilir. Loutfy vd. (2012), kuraklık stresinde

yetiştirdikleri dört farklı buğday varyetesine bu stresle birlikte uyguladıkları salisilik asitin varyetelerde kuru madde miktarını artırdıklarını belirlemişlerdir. Bu sonucun da salisilik asit uygulamasıyla bitki bünyesinde bazı suda znen bileşiklerin artışıyla mümkün olabileceğini vurgulamışlardır. Mevcut çalışmada kuraklık stresi ile azalan kuru madde miktarının  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarıyla her iki varyete de artış göstermiştir (izelge 4.1 ve Şekil 4.2). Fakat kuru madde miktarındaki bu artışın, kuraklıkla birlikte uygulanan  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen monotерpenlerinin belki de stomaların açılmasını tetikleyerek sağlandığı düşünülmektedir.

**Bağıl su miktarı (RWC)**, kuraklık stresi esnasında bitkinin hangi oranda su kaybettiğini belirlemede önemlidir. Bu srenin uzun olması bitkilerde yüksek oranda turgor kayıplarına sebebiyet verir. Bu durumda bitkilerde bağıl su içeriğinin azalmasına neden olur. Aynı zamanda bağıl su içeriğinin belirlenmesi bitkilerde stresin derecesini anlamamıza yardımcı olabilir.

Yaprağın bağıl su içeriği maksimum su ile turgor durumuna geçtiği zamandaki lmdr. RWC özellikle kuraklık ve sıcaklık stresinde bitki yapraklarının strese girdiğinin en önemli göstergelerinden biridir. Ayrıca RWC bitkinin su içeriğini belirlerken osmotik düzenlemenin etkisinden dolayı yaprak su potansiyeliyle bağlantılıdır. Stres koşullarında turgor durumunu sürdüren bitki genotipleri fizyolojik olarak diğer türlere göre daha avantajlıdırlar (Pask vd., 2012). Bağıl su içeriği bitkilerde yaygın olarak su içeriğini belirlemek için kullanılan bir parametredir. Kuraklık stresinde yetiştirilen buğday fidelerindeki bağıl su miktarı düşüş göstermiştir (Chandrasekar vd., 2000; Siddique vd., 2000; Tas ve Tas, 2007; Paknejad vd., 2007; Tatar ve Gevrek, 2008; Keyvan, 2010; Geravandi vd., 2011). Wang vd. (2011), kuraklık stresinde yetiştirdikleri ve bu strese toleransı farklı olan iki buğday varyetesinde, kuraklık stresi ile birlikte oldukça azalan RWC miktarının nitrik oksit (SNP) uygulamasıyla büyük lde arttığını kaydetmişlerdir. Araştırmacılar bitkinin RWC içeriğini artırarak bu strese tolerans sağlamasının nedeninin antioksidan enzimlerin daha fazla aktivite göstermeleri ve fotosistem 2'deki önemli koruyucu genlerin transkripsiyonlarının artması olduğunu ifade

etmişleridir. Mevcut çalışmada kuraklık stresi uygulamalarında azalan RWC miktarının her iki varyetede genel olarak kuraklık stresi ile birlikte  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarıyla artış gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.3). Bitkide RWC içeriğinin artması, bu maddelerin uygulanmasıyla yaprağa ısıyı ayarlayıcı etki yaparak su kaybını önlemesiyle açıklanabilir. Bu maddeler doğal olarak kendi bünyesinde stres anında sentezlendiği zaman şiddetli bir şekilde buharlaşarak uçucu hale geçip bitkiden ısı çeker ve böylece bitkinin doğal su dengesini korumasına yardım ederek bitkiler üzerindeki stresin etkisini azaltırlar (Mammadov, 2014).

**Klorofil miktarı;** kuraklık stresi fotosentezin verimini düşürdüğü için klorofil miktarını da olumsuz etkiler. Kuraklık stresine bağlı olarak ortaya çıkan klorofil kaybı, oksidatif stres sonucu oluşan foto oksidasyonda bağlıdır (Kato ve Shimizu, 1985; Fu ve Huang, 2001). Kuraklık stresi bitkide su içeriğinin düşmesi, yaprak su potansiyeli ve turgoru azalması, stoma kapanması ve hücre genişlemesi ile büyümesinin durmasıyla karakterize edilir (Morgan, 1994; Jaleel vd., 2008).

Kuraklık stresi fotosentetik aygıtlarını ve komponentlerini hasara uğratarak ve klorofil içeriğinde değişikliğe sebep olarak fotosentezi inhibe eder (Iturbe Ormaetxe vd., 1998). Kuraklık stresinde klorofil içeriğinin düşmesinin başlıca sebebi reaktif oksijen türlerinin kloroplastları hasara uğratmasıdır (Smirnoff, 1995). Kuraklık stresinden etkilenen ana metabolik yollardan birisi olan fotosentetik sistem, stresin bitkiler üzerindeki etkilerini anlamak için sıklıkla başvuru bir yoldur. Kuraklık stresinde yetiştirilen buğday fidelerindeki klorofil içeriklerinin belirlendiği çalışmalarda bu stresle birlikte klorofil içeriğinde azalmalar meydana geldiği vurgulanmıştır (Chandrasekar vd., 2000; Paknejad vd., 2007; Nikolaeva vd., 2010; Keyvan, 2010). Mevcut çalışmada ise kuraklık stresi uygulamasıyla hassas varyetede klorofil içeriği azalırken dayanıklı varyete ise gözle görünür bir değişikliğe sebep olmamıştır (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.4). Buradan da dayanıklı varyetenin fotosentetik aygıtlarının hassas varyeteye göre bu stresin zarar verici etkisinden daha az hasara uğrayarak atlattığı söylenebilir. Esasında bitki yetiştirme süresinin klorofil içeriğine olumlu ya da olumsuz etki meydana getirecek kadar uzun değildir. Abbasi vd.

(2015), kuraklık stresinde yetiştirdikleri buğday varyetelerine ayrı ayrı pakrobutrazol ve salisilik asit uygulaması yaptıkları çalışmalarında, kuraklık stresi ile birlikte azalan klorofil içeriğinin pakrobutrazol ve salisilik asit uygulamalarında önemli oranda arttığını bildirmişlerdir. Çalışmalarında bu maddelerin CAT, APX, SOD, GPX gibi enzimlerin aktivitelerini artırdığını vurgulayarak bitkiye tolerans kazandırdığını vurgulamıştır. Bunun sonucunda da fotosentetik aygıtların zarar görmekten kurtulduğunu ifade etmişlerdir. Mahajan vd. (2015), mısır, pirinç ve buğday bitkilerine Cr (VI) stresiyle birlikte uyguladıkları  $\beta$ -pinen'le bu strese tolerans sağlamayı amaçladıkları çalışmalarında Cr (VI) stresiyle birlikte azalan klorofil miktarı  $\beta$ -Pinen uygulamasıyla önemli derecede arttığını tespit etmişlerdir. Mevcut çalışmada ise kuraklık stresi ile birlikte klorofil miktarı  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarında hassas varyetede kurak kontrole göre artış gözlenirken dayanıklı varyetede ise tam tersi bir durum söz konusudur. İzopren ve alkenler sıcaklık stresinde tilakoid zarlarındaki iki tabakalı lipid yapıların hasar görmesini engelleyebilir (Gounaris vd., 1984). Kuraklık stresi ile birlikte  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamaları da yukarıda bahsedildiği şekilde tilakoid zarların bütünlüğünü sağlayabilir.

**Klorofil a/b oranı**, fotosistemdeki korunmanın belirteci sayılır. Çünkü tilekoid zarlardaki anten pigment sisteminde karotenoidden sonra sırasıyla klorofil b, klorofil a ve reaksiyon merkezi gelir. Klorofil b klorofil a'dan hemen önce geldiği için yüksek gelen enerjiyi klorofil a'ya aktarırken düşürme vazifesi görür. Dolayısıyla bu pigmentin miktarı ne kadar fazla olursa anten pigment sisteminin merkezi de o ölçüde korunmuş olur. Çalışmada her iki varyetede de kuraklıkla beraber klorofil a/b oranında anlamlı bir değişiklik olmamıştır. Kuraklıkla birlikte monoterpen uygulamalarında ise dayanıklı varyetede düşüş meydana gelirken hassas varyetede herhangi bir değişikliğe neden olmamıştır. Dayanıklı varyete klorofil a/b oranını düşürerek fotosistemin korunmasına katkı sağladığı düşünülebilir.

## 5.8. SDS-PAGE

Kuraklık stresine maruz kalmış bitkilerin protein miktarında ve çeşidinde bazı farklılıklar bitkinin bu duruma tolerans sağlaması için yaptığı değişiklikler olarak kabul edilebilir. (Chen ve Tabaeizadeh, 1992; Cheng vd., 1993; Bray, 1993; Han ve Kermode, 1996). Bu bağlamda yapılan bazı çalışmalarda kuraklık stresinde yetiştirilen bitkilerin protein profilinde ya bazı yeni proteinlerin sentezlendiği, yada miktarının arttığı ve azaldığı vurgulanmıştır (Riccardi vd., 1998; Mohammadkhani ve Heidari, 2008; Khan vd., 2012; Valifard vd., 2012; Ullah vd., 2014; Moradpour vd., 2014). Bu çalışmada ise kuraklık etkisiyle SDS-PAGE’de bant şiddetinin her iki varyete ve gruplarda değişiklik gösterdiği tespit edilmiştir.

Dayanıklı varyete incelendiğinde kontrol grubuna göre kuraklık grubunda bant şiddetinin arttığı görülmüştür. Bu artışın özellikle 50 kDa ağırlığındaki proteinlerde görüldüğü belirlenmiştir. Bu proteinlerin Rubisco olduğu varsayıldığında kuraklıkla birlikte özellikle 10  $\mu$ M  $\alpha$ -pinen ve 1  $\mu$ M  $\beta$ -pinen uygulamalarında bant şiddetinin artış göstermesi bu gruplarda fotosentezin daha etkin yapıldığının göstergesi olabilir. Buna ilaveten 20 ağırlığındaki proteinlerin de yine aynı şekilde kontrol grubuna göre artış gösterdiği tespit edilmiştir.

Hassas varyete incelendiğinde ise dayanıklı varyetede olduğu kuraklıkla birlikte 50 kDa ağırlığındaki proteinlerde bant artışının görüldüğü belirlenmiştir. Bu artış özellikle kuraklıkla birlikte  $\beta$ -pinen uygulamasında daha belirgindir. Kuraklık uygulamasıyla yine 20 kDa ağırlığındaki proteinlerin bantlarında artış görülmüştür.

Her iki varyetede de kuraklık stresi ile birlikte monoterpen uygulaması bazı gruplarda bant şiddetini artırırken bazı gruplarda ise düşürmüştür. Monoterpenlerin kuraklığa toleransta rollerinin araştırıldığı bu çalışmada protein profilinin de bu toleransa katkı sağladığı düşünülmektedir.

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Son araştırmalar sekonder metabolitlerin çeşitli bitki stres faktörleriyle başa çıkmada önemli görevler üstlenebileceğini göstermiştir. Bu bağlamda bazı ön çalışmalar ve literatür araştırmaları sonucunda kuraklık stresi şartlarında yetiştirilen farklı bitkilerde stres şiddetinin artmasıyla tedrici olarak  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen monotерpenlerinin içsel miktarı artış gösterdiği tespit edilmiştir. Sonuç olarak bu kimyasalların doğal olarak kendi bünyesinde artış göstermesi onların stres şartlarında bitkiyi koruma için geliştirdikleri bir mekanizma olabileceği fikrini uyandırmaktadır.

$\alpha$  ve  $\beta$ -Pinen uygulaması her iki varyetede kuraklık stresi ile artan elektrolit sızıntı ve MDA miktarını düşürerek bitkinin kuraklığa uyumunu artırmıştır. Uygulanan bu bileşiklerin hücre mebranları içinde çözünerek yapılarındaki çift bağlar sayesinde zarda meydana gelebilecek deformasyonu önleyebileceği düşünülmektedir.

$H_2O_2$  ve  $O_2^{\bullet-}$  gibi serbest radikallerin miktarı kuraklığın etkisiyle artarken TOS miktarının da artış gösterdiği tespit edilmiştir. Kuraklıkla birlikte  $\alpha$ -pinen ve  $\beta$ -pinen uygulamalarıyla ise her iki varyetede de bu reaktif oksijen türleri miktarında önemli oranda düşüşler gözlenmiştir. Kuraklık stresiyle hidroksil radikali süpürülme aktivitesindeki artışın ise bu monotерpen uygulamalarıyla daha da arttığı belirlenmiştir. Bu etkinin  $\alpha$ -pinen ve  $\beta$ -pinen monotерpenlerinin güçlü antioksidan özellik göstermesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ayrıca  $\alpha$ -pinen ve  $\beta$ -pinen monotерpenlerinin zarlarda oluşabilecek hasarları da önleme hipotezi ROS'ların miktarının azalmasını destekler niteliktedir.

Her iki çeşitte de kuraklık uygulamasıyla SOD hariç bütün enzim (CAT, APX, POD ve GR) aktiviteleri artış göstermiştir.  $\alpha$ -pinen uygulamasıyla hassas varyetede SOD ve GR, dayanıklı varyetede ise APX, SOD ve CAT aktivitesi artmıştır.  $\beta$ -pinen uygulamasıyla hassas varyetede sadece GR aktivitesini artırırken, dayanıklı varyetede ise SOD, GR ve CAT enzimi aktivitelerini artırmıştır. POD enzimi aktiviteleri kuraklıkla birlikte  $\alpha$ -pinen ve  $\beta$ -pinen uygulamasında her iki varyetede



önemli düşümlere neden olmuştur. Bu veriler hassas varyetenin antioksidan enzimlerin aktiviteleri kuraklıkla birlikte  $\alpha$ -pinen ve  $\beta$ -pinen uygulamalarıyla genel itibari ile azalış gösterirken dayanıklı varyetenin antioksidan enzimlerinin aktiviteleri ise artış gösterdiği anlaşılmaktadır. Böylece dayanıklı varyete ROS'ları detoksifiye etmek için antioksidan enzimlerle savunma sistemine daha fazla ihtiyaç duymuştur.

Kuraklık stresiyle birlikte yaprakta antioksidan bileşikler olarak değerlendirilen karotenoid, fenolik bileşik, flavonoid (hassas varyete hariç), glutasyon ve TOS miktarı artış gösterirken, askorbik asit ve flavonoid (dayanıklı varyete hariç) miktarı ise düşüş göstermiştir. Kuraklıkla beraber  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamaları, yapraklarda askorbik asit ve TAS (dayanıklı varyete hariç) miktarını artırırken diğer antioksidan bileşikleri düşürmüştür. Bu sonuç ise bitkinin kuraklığa alışmasında antioksidan bileşiklerin rolünün kısmen olabileceğini göstermiştir.

Kuraklık stresi ayrıca yaprakta bazı osmoprotektan bileşiklerin miktarının da artmasına neden olmuştur. Prolin, indirgen şeker ve toplam karbohidrat miktarı kuraklıkla artarken çözünür protein miktarı ise düşüş göstermiştir. Kuraklıkla beraber  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamaları, genel olarak bütün osmoprotektan bileşiklerin miktarını düşürmüştür. Bu düşüş  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen uygulamalarıyla bitkinin kuraklıktan daha az etkilendiğini destekler niteliktedir.

SDS-PAGE sonuçlarına göre 50 kDa'luk bir polipeptitte bant yoğunluğu kuraklıkla birlikte her iki varyetede de artış göstermiştir. Bu durum bitkinin kurak şartlarda bazı proteinlerin miktarını artırabildiğini gösterir. Ayrıca bu bant şiddeti kurak şartlarda dayanıklı varyetede 1  $\mu$ M  $\beta$ -pinen uygulamasıyla artarken hassas varyetede önemli bir değişikliğe sebep olmamıştır.

