

**BAZI ÇİLEK ÇEŞİTLERİNDE KURAKLIK STRESİ İLE
GERİ KAZANIM UYGULAMALARININ FİZYOLOJİK
ETKİLERİ**

Cem ÇETİNKAYA



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI ÇİLEK ÇEŞİTLERİNDE KURAKLIK STRESİ İLE GERİ KAZANIM
UYGULAMALARININ FİZYOLOJİK ETKİLERİ**

Cem ÇETİNKAYA

Prof. Dr. Hatice GÜLEN
(Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

BURSA - 2013

Her Hakkı Saklıdır

TEZ ONAYI

Cem ÇETİNKAYA tarafından hazırlanan “Bazı Çilek Çeşitlerinde Kuraklık Stresi İle Geri Kazanım Uygulamalarının Fizyolojik Etkileri” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Hatice GÜLEN

Başkan : Prof. Dr. Hatice GÜLEN
Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi,
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

İmza

Üye : Prof. Dr. Vedat ŞENİZ
Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi,
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

İmza

Üye : Prof. Dr. Uğur BİLGİLİ
Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi,
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

İmza

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Kadri ARSLAN
Enstitü Müdürü
.../.../2013

U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

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

beyan ederim

03/04/2013

İmza

Cem ÇETİNKAYA

ÖZET
Yüksek Lisans Tezi

**BAZI ÇİLEK ÇEŞİTLERİNDE KURAKLIK STRESİ İLE GERİ KAZANIM
UYGULAMALARININ FİZYOLOJİK ETKİLERİ**

Cem ÇETİNKAYA

Uludağ Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Hatice GÜLEN

Son yıllarda etkisi gittikçe artan küresel ısınma, yüksek sıcaklık ve buna bağlı olarak ortaya çıkan kuraklık ile önemini arttırmaktadır. Bu nedenle bitki yetiştiriciliğinde bu faktörlerin etkilerinin türler hatta çeşitler bazında araştırılması gerekliliği ortaya çıkmıştır. Bu tezde önceki çalışmalarla, yüksek sıcaklığa toleranslı (Redlands Hope ve Camarosa) ve hassas olduğu belirlenen (Festival ve CG3) çilek çeşitlerinde kuraklık ve bunu takiben geri kazanım uygulamalarının fizyolojik ve moleküler etkileri araştırılmıştır. Çilek çeşitlerinin frigo fideleri 8 hafta boyunca (5-6 yapraklı oluncaya kadar) serada yetiştirildikten sonra, yapay kuraklık koşulları oluşturmak amacıyla bitkiler 15 gün boyunca % 10'luk Polietilenglikol 6000 (PEG) ile sulanmıştır. Daha sonra bitkilere iki hafta boyunca PEG'siz sulama suyu verilerek geri kazanım aşaması gözlenmiştir. PEG ve geri kazanım aşamalarının sonunda bitkilerden alınan yaprak örneklerinde yaprak oransal su kapsamı (YOSK), turgor kaybı (TK), klorofil miktarı (KM), askorbat peroksidaz (APX), glutatyon redüktaz (GR) aktiviteleri ve hücrel membran zararlanma oranı saptanmıştır.

YOSK tüm çeşitlerde PEG uygulamasının ardından gerilerken geri kazanım aşaması ile beraber tekrar artış göstermiştir. TK sonuçlarına göre, tüm çeşitlerde PEG uygulaması ile birlikte TK'nda artış belirlenirken geri kazanım aşamasının ardından TK'nda bir gerileme gözlenmiştir. PEG uygulamasının ardından KM tüm çeşitlerde kontrole göre artmıştır ve geri kazanım ile birlikte kontrol örneklerinden daha düşük seviyede olduğu belirlenmiştir. APX aktivitesi Camarosa ve R.Hope çeşitlerinde PEG uygulamasının ardından kontrole göre artış gösterirken geri kazanım aşamasında kontrolden daha düşük seviyeye gerilemiştir. Aksi şekilde CG-3 ve Festival çeşitlerinde ise kontrole göre PEG uygulamasının ardından azalan (CG-3) ve aynı kalan (Festival) GR aktivitesi Geri kazanım aşamasında kontrolden yüksek seviyeye gelmiştir. Camarosa ve R. Hope çeşitlerinde PEG uygulaması ile birlikte GR aktivitesinde artış belirlenirken CG-3 ve Festival çeşitlerinde bir değişim belirlenmemiştir. PEG uygulamasına bağlı olarak kontrol grubuna göre tüm çeşitlerde hücrel membran zararlanmasının arttığı görülmüştür. Çalışmadan elde edilen tüm sonuçlar değerlendirildiğinde 4 çilek çeşidinin bilinen yüksek sıcaklığa toleransları ile kuraklığa toleransları arasında paralellik olduğu tespit edilmiştir. Çeşitlerin kuraklığa toleransında ise artan APX ve GR enzimlerinin önemli rol oynadığı belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Çilek, (*Fragaria x ananassa*), kuraklık, polietilenglikol (PEG), geri kazanım.

2013, vii + 45 sayfa

ABSTRACT
MSc Thesis

**PHYSIOLOGICAL EFFECTS OF DROUGHT AND RECOVERY
TREATMENTS IN SOME STRAWBERRY CULTIVARS**

Cem ÇETİNKAYA

UludagUniversity

Graduate School of Natural andAppliedSciences

Department of Horticulture

Supervisor: Prof. Dr. Hatice GÜLEN

In recent years, global warming is getting increased its effects especially as high temperature and drought. Therefore, the effect of these factors needs to be investigated on the basis of species even varieties of plants. In this regard, strawberry (*Fragaria x ananassa*) cultivars that are tolerant and sensitive to high temperature were indicated by our previous works. In this thesis, molecular effects of drought and recovery treatments were examined in high temperature tolerant (Redlands Hope and Camarosa) and sensitive (Festival and CG3) strawberry cultivars. After frigo seedlings of strawberry cultivars were grown in greenhouse for 8 weeks (until they had 5-6 leaves), 10% Polyethyleneglycol 6000 (PEG) was used in order to compose drought condition. Following the PEG treatments, plants were watered without PEG to observe recovery stage. Leaf relative water content (LRWC), loss of turgidity (LT), chlorophyll content (CC), ascorbate peroxidase (APX) and glutathione reductase (GR) activities and cell membrane injury were measured in the leaves collected from the plants in each sample. LRWC is declined in all cultivars after PEG application and rise again with recovery stage. According to LT results, an increase is determined with PEG application and decrease is observed after recovery stage in all cultivars. CC is increased in all cultivars with the PEG application and determined that lower than the control level after recovery stage. APX activity is increased after PEG treatment with regard to control in R. Hope and Camarosa cultivars and decreased in recovery stage. Adversely, APX activity is decreased (CG-3) and stayed about the same level (Festival) after PEG treatment according to control in cultivars. An increase is observed in GR activity with the PEG treatment in Camarosa and R. Hope cultivars and no difference is determined in CG-3 and Festival cultivars. Depending on PEG treatment cell membrane injury is found higher than control samples in all cultivars. Data indicated a positive relationship between high temperature and drought tolerance of the cultivars. In addition APX and GR had important role in drought tolerance of the cultivars.

Keywords: Strawberry, (*Fragaria x ananassa*), drought, poliethyleneglycol (PEG), recovery.

2013, vii + 45 pages

TEŞEKKÜR

Yüksek lisansım süresince bu konuda çalışmam için beni yönlendiren, tez çalışmam boyunca bilgi ve tecrübesini esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Hatice GÜLEN' e teşekkür ederim. Benden hem maddi hem de manevi desteğini esirgemeyen aileme ve eşime teşekkür ederim. Gerek laboratuvar çalışmalarım gerekse de yazım aşamasında benden yardım ve tecrübelerini eksik etmeyen Yard. Doç. Dr. Sergül ERGİN ve Araş. Gör. Müge ZENGİN'e teşekkürü bir borç bilirim. Tezin deneme aşamasında yardım aldığım sera personeline teşekkür ederim. Çalışma materyali olarak kullanılan çilek fidelerini temin eden YALTIR A.Ő. (Adana)'ye teşekkür ederim. Çalışmada kullanılan Actagro 7-7-7 besin solüsyonunu temin eden Hekimoğlu Sözmen Ltd. Őti. (Mersin)' ne teşekkür ederim.

Cem Çetinkaya
05/02/2012

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	4
2.1. Kuraklık Stresinin Mekanizması.....	4
2.2. Bitkilerde Kuraklıkla İlgili Çalışmalar.....	8
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	17
3.1. Materyal.....	17
3.2. Yöntem.....	18
3.2.1 Kuraklık ve Geri Kazanım Uygulamaları.....	18
3.2.1.1. Yaprak Oransal Su Kapsamı (YOSK) ve Turgor Kaybı (TK).....	19
3.2.1.2. Klorofil Miktarı (KM).....	20
3.2.1.3. Askorbat Peroksidaz (APX, EC.1.11.1.11) Enzim Aktivitesi.....	20
3.2.1.4. Glutasyon Redüktaz (GR, EC 1.6.4.2) Enzim Aktivitesi.....	21
3.2.1.5. Enzimlerde Toplam Protein Miktarının Tespiti.....	22
3.2.1.6. Hücre Membran Zarının Tespiti.....	23
3.3. Sonuçların Değerlendirilmesi.....	24
4. BULGULAR.....	25
4.1. YOSK ve TK.....	25
4.2. Klorofil Miktarı.....	27
4.3. APX Enzim Aktivitesi.....	28
4.4. GR Enzim Aktivitesi.....	30
4.5. Hücre Membran Zararlanma Oranı.....	32
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	34
KAYNAKLAR.....	38
ÖZGEÇMİŞ.....	45

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

M	Molar
μ l	Mikrolitre
μ mol	Mikromol
ml	Mililitre
nm	Nanometre
mM	Milimolar
mg	Miligram
g/L	Gram / Litre
MPa	Megapascal
Nmol	Nanomol
cm	Santimetre

Açıklama

Kısaltmalar

pH	Hidrojen Gücü
N	Azot
P	Fosfor
K	Potasyum
Ca	Kalsiyum
Mg	Magnezyum
Fe	Demir
Zn	Çinko
Mn	Manganez
B	Bor
Pn	Net Fotosentez
g_s	Stoma İletkenliği
Tr	Transpirasyon
GB	Prolin
PSI	Fotosistem I
PSII	Fotosistem II
OH	Hidroksit İyonu
TUİK	Türkiye İstatistik Kurumu
IPCC	Intergovernmental Panel on Climate Change (Devletlerarası İklim Değişikliği Paneli)
PEG	Polietilen Glikol
DNA	Deoksiribonükleik Asit
RNA	Ribonükleik Asit
CO ₂	Karbondioksit
ABA	Absisik Asit
O ₂ -	Süperoksik Molekülü
*O	Singlet Oksijen
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
ER	Endoplazmik Retikulum
MDA	Malondialhedit
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleiotid Fosfat
EDTA	Etilendiamin Tetraasetik Asit

Açıklama

KH ₂ PO ₄	Potasyum Fosfat
GSSG	Okside Glutasyon
BSA	Bovine Serum Albumin
STD	Standart
dH ₂ O	Distile Su
SOD	Superoksit Dismutaz
CAT	Katalaz
POD	Peroksidaz
APX	Askorbat Peroksidaz
GR	Glutasyon Redüktaz
MDAR	Monodemonodehidroaskorbat Redüktaz
DHAR	Dehidroaskorbat Redüktaz
YOSK	Yaprak Oransal Su Kapsamı
TK	Turgor Kaybı
KM	Klorofil Miktarı
YA	Yaş Ağırlık
KA	Kuru Ağırlık
TA	Turgor Ağırlığı
DMF	Dimetil Formamid
PVP-40	Polyvinylpyrrolidone 40
O.D	Okuma Değeri
GSH	Glutasyon
KHI	Kuraklık Stabilite İndeksleri
NaCl	Sodyum Klorür
GE	Gaz Değişimi
TDC	Azalan Transpirasyon Eğrisi
WUE	Su Kullanım Etkinliği
CG3	Cal Giant-3

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfalar
Şekil 3.1. Deneme sırasında çilek çeşitlerine ait bitkilerin genel görünümü	18
Şekil 4.1. PEG ve geri kazanım uygulamalarına bağlı olarak çilek çeşitlerinin yaprak oransal su kapsamındaki (YOSK) değişimi.....	25
Şekil 4.2. PEG uygulaması ve geri kazanım aşamasına bağlı olarak çilekçeşitlerinin turgor kaybı (TK) değişimi.....	26
Şekil 4.3. PEG uygulaması ve geri kazanım aşamasına bağlı olarak çilekçeşitlerinin klorofil miktarı (KM) değişimi.....	27
Şekil 4.4. PEG uygulamasına ve geri kazanım aşamasına bağlı olarak çilek çeşitlerinin askorbat peroksidaz (APX) enzim aktivitesi ($\mu\text{mol/gTA}$).....	28
Şekil 4.5. PEG uygulaması ve geri kazanım aşamalarına bağlı olarak çilek çeşitlerinin spesifikaskorbatperoksidaz (APX) enzim aktivitesi ($\mu\text{mol/mg prot.}$).....	29
Şekil 4.6. PEG uygulamasına ve geri kazanım aşamasına bağlı olarak çilek çeşitlerinin glutatyon redüktaz (GR) enzim aktivitesi ($\mu\text{mol/gTA}$).....	30
Şekil 4.7. PEG uygulaması ve geri kazanım aşamalarına bağlı olarak çilek çeşitlerinin spesifikglutatyonredüktaz (GR) enzim aktivitesi ($\mu\text{mol/mg prot.}$).....	31
Şekil 4.8. PEG uygulaması ve geri kazanım aşamalarına bağlı olarak çilekçeşitlerinin hücre membran zararlanma oranları.....	32
Şekil 4.9.a) Camarosa b) R. Hope c) Festival d) CG-3 çeşitlerine ait yaprak örneklerinde sırasıyla kontrol, PEG uygulaması ve geri kazanım aşamasının yapraklardaki etkileri.....	33

1. GİRİŞ

Stres, fiziksel olarak birim alanda bir cisme uygulanan kuvvet olarak ifade edilir. Ancak, biyolojik stres kuvvetinin hesaplanması oldukça zordur. Çünkü biyolojik koşullar bir bitki türünde stres nedeni iken, farklı bir tür için normal olabilmektedir (Mahajan ve Tuteja, 2005). Pratik olarak biyolojik stres, karşı bir kuvvet olup, bitkilerin biyolojik işlevlerini yerine getirememesi ve sistemlerinin bozulması olarak tanımlanabilir (Jones, 1990). Hale ve Orcutt (1987) ise stresi, çevresel ya da biyolojik faktörlerin etkisiyle bitkilerde fizyolojik olarak oluşan anormal değişimler olarak tarif etmişlerdir. Bitkiler yaşamları boyunca birçok stres faktörü ile karşılaşmakta olup Levitt (1980)'e göre bu faktörler abiyotik (kuraklık, tuzluluk, radyasyon, yüksek sıcaklık, don vb.) ve biyotik (patojen, diğer organizmalarla rekabet vb.) olarak iki farklı grupta incelenmektedir. Bu stres faktörleri bitkilerin biyosentetik kapasitelerini azaltıp, normal fonksiyonlarını değiştirerek, bitkide ölüme yol açacak zararlara neden olabilmektedir (Kalefetoğlu ve Ekmekçi, 2005). Abiyotik stres, çevresel faktörlerin bozulmasıyla yetiştiricilik açısından önemli tehditler içermekte olup, bitkilerde morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler yönde olumsuz değişiklikler yaratarak (Wang 2001a), dünyadaki ürün kaybının ve verim düşüklüğünün %50'den daha fazla olmasına sebep olmaktadır (Wang ve ark., 2003).