Kullanılan bu monoterpenlerin düşük dozlarının bitki haricindeki diğer canlılarda da herhangi bir toksik etki göstermemesi ve maliyetinin çok düşük olması bu kimyasalların tarımda kullanılma potansiyelinin çok yüksek olduğunu gösterir.

Bu çalışmanın sonucunda  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen'nin kuraklığa toleransı özellikle hücre zar sistemlerini koruyarak gerçekleştirdiği vurgulanmaktadır. Bunun haricindeki bir diğer düşünce ise bu bileşiklerin direkt olarak reaktif oksijen türleriyle reaksiyona girerek onları detoksifiye etmesidir. Mevcut çalışmanın sonuçları ise bu iki düşünceyi destekler niteliktedir.

Bu çalışma ayrıca gelecekte  $\alpha$  ve  $\beta$ -pinen kimyasallarının kuraklık stresine maruz kalmış bitkilerde termoregülasyon ve stoma hareketleri üzerine etkilerinin de araştırılması gerektiğinin de önünü açmıştır.



## KAYNAKLAR

Abbasi, A. Shekari, F. Mustafavi S., “Effect of paclobutrazol and salicylic acid on antioxidants enzyme activity in drought stress in wheat”, *Idesia (Chile)* Volumen 33, No;4, Sayfa 5-13 (2015).

Adegoke, G.O., Iwahashi, H. Komatsu, Y. Obuchi, K. and Iwahashi, Y. “Inhibition of food spoilage yeasts and aflatoxigenic moulds by monoterpenes of the spice *Aframomum danielli*”, *Flavour and Fragrance Journal.*, Volume 15, Issue 3, pages 147-150 (2000).

Affek HP, Yakir D. “Natural abundance carbon isotope composition of isoprene reflects incomplete coupling between isoprene synthesis and photosynthetic carbon flow”, *Plant Physiology* 131:1727-1736 (2003).

Affek HP, Yakir D. “Protection by isoprene against singlet oxygen in leaves”, *Plant Physiol.* 129:269-277 (2002).

Agarwal S, Pandey V “Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifoli*”, *Biologia Plantarum*, 48:555-560 (2004).

Akashi, K., Miyake, C., Yokota, A., “Citrulline, a novel compatible solute in drought tolerant wild watermelon leaves, is an efficient hydroxyl radikal scavenger”, *Febbs Lett.*, 508, 438-442 (2001).

Akgül, A. and Kıvanç, M., (1988), “Inhibitory effects of selected Turkish spices and oregano components on some foodborne fungi”, *International Journal of Food Microbiology*, 6, 263 268.

Akgül, A., Kıvanç, M., Sert, S. “Effects of carvacrol on growth and toxin production by *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*”, *Sciences des Aliments*, 11, 361-370 (1991).

Aldesuquy, H. and Ghanem, H. “Exogenous Salicylic Acid and Trehalose Ameliorate Short Term Drought Stress in Wheat Cultivars by Up-regulating Membrane Characteristics and Antioxidant Defense System”. *J Horticulture* 2015, Volume 2, Issue 2, 1000139.

Ali, RM, Abbas, HM. “Response of salt stressed barley seedlings to phenylurea”, *Plant Soil Environ*, 49:158-62 (2003).

Altenbach, S.B., DuPont, F., Kothari, K., Chan, R., Johnson, E., Lieu, D. “Temperature, water and fertilizer influence the timing of key events during grain development in a US spring wheat”, *J. Cereal Sci.*, 37: 9-20 (2003).

Ames, B.N., Shigenaga, M.K. ve Hagen, T.M. “Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging”, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1(90):17 Page 7915-7922 (1993).

Anasori P, Asghari G. “Effects of light and differentiation on gingerol and zingiberene production in callus culture of *Zingiber officinale* Rosc”, *Res Pharm Sci.*, 3:59-63 (2008).

Andre, C.M., Schafleitner, R., Guignard, C., Oufir, M., Aliaga, C.A.A., Nomberto, G., Hoffmann, L., Hausman, J.F., Evers, D., Larondelle, Y. “Modification of the health-promoting value of potato tubers field grown under drought stress: emphasis on dietary antioxidant and glycoalkaloid contents in five native andean cultivars (*Solanum tuberosum* L.)”, *J. Agric. Food Chem.*, 57:599-609 (2009).

Angelova Z, Georgiev S, Roos W. “Elicitation of plants”, *Biotechnol, Biotechnol Equip.*, 20:72-83 (2006).

Arabzadeh N. “The effect of drought stress on soluble carbohydrates (sugars) in two species of *Haloxylon persicum* and *Haloxylon aphyllum*”. *Asian j. plant sci.* 11: 44-51 (2012).

Arakawa O, Hori Y, Ogata R. “Relative effectiveness and interaction of ultraviolet-B, red and blue light in anthocyanin synthesis of apple fruit”, *Physiol Plant.*, 64:323-7 (1985).

Arakawa O. “Effect of ultraviolet light on anthocyanin synthesis in light-colored sweet cherry, cv.Sato Nishiki”, *J Japan Soc Hort Sci.*, 62:543-6 (1993).

Araus, J.L., Slafer, G.A., Reynolds, M.P. and Royo, C., “Plant breeding and drought in C3 cereals: what should we breed for?”, *Annals of Botany*, 89: 925-940 (2002).

Asada, K., “Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions”, *Plant Physiol.*, 141, 391-396 (2006).

Asada, K., “The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons”, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 50, 601–639. (1999).

Asada, K., Takahashi, M., “Production and scavenging of active oxygen in photosynthesis”, In: Kyle, D.J. (Ed.), *Photoinhibition*, Elsevier, Amsterdam/North Holland, 227-287 (1987).

Asseng, S., Milroy, S.P., “Simulation of environmental and genetic effects on grain protein concentration in wheat”. *Eur. J. Agron.* 25, 119-128 (2006) .

Aydin, E; Türkez, H; Geyikoglu, F., “Antioxidative, anticancer and genotoxic properties of  $\alpha$ -pinene on N2a neuroblastoma cells”, *Biologia.*, Volume: 68 Issue: 5, Pages: 1004-1009 (2013).

Azizoğlu, A., “Gerilimli Bisiklik Allenler:  $\alpha$ -Pinen ve benzobornadienin bir allen birimine katılması”, Doktora tezi, *Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, (2004).

Azzouz, M.A. and Bullerman, L.B. (1982) "Comparative antimycotic effects of selected herbs, spices, plant components and commercial antifungal agents". *Journal of Food Protection*, 45, 1298-1301.

Banci, L., "Structural properties of peroxidase", *J. Biotech.*, (53), 253-263 (1997).

Bano, A. Ullah, F. and Nosheen, A., "Role of abscisic acid and drought stress on the activities of antioxidant enzymes in wheat", *Plant Soil Environ.*, 58(4):181-185 (2012).

Banthorpe DV, Njar VCO "Light-dependent monoterpene sintesis in *Pinus radiata* cultures", *Phytochem*, 23:295-299 (1984).

Bates, L.S., Waldren, R.P., Teare, I.D., "Rapid determination of free proline for water-stress studies", *Plant Soil*, 39, 205- 207 (1973).

Battino, M., Ferreiro, M.S., Fattorini, D., Bullon, P., "In vitro antioxidant activities of mouthrinses and their components", *J Clin Periodontol.*, 29:5, Page 462-467 (2002) .

Begg, J.E. ve N.C. Turner, "Crop water deficits", *Adv. Agron.*, 28: 161-217 (1976).

Bektaş Tepe, Dimitra Daferer, Atalay Sokmen, Munevver Sokmen, Moschos Polissiou. "Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae)". *Food Chemistry*, Volume 90, Issue 3, , Pages 333-340 (2005).

Benkli Badakbaş, K., "α-Pinenden α-terpineol eldesi", Yüksek Lisans Tezi, *Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, (1990).

Bergmeyer, J. and Grabl M., "Methods of enzymatik analysis (Third Edition)", *Biochemical Education.*, pp.190 302, Germany (1983).

Bernard YK, Binder, Christie AM, Peebles Jacqueline V, Shanks, Ka-Yiu San. "The effects of UV-B stress on the production of terpenoid indole alkaloids in *Catharanthus roseus* hairy roots", *Biotechnol Prog.*, 25:8615 (2009).

Berry J, Bjo` rkman O., "Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants", *Ann Rev Plant Physiol.*, 31:491-543 (1980).

Bertin N, Staudt M., "Effect of water stress on monoterpene emissions from young potted holm oak (*Quercus ilex* L.) trees", *Oecologia*, 4:456–462 (1996).

Bettaieb, I. Zakhama, N. Wannes, W.A. Kchouk, M.E. Marzouk., B. "Water deficit effects on *Salvia officinalis* fatty acids and essential oils composition", *Scientia Horticulturae* 120: 271-275 (2009).

Betteridge, D.J., "What Is Oxidative Stress?", *Metabolism*, 49: 3-8 (2000).

- Bian, S., Jiang, Y., “Reactive oxygen species, antioxidant enzyme activities and gene expression patterns in leaves and roots of Kentucky bluegrass in response to drought stress and recovery”, *Scientia Horticulturae*, 120; 264-270 (2009).
- Bishop, C.D., “Antiviral activity of the essential oil of melaleuca +alternifolia (Maiden and Betche) Cheel (Tea Tree) against tobacco mosaic virüs”, *Journal of Essansial Oil Research*, 7, 641-644 (1995).
- Blanch JS, Penuelas J, Llusia J., “Sensitivity of terpene emissions to drought and fertilization in terpene-storing *Pinus halepensis* and non-storing *Quercus ilex*”, *Physiol Plant.*, 131(2):211-25 (2007).
- Blokhina, O., “Anoxia and Oxidative Stress: Lipid Peroxidation, Antioxidant status and Mitochondrial Functions in Plants” *Department of Biosciences, Division of Plant Physiology University of Helsinki*, Finland. (2000)
- Blum A “Crop responses to drought and the interpretation of adaptation”. *Plant Growth Regulation* 20: 135-148 (1996).
- Blum A. and Ebercon A. “Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat”, *Crop Sci.*, 21:43-47 (1981).
- Blum, A., “Plant Breeding for Stress Environments”, *CRC Press*, Boca Raton, USA (1986).
- Bongue-Bartelsman M, Phillips DA. “Nitrogen stress regulates gene expression of enzymes in the flavonoid biosynthetic pathway of tomato”, *Plant Physiol Biochem.*, 33:539-46 (1995).
- Bonn, B., and G. K. Moortgat, “New particle formation during  $\alpha$ - and  $\beta$ -pinene oxidation by  $O_3$ , OH and  $NO_3$ , and the influence of water vapour: Particle size distribution studies”, *Atmos. Chem. Phys.*, 2:183–196 (2002).
- Boo YC, Jung J. “Water deficit-induced oxidative stress and antioxidative defenses in rice plants”. *Journal of Plant Physiology* 155: 255–261 (1999).
- Bor M, Seckin B, Ozgur R, Yilmaz O, Ozdemir F, Turkan I. “Comparative effects of drought, salt, heavy metal and heat stresses on gamma-aminobutyric acid levels of sesame (*Sesamum indicum* L.)”, *Acta Physiol Plant.*, 31:655-659 (2009).
- Bors, W., Michel, C. ve Stettmaier, K., “Structure-activity relationships governing antioxidant capacities of plant polyphenols”, In: Packer, L., Editor, Flavonoids and Other Polyphenols, Methods in Enzymology, *Academic Press, San Diego*, CA. (2001).
- Bowler, C., Montagu, M.V., Inze, D., “Superoxide dismutase and stress tolerance”, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 43, 83-116 (1992).

Brachet J, Cosson L. "Changes in the total alkaloid content of *Datura innoxia* Mill. subjected to salt stress", *J. Exp. Bot.*, 37:650-6 (1986).

Bradford D, Hsiao T "Physiological responses to moderate water stress. In: Lange O, Nobel P, Osmond C (eds) *Encyclopedia of plant physiology*", *Springer*, Berlin, pp 263–324 (1982).

Bradford MM "A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilising the principle of protein-dye binding", *Biochemistry*, 72:248-254 (1976).

Bray EA. "Molecular responses to water deficit". *Plant Physiol* 103: 1035-1040, (1993).

Breitmaier, E., "Terpenes: Flavors, Fragrances, Pharmaca, Pheromones", *Wiley-VCH*, 1-118, (2006).

Brilli F, Barta C, Fortunati A, Lerdau M, Loreto F, Centritto M. "Response of isoprene emission and carbon metabolism to drought in white poplar (*Populus alba*) saplings". *New Phytologist*, 175:244-254 (2007).

Briske DD, Camp BJ "Water stress increases alkaloid concentrations in threadleaf groundsel (*Senecio longilobus*)", *Weed Sci* 30(1):106-108 (1982).

Britz, S.J., Kremer, D.F., "Warm temperatures or drought during seed maturation increase free  $\alpha$ -tocopherol in seeds of soybean (*Glycine max* L, Merr.)", *J. Agric. Food Chem.*, 50:6058-6063 (2002).

Bukhov NG, Wiese C, Neimanis S, Heber U. "Heat sensitivity of chloroplasts and leaves: Leakage of protons from thylakoids and reversible activation of cyclic electron transport", *Photosynth Res.*, 59:81-93 (1999).

Burt, S., "Essential oils: their antimicrobial properties and potential applications in foods a review", *Int. J. of Food Microbiol.*, 94, 223-253 (2004).

Caldefie Carrapiso, A.I., Jurado, A., Timón, M.L., García, C., "Odor-active compounds of Iberian hams with different aroma characteristics", *J Agric Food Chem.*, 50(22):6453-8. (2002).

Caldefie-Chézet, F., Fusillier, C., Jarde, T., Laroye, H., Damez, M., Vasson, M.P., Guillot, J., "Potential anti-inflammatory effects of *Melaleuca alternifolia* essential oil on human peripheral blood leukocytes", *Phytother Res.*, 20(5):364-70 (2006).

Ceylan, A., "Tıbbi Bitkiler (Uçucu Yağ Bitkileri)" Cilt II, *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayını*, No:481, İzmir (1997).

Cha, J.D., Jung, E.K., Kil, B.S., Lee, K.Y., "Chemical composition and antibacterial activity of essential oil from *Artemisia feddei*", *J Microbiol Biotechnol.*, 17(12):2061-5 (2007).

Chan LK, Koay SS, Boey PL, Bhatt A. “Effects of abiotic stress on biomass and anthocyanin production in cell cultures of *Melastoma malabathricum*”, ***Biol Res.***, 43: 127-135 (2010).

Chandrasekar, V., Sairam, R.K. & Srivastava G.C., “Physiological and biochemical responses of hexaploid and tetraploid wheat to drought stress”. ***J. Agr. & Crop Sci.***, 185:219-227 (2000)..

Chaudiere, J. ve Ferrari-Iliou, R., “Intracellular antioxidants from chemical to biochemical mechanisms”, ***Food Chem. Toxicol.***, 37:949-962 (1999).

Cheeseman, K.H. ve Slater, T.F., “An introduction to free radical biochemistry”, ***Br. Med. Bull.***, Jul; 49(3), 481-93 (1993).

Chehab, E.W., Eich, E., and Braam, J. Thigmomorphogenesis: A complex plant response to mechano-stimulation. ***J. Exp. Bot.*** 60: 43–56(2009).

Chen KM, Gong HJ, Chen GC, Wang SM, Zhang CL. “Gradual drought under field conditions influences the glutathione metabolism, redox balance and energy supply in spring wheat”. ***J Plant Grow Reg***, 23:20- 8 (2004).

Chen RD, Tabaeizadeh Z. “Alteration of gene expression in tomato plants (*Lycopersicon esculentum*) by drought and salt stress”. ***Genome*** 35: 385-391, (1992).

Cheng Y, Weng J, Joshi CP et al. “Dehydration stress-induced changes in translatable RNAs in sorghum”. ***Crop Sci*** 33: 1397- 1400, 1993.

Cheng-Gang Ren and Chuan-Chao Dai. “Jasmonic acid is involved in the signaling pathway for fungal endophyte-induced volatile oil accumulation of *Atractylodes lancea* plantlets”, ***BMC Plant Biology***, 12:128 (2012).

Cheruiyot, E.K., Mumera, L.M., Ngetich, W.K., Hassanali, A., Wachira, F., “Polyphenols as potential indicators for drought tolerance in tea (*Camellia sinensis* L.)”, ***Biosci. Biotechnol. Biochem.*** 71:2190-2197 (2007).

Chimenti, C.A, Pearson, J., Hall, A.J., “Osmotic adjustment and yield maintenance under drought in sunflower”, ***Field Crops Res.***, 75:235-246 (2002).

Cho Y, Lightfoot DA, Wood AJ. “Trigonelline concentrations in salt stressed leaves of cultivated *Glycine max*”, ***Phytochemistry***, 52:1235-8 (1999).

Cho Y, Njitiv N, Chen X. Light food DA, Wood AJ. “Trigonelline concentration in field-grown soybean in response to irrigation”, ***Biol Plant.***, 46:405-10 (2003).

Chopra, Rk., Devershi, Ss., “Acclimation to drought stress generates oxidative stress tolerance in drought-resistant than- susceptible wheat cultivar under field conditions”, ***Enviromenteal and Experimental Botany***, 60:276-283 (2007).

Chowhan, N., Bali, A.S. Singh, H.P. Batish, D.R. Kohli, R.K. “Reactive oxygen species generation and antioxidant defense system in hydroponically grown wheat



(*Triticum aestivum*) upon  $\beta$ -pinene exposure: an early time course assessment”, *Acta Physiol Plant.*, 36:3137-3146 (2014).

Chowhan, N., Singh, H. P. Batish, D. R. Kohli, R. K. “Phytotoxic effects of  $\beta$ -pinene on early growth and associated biochemical changes in rice”, *Acta Physiol Plant.*, 33:2369-2376 (2011).

Chowhan, N., Singh, H.P. Batish, D.R. Kaur, S. Ahuja, N. Kohli, R.K. “ $\beta$ -Pinene inhibited germination and early growth involves membrane peroxidation”, *Protoplasma*, 250:691-700 (2013).

Christiansen JL, Jornsgrard B, Buskov S, Olsen CE. “Effect of drought stress on content and composition of seed alkaloids in narrow-leafed lupin”, *Lupinus angustifolius* L., *Eur J Agron.*, 7:307-14 (1997).

Christie PJ, Alfenito MR, Walbot V. “Impact of low temperature stress on general phenylpropanoid and anthocyanin pathways: enhancement of transcript abundance and anthocyanin pigmentation in maize seedlings”, *Planta*, 194:541-549 (1994).

Chung, S.K., Osawa, T. and Kawakishi, S., “Hydroxyl radical-scavenging effects of spices and scavengers from brown mustard (*Brassica nigra*)”, *Bioscience Biotechn. and Biochem.*, 61(1):118-123 (1997).

Chwender J, Zeidler J, Groner R, Muller C, Focke M, Braun S, “Incorporation of 1-deoxy-D-xylulose into isoprene and phytol by higher plants and algae”, *FEBS Letters* 414: 129-134 (1997).

Clawson AB, Moran EA, “Toxicity of arrowgrass for sheep and the remedial treatment”, *Technical Bulletin/USDA* 580:16 (1937).

Close TJ, Chandler PM. “Cereal dehydrins: Serology, gene mapping, and potential functional roles”. *Aust. J. Plant Physiol* 17: 333-344, (1990).

Close TJ. Dehydrins: “Emergence of a biochemical role of a family of plant dehydration proteins”. *Physiol Plant* 97: 795-803, (1996).

Collins, A., “Carotenoids and genomic stability”, *Mutat Res.*, 475:1-28 (2001).

Copolovici LO, Filella I, Llusia J, Niinemets U, Penuelas J. “The capacity for thermal protection of photosynthetic electron transport varies for different monoterpenes in *Quercus ilex*”, *Plant Physiology* 139: 485-496 (2005).

Cornic, G. “Drought stress inhibits photosynthesis by decreasing stomatal aperture-not by affecting ATP synthesis”, *Trands. Plants. Science*, 5: 187- 188, (2000).

Corpas, F. J., Sandalio, L. M., del Rio, L. A. and Trelease, R. N., “Copper-zinc superoxide dismutase is a constituent enzyme of the matrix of peroxisomes in the cotyledons of oilseed plants”, *New Phytol.*, 1998, 11138, 307–314.

Couée I., Sulmon C., Gouesbet G. and El Amrani A., “Involvement of soluble sugars in reactive oxygen species balance and responses to oxidative stress in plants”, *Journal of Experimental Botany*, 57, 449-459 (2006).

Courtois, B., McLaren, G., Sinha, P.K., Prasad, K., Yadav, R., Shen, L., “Mapping QTLs associated with drought avoidance in upland rice”, *Moleküler Breeding.*, 6:55-66 (2000).

Creissen, G., Broadbent, P., Stevens, R., Wellburn, A.R. ve Mullineaux, P.M., “Manipulation of glutathione metabolism in transgenic plants”, *J. Biochem.*, 24:465-472 (1996).

Creissen, G.P., Broadbent, P., Kular, B., Reynolds, H., Wellburn, A.R. and Mullineaux, P.M., “Manipulation of glutathione reductase in transgenic plants: implications for plant responses to environmental stress”, *Proc R Soc Edin.*, 102:167-75 (1994).

Cross, C. E., Halliwell, B., Borish, E., Pryor, W., Ames, B N., Saul, R., Mc Cord, J.M. ve Harman, D., “Oxygen radicals and human disease”, *Ann. Intern.Med.*, 107, 526- 545 (1987).

Çeriğ, S., “Bitki stres cevabında önemli sinyal bileşiklerinin Buğday (*Triticum aestivum*)’da hücrel ve apoplastik proteinlerin değişimi üzerine etkilerinin araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum (2011).

Çırak C, Esenal E, 2006. “Soyada kuraklık stresi”, *OMÜ Zir. Fak. Dergisi*, 21(2):231-237. (2006)

Daise Lopes-Lutza, Daniela S. Alvianob, Celuta S. Alvianob, Paul P. Kolodziejczyk. “Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils”, *Phytochemistry*, Volume 69, Issue 8, Pages 1732-1738 (2008)

De Abreu IN, Mazzafera P. “Effect of water and temperature stress on the content of active constituents of *Hypericum brasiliense* Choisy”, *Plant Physiol Biochem.*, 43:241-8 (2005).

De Azevedo Neto, A.D., Prisco J.T., Enéas-Filho J., de Abreu C.E.B., Gomes- Filho E., “Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes”, *Environ. Exp. Bot.*, (56):87-94 (2006).

De Bruijn GH “The cyanogenic character of cassava (*Manihot esculenta*). In: Nestel B, MacIntyre R (eds) Chronic cassava toxicity”, proceedings of an interdisciplinary workshop, London, England, Ottawa, *Internat Development Research Centre*, pp 43-48 (1973).

De Carvalho MHC “Drought stress and reactive oxygen species”, *Plant Signal Behav.*, 3:156-165 (2008).

Deans, S.G. & Ritchie, G. “Antibacterial properties of plant essential oils”, *International Journal of Food Microbiology*, 5:165-180 (1987).

Del Moral R. “On the variability of chlorogenic acid concentration”, *Oecologia*, 9:289-300 (1972).

Delfine S, Csiky O, Seufert G, Loreto F. Fumigation with exogenous monoterpenes of a non-isoprenoid-emitting oak (*Quercus suber*), monoterpene acquisition, translocation, and effect on the photosynthetic properties at high temperatures”, *New Phytologist*, 146: 27-36 (2000).

Delfine S, Loreto F, Pinelli P, Tognetti R, Alvino A “Isoprenoids content and photosynthetic limitations in rosemary and spearmint plants under water stress”, *Agric Ecosyst Environ.*, 2(3):243-252 (2005).

Delitala I-F, Gessa C, Solinas V “Water stress and flexibility of phenolic metabolism in *Thymus capitatus*”, *Fitoterapia*, 57(6):401-408 (1986).

Deluc, L.G., Quilici, D.R., Decendit, A., Grimplet, J., Wheatley, M.D., Schlauch, K.A., Merillon, J.M., Cushman, J.C., Cramer, G.R., “Water deficit alters differentially metabolic pathways affecting important flavor and quality traits in grape berries of Cabernet Sauvignon and Chardonnay”, *BMC Genomics*, 10:212 (2009.)

Delwiche CF, Sharkey TD. “Rapid appearance of  $^{13}\text{C}$  in biogenic isoprene when  $^{13}\text{CO}_2$  is fed to intact leaves”, *Plant, Cell and Environment* 16: 587-591 (1993).

Demel RA, Kinsky SC, Kinsky BB, Van Deenen LL “Effects of temperature and cholesterol on the glucose permeability of liposomes prepared with natural and synthetic lecithins”, *Biochim Biophys Acta*, 150: 655-665 (1996).

Dewanto, V., X. Wu, K.K. Adom and R.H. Liu, “Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity”, *J. Agric. Food Chem.*, 50:3010-3014 (2002).

Dische Z., “Color reactions of carbohydrates”, *Methods Carbohydr Chem* 1:475–514 (1962).

Dlugokecka E. and Kacperska-Palacz A., “Re-examination of electrical conductivity method for estimation of drought injuries”, *Biol. Plant.*, 20: 262-267 (1978).

Dongyun Ma Dexiang Sun1 Chenyang Wang1, Haixia Qin1 Huina Ding1 Yaoguang Li Tiancai Guo., “Silicon application alleviates drought stress in wheat through transcriptional regulation of multiple antioxidant defense pathways”, *J Plant Growth Regul.*, 35:1-10 (2016).

Dziri, S. and Hosni, K. "Effects of cement dust on volatile oil constituents and antioxidative metabolism of Aleppo pine (*Pinus halepensis*) needles", *Acta Physiologiae Plantarum*, 34:1669-1678 (2012).

Edge, R., Mcgarvey, D.J. Ve Truscott, T.G., "The carotenoids as antioxidant-a review", *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, 41, 189-200 (1997).

Edwards, E.A., Rawsthorne, S. and Mullineaux, P.M., "Subcellular distribution of multiple forms of glutathione reductase in leaves of pea (*Pisum sativum* L.)", *Planta*, 180:278-84 (1990).

Elegbede, J. A., Flores, R. and Wang, R.C., "Perillyl alcohol and perillaldehyde induced cell cycle arrest and cell death in Broto and A549 Cells Cultured In Vitro", *Life Sciences*, 73: 2831-2840 (2003).

Ellman, G. L., "Tissue sulfhydryl groups", *Arch. Biochem. Biophys.*, 82, 70-77 (1959).

Elstner, E.F., Metabolism of Activated Oxygen Species, In: The Biochemistry of Plants, D.D. Davies, Ed., *Academic Press, USA*, 11:253-315 (1987).

Elwira Sieniawskaa, Renata Losb, Tomasz Baja, Anna Malmb, Kazimierz Glowniaka. "Antimicrobial efficacy of *Mutellina purpurea* essential oil and  $\alpha$ -pinene against *Staphylococcus epidermidis* grown in planktonic and biofilmcultures". *Industrial Crops and Products*, 51:152-157 (2013).

Eman E. Aziz Hussein Al-Amier Lyle E. Craker "Influence of salt stress on growth and essential oil production in peppermint, pennyroyal, and apple mint journal of herbs", *Spices & Medicinal Plants*, Vol. 14(1-2) (2008).

Erdal S. Genisel M. Türk H. Dumlupinar, R., Demir, Y. "Modulation of alternative oxidase to enhance tolerance against cold stress of chickpea by chemical treatments". *Journal of Plant Physiology* 175:95–101 (2015).

Erdal S. Genisel M. Türk H. Görcek. Z. "Effects of progesterone application on antioxidant enzyme activities and K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> ratio in bean seeds exposed to salt stress". *Toxicology and Industrial Health* 28(10):942-6 (2012).

Erel O. "A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status". *Clin Biochem.*, 38(12):1103-1111 (2005).

Erel O. "A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation", *Clin Biochem.*, 37(4):277-85 (2004).

Eryılmaz, F., "Bakır (Cu) uygulanmış mısır (*Zea mays* L.) fidelerindeki antioksidan aktivitelerin fizyolojik ve anatomik yönden incelenmesi". Doktora Tezi, *İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul (2007).

Esim, N. and Atıcı, Ö. “Effects of exogenous nitric oxide and salicylic acid on chilling-induced oxidative stress in wheat (*Triticum aestivum*)”. *Frontiers in Life Science* 8(2):1-7 (2015).

Esteban, M.A., Villanueva, M.J., Lissarrague, J.R., “Effect of irrigation on changes in the anthocyanin composition of the skin of cv Tempranillo (*Vitis vinifera* L) grape berries during ripening”, *J. Sci. Food Agric.* 81:409-420 (2001).

Evans, L.T., “Feeding the ten billion: plants and population growth”, *Cambridge: Cambridge University Press.*, (1998).

Fall R, Monson RK., “Isoprene emission rate and intercellular isoprene concentration as influenced by stomatal distribution and conductance”, *Plant Physiol.* 100:987-992 (1992).

Fang C, Monson RK, Cowling EB. “Isoprene emission, photosynthesis, and growth in sweetgum (*Liquidambar styraciflua*) seedlings exposed to short- and long-term drying cycles”, *Tree Physiol.*, 16: 441-446 (1996).

Farahani, H.A., Valadabadi, S.A., Daneshian, J. ve Khalvati, M.A. “Evaluation changing of essential oil of balm (*Melissa officinalis* L.) under water deficit stress conditions”, *Journal of Medicinal Plants Research*, Vol. 3(5):329-333 (2009).

Farhoudi, R. Lee, D.J. ve Hussain, M. “Mild drought improves growth and flower oil productivity of german chamomile (*Matricaria recutita* L.)”, *TEOP* 17(1):26-31 (2014).

Favati, F., Lovelli, S., Galgano, F., Miccolis, V., Di Tommaso, T., Candido, V., “Processing tomato quality as affected by irrigation scheduling”, *Sci. Hortic.-Amsterdam*, 122:562-571 (2009).

Ferrieri RA, Gray DW, Babst BA, Schueller MJ, Schlyer DJ, Thorpe MR, “Use of carbon-11 in *Populus* shows that exogenous jasmonic acid increases biosynthesis of isoprene from recently fixed carbon”, *Plant Cell and Environment*, 28:591-602 (2005).

Fett-Neto AG, Pennington JJ, Di Cosmo F. “Effect of white light on taxol and baccatin III accumulation in cell cultures of *Taxus cuspidata* Zucc”, *J Plant Physiol.*, 146:584-90 (1995).

Fischbach RJ, Kossmann B, Panten H, Steinbrecher R, Heller W, Seidlitz HK, “Seasonal accumulation of ultraviolet-B screening pigments in needles of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst)”, *Plant Cell Environ.*, 22:27-37 (1999).

Flagella, Z., Giuliani, M.M., Giuzio, L., Volpi, C., Masci, S., “Influence of water deficit on durum wheat storage protein composition and technological quality”, *Eur. J. Agron.*, 33:197-207 (2010).

Foyer, C.H. and Halliwell, B., “The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism”, *Planta*, 133: 21-25 (1976).

Foyer, C.H., Descouvieres, P. ve Kunert, K.J.,. “Protection against oxygen radicals: an important mechanism studied in transgenic plants”, *Plant Cell Environ.*, 17, 507-523 (1994).

Foyer, C.H., Lopez-Delgado, H., Dat, J.F. and Scott, I.M., “Hydrogen peroxide and glutathione associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signaling”, *Physiol. Plant.*, 100:241-54 (1997).

Fridovich, L., “Biological effect of superoxide radical”, *Arch. Biochem. Biophys.*, 247:1-11 (1986).

Fu J, Huang B. “Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool- season grasses to localized drought stress”, *Environ Exp Bot.*, 45: 105- 14 (2001).