Kuraklık, genel anlamda meteorolojik bir olgu olup toprağın su içeriği ile bitki gelişiminde gözle görülür azalmaya ve su azlığından sıkıntı yaşayacak miktara gelinceye kadar yağışın olmadığı periyot olarak tanımlanmaktadır (Özcan ve ark., 2004). Ayrıca kuraklık, dünyada abiyotik stres grubu içinde bitki büyümesini ve verimi etkileyen en önemli çevresel stres faktörlerinden biri olup (Glombitza ve ark., 2004), son yıllardaki iklim değişiklikleri bu durumu daha ciddi bir boyuta taşımaktadır (Wang ve ark., 2003). Küresel anlamda ise kuraklık stresi, yüksek sıcaklık ve radyasyon ile birlikte bitki ömrünü ve ürün yetiştiriciliğini önemli ölçüde kısıtlamaktadır (Chaves ve ark. 2003). Küresel ısınma ile birlikte iklim değişikliğinin ve yağışların azalmasıyla su rezervlerinin yetersiz kalması, kuraklık ve çölleşme riski ile beraber, yakın gelecekte Türkiye'nin risk oluşturan ülkeler arasında yer almasına neden olmaktadır.

TUIK'in 2010 yılı aralık ayı bitkisel üretim tahmininde bir önceki yıla göre tahıllarda %3.4, sebze ürünlerinde %2.6 ve meyve ürünlerinde %0.8 oranında azalma kaydedilmiştir. IPCC ([Intergovernmental Panel on Climate Change](#))'nin 2007'de yayınladığı iklim değişikliği raporuna göre her on yılda bir 0.3°C, 2100 yılına kadar ise 1.8°C ile 4.5°C arasında sıcaklık artışı öngörülmektedir. Bu durum, gelecekte kuraklığın tarımsal üretimde daha ciddi tehditler oluşturacağına işaret etmektedir.

Bitkiler kuraklık stresine; morfolojik, biyokimyasal ve metabolik süreçlerde gösterdikleri değişim ile cevap vermektedirler (Romo ve ark., 2001). Bunun sonucunda, su azlığına maruz kalan bitkiler diğer biyotik ve abiyotik stresler karşısında daha hassas olmaktadır (Caruso ve ark., 2008). Doğada kuraklık, her ne kadar çevresel faktörlerin bileşimiyle oluşsa da, mekanizma çalışmalarında kuraklığın fizyolojik etkilerini anlayabilmek için kontrollü koşullarda yapılan denemelerde polietilen glikol (PEG) gibi geçirimsiz bir ozmotik sınırlandırıcı kullanılabilir. Su azlığında bitkiler, birçok fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler cevabı teşvik etmekte ve buna bağlı olarak sınırlı çevresel koşullara adapte olmayı sağlayacak tolerans mekanizmaları geliştirebilmektedirler (Arora ve ark., 2002). Stres toleransı; bitkilerin olumsuz çevre şartlarına karşı yaşamlarını idame ettirebilme kabiliyetidir. Bitkiler kuraklık stresine karşı, ya stresten kaçınarak ya da stres toleransı geliştirerek, iki yönlü savunma mekanizması oluştururlar (Mundree ve ark., 2002). Kuraklık toleransı türe hatta çeşide özeldir ve bitkilerin toleranslarının belirlenmesi açısından stresten kaçınma yeteneklerinin saptanması büyük önem taşımaktadır (Özcan ve ark., 2004). Kuraklığın mekanik anlamda yarattığı zarara karşı oluşturulan tolerans mekanizmalarının yanı sıra bitkiler oksidatif strese karşı da çeşitli enzimatik savunma sistemleri geliştirmişlerdir (Bian ve Jiang, 2009). Bitkilerde yüksek orandaki antioksidatif enzim aktivitesi, kuraklığa karşı toleransta oksidatif zararı önemli ölçüde azaltmaktadır (Sharma ve Dubey., 2005; Türkan ve ark., 2005). Fakat kuraklık sırasında üretilen bu antioksidant enzimlerin aktivitesi bitki türüne, çeşidine, stres yoğunluğu ve süresine göre değişmektedir (Bian ve Jiang, 2009).

Geniş alanda yetiştiriciliği yapılan ve bu nedenle birçok strese maruz kalan çilek bitkisi, *Rosaceae* familyası ve *Fragaria* türüne bağlı, stolon üreten, doğal antioksidan içeriği bakımından oldukça zengin, çok yıllık üzüksü bir meyvedir (Gerdakaneh ve ark., 2010). Kuraklık stresinin, yüzeysel kök sistemi, geniş yaprak alanı ve sulu bir meyveye sahip olan çilek bitkisi üzerinde büyüme ve verim açısından önemli etkisi bulunmaktadır (Klamkowski ve Treder, 2006). Ülkemiz, 2000’li yılların başında çilek üretimi bakımından dünyada 8.sırada (130 - 150.000 ton) yer alırken, 2010 yılında 299.940 tona ulaşarak, A.B.D.’nin ardından (1.292.780 ton) ikinci sırada yer almıştır (<http://faostat.fao.org>, 2010). Ülkemizi 275.300 tonluk üretimi ile İspanya takip etmektedir. Ülkemizde çilek üretiminin %59’unu Akdeniz, %19’unu Ege ve % 14’ünü Marmara Bölgesi karşılamaktadır (<http://tuik.gov.tr>, 2010).

Çilek, üretimi yaygın bir meyve olmasına rağmen, genotiplerin kuraklığa karşı morfo-fizyolojik davranışları hakkında yeterli bilgi mevcut değildir (Klamkowski ve Treder, 2008). Gelecekte tarımsal üretim için potansiyel bir tehlike olarak görülen ve etkisini gün geçtikçe artarak hissettiğimiz küresel ısınma, var olan kültür çeşitlerinin kuraklığa toleranslarının belirlenmesini ve kuraklığa toleranslı yeni genotiplerin yetiştirilmesini zorunlu kılacaktır. Bu çalışmada, daha önceki çalışmalarla (Gülen ve ark., 2007; Kesici, 2009) yüksek sıcaklığa hassas (CG3, Festival) ve tolerant olarak belirlenen (Redlands Hope, Camarosa) 4 çilek çeşidinin kuraklık stresi ve geri kazanımın sırasında oluşabilecek tepkilerinin fizyolojik ve biyokimyasal parametreler kullanılarak incelenmesi hedeflenmiştir. Ayrıca çilek bitkisinde yüksek sıcaklığa tolerans ile kuraklığa tolerans arasında doğrusal bir ilişki olup olmadığı da bu çalışma kapsamında değerlendirilecektir. Bu sayede, çilek bitkisinde kuraklık stresi zararı ve geri kazanım mekanizması hakkında ileride yapılacak daha detaylı moleküler çalışmalara zemin oluşturulması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Kuraklık Stresinin Mekanizması

Kuraklık stresi üretimi sınırlandıran en önemli abiyotik streslerden biridir (Reddy ve ark., 2004; Jaleel ve ark., 2007). Genel anlamda su stresi bitkilerde büyüme ve verim, bitkinin vegetatif ve generatif organları arasında su rekabeti, hücre içi yapılar, fotosentez ve azot metabolizması üzerine olumsuz etkilerde bulunarak bitki metabolizmasını bozmaktadır (Kocaçalışkan, 2003). Smirnoff (1993), kuraklığı genel olarak su noksanlığı ve kuruma olarak iki tipe ayırmıştır. Buna göre; su noksanlığı, stomalarda kapanmaya ve gaz değişiminde kısıtlamaya neden olan orta düzeydeki su kaybıdır. Oransal su kapsamının yaklaşık % 70'te kaldığı hafif su noksanlığına maruz kalan bitkilerde stomaların kapanmasına bağlı olarak karbondioksit alımı kısıtlanmaktadır. Kuruma ise, metabolizma ve hücre yapısının tamamen bozulmasına ve sonunda enzimle katalizlenen reaksiyonların durmasına neden olabilecek potansiyele sahip olan aşırı miktardaki su kaybı olarak tanımlanmaktadır. Genel bir kural olarak, kurumaya duyarlı vasküler bitkilerin çoğunda vejetatif doku, %30'un altındaki oransal su kapsamında iyileşme sürecine girmemektedir.

Yaprak oransal su kapsamı ve turgor kaybı, bitkinin su dengesini belirlemede önemli bir göstergedir. Çünkü bitkinin tam doyumluğa ulaşabilmesi için gerekli olan net ve kaybedilen su miktarını ifade eder (Gonzalez ve Gonzalez-Vilar, 2001).

Kuraklık stresinin bitkilerdeki etkileri mekanik, metabolik ve oksidatif olarak gruplandırılabilir. Mekanik etki, hücrelerden belirgin su yitimi gerçekleştiği zaman bitkide turgor kaybıyla kendini gösteren birincil streştir (Levitt 1980). Plazma membranının yapısı hücredeki sulu ortamın bir sonucudur; bu yapı membrandaki hidrofobik fosfolipid kuyrukların su tarafından itilmesi ile oluşur (Sıvı-katı faz). Hücreden su kaybıyla beraber, membran yapısı değişikliğe uğrar; fosfolipidlerin hidrofobik baş kısımları birbirine yaklaşır ve membranlar kompakt bir görünüm alır (Jel fazı). Bu yeni yapıda membran lipidleri sıvı-katı fazında olduğundan daha az kinetik enerji ile lateral ve rotasyonel harekete sahiptir. Su kaybına bağlı olarak hücrede hacim

de azalır ve plazma membranı hücre duvarından ayrılarak yalnız plazmodezmler aracılığıyla ilişkisini sürdürür (plazmoliz). Gerilim altındaki plazma membranı ve tonoplastta gerçekleşen çökme, yırtılmalara yol açabilir (McKersie ve Leshem 1994). Bu durum, zarlar üzerinde yerleşmiş olan hidrolitik enzimlerin serbest kalması ve dolayısıyla sitoplazmanın otoliziyle sonuçlanabilir. Bu zarar, normal hücrel metabolizmayı genelde kalıcı olarak bozar (Salisbury ve Ross 1992). Su kaybıyla hücre özsu konsantrasyonu artar böylece protoplazmada artan bir dehidrasyona neden olur. Hücrenin ozmotik su kaybıyla, protoplast hücre çeperinden ayrılır. Stres altındaki plazma membranda gerçekleşen çökme yırtılmalara, zarlar üzerine yerleşmiş olan hidrolitik enzimlerin serbest kalmasıyla sitoplazmanın zararlanmasına neden olur. Bu zarar, normal hücrel metabolizmayı genelde kalıcı olarak bozar. Oluşan bu etki sonucunda büyümede yavaşlama ve turgorda azalma meydana gelmektedir (Özcan ve ark., 2004; Kalefetoğlu ve Ekmekçi, 2005).

Metabolik etki, hücre içeriğinin büyük bir kısmını oluşturması, taşıyıcı olması, hücrel reaksiyonlar ve işlevler için çözücü rolü oynaması gibi fonksiyonel özelliklerinden dolayı suyun, hücreden kaybı durumunda, normal regülasyonun devam edememesi ve metabolizmanın bozulması şeklinde kendini göstermektedir. Su kaybına bağlı olarak gerçekleşen iyon-birikimi, membran bütünlüğünün ve proteinlerin yapısının bozulmasına yol açarak hücreye zarar verebilir. Su kaybı sonucunda; proteinlerin yapısında bulunan hidrofobik ve hidrofilik amino asitlerin su ile etkileşimleri bozulur (Campbell 1991) ve bu durum da protein denatürasyonlarına ve enzim inhibisyonlarına neden olur (Bray 1997). Kuraklık stresi sırasındaki hasarda bir başka faktör, DNA ve RNA gibi nükleik asitlerin degradasyonudur. Kessler (1961)'e göre, kuraklık stresine maruz kalmış olan yapraklarda RNAaz aktivitesi artmakta ve bu da enzimin bağlı durumdan serbest duruma geçmesinden kaynaklanmaktadır. Nükleik asitlerin yıkımından sorumlu diğer moleküller ise serbest radikallerin olabileceği bildirilmektedir (Kalefetoğlu ve Ekmekçi, 2005). Kuraklık stresinde oluşan metabolik etkilerden birisi de fotosentetik aktivitede görülen aksaklıklardır. Kuraklık stresi altında fotosentezdeki ilk azalma stomaların kapanması ve CO₂ absorpsiyonunun azalmasıyla ortaya çıkar. Bitki, su kaybını önlemek amacıyla stomalarını kapadığında fotosentez için gerekli CO₂'nin alımı da önlenmiş olur (Çırak ve Esendal, 2003). Teiz ve Zeiger (1998),

bitkilerin hidrolik sinyaller (yaprak su potansiyeli, hücre turgoru) ve kimyasal sinyaller (absisik asit-ABA) nedeniyle stomalarını kapattığını ifade etmektedirler. Köklerde sentezlenen ve transprasyon sırasında bekçi hücrelerine taşınan ABA, bekçi hücrelerindeki hipotetik ABA reseptörüne bağlanarak, kuraklık stresi koşullarında stomaların kapanmasına ve fotosentezin engellenmesine neden olmaktadır (Teiz ve Zeiger 1998).

Oksidatif etki ise, serbest radikallerin, özellikle aktif oksijen türlerinin [süperoksit molekülü (O_2^-), singlet oksijen ($*O$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikallerini ($OH\cdot$)] oluşumunu içermektedir. Serbest radikaller, eşleşmemiş elektron içeren moleküller olup oldukça reaktiftirler. Bu radikaller; plazma membranı, mitokondri, ER membranlarında da oluşabilmektedir (McKersie ve ark. 1994). Bununla beraber, suyun kısıtlı olduğu periyotlarda, vejetatif bitki dokularında oksidatif stresin en yaygın nedeni kloroplastta gerçekleşen ışık-klorofil etkileşimleri diye düşünülmektedir (Farrant 2000). Su kısıtlı hale gelirken, bitki daha fazla su kaybetmemek için, genelde, stomalarını kapatır; bu da fotosentezle fiksasyon için gerekli CO_2 'nin alımının kısıtlanmasına neden olur. Bu durum; kuantum verimini azaltır ve fotosentetik aparatın reaksiyon merkezlerindeki eksitasyon enerjisinin aşırılığına neden olur (Stuhlfauth ve ark. 1990). Bu durumda; $NADP^+$ (fotosentezdeki e^- akseptörü) kısıtlı hale gelir ve ferrodoksin $NADP^+$ yerine oksijeni redükler; böylece, fotosistem I (PSI)'in elektronları O_2 'ye transferi sonucunda reaktif O_2^- radikali üretilir (Mehler reaksiyonu) (Tambussi ve ark. 2000). Birçok türde kuraklık stresi altında artan O_2^- oluşum hızı; lipid peroksidasyonuna, yağ asidi doymunluğuna ve sonuçta membranların bütünüyle zarar görmesine neden olur (Sgherry ve ark. 1996). Süperoksitin kendisi fazla reaktif değildir ve daha çok H_2O_2 ve daha sonra $OH\cdot$ oluşturmak suretiyle etkili olur (Halliwell ve Gutteridge 1989). Hidrojen peroksit Calvin döngüsünün birçok enziminin inaktivasyonuna yol açmaktadır (Charles ve Halliwell 1980, Kaiser 1979). Süperoksit ve hidrojen peroksitin $OH\cdot$ radikalini oluşturmak üzere tepkimesi sırasında (Haber-Weiss reaksiyonu), artan demir ya da bakır gibi diğer geçiş metalleri, bu reaksiyonları hızlandırmak suretiyle oksidatif hasarı daha da arttırabilir (Fenton reaksiyonu) (Smirnoff 1993). Bunların yanı sıra, fotosistem II (PS II)'deki suyu parçalayan bölgede de serbest radikal oluşabilir. Bitkilerde, oksidatif zararın yol açtığı yıkıcı etkilerle

mücadele etmek için; yağda çözünen ve membrana bağlı antioksidantlar [doğrudan lipid peroksidasyonunun serbest radikallerini (triplet klorofil ve O₂) gideren α - tokoferol, β - karoten], suda çözünen antioksidantlar [O₂- ve H₂O₂'nin detoksifikasyonunda rol oynayan glutatyon ve askorbat] ve enzimatik antioksidantlar [süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), peroksidaz (POD), askorbat peroksidaz (APX) ve glutatyon redüktaz (GR)]'dan oluşan karmaşık bir antioksidant koruyucu sistemine sahiptir.