Gao, YS; Chen, JS, Zeng, FL. “Effects of rare earth on oxidative damage and redox system of wheat seedling leaves under water stress”, *Journal of Rare Earths* Volume: 23 Issue: 4 Pages: 486-490 (2005).

Gechev, T. S., Van Breusegem, F., Stone, J. M., Denev, I., and Laloi, C., “Reactive oxygen species as signals that modulate plant stress responses and programmed cell death”, *BioEssays*, 28: pp.1091-1101 (2006).

Genisel M., Turk H. Erdal S. “Exogenous progesterone application protects chickpea seedlings against chilling-induced oxidative stress”. *Acta Physiol Plant* 35:241–251 (2013).

Geravandi, M., E. Farshadfar, D. Kahrizi,. “Evaluation of some physiological traits as indicators of drought tolerance in bread wheat genotypes”, *Russian Journal of Plant Physiology*, 58: 69-75 (2011).

Gershenzon J, Lincoln DE, Langenheim JH “Effect of moisture stress on monoterpenoid yield and composition in *Satureja douglasii*”, *Biochem Syst Ecol.*, 1:33-43 (1978).

Ghamarnia, H. and J.W. Gowing. “Effect of water stress on three wheat cultivars”. *ICID 21st European Regional Conference*, 15–19 May, Frankfurt (Oder) and Slubica, Germany and Poland (2005).

Gill, S.S., Tuteja, N., “Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants”, *Plant Physiology and Biochemistry*, 48, 909-930 (2010).

Gomes-Carneiro, M.R., Felzenszwalb, I., Paumgarten, F.J.R., “Mutagenicity testing of ( $\pm$ )-camphor, 1,8-cineole, citral, citronellal, (-)-menthol and terpineol with the Salmonella/microsome assay”, *Mutation Research*, 416:129-136 (1998).

Gong, Y., Toivonen P.M.A., Lau O.L. and Wiersma PA., “Antioxidant system level in ‘Braeburn’ apple in related to its browning disorder”, *Bot. Bull. Acad. Sin.*, 42:259-264 (2001).

Gonzalez, L.M.,L. ArgenteI,N. Zaldivar and R. Ramirez,. “Effect of simulated drought induced by PEG 600 on the germination and growth of two wheat varieties”.*Cultivos Tropicales*,26(4):49 D52 (2005).

Gooding, M.J., Ellis, R.H., Shewry, P.R., Schofield, J.D., “Effects of restricted water availability on the grain filling, drying and quality of winter wheat”, *J. Cereal Sci.* 37:295-309 (2003).

Gounaris K, Brain APR, Quinn PJ, Williams WP “Structural reorganization of chloroplast thylakoid membranes in response to heat stress”, *Biochim Biophys Acta* 766: 198-208 (1984).

Göksoy AT, Turan Z.M., “Kuraklığın Bitki Fizyolojisi ve Morfolojisi Üzerine Etkileri” *U.Ü.Z.F. Dergisi*, 8:149-190 (1991).

Gözükara, E.M., “Biyokimya”, *Evin Matbaası*, İstanbul (1997).

Grassmann J, Hippeli S, Elstner EF., “Plant’s defence and its benefits for animals and medicine: role of phenolics and terpenoids in avoiding oxygen stress”, *Plant Physiol Biochem.* 40:471-478 (2002).

Gray DE, Pallardy SG, Garrett HE, Rottinghaus G “Acute drought stress and plant age effects on alkamide and phenolic acid content in purple coneflower roots”, *Planta Med.*, 69(1):50-55 (2003).

Griffith, M., Ala, P., Yang, D.S.C., Hon, W.C., Moffatt, B.A.,“Antifreeze protein produced endogenously in winter rye leaves”, *Plant Physiology*, 100:593-596 (1992).

Guenther, E., “The Essential oils”, *D. Van Nostrand*, New York, USA (1948).

Guttieri, M.J., McLean, R., Stark, J.C., Souza, E., “Managing irrigation and nitrogen fertility of hard spring wheats for optimum bread and noodle quality”, *Crop Sci.* 45:2049-2059 (2005).

Gül S. “Türkiye’de üretilen gövde reçinesi terebentini ile sülfat terebentini bileşimlerinin tayini ve bileşenlerinin endüstriyel önemi olan başka bileşiklere dönüştürülmesi”, T.C. Orman Bakanlığı, Yayın No: 078. *T.C. Orman Bakanlığı Ege Ormanlık Araştırma Entitüsü Müdürlüğü*, İzmir (1999).

Güneş, A, Soylemezoglu, G., Inal, A., Bağcı, E.G., Coban, S. and Sahin, O. “Antioxidant and stomatal responses of grapevine (*Vitis vinifera* L.) to boron toxicity”. *Scientia Horticulturae*, 110(3), 279-284 (2006)..

Güzel, A., “Kuraklık stresine maruz bırakılan domates bitkilerinde bazı fizyolojik ve büyüme parametreleri üzerine absisik asit (aba) ve kalsiyum’un ( $Ca^{2+}$ ) etkisinin incelenmesi”, Doktora Tezi. *Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Mersin (2006).

Hagimori M, Matsumoto T, Obi Y. “Studies on the production of Digitalis cardenolides by plant tissue culture III. Effects of nutrients on digitoxin formation by shoot-forming cultures of *Digitalis purpurea* L. Grown in liquid media”. *Plant Cell Physiol.*, 23:1205-11 (1982).

Hale, M.G., Orcutt D.M., “The physiology of plants under stres”, *John Wiley and Sons*, 206p.New York (1987).

Halliwell B, Gutteridge JMC. “Free radicals in biology and medicine”, 2nd ed. Oxford: *Clarendon Press.*, 188-96 (1998).

Halliwell, B. ve Gutteridge, J.M.C., “Free radicals in biology and medicine. Third Edition”, *Oxford University Pres.*, Inc., New York, 936s. (1999).

Halliwell, B. ve Gutteridge, J.M.C., “Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease”, *Methods Enzymol.*, 280:1-85 (1990).

Hameed, A. and Iqbal, N. “Chemo-priming with mannose, mannitol and  $H_2O_2$  mitigate drought stress in wheat”, *Cereal Research Communications*, 42(3):450-462 (2014).

Han B, Kermode AR. “Dehydrin-like proteins in castor bean seeds and seedlings are differentially produced in responses to ABA and water-deficit-related stresses”. *J Exp Bot* 47: 933-939, (1996).

Hanson, J. R., “Diterpenoids”, *J. Nat. Prod. Rep.*, 12: 186 (1982).

Harborne, J.B. ve Williams, C.A., “Advances in flavonoid research since 1992”, *Phytochemistry*, 55:481-504 (2000).

Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., Handa, S. ve Handa, A.K.,. “Cellular mechanisms of tolerance to water stress”, *Hort. Sci.*, 19, 371-377 (1984).

Havaux M, Tardy F “Temperature-dependent adjustment of the thermal stability of photosystem II in vivo: possible involvement of xanthophyll-cycle pigments”, *Planta*, 198: 324-333 (1996).

Havir, E.A. and Mchale N.A., “Biochemical and developmental characterization of mutiple forms of catalase in tobacco leaves”, *Plant Physiol.*, 84:1291-1294 (1987).



He, L. Gao, Z. and Li., R. "Pretreatment of seed with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> enhances drought tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings", *African Journal of Biotechnology*, Vol.8(22):6151-6157 (2009).

Hernaandez I, Alegre L, Munne-Bosch S. "Enhanced oxidation of flavan-3-ols and proanthocyanidin accumulation in water-stressed tea plants", *Phytochemistry*, 67:1120-6 (2006).

Hernández-Nistal, J., Dopico, B., Labrador, E., "Cold and salt stress regulates the expression and activity of a chickpea cytosolic Cu/Zn superoxide dismutase", *Plant Sci.*, 163:507-514 (2002).

Hirayama, O., Nakamura, K., Hamada, S. ve Kobayashi, Y., "Singlet oxygen quenching ability of naturally occurring carotenoids", *Lipids*, 29(2):149-150 (1994).

Hodges JD, Lorio PL "Moisture stress and composition of xylem oleoresin in loblolly-pine", *For Sci* 3: 283-290 (1975).

Horemans, N., Foyer, H.C., Potters, G. ve Asard, H.,. "Ascorbate function and associated transport systems in plants", *Plant Physiol. Biochem.*, 38:531-540 (2000).

Horváth, E. Pál., M. Szalai, G. Páldi, E. and Janda, T. "Exogenous 4-hydroxybenzoic acid and salicylic acid modulate the effect of short-term drought and freezing stress on wheat plants", *Biologia Plantarum*, 51(3): 480-487 (2007).

Hummel I, El-Amrani A, Gouesbet G, Hennion F, Couee I. "Involvement of polyamines in the interacting effects of low temperature and mineral supply on *Pringlea antiscorbutica* (Kerguelen cabbage) seedlings", *J Exp Bot.*, 399:1125-1134 (2004).

Ingram, J., Bartels, D. "The molecular basis of dehydration tolerance in plants", *Annu. Rev Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 47:377-403 (1996).

Iturbe Ormaetxe I, Escuredo PR, Arrese-Igor C, Becana M., "Oxidative damage in pea plants exposed to water deficit or paraquat", *Plant Physiol.*, 116: 173-181 (1998).

İlbaş, İ., "Bitki Fizyolojisi Laboratuvar Klavuzu", *Hatiboğlu Yayıncılık*, Syf: 116-117, Ankara (2004).

Jacobsen S, Hauschild M, Rasmussen U. "Induction by chromium ion of chitinases and polyamines in barley (*Hordeum vulgare* L.) and rape (*Brassica napus* L. Ssp *oleifera*)", *Plant Sci.*, 84:119-28 (1992).

Jaleel C.A., Riadh K., Gopi R., Manivannan P., Inés J., Al-Juburi H.J., Zhao C.X., Shao H.B., Panneerselvam R. "Antioxidant defense responses: physiological plasticity in higher plants under abiotic constraints". *Acta Physiologiae Plantarum*, 31: 427-436 (2009).

Jaleel CA, Manivannan P, Lakshmanan GMA, Gomathinayagam M, Panneerselvam R “Alterations in morphological parameters and photosynthetic pigment responses of *Catharanthus roseus* under soil water deficits”, *Colloids Surf B Biointerfaces* 61:298-303 (2008).

Jamel Harrathi, Karim Hosni, Najoua Karray-Bouraoui, Houneida Attia, Brahim Marzouk, Christian Magne, Mokhtar Lachaal. “Effect of salt stress on growth, fatty acids and essential oils in safflower (*Carthamus tinctorius* L.)”, *Acta Physiol Plant.*, 34:129-137 (2012).

Jayashree, T. And Subramanyam, C., “Antiaflatoxic activity of eugenol is due to inhibition of lipid peroxidation”, *Lettesin Appl. Microbiology*, 28, 179-183 (1999).

Jenks, M.A., Hasegawa, P.M. “Plant Abiotic Stress”, 1.Baskı, *Blackwell, UK*, 270s., (2005).

Jensen CR, Mogensen VO, Mortensen G, Fieldsend JK, Milford GFJ, Andersen MN, “Seed glucosinolate, oil and protein contents of field-grown rape (*Brassica napus* L.) affected by soil drying and evaporative demand”, *Field Crops Res.*, 47:93-105 (1996).

Jiang, Y., and Huang, B., “Drought and heat stress injury to two cool-season turfgrasses in relation to antioxidant metabolisms and lipid peroxidation”, *Crop Sci.*, 41:436-442 (2001).

Jing Ren, Li Na Sun, Qiu Yan Zhang, and Xing Shun Song. “Drought tolerance is correlated with the activity of antioxidant enzymes in *Cerasus humilis* seedlings”, *BioMed Research International*, Article ID 9851095 (2016).

Johari-Pireivatlou M. “Effect of soil water stress on yield and proline content of four wheat lines”. *African Journal of Biotechnology*, 9:36-40 (2010):.

Jones, R.A., Qualset, C.O., “Breeding crops for environmental stress tolerance, In: Collins”, G.B., Petolino, J.G. (Eds.), Application of genetic engineering to crop improvement, *Dordrecht, Netherlands*, Nijhoff/Junk pp.305-340 (1984).

Kainulainen P, Oksanen J, Palomaki V, Holopainen JK, Holopainen T “Effect of drought and waterlogging stress on needle monoterpenes of *Picea abies*”. *Can J Bot Rev Can Bot.*, 8:1613-1616 (1992).

Takegawa K, Hattori E, Koike K, Takeda K. “Induction of anthocyanin synthesis and related enzyme activities in cell cultures of *Centaurea cyanus* by UV-light irradiation”, *Phytochemistry*, 30:2271-2273 (1991).

Kalefetoğlu, T ve Ekmekçi, Y. “Bitkilerde kuraklık stresinin etkileri ve dayanıklılık mekanizmaları”, *G.Ü. Fen Bilimleri Dergisi*, 18(4):723-740 (2005).

Kalefetoğlu, Y.. “Nohut (*Cicer Arietinum* L.) çeşit ve hatlarının kuraklık stresine karşı dayanıklılığının karakterizasyonu”, Yüksek Lisans Tezi, **Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Ankara (2006).

Kanbur, H., Mutlu, S. ve Nalbantoğlu., B. “Exogenously benzoic acid alleviates cold damage in wheat cultivars”. **Turkish Journal of Botany**. İn press (2016).

Kang, G.Z. Li, G.Z. Liu, G.Q. Xu, W. Peng, X.Q. Wang, C.Y. Zhu, Y.J. and Guo, T.C. “Exogenous salicylic acid enhances wheat drought tolerance by influence on the expression of genes related to ascorbate-glutathione cycle”, **Biologia Plantarum** 57 (4): 718-724 (2013).

Kato, M. and S. Shimizu. “Chlorophyll metabolism in higher plant. 6. Involvement of peroxidase in chlorophyll degradation”. **Plant cell physiol.** 26: 1291-1301 (1985).

Kaya, M., “Bazı monoterpen ve uçucu yağların, hücre çoğalması ve apoptozis üzerine etkilerinin memeli hücre kültürleriyle araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi. **Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü**, Eskişehir (2007).

Kayış, T., “Diazinon’un subletal konsantrasyonlarının *Pimpla turionellae* L.’nin eşey oranı ve bazı biyokimyasal parametreleri üzerine etkileri”, Doktora Tezi, **Çukurova Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü**, Adana (2010).

Keles Y, Oncel, I. “Response of the antioxidative defence system to temperature and water stress combinations in wheat seedlings”. **Plant Sci** 163:783- 90 (2002).

Keyvan, S., “The effects of drought stress on yield, relative water content, proline, soluble carbohydrates and chlorophyll of bread wheat cultivars”. **Journal of Animal & Plant Sciences**, 8: 1051-1060 (2010)..

Khalid, Kh.A. “Influence of water stress on growth, essential oil, and chemical composition of herbs (*Ocimum* sp.)”, **Int. Agrophysics**, 20:289-296 (2006).

Khan, S.U., Bano, A., Din J.U.and Gurmani., A.R Abscisic acid and salicylic acid seed treatment as potent inducer of drought tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). Pak. J. Bot., 44: 43-49, **Special Issue** (2012).

Khorasaninejad, S., Mousavi, A., Soltanloo, H., Hemmati K., ve Khalighi, A. “The effect of drought stress on growth parameters, essential oil yield and constituent of Peppermint (*Mentha piperita* L.)”, **Journal of Medicinal Plants Research** Vol. 5(22):5360-5365 (2011).

Kim, H.J., Chen, F., Wu, C., Wang, X., Chung, H.Y., Jin, Z., “Evaluation of antioxidant activity of Australian tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil and its components”, **J Agric Food Chem.**, 52(10):2849-54 (2004).

Kim, K.Y., Kwon S.Y., Lee H.S., Hur Y., Bang C.W., Choi K.S. and Kwak S.S., “Differential expression of four sweet potato peroxidase genes in respons to abscisic acid and ethaphon”, **Phytochemistry**, 54:19-22 (2000).

King DJ, Gleadow RM, Woodrow IE “Terpene deployment in Eucalyptus polybractea; relationships with leaf structure, environmental stresses, and growth”, *Funct Plant Biol* 5:451-460 (2004).

Király I., Czövek P. “Changes of MDA level and O<sub>2</sub> scavenging enzyme activities in wheat varieties as a result of PEG treatment”. *Acta Biologica Szegediensis*. Vol. 46. No.3-4. P. 105–106 (2002).

Koç, E. ve Üstün, S.,. “Patojenlere karşı bitkilerde savunma ve antioksidanlar”, *Erciyes Üniv. Fen Bilimleri Ens. Dergisi*, 14 (1-2):82-100 (2008).

Koenig, W.A. Joulain, D. Hochmuth, D.H. “Terpenoids and related constituents of essential oils”, *MassFinder*, Hamburg, Germany (2004).

Konstantina Kochevaa, Petar Lambrevb, Georgy Georgieva ,Vasilii Goltsev, Miroslav Karabaliev. “Evaluation of chlorophyll fluorescence and membrane injury in the leaves of barley cultivars under osmotic stress”. *Bioelectrochemistry* 63:121-124 (2004).

Kramer GF, Norman HA, Krizek DT, “Mirecki RM. Influence of UV-B radiation on polyamines, lipid peroxidation and membrane lipids in cucumber”, *Phytochemistry*, 30:2101-2108 (1991).

Kreuzwieser J, Schnitzler JP, “Steinbrecher R Biosynthesis of organic compounds emitted by plants”, *Plant Biol.*, 2:149-159 (1999).

Kruk, J., Hollander-Czytko, H., Oettmeier, W., Trebst, A., “Tocopherol as singlet oxygen scavenger in photosystem II”, *J. Plant Physiol.*, 162:749-757 (2005).

Ksouri R, Megdiche W, Debez A, Falleh H, Grignon C, Abdelly C. “Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*”, *Plant Physiol Biochem*, 45:244-249 (2007).

Kuşvuran, Ş. “Kavunlarda kuraklık ve tuzluluğa toleransın fizyolojik mekanizmaları arasındaki bağlantılar”, Doktora Tezi, *Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Adana (2010).

Kutlu, İ. “Tahıllarda kuraklık stresi”, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* 3(1):35-41 (2010).

Kuzuyama T, Shimizu T, Takahashi S, Seto H.. “Fosmidomycin, a specific inhibitor of 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate reductoisomerase in the nonmevalonate pathway for terpenoid biosynthesis”, *Tetrahedron Letters*, 39:7913-7916 (1998).

Laemmli, U. K. “Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4”, *Nature* 227(5259):680-685 (1970).

Lang V, Mantyla E, Welin B, Sundberg B and Palva ET., “Alterations in water status, endogenous abscisic acid content, and expression of Rab18 gene during the

development of freezing tolerance in *Arabidopsis thaliana*". *Plant Physiology*, 104:1341-1349 (1994).

Langenheim JH., "Higher-plant terpenoids-a phytocentric overview of their ecological roles". *J Chem Ecol* 6:1223-1280 (1994).

Larcher, W. "Physiological Plant Ecology", 4. Baskı, *Springer*, Page:513 (2003).

Laribi, B., Bettaieb, I., Koukia, K., Sahlia, A., Mougoua, A. ve Marzouk B. "Water deficit effects on caraway (*Carum carvi* L.) growth, essential oil and fatty acid composition", *Industrial Crops and Products* 30:372-379 (2009).

Larson RA. "The antioxidants of higher plants", *Phytochemistry*,; 27:969-978 (1988).

Lascano HR, Antonicelli GE, Luna CM, Melchiorre MN, Gomez LD, Racca RW, Trippi VS, Casano LM. "Antioxidant system response of different wheat cultivars under drought: Field and in vitro studies". *Aust J Plant Physiol*; 28:1095- 102 (2001).

Lavola A, Aphalo PJ, Lahti M, Julkunen-Tiitto R. "Nutrient availability and the effect of increasing UV-B radiation on secondary plant compounds in Scots pine", *Environ Exp Bot.*, 49:49-60 (2003).

Lee JH, Yang HY, Lee HS, Hong SK. "Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil from cones of *Pinus koraiensis*", *J Microbiol Biotechnol.* 18(3):497-502 (2008).

Lee, J., Koo, N. ve Min, D.B., "Reactive oxygen species, aging, and antioxidative Nutraceuticals", *Comprehensive Reviews in Food Science and Food*, 3:21-33 (2004).

Lei XY, Zhu RY, Zhang GY, Dai YR. "Attenuation of cold induced apoptosis by exogenous melatonin in carrot suspension cells: the possible involvement of polyamines", *J Pineal Res.*, 36:126- 131 (2004).

Lei Y, Yin C, Li C. "Differences in some morphological, physiological, and biochemical responses to drought stress in two contrasting populations of *Populus przewalskii*", *Physiol Planta*, 127:182- 191 (2006).

Lenga, R.E., "The sigma aldrich library of chemical safety data", 2th ed., USA, *Sigma-aldrich Corporation*, Page:3224 (1988).

Levitt, J., "Responses of plants to environmental stress, 1. chilling, freezing and high temperature stresses", pp.361; 607, *Academic Press, Inc.*, 2nd Edition (1980).

Li J., Nishimura, Y., Zhao, X. and Fukumoto, Y. "Effects of Drought Stress on the Metabolic Properties of Active Oxygen Species, Nitrogen and Photosynthesis in Cucumber 'Jinchun No. 5' Seedlings". *JARQ* 48 (2), 175-181, (2014).

- Liang B, Huang X, Zhang G, Zhang F, Zhou Q. "Effect of lanthanum on plants under supplementary ultraviolet- B radiation: Effect of lanthanum on flavonoid contents in Soybean seedlings exposed to supplementary ultraviolet-B radiation", *J Rare Earths*, 24:613-6 (2006).
- Lichtenthaler, H. K. "The 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis in plants", *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 50:47-65 (1999).
- Lichtenthaler, H. K., Wellburn, A. "Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents", *Biochem Soc. Trans*, 11:591-592 (1983).
- Lima, A.L.S., Da Matta, F.M., Pinheiro, H.A., Totola, M.R. ve Loureiro, M.E., "Photochemical responses and oxidative stress in two clones of *Coffea canephora* under water deficit conditions", *Environ. Exp. Bot.*, 47: 239-247 (2002).
- Lin CC, Kao CH. "Excess copper induces an accumulation of putrescine in rice leaves", *Bot Bull Acad Sin.*,40:213-218 (1999).
- Liu C, Guo C, Wang Y, Ouyang F. "Effect of light irradiation on hairy root growth and artemisinin biosynthesis of *Artemisia annua* L.", *Process Biochem*, 38:581-585 (2002).
- Liu H, Wang X, Wang D, Zou Z, Liang Z. "Effect of drought stress on growth and accumulation of active constituents in *Salvia miltiorrhiza* Bunge", *Ind Crops Prod.*, 33:146-151 (2011).
- Liu L, Dennis C, Gitz III, Jerry W. McClure. "Effects of UV-B on flavonoids, ferulic acid, growth and photosynthesis in barley primary leaves", *Physiol Plant.*, 93:734-738 (1995).
- Liu, Z. J., Guo, Y. K., Bai, J. G., "Exogenous hydrogen peroxide changes antioxidant enzyme activity and protects ultrastructure in leaves of two cucumber ecotypes under osmotic stress, *J. Plant Growth Regul.*, 29:171-183 (2010).
- Llusia J, Penuelas J "Changes in terpene content and emission in potted Mediterranean woody plants under severe drought", *Can J Bot.*, 8:1366-1373 (1998).
- Logan BA, Monson RK, Potosnak MJ. "Biochemistry and physiology of foliar isoprene production", *Trends Plant Sci.*, 5:477-481 (2000).
- Logan BA, Monson RK. "Thermotolerance of leaf discs from four isoprene-emitting species is not enhanced by exposure to exogenous isoprene". *Plant Physiology*, 120:821-825 (1999).

Loggini B, Scartazza A, Brugnoli E, Navari- Izzo F. “Antioxidative defense system, pigment composition, and photosynthetic efficiency in two wheat cultivars subjected to drought”, *Plant Physiol.*, 119:1091- 1099 (1999).

Loreto F, Ciccioli P, Cecinato A, Brancaloni E, Frattoni M, Tricoli D., “Influence of environmental factors and air composition on the emission of alpha-pinene from *Quercus ilex* leaves”, *Plant Physiol.*, 1:267-275 (1996).

Loreto F, Fischbach RJ, Schnitzler JP, Ciccioli P, Brancaloni E, Calfapietra C., “Monoterpene emission and monoterpene synthase activities in the Mediterranean evergreen oak *Quercus ilex* L. grown at elevated CO<sub>2</sub> concentrations”, *Glob Change Biol*, 6:709-717 (2001).

Loreto F, Forster A, Durr M, Csiky O, Seufert G., “On the monoterpene emission under heat stress and on the increased thermotolerance of leaves of *Quercus ilex* L. fumigated with selected monoterpenes”, *Plant Cell Environ.*, 21:101-107 (1998).

Loreto F, Mannozi M, Maris C, Nascetti P, Ferranti F, Pasqualini S., “Ozone quenching properties of isoprene and its antioxidant role in plants”, *Plant Physiol.*, 126:993-1000 (2001).

Loreto F, Velikova V. “Isoprene produced by leaves protects the photosynthetic apparatus against ozone damage, quenches ozone products, and reduces lipid peroxidation of cellular membranes”, *Plant Physiol.* 127:1781-1787 (2001).

Loutfy, N., El-Tayeb, M.A. Hassanen, A.M. Moustafa, M.F.M. Sakuma, Y. Inouhe, M. “Changes in the water status and osmotic solute contents in response to drought and salicylic acid treatments in four different cultivars of wheat (*Triticum aestivum*)”, *J Plant Res.*, 125:173-184 (2012).

Lu M, Battinelli L, Daniele C, Melchioni C, Salvatore G, Mazzanti G.. “Muscle relaxing activity of *Hyssopus officinalis* essential oil on isolated intestinal preparations”, *Planta Medica*, 68(3):213-216 (2002).

M. Özgür TATAR, “Bazı ekmeklik buğday çeşitlerinde kuraklık stresine dayanıklılığın fizyolojik denetimi ve verim unsurları ile ilişkileri”, *Ege Üniv. Fen Bilimleri Enst.* Bornova. İzmir (2011).

M. Porres-Martínez, E. González-Burgos, M. E. Carretero & M. P. Gómez-Serranillos “Major selected monoterpenes  $\alpha$ -pinene and 1,8- cineole found in *Salvia lavandulifolia* (Spanish sage) essential oil as regulators of cellular redox balance”, *Pharm Biol.*, 53(6):921-929 (2015).

M.R. Gomes-Carneiroa, Márcia E.S. Vianab, Israel Felzenszwalbb, Francisco J.R. Paumgarttena. “Evaluation of  $\beta$ -myrcene,  $\alpha$ -terpinene and (+)- and (-)- $\alpha$ -pinene in the Salmonella/microsome assay”, *Food and Chemical Toxicology.*, Volume 43, Issue 2, Pages 247-252 (2005).

Mahajan, S. and Tuteja N., "Cold, salinity and drought stresses: an overview", *Arch. Biochem. Biophys.*, 444:139-158 (2005).

Mahmoud, S.S. and Croteau, R.B., "Strategies for transgenic manipulation of monoterpene biosynthesis in plants", *Trends in Plant Science*, 7:366-373(2002).

Malo, C., Wilson. J X "Glucose modulates vitamin c transport in adult human small intestinal brush border membrane vesicles". *J. Nutr.* 130: 63-69 (2000).

Mammadov, R., "Tohumlu bitkilerde sekonder metabolitler", *Nobel akademik yayıncılık*. 1. baskı. Yayın no; 841. Ankara (2014).

Manitto, P., "Biosynthesis of natural products", *Ellis harwood Ltd., Connecticut*, 255-262p (1981).

Manivannan, P., Jaleel, C. A., Sankar, B., Kishorekumar, A., Somasundaram, R., Heerden, P.D.R., Swanepoel, J.W., Kruger, G.H.J., "Modulation of photosynthesis by drought in two desert scrub species exhibiting C<sub>3</sub>-mode CO<sub>2</sub> assimilation". *Environmental and Experimental Botany*, 61:124-136 (2007).

Marin, A., Rubio, J.S., Martinez, V., Gil, M.I., "Antioxidant compounds in green and red peppers as affected by irrigation frequency, salinity and nutrient solution composition", *J. Sci. Food Agric.*,89:1352-1359 (2009).

Martins AP, Salgueiro L, Gonçalves MJ, da Cunha AP, Vila R, Cañigueral S, Mazzoni V, Tomi F, Casanova J., "Essential oil composition and antimicrobial activity of three Zingiberaceae from S.Tome e Principe", *Planta Medica*. 67(6):580-584 (2001).

Matsuo, A. L. Figueiredo, C. R. Arruda, D. C. Pereira, F. V. Scutti, J. A. B. Massaoka, M.H. Travassos, L.R. Sartorelli, P. João H.G., Lago B., "α-Pinene isolated from *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) induces apoptosis and confers antimetastatic protection in a melanoma model", *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 411:449-454 (2011).

Matysik J., Alia, Bhalu B. and Mohanty P., "Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants", *Current Science*, 82:525-532 (2002).

Mauseth. J.. Botany; "An introduction to plant biology", 2/e Multimedia Enhanced Edition. *Jones and Bartlett Publishers*, Sudbury, Massachusetts (1998).

McKinnon ML, Quiring DT, Bauce E "Influence of resource availability on growth and foliar chemistry within and among young white spruce trees", *Ecoscience*, 3:295-305(1998).

McLafferty, F.W. Stauffer, D.B. "The Wiley/NBS Registry of Mass Spectral Data", *J Wiley and Sons*, New York, (1989).



Mehmet Hamurcu, Tijen Demiral, Merve Calik, Z. Zeynep Avsaroglu, Ozgur Celik, Erdogan E. Hakki, Ali Topal, Sait Gezgin1, Richard W. Bell “Effect of nitric oxide on the tolerance mechanism of bread wheat genotypes under drought stress”, *Journal of Biotechnology*, 185S S18–S36. *European Biotechnology Congress* (2014).

Meneguzzo,S., Izzo, F.N. and Izzo, R., “Antioxidative responses of shoots and roots of wheat to increasing NaCl concentrations”. *J. Plant Physiol.*, 155:274-280 (1999).

Mercan, U., “Toksikolojide serbest radikallerin önemi”, *YYÜ Vet. Fak. Derg.*, 15(1-2):91-96 (2004).

Mercier, B., Prost, J., Prost, M., “The essential oil of turpentine and its major volatile fraction ( $\alpha$ - and  $\beta$ -pinenes): A review”, *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, 22(4) 331-342 (2009).

Mittler R., Vanderauwera S., Gollery M., Van Breusegem F., “Reactive oxygen gene network of plants”, *Trends in Plant Science.*, 9:490-498 (2004).

Mittler, R., “Oxidative stress, antioksidants and stress tolerance”, *Trends in Plant Science*, 7:405-410 (2002).

Mizukami H, Konoshima M, Tabata M. “Effect of nutritional factors on shikonin derivative formation in *Lithospermum callus* cultures”, *Phytochemistry*, 16:1183-1186 (1977).

Møller, I.M., “Plant mitochondria and oxidative stress: Electron transport, NADPH turnover and metabolism of reactive oxygen species”, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 52: 561-591 (2001).

Monti, L. M., “Breeding plants for drought resistance: The problem and its relevance. drought resistance in plants”, *Meeting Held in Amalfi*, Belgium, Page:1-8 (1986).

Moradpour, K. Najaphy, A. Mansoorifar, S. ve Mostafaie, A. “Evaluation of leaf protein pattern in wheat genotypes under drought stress”. Volume 2, Issue 3, 840-846 (2014).