Kuraklık stresine maruz kalan bitkiler antioksidant savunma sistemlerin bazılarının ya da tamamının aktivasyonu ile oksidatif stresin üstesinden gelebilirler (Jung 2004, Srivalli ve ark. 2003, Ramachandra-Reddy ve ark. 2004, Pinheiro ve ark. 2004). Bununla beraber, uzun süreli ve akut; hatta bazen kısa süreli stres durumunda bile, savunma mekanizmalarının kapasiteleri aşılır ve bu durum, gözle görülür zararlara ve hatta bitki ölümüne neden olabilir (Alexieva ve ark. 2003).

Diğer stres faktörlerinde olabildiği gibi bitkiler, kuraklık stresi koşullarında tolerans geliştirebilmektedirler. Kuraklık stresi bitkilerde sınırlı çevresel koşullara adapte olmayı sağlayacak birçok fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler cevabı indüklemektedir (Arora ve ark. 2002). Vejetatif dokularda kuraklık stresine karşı geliştirilen iki ana savunma mekanizması stresten kaçınma ve stres toleransıdır (Mundree ve ark. 2002). Stresten kaçınma mekanizmalarından ilki efemerlerde görülen kaçıştır. Çöl efemeri kurak mevsim sırasında yalnızca dormant tohumlar olarak varlık göstermek suretiyle kuraklıktan kaçan tek yıllık bitkilerdir. Protoplazmaları hiçbir zaman şiddetli negatif su potansiyellerine maruz kalmaz. Diğer bir kaçınma mekanizması ise sukkulent bitkilerde görülür. Bu bitkiler, kuraklığa karşı, sukkulent dokularında su depolayarak direnir ve su kayıp oranlarının son derece düşük olmasından dolayı nem almaksızın uzun periyotlarda canlılıklarını sürdürebilirler (Salisbury ve Ross 1992). Protoplazmaları aşırı derecede negatif su potansiyellerine maruz kalmadığından gerçek anlamda kuraklığa-toleranslı değildir. Çöl herdem yeşil bitkileri ise su noksanlığı boyunca dokularındaki turgoru sürdürmek için osmotik koruyucular sentezleyerek kuraklıktan kaçınırlar (Mundree ve ark. 2002). Stresten kaçınan bitkiler yalnızca orta şiddetteki kuraklık stresi durumunda hayatta kalırken strese toleranslı bitki grupları ise koruyucu mekanizmalarını çalıştırmak suretiyle çok daha şiddetli kuraklık stresi durumunda

hayatta kalabilirler. Kurumaya-toleranslı olan bitki grupları içerisinde yer alan bitkilerde, suyun kısıtlı olduğu periyotlarda vejetatif dokulardaki bağıl su içeriğinin %5'ine kadar kaybedilebildiği ve suyun yeniden alınabilir olması durumunda rehidrasyonun gerçekleşebildiği oldukça farklı bir strateji izlenmektedir. Bu bitkilerin vejetatif dokuları ışık varlığında gerçekleşen aşırı kuraklıkla ilişkili streslerle mücadele edebilme yeteneğine sahiptir (Sherwin ve Farrant 1998). Fotooksidatif stresten kaçınmak için geliştirdikleri stratejiye göre bitkiler 2 gruba ayrılırlar:

1. Klorofil Alıkoyucu Bitkiler, kuruma sırasında klorofillerini alıkoyarlar.
2. Klorofil Kaybeden Bitkiler, tüm klorofillerini yıkarlar ve kloroplastların tilakoit membranlarını parçalarlar.

Böylece, kloroplastta serbest radikal oluşturan reaksiyonlar gerçekleşemezler. Suyun tekrar alınmasıyla beraber, fotosentetik aparat tekrar oluşur ve fotosentez yeniden başlar. Bunu başarmak için; bitki tarafından rehidrasyon sırasında onarım proteinleri sentezlenir. Kurumaya karşı duyarlı olan bitkilerde turgor kaybıyla beraber, hücre membranlarına ve hücre çeperine uygulanan mekanik basınç ortadan kalkar ve bunun sonucunda genellikle hücre çeperi çöküşü ve membran zararı gerçekleşir; bu zararlar geri dönüşümsüzdür yani onarılamaz (Willigen ve ark. 2002). Bununla beraber, klorofil alıkoyucu bitkilerde, hücre hacmindeki azalmayla ilişkili olan mekanik stres çeşitli koruma mekanizmaları aracılığıyla engellenir. (Farrant 2000, Vicre ve ark. 1999, Willigen ve ark. 2001, Mundree ve Farrant 2000). Bazı bitkilerde mezofil hücreleri, hücre duvarlarındaki katlanmayla ilişkili olarak hücre hacminde belirgin bir azalma gösterirken, bazı bitkilerde ise demet kını hücreleri, çok sayıda (küçük) vakuol oluşturmak suretiyle hücre hacminin değişmeden kalmasını sağlar. Bu vakuollerde su, prolin gibi osmotik düzenleyiciler aracılığıyla yeniden kazanılır (Farrant 2000, Mundree ve ark. 2002, Willigen ve ark. 2002).

2.2. Bitkilerde Kuraklıkla İlgili Çalışmalar

Kuraklıkla ilgili bazı kültür bitkilerinde yapılmış çalışmalar mevcut olmasına rağmen çilek bitkisinde sınırlı çalışmaların olduğunu görmekteyiz. Mevcut çalışmalar kronolojik sıraya göre aşağıda verilmiştir.

Çilek bitkisinde kuraklık ile ilgili çalışma 3 çilek çeşidini kapsamaktadır. Elsanta, Elkat, Salut çilek çeşitlerinin kuraklık stresine verim, morfolojik ve fizyolojik parametreleri açısından gösterdikleri reaksiyonun araştırıldığı çalışmada, bitkiler iki su rejimine (optimum sulama ve azaltılmış sulama) maruz bırakılmışlardır. 'Elsanta' çeşidi su kıtlığı koşullarında en yüksek oranda net fotosentez ve yüksek su kullanım etkinliği göstermiştir. Kuraklık stresi 3 çeşitte de yaprak alanını azaltmış, ancak kök gelişimi sadece 'Elkat' çeşidinde yavaş gerçekleşmiştir. Su noksanlığı altında 'Elsanta' en yüksek verimi verirken 'Elkat' in verimi en düşük olmuştur. İncelenen bu 3 çeşit arasında, hem büyüme hem de verim parametreleri bakımından, 'Elsanta' çeşidi kuraklığa en dayanıklı olarak ön plana çıkmıştır (Klamkowski ve Treder, 2008).

Kaynaş ve Eriş (1995), Nemaguard üzerine aşılı Independence, Nectared-4 ve Nectared-8 nektarin çeşitlerinin farklı kurak koşullarda gösterdikleri bazı biyokimyasal değişimlerini inceledikleri çalışmada, cam serada saksılar içinde bitkiler hava sıcaklığının en etkili olduğu döneme kadar faydalı su süzeyinde sulanmış, testin başlamasıyla faydalı suyun % 100, % 75, % 50 ve %25'i düzeyinde su verilmiştir. Deneme sonucunda suyun kısıtlanmasıyla yaprak klorofil-a, klorofil-b ve toplam klorofil miktarında azalmalar görülmüş olup en fazla klorofil azalması Nectared-8 çeşidinde olmuştur. Bitkilere verilen su miktarı azaldıkça genel olarak yaprak toplam şeker miktarında artış, toplam nişasta miktarında azalmalar görülmüştür. Yaprak absisik asit (ABA) miktarı ile bitkilere verilen su miktarı arasında ters bir ilişki saptanmıştır. Verilen su azaldıkça yaprak ABA miktarında artış olmuş, en fazla artış % 25 düzeyinde sulanan bitkilerde görülmüştür.

Farklı PEG (0, 30 ve 60 g/L) konsantrasyonlarında yetiştirilen pamuk bitkisinde artan PEG dozu ile sağlanan kuraklık stresinin bitki gelişimi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Bitkiler yaş ağırlık bakımından kontrol bitkilerine oranla % 27- 42 oranlarında kayıplar gösterirken, kuru ağırlık bakımından % 11-20 oranında bir azalma belirlenmiştir. Ayrıca nispi büyüme oranı, stoma geçirgenliğinde ve net fotosentez oranında da kontrol bitkilerine oranla kayıplar ortaya çıkmıştır (Fernández-Conde ve ark., 1998).

Alexieva ve ark. (2001), buğdayda 7 gün, bezelyede ise 10 gün süresince % 10 PEG 6000 uygulamasıyla oluşturulan kuraklık stresinde bitkilerde meydana gelen değişimleri incelemişlerdir. Her iki türde de yaş ve kuru ağırlıkta kontrol bitkilerine göre kayıplar gözlenirken, yaprak su içeriğinde de azalma meydana gelmiştir.

Riekert Van Heerden ve Krüger (2002), iki farklı soya fasulyesi çeşidinde (Maple Arrow ve Fiskeby V.) yaptıkları bir araştırmada bitkileri 9 gün süresince kuraklık stresi altında tutmuşlar ve yapraklarda APX ve GR enzim aktivitelerindeki değişimleri incelemişlerdir. APX aktivitesi MA çeşidinde ilk 3 gün herhangi bir değişim göstermezken, 6. günden itibaren artmaya başlamıştır. FK çeşidinde ise 3. günden itibaren artış devam etmiştir. GR enzim aktivitesi MA çeşidinde 6. Güne kadar artış gösterirken, 6. günden sonra azalmaya başlamış, FK çeşidinde ise 3. günden itibaren herhangi bir değişim gerçekleşmemiştir. Araştırmacılar APX ve GR enzim aktivitelerinin stres koşullarında değiştiğini ancak çeşitler arasında bu değişimin farklılıklar sergilediğini bildirmişlerdir.

Tsuji ve ark. (2003), yaptıkları bir çalışmada farklı sorgum çeşitlerinin kurak stresi sonucu tepkilerini incelemişlerdir. Gadambalia, Arous elRimal ve Tabat çeşitlerinin kullanıldığı çalışmada, bitki kuru ağırlıklarının kontrol bitkilerine oranla % 43-58 oranında, yaprak alanının ise % 28-64 oranında azaldığını bildirmişlerdir. Kuraklık stresinin uygulandığı çeşitlerde yaprak su potansiyeli ve yaprak su içeriği de strese bağlı olarak düşmüştür. Net fotosentez oranı, stoma geçirgenliği ve transpirasyon oranı tüm çeşitlerde azalırken, Tabat çeşidinde bu oranların diğer çeşitlere oranla daha fazla azaldığı belirlenmiştir. Araştırmacılar çalışma sonucunda yaprak fotosentez oranı ile biyomas arasında pozitif bir korelasyon olduğunu, kurak stresi karşısında çeşitlerin

farklı tepkiler verdiğini, Gadambalia çeşidinin diğer çeşitlere göre kuraklığa daha tolerant olduğunu bildirmişlerdir.

Jung (2004), dört hafta süresince yetiştirilen *Arabidopsis* bitkilerinin genç ve yaşlı yapraklarında klorofil ve antioksidan enzim aktivitelerinde (CAT, POD, SOD, GR) meydana gelen değişimleri incelemişlerdir. Çalışmada kontrol bitkileri tam sulama ile sulanırken, stres bitkilerinde sulama tamamen kesilmiştir. Bitkiler strese sokulduktan 7 gün sonra genç ve yaşlı yaprak olarak ayrılmış ve hasat edilmiştir. Klorofil a ve b içeriği genç yapraklarda herhangi bir değişim göstermezken, yaşlı yapraklarda % 24 oranında azalmıştır. POD, SOD ve GR enzim aktiviteleri sadece yapraklarda artış göstermiştir. CAT aktivitesi genç yapraklarda azalmış, yaşlı yapraklarda ise % 33 düzeyinde artmıştır. Çalışma sonucunda kuraklık stresinden yaşlı yaprakların daha fazla etkilendiği bu nedenle stresten korunmak için enzim aktivitelerini çalıştırdığı bildirilmiştir.

Sharma ve Dubey (2004), PEG 6000 koşullarında yetiştirdikleri çeltik bitkisinde, stres uygulamasından 24 saat sonra yapraklarda APX enzim aktivitesinin arttığını, APX'in H₂O₂'nin zararlı etkilerinin engellenmesinde önemli olduğunu bildirmişlerdir.

Anyia ve Herzog (2004), börülce genotiplerinde yaptıkları bir çalışmada kuraklık stresi sonucunda yaprak asimilasyon oranının % 75.5, transprasyon oranının % 57.9 ve stoma geçirgenliğinin % 83.3 oranında azaldığını bildirmişlerdir. Çalışmada azalan yaprak su potansiyeline bağlı olarak asimilasyon oranının azaldığı, bitki kuru ağırlıklarının ise genotiplere göre değişmekle birlikte % 11-50 oranında kayıplar gösterdiği bildirilmiştir.

Reddy ve ark. (2004), beş farklı dut çeşidinde yaptıkları bir araştırmada, kontrol bitkilerinde tam sulama gerçekleştirirken, stres bitkilerinde suyu keserek -2.5 MPa şiddetinde bir kuraklık stresine maruz bırakmışlardır. Stres sonucunda bitkileri değerlendiren araştırmacılar, tüm çeşitlerde değişen oranlarda SOD, CAT, APX, POD ve monodemonodehydroascorbate reductase (MDAR) enzim aktivitelerinde artış olduğunu, bu artışın S-13 çeşidinde daha belirgin gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Tolerant olduğu düşünülen çeşitlerde lipid peroksidasyon değerleri azalırken, prolin GB ve ABA içerikleri artış göstermiştir. Çalışma sonucunda çeşitlerin kuraklığa toleransının

belirlenmesinde enzim aktivitelerinde meydana gelen değişim oranlarının önemli bir seçim kriteri olabileceği bildirilmiştir.