Morgan J.M., “Osmoregulation and water-stress in higher-plants”. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol.*, 35:299-319 (1994).

Mouna Ben Taarit, Kamel Msaada, Karim Hosni, Brahim Marzouk. “Changes in fatty acid and essential oil composition of sage (*Salvia officinalis* L.) leaves under NaCl stress”. *Food Chemistry*, 119:951-956 (2010).

Mourey A. ve Canillac. N. “Anti-*Listeria monocytogenes* activity of essential oils components of conifers”, *Food Control*. Volume 13, Issues 4-5, Pages 289-292 (2002).

Muller, J.E. ve Whitshitt, M.S., “Plant cellular responses to water deficit”, *Plant Growth Regul.*, 20: 41-46 (1996).

Munne-Bosch, S., Alegre, L., “Changes in carotenoids, tocopherols and diterpenes during drought and recovery, and the biological significance of chlorophyll loss in *Rosmarinus officinalis* plants”, *Planta*, 210:925-931 (2000).

Murat Dikilitaş, Mehmet Ertuğrul Guldur, Ahmet Deryaoglu, Ozcan EREL “Antioxidant and oxidant levels of pepper (*Capsicum annuum* cv. ‘Charlee’) infected with pepper mild mottle virus, *Not Bot Horti Agrobo*, 39(2):58-63 (2011).

Mutlu F, Bozcuk S. “Salinity-induced changes of free and bound polyamine levels in sunflower (*Helianthus annuus* L.) roots differing in salt tolerance”, *Pak J Bot.*, 39(4):1097-1102 (2007).

Mutlu, S., “Salisilik asidin arpada (*Hordeum vulgare* L.) soğuk toleransını sağlama ve apoplastik ile simplastik proteinler üzerine etkilerinin incelenmesi”, Doktora Tezi, *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum (2009).

Mutlu, S., “Tuz stresi ve salisilik asitin buğday yapraklarında apoplastik ve simplastik antioksidan enzimler üzerine etkileri”, Yüksek Lisans Tezi, *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum (2005).

Mutlu, S., Atici Ö., and Nalbantoglu, B. “Effects of salicylic acid and salinity on apoplastic antioxidant enzymes in two wheat cultivars differing in salt tolerance”. *Biologia Plantarum*. 53(2): 334-338, (2009).

Mutlu, S., İlhan, V. ve Türkoğlu H.İ. “Mistletoe (*Viscum album*) infestation in the Scots pine stimulates drought dependent oxidative damage in summer”. *Tree Physiology*. (2016) DOI: 10.1093/treephys/tpv135. Inpress.

Mühlbauer, R.C., Lozano, A., Palacio, S., Reinli, A., Felix, R., “Common herbs, essential oils, and monoterpenes potently modulate bone metabolism”, *Bone*, 32:372-380 (2003).

N.S. Nathawat, J.S. Nair, S.M. Kumawat, N.S. Yadava, G. Singh, N.K. Ramaswamy, M.P. Sahu and S.F. D’souza. “Effect of seed soaking with thiols on the antioxidant enzymes and photosystem activities in wheat subjected to water stress”, *Biologia Plantarum* 51(1):93-97, (2007).

Nadeau P, Delaney S, Chouinard L. “Effects of cold hardening on the regulation of polyamine levels in wheat (*Triticum aestivum* L.) and Alfalfa (*Medicago sativa* L.)”, *Plant Physiol.*, 8:73-77 (1987).

Nadia Khan and Farzana N. Naqvi. “Alterations in reducing sugar in *Triticum aestivum* under irrigated and non-irrigated condition”, *African Journal of Biotechnology*, 11(21):4849-4852 (2012).

- Nakano, Y. and Asada, K., "Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts", *Plant and Cell Physiology*, 22:867-880 (1981).
- Nanjo, T., Kobayashi, M., Yoshida, Y., Sanada, Y., Wada, K., Tsukaya, H., Kakubari, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K. and Shinozaki, K. "Biological functions of proline in morphogenesis and osmotolerance revealed in antisense transgenic *Arabidopsis thaliana*". *Plant J.* 18, 185-193 (1999).
- Narayan MS, Thimmaraju R, Bhagyalakshmi N. "Interplay of growth regulators during solid-state and liquid-state batch cultivation of anthocyanin producing cell line of *Daucus carota*", *Process Biochem.*, 40:351-358 (2005).
- Navarro JM, Flores P, Garrido C, Martinez V. "Changes in the contents of antioxidant compounds in pepper fruits at ripening stages, as affected by salinity", *Food Chem.*, 96:66-73 (2006).
- Nayer Mohammadkhani, Reza Heidari. "Effects of Drought Stress on Soluble Proteins in two Maize Varieties" *Turk J Biol* 32: 23-30. (2008)
- Neto, N. B. M., Duraes, M. A. B., "Physiological and biochemical response of common bean varieties treated with salicylic acid under water stress", *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 6:269-277 (2006).
- Nik, Z.B., Mirza M., & Ghaffari M., "Effect of drought stress on growth and essential oil contents in *Parthenium argentatum* Gray". *JEOP* ,11(4):423-429 (2008).
- Nikolaeva, M.K., S.N. Maevskaya, A.G. Shugaev and N.G. Bukhov. "Effect of drought on chlorophyll content and antioxidant enzyme activities in leaves of three wheat cultivars varying in productivity". *Russian J. Plant Physiol.*, 57: 87-95 (2010).
- Noctor G, Foyer C.. "Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control", *Ann Rev Plant Physiol Plant Molec Biol.*, 49:249-279 (1998).
- Noguees S, Allen DJ, Morison JIL, Baker NR. "Ultraviolet-B radiation effects on water relations, leaf development and photosynthesis in droughted pea plants", *Plant Physiol.*, 117:173-181 (1998).
- Novak, M., Kleinwachter, M., Manderscheid, R., Weigel, H.J. Selmar, D., "Drought stress increases the accumulation of monoterpenes in sage (*Salvia officinalis*) an effect that is compensated by elevated carbon dioxide concentration", *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 83:133-136 (2010).
- Nover L, Bharti K, Döring P, Mishra SK, Ganguli A, Scharf K-D., "Arabidopsis and the heat stress transcription factor world: how many heat stress transcription factors do we need?", *Cell Stress & Chaperones*, 6:177-189 (2001).

Ohlsson AB, Berglund T. “Effect of high  $MnSO_4$  levels on cardenolide accumulation by *Digitalis lanata* tissue cultures in light and darkness”, *J Plant Physiol.*, 135:505-507 (1989).

Okogbenin E, Ekanayake IJ, Porto MCM., “Genotypic variability in adaptation responses of selected clones of cassava to drought stress in the Sudan savanna zone of Nigeria”, *J Agron Crop Sci.*, 189(6):376-389 (2003).

Olfa Baâtour, Imen Tarchoune, Hela Mahmoudi Nawel Nassri Wissal Abidi Rym Kaddour Ghaith Hamdaoui Mouhiba Ben Nasri-Ayachi Mohtar Lachaâl Brahim Marzouk. “Culture conditions and salt effects on essential oil composition of sweet marjoram (*Origanum majorana*) from Tunisia”, *Acta Pharm.*, 62:251-261 (2012).

**Ourisson G, Nakatani Y.**, “The terpenoid theory of the origin of cellular life: the evolution of terpenoids to cholesterol”, *Chem Biol.*, 1:11-23 (1994).

Özcan, S., Gürel E. and Babaoğlu M., “Bitki Biyoteknolojisi”. *S.Ü. Vakfı Yayınları* (2001).

Özcan, S., Gürel, E., Babaoglu, M. “Bitki Biyoteknolojisi II Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları”, 1.Baskı, *S.Ü. Basımevi*, Konya, Sayfa:456 (2001).

Özfidan, C. “Ekzojen aba uygulamasının kuraklık stresi (peg-6000) altındaki yabancı ve aba-eksik arabidopsis mutantları üzerindeki biyokimyasal ve fizyolojik etkilerinin araştırılması”, Doktora Tezi, *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*. İzmir (2010).

Özfidan, C. Turkan, I. Sekmen, A. H. and Seckin, B. “Abscisic acid-regulated responses of aba2-1 under osmotic stress: the abscisic acid-inducible antioxidant defence system and reactive oxygen species production”, *Plant Biology*, 14 337-346 (2012).

Özkuş, Ö., “*Capparis ovata* bitkisinde kuraklık stresi koşullarında antioksidant savunma sisteminin incelenmesi”, Doktora Tezi. *Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, İzmir (2010).

Öztürk, A., “Kuraklığın kışlık buğdayın gelişmesi ve verimine etkisi”, *Tr. J. of Agriculture and Forestry*, 23:531-540 (1999) .

Öztürk, A., Aydın, F., “Effect of water stress at various growth stages on some quality characteristics of winter wheat”, *J. Agron. Crop Sci.*, 190:93-99 (2004).

Paknejad, F., Nasri, M., Tohidi Moghadam, H.R., Zahedi, H., Jami Alahmadi, M. “Effects of drought stress on chlorophyll fluorescence parameters, chlorophyll content and grain yield of wheat cultivars”. *Journal of Biological Science* 7:841-847 (2007):.

Palese, A.M., Nuzzo, V., Favati, F., Pietrafesa, A., Celano, G., Xiloyannis, C., “Effects of water deficit on the vegetative response, yield and oil quality of olive

trees (*Olea europaea* L., cv Coratina) grown under intensive cultivation”, *Sci. Hortic.*, Amsterdam, 125:222-229 (2010).

Pandey, R., Karla, A., Tandon, S, Mehrota, N., Singh, H.N. and Kumar, S., “Essential oil compounds as potent of nematicidal compounds”, *J. of Phytopathology*, 148:501-502 (2000).

Parida AK, Das AB. “Salt tolerance and salinity effects on plants: a review”, *Ecotoxicol Environ Saf.*, 60:324-49 (2005).

Parvaiz A., Shahid, U., and Satyawati, S., “Mechanism of free radical scavenging and role of phytohormones in plants under abiotic stresses”, M. Ashraf et al. (eds.), *Plant Adaptation and Phytoremediation*, Page:99-118 (2010).

Pask, A.J.D.; Pietragalla, J.; Mullan, D.M.; Reynolds, M.P., “Physiological breeding II: a field guide to wheat phenotyping”, *CIMMYT*, Spain Page:25 (2012).

Pastenes C, Horton P (1996) “Effect of high temperature on photosynthesis in beans: I. Oxygen evolution and chlorophyll fluorescence”, *Plant Physiol.*, 112:1245-1251.

Pedranzani H, Sierra-De-Grado R, Vigliocco A, Miersch O, Abdala G. “Cold and water stress produce changes in endogenous jasmonates in two populations of *Pinus pinaster* Ait.”, *Plant Growth Regul.*, 52:111-116 (2003).

Pegoraro E, Rey A, Bobich EG, Barron-Gafford G, Grieve KA, Malhi Y, Murthy R., “Effect of elevated CO<sub>2</sub> concentration and vapour pressure deficit on isoprene emission from leaves of *Populus deltoids* during drought”, *Function Plant Biol.*, 31:1137-1147 (2004b).

Pegoraro E, Rey A, Greenberg J, Harley P, Grace J, Malhi Y, Guenther A., “Effect of drought on isoprene emission rates from leaves of *Quercus virginiana* Mill.”, *Atmospher Environ.*, 38:6149-6156 (2004a).

Pei, Z. F., Ming, D. Liu, F. D. Wan, G. L. Geng, X. X. Gong., H. J. Zhou, W. J. “Silicon Improves the Tolerance to Water-Deficit Stress Induced by Polyethylene Glycol in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Seedlings”, *J Plant Growth Regul.*, 29:106-115 (2010).

Peñuelas J, Estiarte M “Can elevated CO<sub>2</sub> affect secondary metabolism and ecosystem function?”, *Trends Ecol Evol.*, 1:20-24 (1998).

Peñuelas J, Llusia J “BVOCs: plant defense against climate warming?”, *Trends Plant Sci.*, 3: 105-109 (2003).

Peñuelas J, Llusia J “Linking photorespiration, monoterpenes and thermotolerance in *Quercus*”, *New Phytol.*, 2:227-237 (2002).

Peñuelas J, Llusia J “Effects of carbon dioxide, water supply, and seasonality on terpene content and emission by *Rosmarinus officinalis*”, *J Chem Ecol.*, 4:979-993 (1997).

Peñuelas J, Llusia J “Plant VOC emissions: making use of the unavoidable”, *Trends in Ecology and Evolution*, 8: 402-404 (2004).

Peñuelas J, Llusia J “Short-term responses of terpene emission rates to experimental changes of PFD in *Pinus halepensis* and *Quercus ilex* in summer field conditions”, *Environ Exp Bot.*, 1:61-68 (1999).

Peñuelas J, Llusia J “The complexity of factors driving volatile organic compound emissions by plants”, *Biol Plant.*, 4:481-487 (2001).

Peñuelas J, Llusia J, Asensio D, Munne-Bosch S., “Linking isoprene with plant thermotolerance, antioxidants and monoterpene emissions”, *Plant, Cell Environ.* 28:278-286 (2005).

Peñuelas J, Llusia J, Estiarte M “Terpenoids-a plant language”, *Trends in ecology & evolution*, 7:289-289 (1995).

Pérez-Izarbe, J., Hernández, T. ve Estrella, I. “Phenolic compounds in apples: varietal differences”. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung.* June 1991, Volume 192, Issue 6, pp 551–554.

Pessoa, L.M., Morais, S.M., Bevilaqua, C.M.L. and Luciano, J.H.S., “Anthelmintic activity of essential oil of *Ocimum gratissimum* Linn. and eugenol against *Haemonchus*”, *Veterinary Parasitology*, 109, 59-63 (2002).

Petropoulos, S.A. Daferera, D. Polissiou, M.G. Passam., H.C. “The effect of water deficit stress on the growth, yield and composition of essential oils of parsley”, *Scientia Horticulturae.*, 115:393-397 (2008).

Pitta-Alvarez SI, Spollansky TC, Giullietti AM. “The influence of different biotic and abiotic elicitors on the production and profile of tropane alkaloids in hairy root cultures of *Brugmansia candida*”, *Enzyme Microb Technol.*, 26:252-8 (2000).

Priyanka Mahajan, Daizy Rani Batish, Harminder Pal Singh, Ravinder Kumar Kohli, “ $\beta$ -Pinene partially ameliorates Cr(VI)-inhibited growth and biochemical changes in emerging seedlings”, *Plant Growth Regulation.*, Volume 79, Issue 2, pp 243-249 (2016).

Pyun, M.S. ve Shin, S., “Antifungal effects of the volatile oils from *Allium* plants against *Trichophyton* species and synergism of the oils with ketoconazole”, *Phytomedicine*, Volume 13, Issue 6, Pages 394-400 (2006).

Rabert, GA; Manivannan, P., Somasundaram, R, Panneerselvam, R. “Triazole compounds alters the antioxidant and osmoprotectant status in drought stressed

*Helianthus annuus* L. Plants”, *Emirates Journal of Food and Agriculture*, Volume: 26, Issue: 3, Pages: 265-276. (2014).

Rabinowitch, H.D., Fridovic, I., “Superoxide radical, superoxide dismutase and oxygen toxicity in plants”, *Photochem. Photobiol.*, 188:206-213 (1983).

Rabiye Terzi, Asim Kadioglu, Ebru Kalaycioglu and Aykut Saglam. “Hydrogen peroxide pretreatment induces osmotic stress tolerance by influencing osmolyte and abscisic acid levels in maize leaves”, *Journal of Plant Interactions*, Vol. 9, No. 1, 559-565 (2014).

Rajendra L, Ravishankar GA, Venkataraman LV, Prathiba KR. “Anthocyanin production in callus cultures of *Daucus carota* as influenced by nutrient stress and osmoticum”, *Biotechnol Lett.*,14:707-712 (1992).