Serada yapılan bir kuraklık çalışmasında, *Phaseolus vulgaris* ve *Sesbania aculeata* türleri kullanılmıştır. Kuraklık uygulamasında % 60 kısıtlı sulama, kontrol bitkilerinde ise % 100 tarla kapasitesinde sulama gerçekleştirilmiştir. Stres uygulamasından 45 gün sonra hasat edilen bitkilerde biyomas ölçümleri yapılmış, yapraklarda klorofil içeriği incelenmiştir. Her iki türde de gövde yaş ve kuru ağırlıkları, kök yaş ve kuru ağırlıkları, yaprak alanı ve gövde boyu kuraklık stresi sonucu kontrol bitkilerine oranla azalma göstermiştir. Araştırmacılar yapraklarda klorofil a ve b ile a/b oranlarının stres koşullarında kontrol bitkilerine göre önemli bir fark oluşturmadığını bildirmişlerdir (Ashraf ve Iram, 2005).

Türkan ve ark. (2005), PEG uygulaması ile oluşturdukları kuraklık stresi karşı iki fasulye türünün (*P. vulgaris* ve *P. acutifolius*) tepkilerini incelemişlerdir. 14 gün devam eden stres koşulları altında, *P. vulgaris* türünün kök ve gövde kuru ağırlık bakımından *P. acutifolius* türüne göre daha fazla etkilendiği, yaprak oransal su kapsamı (YOSK) ve stoma iletkenliği daha yüksek olan *P. acutifolius* türünün kuraklık stresi daha tolerant olduğunu bildirmişlerdir.

Sharma ve Dubey (2005)'in çeltik fidelerinde yaptıkları çalışmada, çeltik fideleri 10 ve 20 gün büyütölüp, in vitro koşullarda 24 saat süreyle -0,5 ve -2,0 MPa su uygulanarak kuraklık stresi sokulmuştur. Bunun sonucunda kontrol bitkilerine göre lipid peroksidasyonu artmış ve toplam çözünebilir proteinler azalmıştır. H₂O₂ ve askorbik asit stres koşullarında azalma gösterirken, glutatyon (GSH) şiddetli kuraklık stresinde azalma göstermiştir. Askorbatın rejenerasyonunda kullanılan monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR), dehidroaskorbat redüktaz (DHAR) ve glutatyon redüktaz (GR) miktarları stres altında kontrol bitkilerine göre daha yüksek olmuştur. Bu sonuçlar, kuraklık stresinin çeltik bitkilerinde oksidatif stresi teşvik ettiğini ve SOD ile birlikte askorbat-glutatyon döngüsünün henüz üzerinde çalışılmasa da kuraklık stresi karşı antioksidant savunma sisteminde önemli görevler üstlendiğini göstermektedir.

11 nohut (Menemen-92, Akçin, Aydın-92, İzmir-92, Kusmen,Canitez-97, Gokce , Sarı, Uzunlu-99, Er-99 ve ILC-95) ve 6 mercimek (Malazgirt-89, Ozbek, Fırat 87, Sazak 91, Emre 20 ve Kayı 91) çeşidinin kuraklığa tolerans mekanizmasının araştırıldığı çalışmada, bitkilerin kuraklık stabilite indeksleri (KHI) belirlenmiş ve KHI ile oksidatif strese göstermiş oldukları tepkiler veya tolerans mekanizmaları, H₂O₂ oluşumu, lipid peroksidasyonu ve buna bağlı olarak membranlarında oluşan zararlanmalar ve protein ve askorbik asit akümülyasyonu ile açıklanmıştır. Kuraklığa toleranslı çeşitlerin seçiminde kullanılan veya kullanma potansiyeli olan, stoma direnci, bitki sıcaklığı, klorofil oranı, nisbi nem içeriği, yaprak su tutma kapasitesi gibi fizyolojik parametreler belirlenmiştir. Ayrıca kuraklığa dayanıklı çeşitlerin beslenme (N, P, K, Ca, Mg, Fe, Zn, Mn ve B) performansları da belirlenmiş ve besin maddesi kullanım etkinliği ile kuraklığa tolerans arasında önemli ilişkiler saptanmıştır (Gunes ve ark., 2006).

Kuraklığa dayanıklı (C306) ve hassas (Moti) iki buğday çeşidinde yapılan araştırmada kuraklık stresine alıştırmamanın, tarla koşullarında kuraklığa dayanıklı çeşitlerde kuraklığa hassas çeşitlere nazaran daha fazla oksidatif stres toleransı oluşturduğu belirlenmiştir. Kurağa alıştırmış C306 bitkilerinde uygun YOSK ve düşük membran zararlanması görülmüştür. Bunun nedeni, kuraklığa alıştırmış C306 bitkilerinde, APX ve PRX enzimlerinin beslemesiyle H₂O₂ aktivitesindeki sistematik artış ve GR enziminin efektif çalışmasının sonucu askorbat ve glutatyon reaksiyonlarının onarımıdır. Aksine, hem kurağa alıştırmış hemde alıştırmamış olan Moti bitkilerinde turgor potansiyelinde kayıp görülmüş, yüksek H₂O₂ seviyesi ve antioksidant enzimlerin fakir oluşu, şiddetli su stresinde yüksek membran zararlanmasına sebep olmuştur. Bu nedenle de, bu çalışma göstermiş ki en azından bir kısımdaki kuraklığa toleranstaki genotipik farklılıklar, buğdayın su noksanlığı durumunda alışma kabiliyetine ve antioksidant savunmasını teşvik etmesine dayandırılmaktadır (Chopra ve Selote, 2007).

Şircelj ve ark. (2007), elma ağaçlarında (*Malus domestica* Borkh.) farklı seviyelerde kuraklık stresinin belirlenmesi ile ilgili yaptıkları çalışmada, kuraklık stresine en dayanıklı stres markırlarının seçiminde 'Jonagold Wilmuta' ve 'Elstar' çeşitlerini saksıda yetiştirmişlerdir. Biyokimyasal parametreler; askorbik asit, glutatyon, tokoferoller, klorofiller, karotenoidler, serbest amino asitler, çözülebilir karbonhidratlar

olup fizyolojik parametreler ise; gün doğmadan ve gün ortası yaprak su potansiyeli, net fotosentez (Pn), stoma iletkenliği (g_s), transpirasyon (Tr) ve hücrelerarası CO₂ konsantrasyonu değişik yoğunluklarda kuraklığa maruz bırakılmış elma ağaçlarının yapraklarında ölçülmüştür. Bu çalışma sonucunda zeaksantin ve glutatyon en iyi kuraklık stres markırları olarak belirlenmiştir. Askorbat ve sorbitol'un sadece orta şiddetli kuraklıkta güvenilir markırlar olduğu saptanmıştır. Diğer biyokimyasal parametrelerin rolü ise yeteri kadar güvenilir bulunmamıştır. Bu çalışma, düşük nispi hava neminin stoma iletkenliğini ve buna bağımlı diğer fizyolojik parametreleri etkilediği durumlarda, biyokimyasal markırların elma ağaçlarında kuraklık stresinin yoğunluğunu belirlemede daha etkili bir araç olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

Abdalla ve El-Khoshiban (2007), kuraklık stresinin buğdayda meydana getirdiği etkilerini araştırdıkları bir çalışmada, stres sonucu gövde boyunun % 43-58 azaldığını, yaş ağırlığın ise kontrol bitkilerine oranla kuraklığa hassas olan Fairy 8 çeşidinde % 85 oranında azaldığını belirlemişlerdir. Çalışmada kuru ağırlıkta stres sonucu kayıplar meydana geldiği belirtilirken yaprak oransal oransal su kapsamının kuraklığa hassas olan genotipte % 33, tolerant olanda ise % 28 düzeyinde azaldığını bildirmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar stres sonucu kök ağırlık ve sayısında da genotipler arasında kuraklığa tepki bakımından önemli farklılıklar oluştuğunu ifade etmişlerdir.

Karpuzda yapılan bir çalışma, şiddetli kuraklık stresi sonucu bitki bünyesinde K konsantrasyonunda azalma meydana geldiğini göstermiştir. Aynı çalışmada potasyumun, stomaların açılı kapanması, fotosentetik etki ve su dengesinin korunmasında etkili olduğu bildirilmiştir (Nasri ve ark., 2008).

Xu ve Zhou (2008), orta şiddette meydana gelen kuraklık stresi sonucu, stoma sayısının arttığını, ancak şiddetli kuraklık stresi karşısında stoma sayısının azalma eğilimi gösterdiğini bildirmişlerdir. Stoma boyutunun kuraklık stresinde azaldığını bildiren araştırmacılar, stoma sayısının stoma geçirgenliği, net CO₂ asimilasyonu ve su kullanım etkinliği ile pozitif ilişkili olduğunu ifade etmişlerdir.

Oliveira Neto ve ark. (2009), sorgumda kuraklık stresinin klorofil içeriğini olumsuz etkilediğini, bitkinin vegetatif döneminde kontrol bitkilerine oranla % 38 oranında azalma olduğunu, bitkinin yaşlı döneminde bu oranın % 62'yi bulduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar, fotosentetik pigmentlerin kuraklık stresinden olumsuz etkilenmesi sonucu klorofilin tüm bitki aşamasında azaldığını ifade etmişlerdir.

Sera koşullarında hıyarda yapılan bir çalışmada, su eksikliğinin verim üzerindeki etkileri incelenmiştir. Sera koşullarında yapılan çalışmada, bitkiler 4 farklı sulama düzeyinde (K1=100, K2=75, K3=50, K4=25, K5=0) sulanmıştır. Sulama seviyeleri verim, meyve uzunluğu ve çapı, meyve verimi ve kuru madde içeriğinde farklı etkiler oluşturmuştur. K1 seviyesinde en yüksek verim ve kalite sağlanırken, sulamanın tamamen kesildiği K5 düzeyinde verim % 957.1 oranında azalmıştır. Kuru madde içeriği stres derecesine bağlı olarak artarken, en yüksek kuru madde içeriği K5 düzeyinde alınmıştır. En düşük kuru madde içeriği ise tam sulama sisteminde belirlenmiştir. Su kullanım etkinliği açısından değerlendirilen bitkilerde en yüksek su kullanım etkinliği K1 'de elde edilmiş, bunu K2 ve K3 seviyeleri izlemiştir. Araştırmacılar çalışma sonucunda kuraklık stresinin hıyarda verim ve kalite değerlerinin olumsuz etkilediğini belirtmişlerdir (Ayaş ve Demirtaş, 2009).

Yuan-yuan ve ark. (2009), PEG uygulanan mısır yapraklarında Ca seviyesinin kloroplast ve nükleusta arttığını, stres uygulamasının devam etmesi ile kloroplast ve nükleusta Ca seviyesinin artışına devam ettiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar Ca'nın kuraklığa dayanımda önemli bir role sahip olduğunu ancak şiddetli kuraklık streslerinde kloroplastlarda meydana gelen bozulmaların Ca birikimini azaltabileceğini ifade etmişlerdir.

Asadi-kavan ve ark. (2009), anason tohumlarının, PEG 6000 içeren su stresi ortamında çimlenme oranı ve su potansiyelinin azaldığını, ortama dıştan uygulanan askorbatın çimlenme oranını artırdığını ifade etmiş, askorbatın kuraklık stresi karşısında ROS etkilerinin engellenmesinde görevli olabileceğini ifade etmişlerdir.

Yonca bitkisinde kuraklık ve tuz stresi ile ilgili yapılan çalışmada, alfalfa bitkisinin kurağa ve tuza maruz bırakılmış kök ve sürgünlerinde SOD, PRX, APX ve CAT gibi çeşitli antioksidant enzimlerin aktiviteleri araştırılmıştır. 6 alfalfa çeşidinin çimlenme oranı karşılaştırmalı olarak 200 ml NaCl ve % 35 PEG uygulamalar altında yapılmıştır. Yonca Xinmu No.1 ve Northstar çeşitleri sırasıyla strese tolerant ve hassas çeşitler olarak seçilmiş ve daha ileri karakterizasyon için kullanılmışlardır. Xinmu No.1, Northstar'a göre daha düşük seviyede H₂O₂ üretimi ve lipid peroksidasyonu, köklerde ve sürgünlerde ise daha yüksek enzim aktivitesi (SOD, APX, CAT ve POD) göstermiştir. Bu sonuçlar Xinmu No.1'in çimlenme sırasında kurağa yada tuz toleransının antioksidant enzimlerin aktivitesi ile ilişkilendirildiğini belirtmektedir. Bu çalışma, yonca fidelerinde tipik bir çölleşme koşulunda kuraklık ve tuz stresi altındaki antioksidant enzimlerinin oluşumunun önemini aydınlatmaktadır (Wang ve ark., 2009).

Sanchez-Rodriguez ve ark. (2010), kuraklık stresinin domateste, bitki gelişimi ve yaprak oransal su içeriğini olumsuz etkilediğini ve stres ile birlikte yaprak dokularında MDA miktarında artış meydana geldiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar, stres koşullarında GR, APX ve CAT enzim aktivitelerinin artış gösterdiğini, kuraklığa dayanıklı olan Zarina domates çeşidinde enzim aktivitelerinin daha yüksek gerçekleştiğini saptamışlardır.

Nikoleva ve ark. (2010), buğdayda yaptıkları bir çalışmada su stresinin yapraklarda MDA miktarında artışa yol açtığını ifade etmişlerdir. Çalışmada klorofil miktarı stres başlangıcında artış göstermiş ancak daha sonra azalma eğilimine geçmiştir. Araştırmacılar buğdayda stres koşullarında GR ve APX enzim aktivitelerinin ise artış gösterdiğini vurgulamışlardır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

Bu araştırma 2009-2011 yıllarında Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Örtüaltı Araştırma ve Uygulama Ünitesi ile Moleküler Biyoloji Laboratuvarında yürütülmüştür.

3.1. Materyal

Araştırmada daha önceki çalışmayla (Kesici 2009) yüksek sıcaklığa hassas olarak belirlenen Cal Giant3 (CG3) ve Festival çeşitleri ile tolerant olarak belirlenen Camarosa ve Redlands Hope (R. Hope) çeşitleri kullanılmıştır. Bu çeşitlerin özellikleri kısaca şöyledir:

Camarosa: Orijini Kaliforniya'dır. Kısa gün çeşididir ve kuvvetli büyür. Erkenci ve iri meyvelidir. Sofralık olarak tüketilebilir. Meyveleri antraknoza hassastır. Akdeniz bölgesinde yaygın olarak yetiştiriciliği yapılmaktadır. Erken, orta ve geç sezon üretimine uygundur. Meyvesi konik ya da yassı basık-konik şekildedir. İç ve dış meyve rengi mükemmeldir (Gülsoy ve Yılmaz, 2004). Yüksek sıcaklığa göreceli olarak toleranttır (Kesici 2009).

Redlands Hope: Orijini Avustralya'dır. Kısa gün çeşididir ve erkencidir. Yazlık dikime uygundur. Meyveleri konik şekilli, iri ve meyve eti orta serttir. Akdeniz, Ege, Karadeniz ve Marmara bölgesinde yetiştiriciliği önerilmektedir¹. Yüksek sıcaklığa göreceli olarak toleranttır (Kesici 2009).

CG3: Orijini Kaliforniya'dır. 'Cal Giant-3' kısa gün çeşididir. Meyve verim süresi ilkbahar, yaz ve sonbahar aylarına kadar uzanır. Erken sezonda iyi verim sağlar ve güzel şekilli meyvelere sahiptir. Soğuk havalarda bile tozlaşma sağlanabilmektedir². Yüksek sıcaklığa göreceli olarak hassastır (Kesici 2009).

¹ <http://www.yaltir.com.tr/Cilek-Fidesi,CA1-2.html>

² <http://www.strawberry-plants.com/CalPacific/CG3.htm>

Festival: Kısa gün çeşididir. Orijini Florida, Amerika'dır. Konik şeklinde ve orta büyüklükte ve meyvelere sahiptir (Okie, 2004). Yüksek sıcaklığa göreceli olarak hassastır (Kesici 2009).

Denemede çilek çeşitlerine ait frigo fideler kullanılmıştır. Bu fideler, perlit, torf ve elenmiş bahçe toprağı karışımına (1:1:1) köklerine dikim budaması yapılarak, 14×12 cm çapındaki saksılara dikilmiştir. Çeşitlere göre gruplanan fideler 5–6 yapraklı döneme gelinceye kadar ortalama 6–8 hafta boyunca, ~%65 oransal nemde, 15–30°C (gece-gündüz) sıcaklıkta büyütme serasında yetiştirilmiştir ve her hafta düzenli olarak Actagro Seven (7:7:7) (Actagro LLC, Biola, CA, USA) ticari gübresi ile gübrenmiştir.



Şekil 3.1. Deneme sırasında çilek çeşitlerine ait bitkilerin genel görünümü

3.2. Yöntem

3.2.1. Kuraklık ve Geri Kazanım Uygulamaları

Serada yetiştirilen saksılı çilek bitkilerine yapay kuraklık oluşturmak amacıyla kontrollü koşullarda 15 gün süreyle %10'luk PEG 6000 sulama suyu uygulaması şeklinde yapılmıştır. Tüm bitkilere eşit oranda uygulama yapılarak bitkiler saksı kapasitesinde tutulmaya çalışılmıştır. Kontrol bitkilerine ise PEG 6000'siz sulama suyu uygulanmıştır.

PEG 6000, tepkimeye girmeyen, iyonik olmayan ve hemen hemen geçirimsiz olup deneme süresi boyunca uniform bir su potansiyeli oluşumuna yardımcı olmuştur. PEG 6000 molekülleri ozmotik potansiyel yaratacak kadar küçük fakat bitkinin absorbe edemeyeceği kadar da büyüktür. Dolayısıyla PEG apoplastdan geçemediği için bitki su alımı engellenmektedir (Van Der Berg ve Zeng, 2006).

15 gün boyunca PEG 6000 uygulamasıyla oluşturulan kuraklığın ardından geri kazanımın takip edilmesi amacıyla bitkilere 15 gün süreyle PEG 6000'siz sulama suyu verilmiştir. Bu uygulamalar sonucunda bitkilerden alınan tam gelişimini tamamlamış yaprak örneklerinde yaprak oransal su kaybı (YOSK), turgor kaybı (TK), klorofil miktarı (KM) ile askorbat peroksidaz (APX) ve glutatyon redüktaz (GR) enzim analizleri yapılmıştır. Ayrıca hücrel membran zararının tespiti amacıyla iyon sızıntısı testi yapılmıştır.

3.2.1.1. Yaprak Oransal Su Kapsamı (YOSK) ve Turgor Kaybı (TK)

Kuraklık stresine maruz bırakılan bitkilerde, YOSK ve TK, Gülen ve Eriş (2003)'in yöntemiyle belirlenmiştir. Alınan yaprak örneklerinden 1,5 cm çaplı diskler çıkartılarak öncelikle taze ağırlıkları, 4 saat saf suda bekletildikten sonra turgor ağırlıkları ve 70°C'deki etüvde 24 saat tutulduktan sonra kuru ağırlıkları kaydedilmiştir. Elde edilen verilere bağlı olarak YOSK ve TK hesaplanarak değerler % olarak ifade edilmiştir. Çilek çeşitlerinin yaprak oransal su kapsamı ve turgor kaybı aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$YOSK = (Y.A - K.A) / (T.A - K.A) \times 100$$

$$TK = (T.A - Y.A) / T.A \times 100$$

YOSK = Yaprak oransal su kapsamı

Y.A = Yaş Ağırlık

TK = Turgor kaybı

K.A = Kuru Ağırlık

T.A = Turgor Ağırlığı

3.2.1.2. Klorofil Miktarı (KM)

4 çilek çeşidinin, kuraklık ve geri kazanım uygulamalarına bağlı olarak klorofil miktarını belirlemek amacıyla Moran ve Porath (1980)'ın yöntemi esas alınmıştır. Kontrol ve uygulama bitkilerinden toplanan yaprak örneklerinin herbirinden 0,5 cm'lik 3 adet disk alınarak hassas terazide tartıldıktan sonra kültür tüplerine konulmuştur. Her örnek üzerine 5 ml dimetil formamid (DMF) eklenmiştir. Bu örnekler +4 °C'de buzdolabında 72 saat bekletilmiştir. Okuma yapılmadan önce örneklerin karanlık bir ortamda oda sıcaklığına gelmesi beklenmiştir ve daha sonra spektrofotometrede (Beckmann, Coulter Inc., Fullerton, CA) 652 nm dalga boyunda absorbans okunmuştur. Bu şekilde belirlenen 4 çilek çeşidinin klorofil miktarı aşağıdaki formülle belirlenmiştir.

$$\text{KM (mg / g T. A)} = \text{O.D}_{652 \text{ nm}} \times 29 \times \text{seyreltme faktörü} / \text{mg T. A}$$

Mg / g T. A = 1 gram taze ağırlıktaki mg cinsinden klorofil miktarı

O. D_{652 nm} = 652 nm' deki okuma değeri

T.A.= Taze Ağırlık

3.2.1.3. Askorbat Peroksidaz (APX, EC.1.11.1.11) Enzim Aktivitesi

APX enzim aktivitesi Moran ve ark., (1994)'nın yöntemine göre tespit edilmiştir. Buna göre 0,5g yaprak örneği, %1,0 polyvinylpyrrolidone 40 (PVP-40) ve 2,25ml pH'sı 7.8 olan 50mM K-PO₄ ekstraksiyon çözeltisi ile 4°C'de havanda ekstrakte edilmiştir. Elde edilen homojenat 4°C 10000g'de 15 dakika santrifüj edildikten sonra üst fazdan 1,5 ml mikro test tüpüne aktarılıp enzimatik ölçüm için kullanılmıştır. Ölçüm; 900µl reaksiyon çözeltisi, 75µl 1mM H₂O₂, 100 µl 5mM Askorbat ve 50µl ekstrakte edilmiş örnek ile yapılmıştır. Nakano ve Asada (1980)'nın belirttiği üzere, okside askorbatın 290nm'deki absorbansının (sönüm katsayısı: 2.8mM⁻¹ cm⁻¹) spektrofotometre yardımıyla ölçülmesi ile saptanmış ve aşağıdaki formülle hesaplanmıştır:

$$\frac{[(\text{İlk O.D} - \text{Son O.D}) \times 803,25 \times \text{Seyreltme faktörü}]}{\text{Gram}}$$

O.D: Okuma Değeri

O. D $_{290 \text{ nm}}$ = 290 nm'deki okuma değeri

T.A: Taze Ağırlık

Ekstraksiyon çözeltilisi (100 ml için): A Solüsyonu: 0,1 M K_2HPO_4 17,42g/L

B Solüsyonu: 0,1 M KH_2PO_4 13,61 g/L

Sol. A 91.5ml + Sol. B 8.5ml \rightarrow 100ml + 100ml dH_2O

\rightarrow 200ml K- PO_4 50mM, pH 7.8

100ml Ekstraksiyon çözeltilisine 2ml 50 mM Askorbat eklenir.

Reaksiyon çözeltilisi: Sol. A 61ml + Sol. B 39 ml + 100 ml dH_2O

\rightarrow 200ml K- PO_4 50mM, pH 7.0

H_2O_2 (Taze): 24 μl H_2O_2 (30%) + 20ml dH_2O \rightarrow 10mM H_2O_2

\rightarrow seyreltme $\times 10 \rightarrow$ 20ml, 1mM H_2O_2

Askorbat (Taze): 176mg Askorbat + 20ml dH_2O \rightarrow 20ml 50mM Askorbat

\rightarrow seyreltme $\times 10 \rightarrow$ 20ml, 5mM Askorbat

3.2.1.4. Glutasyon Redüktaz (GR, EC 1.6.4.2) Enzim Aktivitesi

GR enzimi Çakmak ve Marschner (1992)'in yöntemi esas alınarak yapılmıştır. 0,5g yaprak örneği, %1.0 polyvinylpyrrolidone 40 (PVP-40) ve 2,5ml pH'ı 7.6 olan 50mM K- PO_4 ekstraksiyon çözeltilisinde 4°C'de havan ile ekstrakte edilmiştir. Elde edilen homojenat 4°C 15000g'de 15 dakika santrifüj edildikten sonra üst fazdan 1,5 ml mikro test tüpüne aktarılıp enzimatik ölçüm için kullanılmıştır. 825 μl reaksiyon çözeltilisi + 50 μl GSSG + 25 μl NADPH + 100 μl bitki örneği oranları esas alınarak ölçüm gerçekleştirilmiştir. Ölçüm başlangıcında iki şahit örnek hazırlanıp ortalama değerleri alınarak hesaplamalarda kullanılmıştır. GR aktivitesi, b-Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH)'ın 340nm'deki oksidasyonunu (sönüm katsayısı 6.2mM $^{-1}$ cm $^{-1}$) takiben belirlenmiş ve aşığıdaki formülle hesaplanmıştır:

(İlk O.D - Son O.D) x161x Seyreltme faktörü/Gram T.A.

Ekstraksiyon çözeltisi (100 ml için): A Solüsyonu: 0,1 M K₂HPO₄ 17,42g/L

B Solüsyonu: 0,1 M KH₂PO₄ 13,61 g/L

200ml K-PO₄ 50mM, pH 7.6: Sol. A 87ml + Sol. B 13ml + 100mldH₂O + 0,1M
200µl EDTA (0,1M → 0,1mM)

0,1mM EDTA⁴⁻: 7,4mg/200 ml çözelti

10mM okside glutatyon (GSSG): 0,012252 g/20mL dH₂O

0,25mM NADPH : 0,008334 g/20mL dH₂O

Şahit örnek hazırlanışı: 1.) 925 µl Buffer + 50 µl GSSG + NADPH 25 µl

2.) 975 µl Buffer + NADPH 25 µl

3.2.1.5 Enzimlerde Toplam Protein Miktarının Tespiti

Toplam protein miktarı Bradford (1976)'un yöntemiyle belirlenmiştir. İlk olarak standart çözeltide kullanılacak olan Bradford ve BSA çözeltileri hazırlanmıştır. Bradford çözeltisi ışığa hassas olduğu için karanlık ortamda bekletilmiştir. Ölçümde kullanılmak üzere 5 ayrı standart çözeltisi, farklı miktarlardaki BSA çözeltisi ve saf su ile 2ml Bradford çözeltisi kullanılarak hazırlanmıştır. Bitki örnekleri 20 defa seyreltilip (50µl sup. + 950µl dH₂O = 1000µl) üstüne 2ml Bradford çözeltisi eklenerek 15 dakika bekletilmiştir. Toplam protein, spektrofotmetre'de 595 nm absorbans'ta ölçülmüş ve aşağıdaki formülle hesaplanmıştır:

$$\text{Toplam Protein} = (\text{O. D}_{595 \text{ nm}} - \text{Sabit}) / \text{X katsayısı} \times \text{Seyreltme faktörü} / \text{Gram T.A}$$

O. D $_{595 \text{ nm}}$ = 595 nm'deki okuma değeri

Sabit: KESMENOKTASI(Standart çözelti; O. D $_{595 \text{ nm}}$)

X katsayısı: EĞİM(Standart çözelti; O. D $_{595 \text{ nm}}$)

T.A: Taze ağırlık

Seyreltme faktörü: Çözelti miktarı/Alınan örnek miktarı

Bradford çözeltisi (karanlıkta): 16ml Bradford + 64ml dH₂O = 80ml

BSA çözeltisi (mg/ml): 100mg/100ml dH₂O, 4°C

Standart çözelti (Renk: kahverengi – mavi):

- STD 0 : 0µl BSA çözeltisi + 100µl dH₂O + 2ml Bradford çözeltisi
- STD 10 : 10µl BSA çözeltisi + 90µl dH₂O + 2ml Bradford çözeltisi
- STD 20 : 20µl BSA çözeltisi + 80µl dH₂O + 2ml Bradford çözeltisi
- STD 40 : 40µl BSA çözeltisi + 60µl dH₂O + 2ml Bradford çözeltisi
- STD 60 : 60µl BSA çözeltisi + 40µl dH₂O + 2ml Bradford çözeltisi

3.2.1.6. Hücre Membran Zararının Tespiti

Hücre membran zararlanması Arora ve ark. (1998)'nin yöntemine göre belirlenmiştir. Yaprak örneklerinden alınan 1 cm'lik 3 adet disk kültür tüplerine konulup üzerine 20 ml saf su eklenmiştir. Örnekler 4 saat boyunca çalkalayıcıda inkübasyona bırakılmıştır. Meydana gelen iyon sızıntısını belirlemek amacıyla ilk okumalar EC metre (WTW TetraCon 325 model, InoLab Cond Level 1, Weilheim, Germany) vasıtası ile yapılmıştır. Otoklavda 121°C'de 15 dakika tutularak dokuların öldürülmesi sağlanmıştır ve sonra yine EC metre ile ikinci okuma oda sıcaklığında yapılmıştır. Hücre membran zararlanması aşağıdaki formüllerle hesaplanmıştır:

$$\% \text{ İyon Sızıntısı} = (O.D_1 / O.D_2) \times 100$$

O.D₁ = 1. Okuma değeri O.D₂ = 2. Okuma değeri

$$\% \text{ Zararlanma} = [(\% \text{ İyon sız.}(U.) - \% \text{ İyon sız. (K.)}) / 100 - \% \text{ İyon sız.}(K)] \times 100$$

U= Uygulama

K= Kontrol

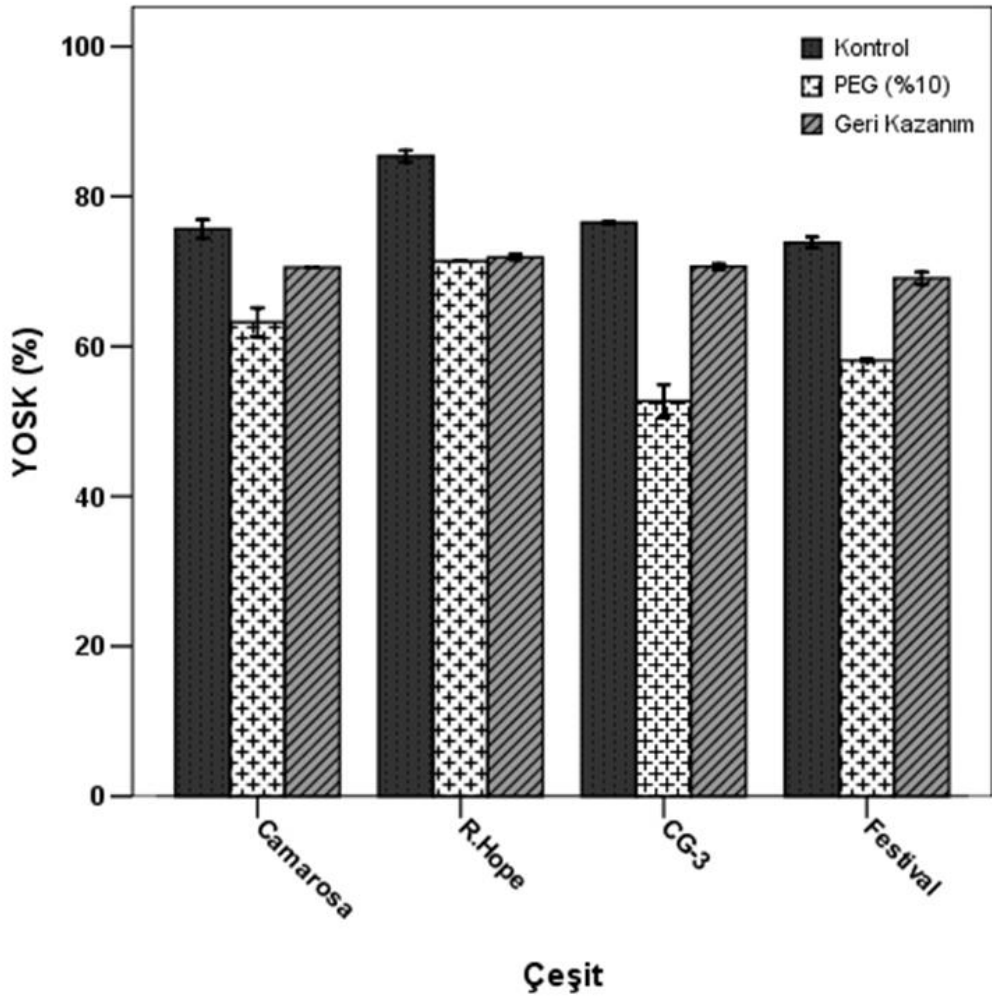
3.3. Sonuçların Değerlendirilmesi

Deneme, ‘Tesadüf Parselleri’ deneme desenine göre 3 tekrarlamalı olarak yürütülmüştür. Sonuçların değerlendirilmesinde ve uygulamalar arasındaki farklılıkların gösteriminde SPSS 13.0 paket programı kullanılmıştır.