Rautenbach, F., Faber, M., Laurie, S., Laurie, R., “Antioxidant capacity and antioxidant content in roots of 4 sweet potato varieties”, *J. Food Sci.*, 75:400-412 (2010).

Rennenberg H, Loreto F, Polle A, Brillì F, Fares S, Beniwal RS., “Physiological responses of forest trees to heat and drought”, *Plant Biol.*, 5:556-571 (2006).

Rennenberg, H., ve Lamourex, G.L., “Physiological processes that modulate the concentration of glutathione in plant cells. In: Sulfur nutrition and assimilation in higher plants, fundamental environmental and agricultural aspects”. *SPB Academic Publication.*, The Hague 53-65 (1990).

Rharrabti, Y., Royo, C., Villegas, D., Aparicio, N., García del Moral, L.F., “Durum wheat quality in Mediterranean environments. I. Quality expression under different zones, latitudes and water regimes across Spain”. *Field Crop Res.*, 80, 123-131 (2003).

Riccardi F, Gazeau P, Vienne D et al. “Protein changes in response to progressive water deficit in maize, quantitative variation and polypeptide identification”. *Plant Physiol* 117: 1253-1263, (1998).

Rice-Evans, C., “Plant polyphenols: free radical scavengers or chain-breaking antioxidants?”, *Biochem. Soc. Symp.*, 61:103-116 (1995).

Robbins, R.J., Keck, A.S., Banuelos, G., Finley, J.W., “Cultivation conditions and selenium fertilization alter the phenolic profile, glucosinolate, and sulforaphane content of broccoli”, *J. Med. Food*, 8:204-214 (2005).

Ross JD, Sombrero C “Environmental control of essential oil production in Mediterranean plants. In: Harborne JB Tomas- Barberan FA (eds) Ecological chemistry and biochemistry of plant terpenoids”, *Clarendon Press*, Oxford, pp:83-94 (1991).

Ross, A.I., "Dinitrophenol metod for reducing sugars", First Edition, The Avi. **Publishing Company**, Wesport (1959).

Ruiz-Lozano ve Azcon. "Mycorrhizal colonization and drought stress as factors affecting nitrate reductase activity in lettuce plants". **Agriculture, Ecosystems and Environment** 60:175-181 (1996).

Saba PD, Iqbal M, Srivastava PS. "Effect of ZnSO<sub>4</sub> and CuSO<sub>4</sub> on regeneration and lepidine content in *Lepidium sativum*", **Biol Plant.**, 43:253-256 (2000).

Sadras, V.O. and Calderini, D.F., "Crop physiology, applications for genetic improvement and agronomy", **Academic Press**, USA (2009).

Saeidnejad, A.H., Kafi, M., Khazaei, H. R. ve Pessaraklı, M. "Effects of drought stress on quantitative and qualitative yield and antioxidative activity of *Bunium persicum*", **Turk J Bot.**, 37:930-939 (2013).

Sağlam, A., "Kurak koşullardaki mısır çeşitlerinde yaprak kıvrılması sırasında fotosentetik aygıtındaki değişimlerin araştırılması", Doktora Tezi, **Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü**, Trabzon (2011).

Sağlam, A., Kalaycıoğlu, E. Güven, F. G Saruhan, N. Kadioğlu, A. ve Demiralay M. "Hydrogen peroxide extends postharvest life of *Ctenanthe setosa* leaf cuts under osmotic stress by reducing leaf Rolling", **Horticulture, Environment and Biotechnology**, 55(4):308-314 (2014).

Saint Pierre, C., Peterson, C.J., Ross, A.S., Ohm, J.B., Verhoeven, M.C., Larson, M., Hofer, B., "Winter wheat genotypes under different levels of nitrogen and water stress: changes in grain protein composition", **J. Cereal Sci.**, 47:407-416 (2008).

Sairam RK, Chandrasekhar V, and Srivastava GC. "Comparison of hexaploid and tetraploid wheat cultivars in their responses to water stress". **Biologia Plantarum** 44: 89-94 (2001).

Sairam RK, Shukla DS, and Saxena DC. "Stress induced injury and antioxidant enzymes in relation to drought tolerance in wheat genotypes". **Biologia Plantarum** 40: 357-364 (1998).

Sairam, R.K. and G.C. Srivastava. "Changes in antioxidant activity in sub-cellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress". **Plant Sci.** 162: 897-904 (2002).

Sairam, R.K. and Saxena, D.C., "Oxidative stress and antioxidant in wheat genotypes: possible mechanism of water stress tolerance", **Journal of Agronomy and Crop Science**, 184:55-61 (2000).

Sairam, R.K. and Tyagi, A., "Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants", **Curr. Sci.**, 86:407-421 (2004).



Sakamoto, A. and Murata, N., "The role of glycine betaine in the protection of plants from stress: clues from transgenic plants", *Plant Cell Environ.*, 25:163-171 (2002).

Sanchez-Rodriguez, E. Rubio-Wilhelmi, M. Cervilla, L.M. Blasco, B. Rios, J.J. Rosales, M.A. Romero, L. Ruiz, J.M. "Genotypic differences in some physiological parameters symptomatic for oxidative stress under moderate drought in tomato plants", *Plant Science*, 178:30-40 (2010).

Sangwan NS, Farooqi AHA, Shabih F, Sangwan RS "Regulation of essential oil production in plants". *Plant Growth Regul* 34: 03-21 (2001).

Sato K, Nakayama M, Shigeta J. "Culturing conditions affecting the production of anthocyanin in suspended cell cultures of strawberry", *Plant Sci.*, 113: 91-8 (1996).

Schmidt E, Bail S, Buchbauer G, Stoilova I, Atanasova T, Stoyanova A, Krastanov A, Jirovetz L., "Chemical composition, olfactory evaluation and antioxidant effects of essential oil from *Mentha x piperita*", *Natural Product Communications*. 4(8):1107-1112 (2009).

Schnitzler JP, Graus M, Kreuzwieser J, Heizmann U, Rennenberg H, Wisthaler A., "Contribution of different carbon sources to isoprene biosynthesis in poplar leaves", *Plant Physiology*, 135: 152-160 (2004).

Schonwitz R, Merk L, Kloos M, Ziegler H "Influence of needle loss, yellowing and mineral-content on monoterpenes in the needles of *Picea abies* (L) Karst". *Trees Struct Funct.*, 4:208-214 (1991).

Schrader SM, Wise RR, Wacholtz WF, Ort DR, Sharkey TD., "Thylakoid membrane responses to moderately high leaf temperature in Pima cotton", *Plant. Cell Environ.*, 27:725-735 (2004).

Seki M., Umezawa T., Urano K. and Shinozaki K., "Regulatory metabolic networks in drought stress responses", *Current Opinion in Plant Biology*, 10:296-302 (2007).

Seppänen, M.M., Fagerstedt, K., "The role of superoxide dismutase activity in response to cold acclimation in potato", *Physiol Plantarum*, 108:279-285 (2000).

Serafini, M. and Del Rio, D., "Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: Is the Total Antioxidant Capacity the Right Tool", *Redox Report*, 9 (3):145-152 (2004).

Serbinova, E.A., Packer, L., "Antioxidant properties of  $\alpha$ -tocopherol and  $\alpha$ -tocotrienol", *Methods Enzymol.*, 234:354-366 (1994).

Shan, C., Zhou Y. and Liu., M. "Nitric oxide participates in the regulation of the ascorbate-glutathione cycle by exogenous jasmonic acid in the leaves of wheat seedlings under drought stress". *Protoplasma*, 252:1397-1405 (2015).

Sharkey TD, Chen XY, Yeh S “Isoprene increases thermotolerance of fosmidomycin fed leaves”, *Plant Physiol.*, 4:2001-2006 (2001).

Sharkey TD, Loreto F., “Water stress, temperature, and light effects on the capacity for isoprene emission and photosynthesis of kudzu leaves”, *Oecologia.*, 95:328-333 (1993).

Sharkey TD, Schrader SM., “High temperature stress. In: Rao KVM, Raghavendra AS, Reddy KJ, eds. Physiology and molecular biology of stress tolerance in plants”, Dordrecht: *Springer*, 101-130 (2006).

Sharkey TD, Singasaas EL “Why plants emit isoprene ?”, *Nature*, 374:769 (1995).

Sharkey, T. D. A., Wiberley, E. and Donohue., A. R. “Isoprene Emission from Plants: Why and How”. *Annals of Botany* 101: 5-18, (2008).

Sharkey, T.D. “Emission of low molecular mass hydrocarbons from plants”, *Trends Plant Sci.* 1: 78-82 (1996).

Sharma P, Dubey RS. “Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings”, *Plant Growth Reg.*, 46:209- 21 (2005).

Sharma, P. and Dubey, R. S. “Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings,” *Plant Growth Regulation*, vol. 46, no. 3, pp. 209-221, (2005).

Shiozaki N, Hattori I, Gojo R, Tezuka T. “Activation of growth and nodulation in symbiotic system between pea plants and leguminous bacteria by near UV radiation”, *J photochem photobiol b. Biology.*, 50: 33-37 (1999).

Shyamala, B.N., Naidu, M.M., Sulochanamma, G., Srinivas, P., “Studies on the antioxidant activities of natural vanilla extract and its constituent compounds through in vitro models”, *J Agric Food Chem.*, 55(19):7738-43 (2007).

Siddique, B. M. R., A. Hamid and M. S. Islam. “Drought stress effect on water relation of wheat”. *Bot. Bull. Acad.* 41: 35-39 (2000).

Sieferman-Harms, D., “The light harvesting function of carotenoids in photosynthetic membrane”, *Plant Physiol.*, 69:561-568 (1987).

Simonsen JL, “The Terpenes”, (2nd edition) Vol. 2 Cambridge: *Cambridge University Press*, pp: 105-191 (1957).

Simova-Stoilova L, Demirevska K, Petrova T, Tsenov N, Feller U “Antioxidative protection in wheat varieties under severe recoverable drought at seedling stage”. *Plant Soil Environ* 54:529-536 (2008).

Singh HP, Batish DR, Kaur S, Kohli RK, Arora K., “Phytotoxicity of the volatile monoterpene citronellal against some weeds”, *Zeitschrift für Naturforschung*, 61:334-340 (2006a).

Singh, G., Marimuthu, P., de Heluani, C.S., Catalan, C.A., “Antioxidant and biocidal activities of *Carum nigrum* (seed) essential oil, oleoresin, and their selected components”, *J Agric Food Chem.*, 54(1):174-81 (2006).

Singh-Sangwan, N., Abad Farooqi, A. H. and Singh Sangwan, R., “Effect of drought stress on growth and essential oil metabolism in lemongrasses”, *New Phytol.*, 128:173-179 (1994).

Singsaas EL, Lerda M, Winter K, “Sharkey TD Isoprene increases thermotolerance of isoprene-emitting species”, *Plant Physiol.*, 115:1413-1420 (1997).

Singsaas EL, Sharkey TD “The regulation of isoprene emission responses to rapid leaf temperature fluctuations”, *Plant Cell Environ.*, 21:1181-1188 (1998).

Singsaas EL., “Terpenes and the thermotolerance of photosynthesis”, *New Phytol.*, 146:1-4 (2000).

Smart, R.E. and Bingham, G.E., “Rapid estimates of relative water content”, *Plant Physiol.*, 53, 258-260 (1974).

Smirnoff N “Antioxidant systems and plant response to the environment. In: Smirnoff V (Ed.), *Environment and Plant Metabolism: Flexibility and Acclimation*”, *BIOS Scientific Publishers*, Oxford, UK (1995).

Smirnoff, N., “Ascorbic Acid: Metabolism and Functions of a Multifaceted Molecule”, *Curr Opin Plant Bio*, 3:229-35 (2000).

Smirnoff, N., “Plant Resistance to Environmental Stresses”, *Curr. Opin. Biotechnol.*, 9:214-219 (1998).

Smirnoff, N., “The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation”, *New Phytol.*, 125:27-58 (1993).

Song, O., “Oxidative Stress: A Theoretical Model or Biological Reality?”, *C. R. Biologies.*, 327: 649-662 (2004).

Sotomayor, J.A., Martínez, R.M., García, A.J., Jordán, M.J., “*Thymus zygis* subsp. *Gracilis* watering level effect on phytomass production and essential oil quality”, *J Agric Food Chem.*, 52(17):5418-5424 (2004).

Soumaya Bourgou, Iness Bettaieb, Moufida Saidani, and Brahim Marzouk. “Fatty Acids, Essential Oil, And Phenolics Modifications of Black Cumin Fruit under NaCl Stress Conditions”, *J. Agric. Food Chem.*, 58:12399-12406 (2010).

Sullivan C.Y. and Ross W.M., "Selecting for drought and heat resistance in grain sorghum. In: Mussell H. and Staples R.C. (eds), *Stress Physiology in Crop Plants*", *John Wiley and Sons*, New York, pp. 263-281 (1979).

Sunkar R., Bartels, D., Kirch, H.H., "Overexpression of a stress-inducible aldehyde dehydrogenase gene from *Arabidopsis thaliana* in transgenic plants improves stress tolerance", *The Plant Journal*, 35:452-464 (2003).

Szabo B, Tyihak E, Szabo LG, Botz L. "Mycotoxin and drought stress induced change of alkaloid content of *Papaver somniferum* plantlets", *Acta Bot Hung.*, 45:409-417 (2003).

Şahin Başak, S., "Okalıptus (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.), defne (*Laurus nobilis* L.) ve mersin (*Myrtus communis* l.)'den elde edilen uçucu yağların,  $\alpha$ -amilaz ile  $\alpha$ -glukozidaza etkisi ve antioksidan özellikleri", Doktora Tezi, *Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Sivas (2008).

Tabaeizadeh, Z., "Drought-induced responses in plant cells", *Int Rev Cytol.*, 182:193-247 (1998).

Taiz, L. ve Zeiger, E., (Çeviri editörü: İsmail Türkan), "Bitki fizyolojisi", *Palme yayıncılık*. Ankara (2008).

Tan, J. Zhao, H. Hong, J. Han, Y. Li, H. And Zhao, W. "Effects of exogenous nitric oxide on photosynthesis, antioxidant capacity and proline accumulation in wheat seedlings subjected to osmotic stress", *World Journal of Agricultural Sciences*, 4(3):307-313 (2008).

Tanker, M., Tanker, N., "Farmakognozi Cilt II", *Reman Matbaası*, İstanbul (1976).

Tanyolaç, Z Ö., "Tuz stresi uygulanan yabancı ve fosfatidik asit eksik *Arabidopsis* mutantlarında fosfatidik asit ve antioksidan savunma sistemi arasındaki etkileşimin araştırılması", Yüksek Lisans Tezi, *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İzmir (2012).

Tas S and Tas B "Some physiological responses of drought stress in wheat genotypes with different ploidity in Türkiye". *World J Agr Sci* 3: 178–183 (2007).

Tatar O, Gevrek MN. "Influence of water stress on proline accumulation, lipid peroxidation and water content of wheat", *Asian. J Plant Sic.* 7:409-412 (2008).

Tayebbeh Abedı and Hassan Pakniyat. "Antioxidant enzyme changes in response to drought stress in ten cultivars of oilseed rape (*Brassica napus* L.)", *Czech J. Genet. Plant Breed.*, 46:(1) 27-34 (2010).

Tegelberg R, Julkunen-Tiitro R, Aphalo Pj. "Far-red light ratio and UV-B radiation: their effect on leaf phenolics and growth of silver birch seedlings", *Plant Cell Environ.*, 27:1005-1013 (2004).

Thimmaraju BN, Ravishankar GA. “In situ and ex situ adsorption and recovery of betalains from hairy root cultures of *Beta vulgaris*”, *Biotechnol Prog.*, 20:777-785 (2004).

Thomas D. Sharkey, Amy E. Wiberley And Autumn R. Donohue. “Isoprene Emission from Plants: Why and How”, *Annals of Botany*, 101:5-18 (2008).