4. BULGULAR

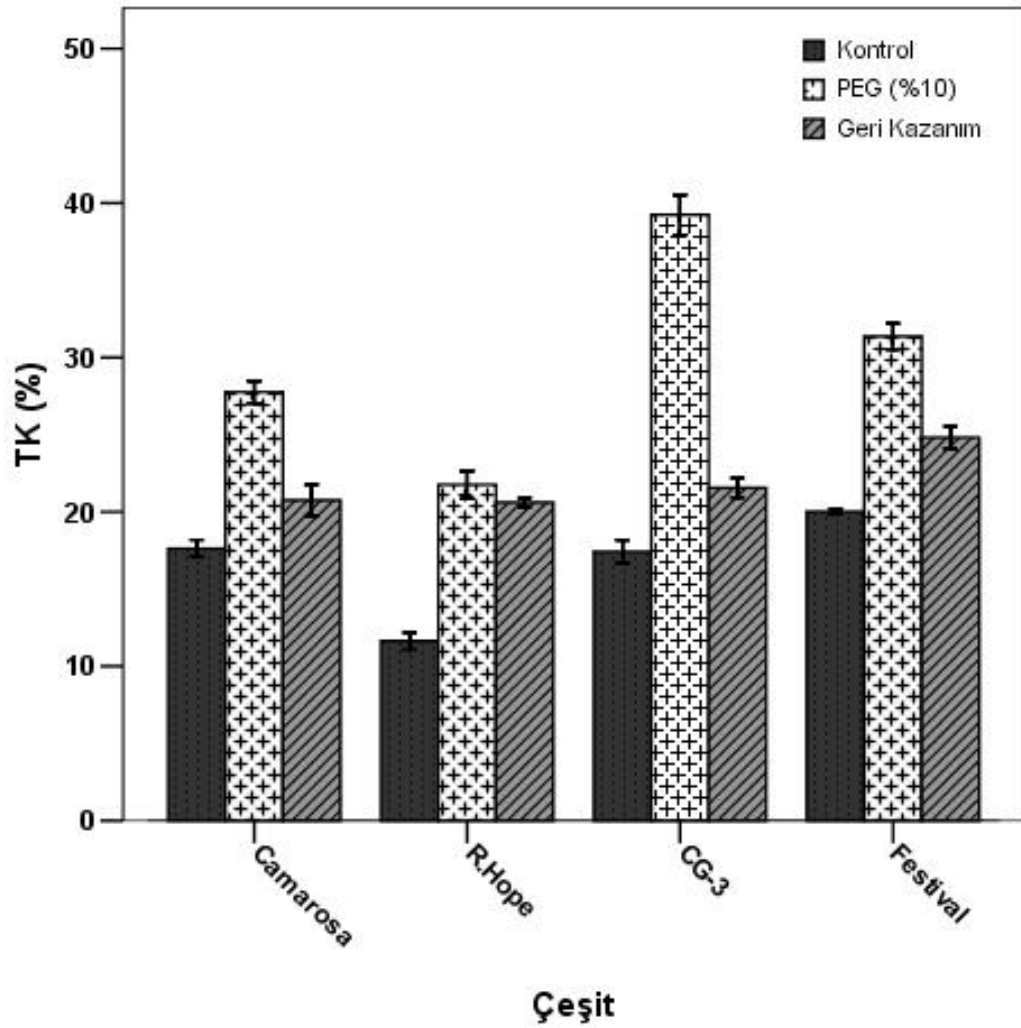
4.1. Yaprak Oransal Su Kapsamı (YOSK) ve Turgor Kaybı (TK)

Tüm çeşitlerin YOSK'larının PEG uygulamasıyla azaldığı görülmüştür (Şekil 4.1). PEG uygulamasında %52,7 ile CG-3 çeşidi en düşük YOSK'na sahip olurken bu çeşidi sırasıyla Festival (%58,1) ve Camarosa (%63,1) çeşitleri takip etmiştir. R. Hope çeşidi ise PEG uygulanmış grup içerisinde %71,4 ile YOSK'nı en yüksek seviyede koruyabilen çeşit olmuştur. Benzer şekilde geri kazanım aşamasında R. Hope çeşidi %71,9 ile en yüksek YOSK'na sahip iken diğer çeşitlerin YOSK'larının %70 civarında olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.1. PEG ve geri kazanım uygulamalarına bağlı olarak çilek çeşitlerinin yaprak oransal su kapsamındaki (YOSK) değişimi. Dikey barlar tekerrürlerin \pm standart sapmalarını göstermektedir.

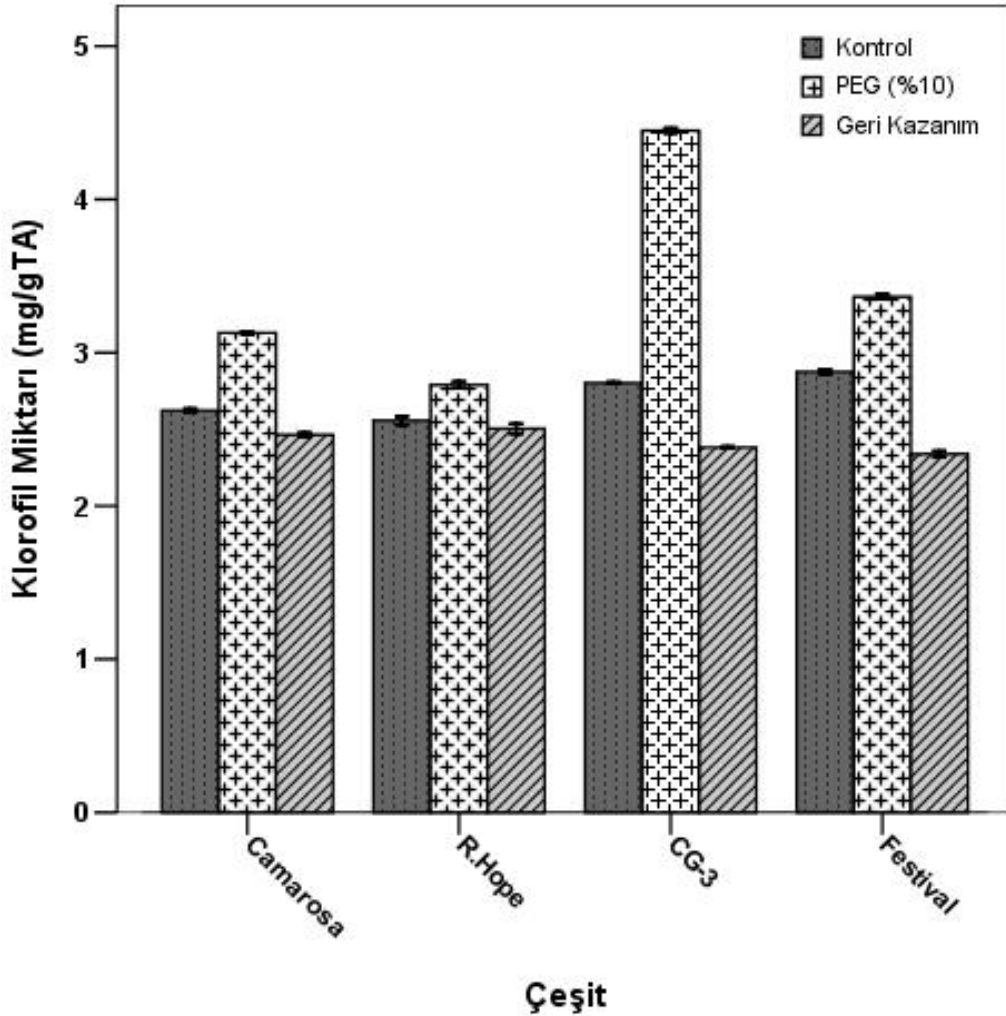
Çilek çeşitlerinin TK'nın genel olarak YOSK ile aynı doğrultuda olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.2.). Bu sonuçlara göre, Kontrol grubunda Festival çeşidi %20 ile en yüksek TK gösteren çeşit olurken, %11,6 ile R. Hope çeşidinin en düşük TK gösterdiği görülmüştür. PEG (%10) uygulamasında ise CG-3 çeşidi en yüksek TK'nı gösterirken (%39,2), R. Hope çeşidi en düşük TK'na (%21,8) sahip olmuştur. Geri Kazanım aşamasında ise diğer uygulamalara benzer şekilde R. Hope çeşidi % 20,6 ile en düşük TK'nı göstermiştir. Festival çeşidi ise %24,8 ile en yüksek TK gösteren çeşit olmuştur.



Şekil 4.2. PEG uygulaması ve geri kazanım aşamasına bağlı olarak çilek çeşitlerinin turgor kaybı (TK) değişimi. Dikey barlar tekerrürlerin \pm standart sapmalarını göstermektedir.

4.2. Klorofil Miktarı

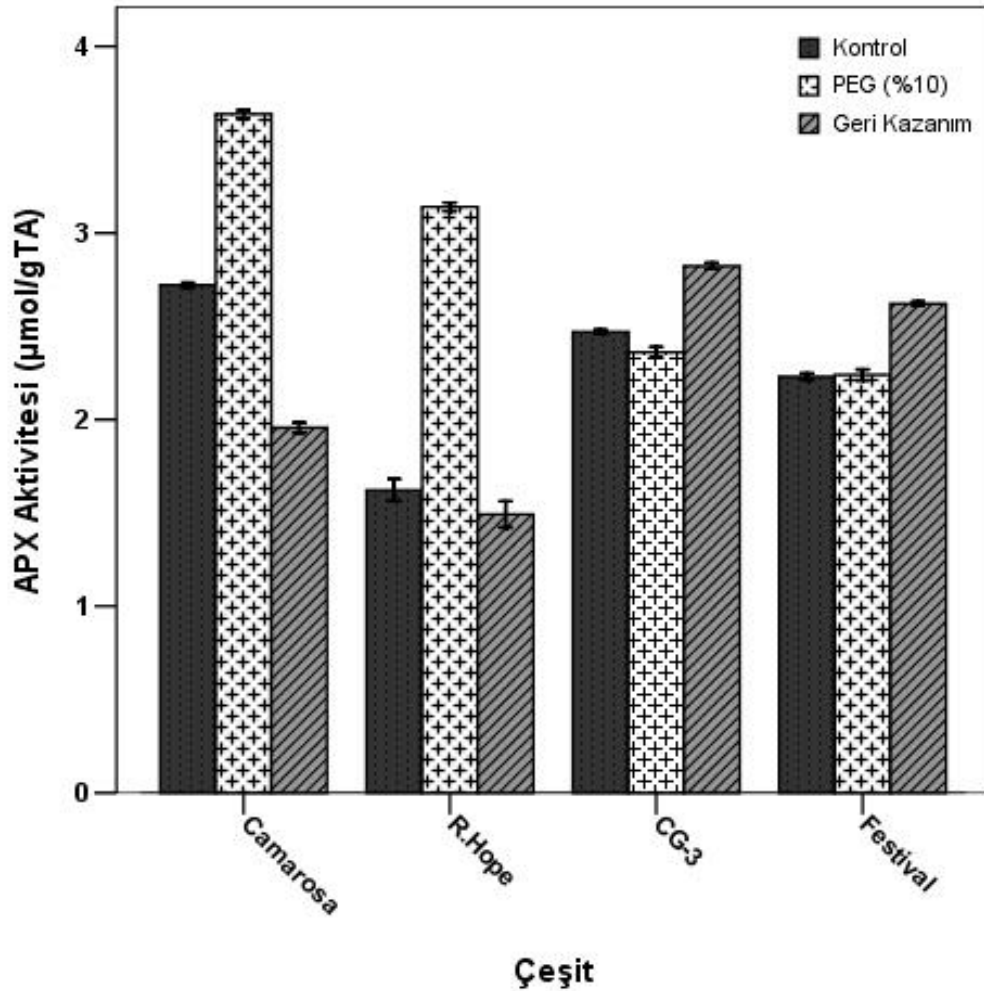
PEG ve Geri Kazanım uygulamaları ile birlikte klorofil miktarındaki değişimler Şekil 4.3’de verilmiştir. Çeşitler arasındaki uygulamaların etkisine bağlı olarak KM’ları incelendiğinde, kontrol grubunda 2,9 mg/g TA ile Festival çeşidi en yüksek; 2,6 mg/g TA ile R. Hope çeşidinin en düşük KM’na sahip olduğu belirlenmiştir. PEG uygulamasında ise CG-3 çeşidi 4,4 mg/g TA ile en yüksek KM’na sahip olurken R. Hope çeşidinin 2,8 mg/g TA ile en düşük KM’na sahip olduğu tespit edilmiştir. Geri Kazanım sürecinde R. Hope ve Camarosa çeşitlerinin 2,5 mg/g TA ile en yüksek, Festival çeşidi ise 2,3 mg/g TA ile en düşük KM’na sahip olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.3. PEG uygulaması ve geri kazanım aşamasına bağlı olarak çilek çeşitlerinin klorofil miktarı (KM) değişimi. Dikey barlar tekerrürlerin \pm standart sapmalarını göstermektedir.

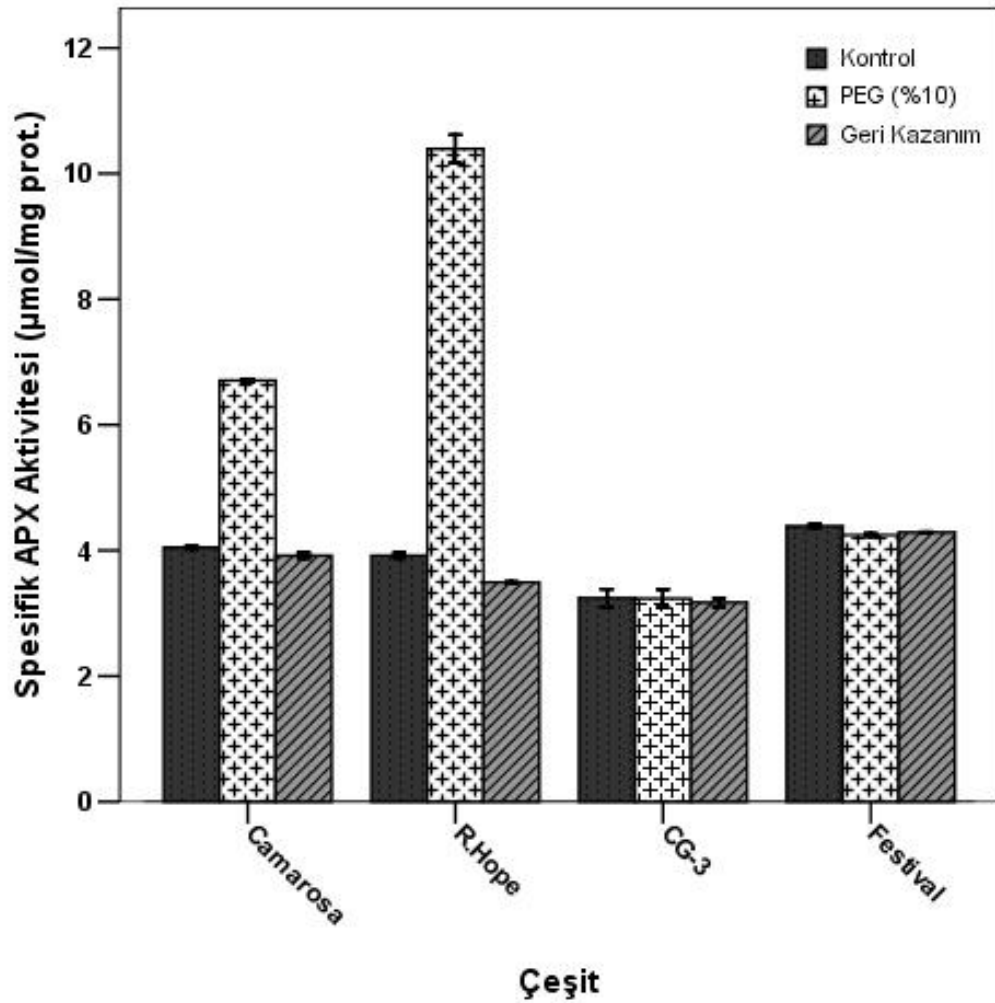
4.3. APX Enzim Aktivitesi

Şekil 4.4. genel olarak incelendiğinde, PEG uygulamasının ve geri kazanım aşamasının, APX enzim aktivitesi üzerine etkisinin farklı etkilerde bulunduğu görülmüştür. PEG uygulamasına bağlı olarak en düşük APX aktivitesine 2,2 $\mu\text{mol/g TA}$ ile Festival çeşidi sahip iken 3,6 $\mu\text{mol/g TA}$ ile Camarosa çeşidinin en yüksek APX aktivitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Geri kazanım aşamasında ise 1,5 $\mu\text{mol/g TA}$ ile R. Hope çeşidinin en düşük APX aktivitesine ve CG-3 çeşidinin 2,8 $\mu\text{mol/g TA}$ ile en yüksek APX aktivitesine sahip olduğu görülmüştür.



Şekil 4.4. PEG uygulamasına ve geri kazanım aşamasına bağlı olarak çilek çeşitlerinin askorbat peroksidad (APX) enzim aktivitesi ($\mu\text{mol/gTA}$). Dikey barlar tekerrürlerin \pm standart sapmalarını göstermektedir.

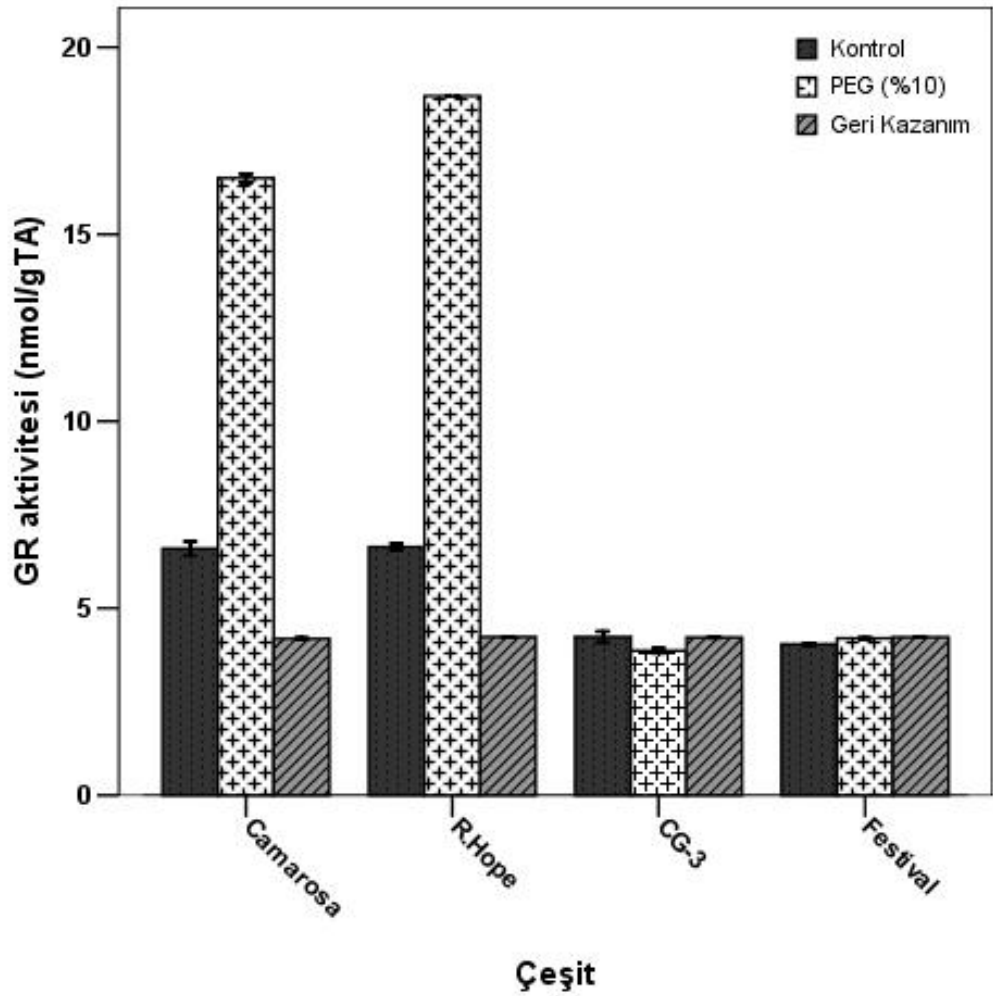
Spesifik APX aktivitesi incelendiğinde ise genel olarak CG-3 ve Festival çeşitlerinde kontrol grubu, PEG uygulaması ve geri kazanım aşamalarında belirgin bir farklılık gözlenmemiştir (Şekil 4.5). CG-3 çeşidinin spesifik APX aktivite ortalaması 3,2 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ prot. iken Festival çeşidinin ortalaması 4,3 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ prot. olmuştur. Camarosa ve R. Hope çeşitlerinde ise spesifik APX aktivitesinin PEG uygulamasında kontrol grubu ve geri kazanım aşamasına göre belirgin bir şekilde arttığı belirlenmiştir (6,7 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ prot.; 10,4 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ prot.).



Şekil 4.5. PEG uygulaması ve geri kazanım aşamalarına bağlı olarak çilek çeşitlerinin spesifik askorbat peroksidaz (APX) enzim aktivitesi ($\mu\text{mol}/\text{mg}$ prot.). Dikey barlar tekerrürlerin \pm standart sapmalarını göstermektedir.

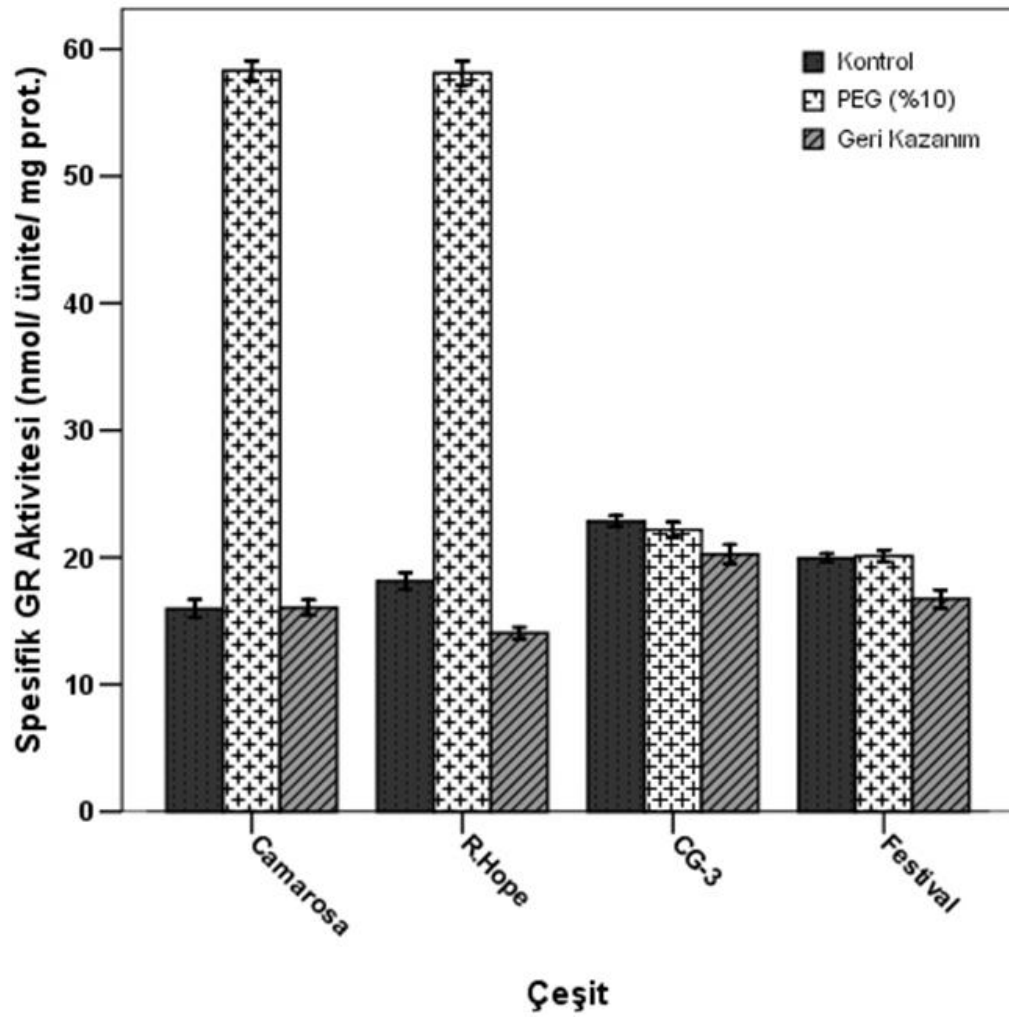
4.4 GR Enzim Aktivitesi

CG-3 ve Festival çeşitlerinin GR aktivitesinde kontrol grubu, PEG uygulaması ve geri kazanım aşamasına bağlı olarak çeşitler arasında önemli bir farklılık tespit edilememiştir (Şekil 4.6). Buna göre CG-3 çeşidinin GR aktivitesi tüm gruplarda ortalama 4,10nmol/gTA iken Festival çeşidinin GR aktivitesi 4,14 nmol/gTA olmuştur. Diğer taraftan Camarosa ve R. Hope çeşitlerinin GR aktivitesi kontrol grubuna göre oldukça farklılık gösterdiği bulunmuştur. Buna göre Camarosa çeşidinin PEG uygulamasında GR aktivitesi 16,5 nmol/gTA iken R. Hope çeşidinin 18,7nmol/gTA bulunmuştur.



Şekil 4.6. PEG uygulamasına ve geri kazanım aşamasına bağlı olarak çilek çeşitlerinin glutatyon redüktaz (GR) enzim aktivitesi ($\mu\text{mol/gTA}$). Dikey barlar tekerrürlerin \pm standart sapmalarını göstermektedir.

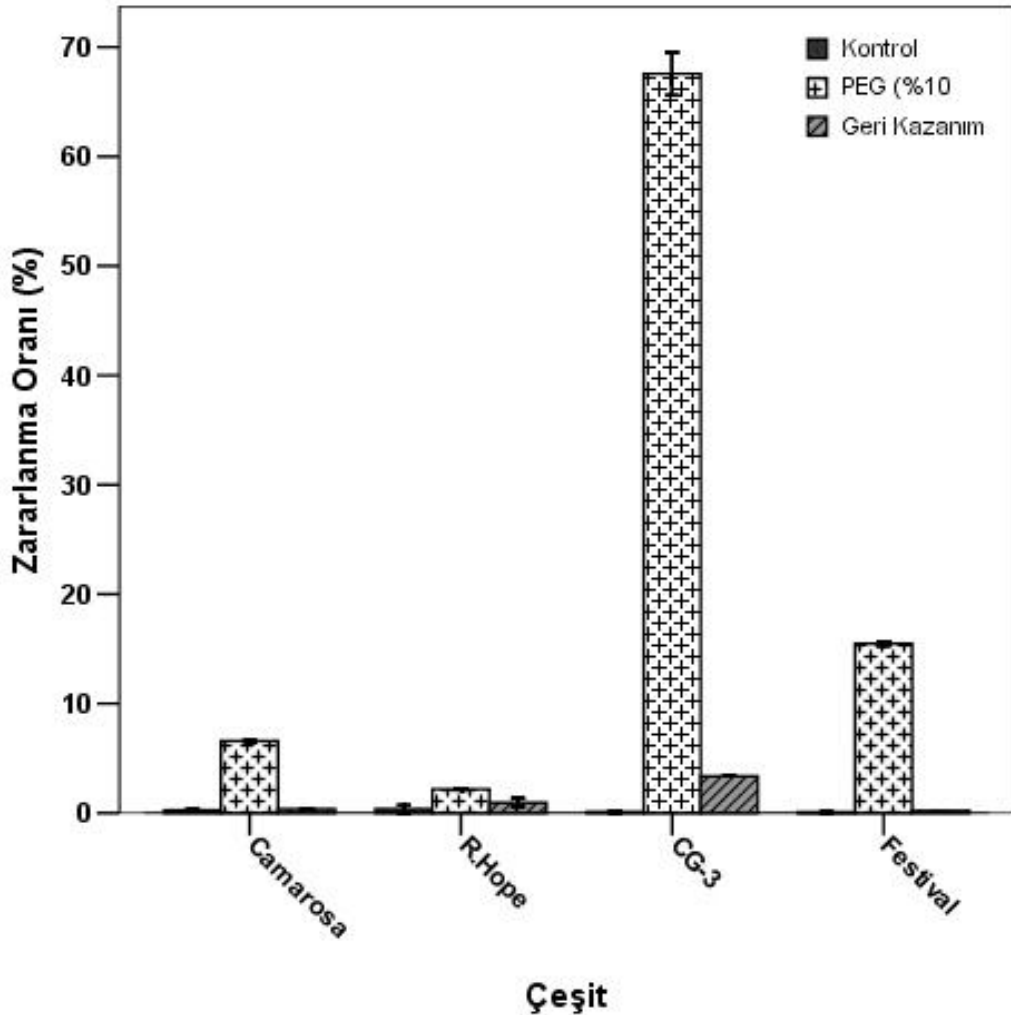
GR aktivitesine benzer olarak spesifik GR aktivitesinde de CG-3 ve Festival çeşitleri arasında önemli farklılık bulunmamıştır (Şekil 4.7). Ancak Camarosa ve R. Hope çeşitlerinin PEG (%10) uygulamasında kontrol grubuna göre önemli bir artış belirlenmiştir. Camarosa çeşidinin spesifik GR aktivitesi kontrol grubunda 16,0nmol/ünite/ mg prot. iken PEG (%10) uygulamasında 58,3 nmol/ünite/ mg prot olmuştur. Benzer şekilde R. Hope çeşidinin spesifik GR aktivitesi kontrol grubunda 18,1nmol/ünite/ mg prot iken 58,1nmol/ünite/ mg prot olmuştur.