Tian XR, Lei YB. “Physiological responses of wheat seedlings to drought and UV-B radiation. Effect of exogenous sodium nitroprusside application”, *Russ J Plant Physiol.*, Volume 54, Issue 5, pp 676-682 (2007).

Tian, F.X. Zhang, M. Wang, X. Chen, Y.H. and Wang, W. “Antioxidative defence under drought stress in a wheat stay-green mutant”, *Biologia Plantarum*, 59 (1):123-130 (2015).

Tijen Demiral, Mehmet Hamurcu, Zuhale Zeynep Avsaroglu, Merve Calik, Semra Almas, Erdogan Esref Hakki, Ali Topal, Sait Gezgin, Richard W. Bell. “Implication of nitric oxide on growth and development of wheat under drought conditions”, *Journal of Biotechnology* 185S S18–S36, *European Biotechnology Congress* 2014 (2014).

Tingey DT, Manning M, Grothaus LC, Burns WF., “Influence of light and temperature on Monoterpene emission rates from Slash Pine”, *Plant Physiol.*, 5:797-801 (1980).

Tingey DT, Turner DP, Weber JA “Factors controlling the emission of monoterpenes and other volatile compounds. In: Sharkey TD, Holland EA, Mooney HA (eds) Trace gas emission by plants”, *Academic Press*, San Diego, pp 93-120 (1991).

Trejo-Tapia G, Jimenez-Aparicio A, Rodriguez-Monroy M, De Jesus-Sanchez A, Gutierrez-Lopez G. “Influence of cobalt and other microelements on the production of betalains and the growth of suspension cultures of *Beta vulgaris*”, *Plant Cell Tissue Organ Cult.*, 67:19-23 (2001).

Turtola S, Manninen AM, Rikala R, Kainulainen P., “Drought stress alters the concentration of wood terpenoids in Scots pine and Norway spruce seedlings”, *J Chem Ecol.*, 9:1981-1995 (2003).

Tuteja N, Mahajan S. “Calcium signaling network in plants: an overview”, *Plant Signal Behav.*, 2:79-85 (2007).

Türk, H., Erdal, S., Genisel, M., Atici, O., Demir, Y. ve Yanmis, D. “The regulatory effect of melatonin on physiological, biochemical and molecular parameters in cold-stressed wheat seedlings”. *Plant Growth Regul.*, Volume 74, Issue 2, pp 139-152 (2014).

Türkan, I., Bor, M., Özdemir, F., Koca, H., “Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant *P. acutifolius* Gray

and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress”, ***Plant Science***, 168:223-231 (2005).

Ullah, I., Akhtar, N. Mehmood, N. Shah, I. A. and Noor. M. “Effect of mannitol induced drought stress on seedling traits and protein profile of two wheat cultivars”, ***The Journal of Animal & Plant Sciences***, 24(4): 2014, Page:1246-1251.

Ultee, A., Smid, E.J., “Influence of carvacrol on growth and toxin production by *Bacillus cereus*”, ***Inter. J. of Food Microbiol.***, 64,373-378 (2001).

Usha Chakraborty, Bhumika Pradhan. “Oxidative stress in five wheat varieties (*Triticum aestivum* L.) exposed to water stress and study of their antioxidant enzyme defense system, water stress responsive metabolites and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> accumulation”, ***Braz. J. Plant Physiol.***, 24(2): 117-130, (2012).

Vaia Lianopoulou and Artemios M Bosabalidis. “Traits of seasonal dimorphism associated with adaptation to cold stress in *Origanum dictamnus* L. (Lamiaceae)”, ***Journal of Biological Research-Thessaloniki***, 21:17 (2014).

Valifard, M., Moradshahi, A. and Kholdebarin, B. “Biochemical and physiological responses of two wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars to drought stress applied at seedling stage”. ***J. Agr. Sci. Tech.*** Vol. 14: 1567-1578 (2012).

Vallat A, Gu HN, Dorn S “How rainfall, relative humidity and temperature influence volatile emissions from apple trees in situ”, ***Phytochemistry***, 13:1540-1550 .

Valliyodan, B., Nguyen, H. T., “Understanding regulatory networks and engineering for enhanced drought tolerance in plants”, ***Current Opinion in Plant Biology***, 9:1-7 (2006).

Van den Boogard R., “Variation among wheat cultivars in efficiency of water use and growth parameters”, PhD. Thesis, ***Utrecht University***, Holland (1995).

Vanessa A. Areco a, Silvana Figueroa b,c, María T. Cosa b,c, José S. Dambolena a,c, Julio A. Zygadlo a,c, María P. Zunino “Effect of pinene isomers on germination and growth of maize”, ***Biochemical Systematics and Ecology***, 55:27-33(2014).

Vartanian, N. P., L. Hervochon, Marcotte, and F. Larher. “Proline accumulation during drought rhizogenesis in *Brassica napus* var. oleifera”. ***J. Plant Physiol.*** 5: 623-628 (1992).

Vazin, F. “Water stress effects on Cumin (*Cuminum cyminum* L.) yield and oil essential components”, ***Scientia Horticulturae***, 151:135-141 (2013).

Veit-Kohler, U., Krumbein, A., Kosegarten, H., “Effect of different water supply on plant growth and fruit quality of *Lycopersicon esculentum*”, ***J. Plant Nutr. Soil Sci.***, 162:583-588 (1999).

Velikova V, Edreva A, Loreto F. “Endogenous isoprene protects *Phragmites australis* leaves against singlet oxygen”, *Physiologia Plantarum*, 122:219-225 (2004).

Velikova V, Loreto F, Tsonev T, Brillì F, Edreva A. “Isoprene prevents the negative consequences of high temperature stress in *Platanus orientalis* leaves”. *Function Plant Biol.* 33:931-940 (2006).

Velikova V, Loreto F., “On the relationship between isoprene emission and thermotolerance in *Phragmites australis* leaves exposed to high temperatures and during the recovery from a heat stress”, *Plant, Cell and Environment*, 28: 318-327 (2005).

Velikova V, Tsonev T, Pinelli P, Alessio GA, Loreto F., “Localized ozone fumigation system for studying ozone effects on photosynthesis, respiration, electron transport rate and isoprene emission in field-grown Mediterranean oak species”, *Tree Physiol.*, 25:1523-1532 (2005b).

Verzera, A., Ziino, M., Conduro, C., Romeo, V., Zappalà, M., “Solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry for rapid characterisation of semi-hard cheeses”, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, Volume 380, Issue 7, pp 930-936 (2004).

Vierling E., “The roles of heat shock proteins in plants”, *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 42:579-620 (1991).

Vinocur B. and Altman A., “Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievements and limitations”, *Current Opinion in Biotechnology*, 16:123-132 (2005).

Violeta B. Velikova. “Isoprene as a tool for plant protection against abiotic stresses”, *Journal of Plant Interactions*, Vol. 3:(1) 1-15 (2008).

Vranova, E., Inze, D., ve Breusegem, F., “Signal transduction during oxidative stress”, *J.Exp. Bot.*, Vol.53, Pp.1227-1236 (2002).

Wang DH, Du F, Liu HY, Liang ZS. “Drought stress increases iridoid glycosides biosynthesis in the roots of *Scrophularia ningpoensis* seedlings”, *J Med Plants Res.*, 4:2691-9 (2010).

Wang Y., B., S., Zhao, T., Qu, X., Yuan, L., Zhao, X., Huijie Zhao “Effect of nitric oxide treatment on antioxidant responses and psbA gene expression in two wheat cultivars during grain filling stage under drought stress and rewatering”, *Acta Physiol Plant*, 33:1923-1932 (2011).

Wei, A., Shibamoto, T., “Antioxidant activities and volatile constituents of various essential oils”, *J Agric Food Chem.*, 55(5):1737-1742 (2007).

Weightman, R.M., Millar, S., Alava, J., Foulkes, M.J., Fish, L., Snape, J.W., “Effects of drought and the presence of the 1BL/1RS translocation on grain vitreosity, hardness and protein content in winter wheat”, *J. Cereal Sci.*, 47, 457-468 (2008).

Weinstein LH, Kaur-Sawhney R, Venkat Rajam M, Wettlaufer SH, Galston AW., “Cadmium-induced accumulation of putrescine in oat and bean leaves”, *Plant Physiol.*, 82:641-645 (1986).

Willekens, H., Chamnongpol, S., Davey, M., Schraudner, M., Langebartels, C., Van Montagu, M., “Catalase is a sink for H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and is indispensable for stress defence in C3 plants”, *The EMBO Journal*, 16:4806-4816 (1997).

Woodrow IE, Slocum DJ, Gleadow RM “Influence of water stress on cyanogenic capacity in Eucalyptus cladocalyx”, *Funct Plant Biol.*, 29(1):103-110 (2002).

Wu, Q.S. and Xia, R.X., “Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions”, *J. Plant Physiol.*, 163:417-425 (2006).

Wu, T. M., Hsu, Y. T. And Lee, T. M., “Effects of cadmium on the regulation of antioxidant enzyme activity, gene expression, and antioxidant defenses in the marine macroalga *Ulva fasciata*”, *Botanical Studies*, 50:25-34 (2009).

Xu, S., Li, J., Zhang, X., Wei, H. and Cui, L., “Effects of heat acclimation pretreatment on changes of membrane lipid peroxidation, antioxidant metabolites, and ultrastructure of chloroplasts in two cool-season turfgrass species under heat stress”, *Environmental and Experimental Botany*, 56:274-285 (2006).

Xiaoqin, Y., Jianzhou ve C., Guangyin, W. “Effects of drought stress and selenium supply on growth and physiological characteristics of wheat seedlings”, *Acta Physiol Plant.* 31:1031-1036 (2009).

Yee, Y., Tam N.F.Y., Wong Y.S. and Lu C.Y., “Growth and physiological responses of two mangrove species (*Bruguira gymnorrhiza* and *Kandelia candel*) to waterlogging”, *Environ. Exp. Bot.*, 1-13 (2002).

Yıldız, M. ve Terzi, H. “Bitkilerin yüksek sıcaklık stresine toleransının hücre canlılığı ve fotosentetik pigmentasyon testleri ile belirlenmesi”, *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 23(1-2):47-60 (2007).

Yıldıztuğay, E. “Endemik *Centaurea tuzgoluensis* Aytaç & H. Duman ve *Centaurea lycaonica* Boiss. & Heldr.’nın fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri üzerine tuz stresinin etkileri”, Doktora Tezi, *Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*. Konya (2011).

Yıldıztuğay, E., Konakçı, C. Ö. and Küçükök, M., “Exogenous nitric oxide (as sodium nitroprusside) ameliorates polyethylene glycol-induced osmotic stress in hydroponically grown maize roots”, *J Plant Growth Regul.*, 33, 683–696 (2014).



Yoo, S. K., Day, D. F., Cadwallader, K. R., “Bioconversion of  $\alpha$ - and  $\beta$  pinene by *Pseudomonas* sp. strain PIN”, *Process Biochemistry*, 925-932 (2000).

Yordanova, R.Y., Christov K.N. and Popova L.P., “Antioxidative enzymes in barley plants subjected to soil flooding”, *Environ. and Exp. Botany*, 51:93-101 (2004).

Young, A.J. ve Britton, G., “Carotenoids and photosynthesis”, *Chapman and Hall*, London (1993).

Zahra F. Baher, Mehdi Mirza, Mahlega Ghorbanli and Mohamad Bagher Rezaii “The influence of water stress on plant height, herbal and essential oil yield and composition in *Satureja hortensis* L.”, *Flavour Fragr. J.*, 17:275-277 (2002).

Zarei, L., Farshadfar, E., Haghparast, R., Rajabi, R. and Badieh M.M.S., “Evaluation of some indirect traits and indices to identify drought tolerance in bread wheat (*Triticum aestivum* L.)”, *Asian Journal of Plant Science*, 6:1204-1210 (2007).

Zeid IM. “Effect of arginine and urea on polyamines content and growth of bean under salinity stress”, *Act Physiol Plant.*, 35:65-70 (2009).

Zeidler J, Schwender J, Müller C, Wiesner J, Weidemeyer C, Beck E., “Inhibition of the non-mevalonate 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate pathway of plant isoprenoid biosynthesis by fosmidomycin”, *Zeitschrift für Naturforschung C* 53:980-986 (1998).

Zhang J, Kirkham MB “Antioxidant responses to drought in sunflower and sorghum seedlings”. *New Phytol* 132: 361–373 (1996).

Zhinsen, J., Megcheng, T. and Jianming, W., “The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals”, *Food Chemicals*, 64:555-559 (1999).

Zushi, K., Matsuzoe, N., “Effect of soil water deficit on vitamin C, sugar, organic acid, amino acid and carotene contents of large-fruited tomatoes”, *J. Jpn. Soc. Hortic. Sci.* 67:927-933 (1998).

## ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında Konya’da doğdu. Orta ve lise öğrenimini burada tamamladı. 2005 yılında girdiği Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden 2009 yılında mezun oldu. Aynı yıl Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans öğrenimine başladı. Yüksek lisans öğrenimini 2012 yılında tamamladı. 2012 yılında Atatürk üniversitesinde başladığı doktora öğrenimine Erzincan Üniversitesi’nde devam etmektedir. 2011 beri itibaren Erzincan Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nde Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktadır.

**EKLER 1****Çizelge 1** Farklı kuraklık şartlarında yetiştirilen *Nepeta meyeri* bitkisinin esansiyel yağ profili üzerine etkisi

Esansiyel yağlar	Uygulamalar			
	Kontrol Şartları	Düşük Kuraklık	Orta Kuraklık	Yüksek Kuraklık
1 2-Thiapropane	5,67	6,09	4,74	5,12
2 $\alpha$ -Thujen	0,16	0,15	0,23	0,19
7 Pseudolimonene	-			0,38
15 $\alpha$ -Pinene	0,17	1,06	1,35	2,1
16 $\beta$ -Pinene	5,43	5,72	6,47	8,06
18 $\alpha$ -Terpinene	0,04	0,06	0,16	0,1
24 Methyl salicylate	-	-	-	0,14
28 Benzaldehyde	0,73	0,62	0,34	0,36
31 $\alpha$ -Terpinolene	-	-	0,09	0,02
35 Sabinene	-	2,23	2,44	3,2
40 $\gamma$ -Terpinene	0,15	0,08	0,14	0,21
42 (E)- $\beta$ -Ocimene	0,19	-	-	-
47 $\alpha$ -Tolualdehyde	0,27	0,26	-	-
50 Esdragole	0,2	0,1	0,37	-
52 Safranal	0,15	0,13	0,15	-
55 $\alpha$ -Cubebene	0,19	0,13	-	-
64 Ylangene	0,04	0,03	0,06	0,02
76 Eremophilene	0,09	0,08	0,07	0,06
90 Docosane	-		0,03	0,03
80 $\beta$ -Elemene	1,16	0,74	0,65	0,88
95 2-isopropyl-5-methyl-9-methylene	-	0,18	0,54	0,15
96 Germacrene D	1,72	1,11		0,44
102 Caryophyllene	0,17	0,13	0,12	0,12
104 $\beta$ -Cubebene	0,7	0,04	0,84	0,78
110 Nepetalactone	61,6	60,6	63,1	62,3
111 Epi-Bicyclosesquiphellandrene	0,66	0,35	0,29	0,73
112 $\delta$ -Cadinene	0,77	0,69	0,52	0,56
113 $\gamma$ -Muurolene	0,73	0,5	0,21	-
115 $\gamma$ -Cadinene	-	0,36	0,78	-
121 Calamenene	0,13	0,14	0,09	0,08
122 $\alpha$ -Muurolene	0,24	0,23	0,17	0,16
124 $\alpha$ -Calacorene	0,18	-	0,11	0,09
139 Megastigmatrienone	0,1	0,22		
149 Cadalin	0,03	0,03	0,02	
150 Hexahydrofarnesyl Acetone	0,06	-	0,03	
151 Mintsulfide	0,05	0,04	0,02	0,02
153 Plasthall BSA	0,04	0,03	0,03	0,02