Şekil 4.7. PEG uygulaması ve geri kazanım aşamalarına bağlı olarak çilek çeşitlerinin spesifik glutatyon redüktaz (GR) enzim aktivitesi ($\mu\text{mol}/\text{mg prot.}$). Dikey barlar tekerrürlerin \pm standart sapmalarını göstermektedir.

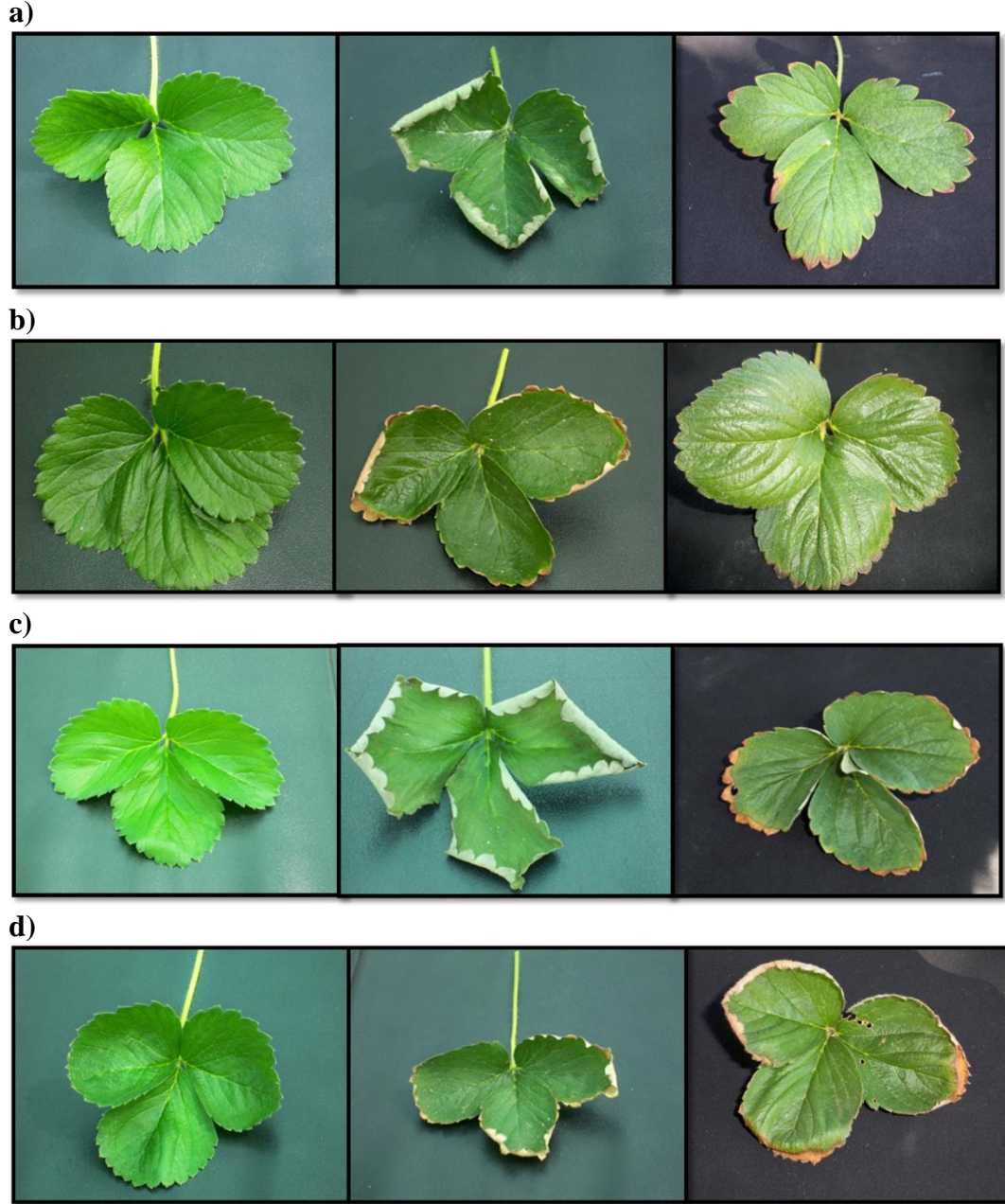
4.5. Hücre Membran Zararlanma Oranı

PEG uygulaması ve geri kazanım aşamasına bağlı olarak çilek çeşitlerinin hücre membran zararlanma oranları karşılaştırılmıştır (Şekil 4.8). Değerlendirmeye alınan 4 çeşit arasında özellikle CG-3 çeşidinin kontrol grubuna (%0,10) göre PEG uygulamasında (%67,56) belirgin bir şekilde artarak en yüksek seviyede zararlanma göstermiştir. Diğer taraftan R. Hope çeşidi kontrol grubuna (% 0,36) göre PEG uygulamasında sadece %2,17 zararlanarak diğer çeşitlere göre en düşük zararlanma oranına sahip olmuştur. Benzer şekilde geri kazanım aşamasında CG-3 çeşidi %3,35 zararlanma oranı ile diğer çeşitlere göre daha yüksek bir zararlanma göstermiştir.



Şekil 4.8. PEG uygulaması ve geri kazanım aşamalarına bağlı olarak çilek çeşitlerinin hücre membran zararlanma oranları. Dikey barlar tekerrürlerin \pm standart sapmalarını göstermektedir.

Çeşitlerin yapraklarındaki zararlanmalar görsel olarak değerlendirildiğinde ise kuraklıktan en yüksek seviyede etkilenmenin yine CG3 ve Festival çeşitlerinde olduğu görülmektedir (Şekil 4.9). Geri kazanım aşaması sonucunda bu çeşitlerin yapraklarındaki zararlanmanın büyük oranda devam ettiğini görmekteyiz.



Şekil 4.9. a) Camarosa b) R. Hope c) Festival d) CG-3 çeşitlerine ait yaprak örneklerinde sırasıyla kontrol, PEG uygulaması ve geri kazanım aşamasının yapraklardaki etkileri.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Çilek (*Fragaria x ananassa*) dünya’da ve ülkemizde ticari olarak yetiştirilen önemli bir meyve türüdür ve bu önemi yıllar itibariyle artmaktadır. Özellikle son yıllarda gelişen çeşit zenginliği ile çilek yetiştiriciliği ülkemiz gibi iklimi elverişli olan yerlerde, açık alanlarda, seralarda ve plastik tünellerde hemen hemen tüm yıl yapılabilir. Dolayısıyla, çilek bitkisi çok farklı çevresel şartlara maruz kalabilmektedir. Bunlar arasında sıcaklık (yüksek ve düşük) ve su kıtlığı veya kuraklık stresi ayrı bir öneme sahiptir. Bitki büyüme gelişmesini sınırlandırarak verim kaybına neden olan tüm stres faktörleri içerisinde kuraklık stresinin önem derecesi %26 ile en başta gelmektedir (Blum 1986). Son yıllarda küresel iklim değişikliğinin etkisiyle dünya üzerinde kuraklık tehditinin daha da artacağı öngörülmektedir. Bu nedenle geleceğe yönelik olarak konunun önemi daha da artmakta ve son yıllarda araştırmacıların bu konudaki çalışmalara ağırlık verdiği görülmektedir. Kültürü yapılan bazı bitkilerde yapılan çalışmalarla bitki türlerinin kuraklığa tolerans derecesi belirlenmeye çalışılmasına rağmen çilek bitkisinde çeşitler bazında kesin bir bilgi olmamakla birlikte genel anlamda yetiştiriciliğinde düzenli ve yeterince sulamaların yapılması gerektiği bilinmektedir. Ayrıca çilek fizyolojik ve morfolojik yapı bakımından kuraklığa veya başka bir deyişle susuzluğa hassas bitkiler grubunda yer almaktadır. Bu nedenle, tez çalışmasında çilek bitkisinde kuraklığa tolerans bakımından genotipsel farklılıkların araştırılmasının yanısıra, çeşitlerin yüksek sıcaklığa toleransları ile kuraklığa gösterdikleri tepkiler arasındaki bağlantıları da incelenmiştir.

Kalefetoğlu ve Ekmekçi (2005), abiyotik stresler içerisinde önemli bir yere sahip olan kuraklığın bitkilerdeki etkilerini mekanik, metabolik ve oksidatif olarak gruplandırmıştır. Tüm bu etkiler sonucunda, diğer abiyotik stres faktörlerinde olduğu gibi kuraklık stresi altındaki bitkilerde de fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler birçok değişimler meydana geldiği bilinmektedir (Levit 1980, Salisbury ve Ross 1992). Smirnoff (1993) ise, kuraklığın genel olarak su noksanlığı ve kuruma olarak iki tipe ayrılarak incelenebileceğini bildirmiştir. Buna göre, oransal su kapsamının yaklaşık %70’te kaldığı hafif su noksanlığına maruz kalan bitkiler ve %30’un altındaki oransal su kapsamında iyileşme sürecine giremeyen kuruyan bitkiler olarak tarif edilmiştir.

Bitkinin tam doyunluğa ulaşabilmesi için gerekli olan net ve kaybedilen su miktarını ifade eden YOSK ve TK, bitkinin su dengesini belirlemede önemli bir göstergedir ve özellikle yüksek sıcaklık ve kuraklık gibi dehidrasyonla ilgili stres faktörlerinin etkilerinin araştırılmasında önemli bir parametredir (Gülen ve Eriş 2003, Kesici 2009, Gonzalez ve Gonzalez-Vilar, 2001). Bu tez çalışmasında ise kullanılan 4 çeşidin de YOSK'ları kuraklık uygulaması ile belirgin oranda azalmasına rağmen geri kazanım uygulaması sonucunda tekrar yükselmiştir. Ancak kuraklık uygulaması sırasında YOSK'daki azalma sonucu en düşük oran CG3 ve Festival çeşitlerinde olmuştur. Başka bir deyişle bu çeşitlerde TK en yüksek oranda tespit edilmiştir.

Klorofil miktarı bakımından kuraklık ve geri kazanım uygulamaları değerlendirildiğinde kuraklığın 4 çilek çeşidinde de klorofil miktarını arttırdığı görülmüştür. Geri kazanım süreci sonunda ise klorofil miktarı tekrar düşerek Camarosa ve R. Hope çeşitlerinde kontrol seviyelerinde olurken diğer 2 çeşitte kontrol seviyesinin de altına düşmüştür. Bu durum yüksek sıcaklık stresine de daha toleranslı olan çeşitlerin kuraklık stresini de daha iyi kontrol edebildiklerini işaret etmektedir. Bu sonuçlarla paralel olarak Kesici (2009) yüksek sıcaklık uygulamalarına bağlı olarak 11 çilek çeşidinin klorofil miktarlarında %10 ila 44 arasında bir artış olduğu bildirmiştir.

Stres koşulları altında hücrede oluşan ve enzimleri inhibe ederek toksik etki yaratan reaktif oksijen türlerine karşı geliştirilen savunma mekanizmalarından birisinin de APX ve GR gibi antioksidan enzimler olduğu bilinmektedir (McKersie ve Lehsem 1994, Alscher ve ark. 1997, Smirnoff 2006,). Kuraklık stresine maruz kalan pek çok bitkide yapılan çalışmalar bitkilerin antioksidant savunma sistemlerinin bazılarını ya da tamamını harekete geçirerek stresin üstesinden gelebildiklerini göstermiştir (Jung 2004, Srivalli ve ark. 2003, Reddy ve ark. 2004, Pinheiro ve ark. 2004). Riekert Van Heerden ve Krüger (2002), iki farklı soya fasulyesi çeşidinde kuraklık stresinde APX ve GR enzim aktivitelerinin değiştiğini ancak enzim aktivitelerinin çeşitler arasında strese toleransa bağlı olarak farklılıklar gösterdiğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde Reddy ve ark. (2004), beş farklı dut çeşidinin kuraklığa toleransının belirlenmesinde enzim aktivitelerinde meydana gelen değişim oranlarının önemli bir seçim kriteri olabileceği bildirilmiştir. Sharma ve Dubey (2004) ise, PEG 6000 koşullarında yetiştirdikleri çeltik

bitkisinde oluşan H_2O_2 'nin zararlı etkilerinin engellenmesinde, APX enzim aktivitesinin artışın önemli olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışma sonucunda ise kuraklık ve geri kazanım aşamalarında artan APX ve GR enzim aktivitesinin önemli rol oynadığı görülmüştür. Çeşitler arasında ise yüksek sıcaklığa tolerant ve hassas çeşitler arasında enzim aktiviteleri bakımından önemli farklılıklar olmuş bu da çeşitlerin stres faktörlerine olan toleransları ile paralellik göstermiştir.

Bitkilerde stresten sonra hücrelerde meydana gelen zararlanmaların ilk belirtisi hücre zarında oluşmaktadır. Bu zararın iyon sızıntısı yöntemiyle ölçülmesi bitkinin strese toleransının belirlenmesinde çok önemlidir ve sıcaklık stresi başta olmak üzere birçok stres faktörüne karşı toleransın tespitinde kullanılmaktadır (Arora ve ark. 1992, Liu ve Huang 2000, Anderson 2002, Gülen ve Eriş 2003, 2004, Kesici 2009, Ergin 2012). Bu anlamda çilek çeşitlerinin kuraklık stresindeki zararlanma oranları çeşitlerin kuraklıktan etkilenme derecelerini de ortaya koymuştur. Buna göre CG3 çeşidi, en yüksek zararlanma oranı ile kuraklıktan en fazla etkilenen çeşit olurken bunu Festival çeşidi izlemiştir. Bu sonuçlar çeşitlerin yüksek sıcaklığa toleransları ile de örtüşmektedir. Öte yandan geri kazanım süreci sonunda hemen tüm çeşitlerde zararlanma oranının kontrol seviyelerine gerilemesi, zararlanmanın büyük oranda geri dönüşümlü olduğunu göstermiştir. Sadece CG3 çeşidinde geri kazanım süreci sonrasında da zararın önemli oranda kontrolden yüksek olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak bu araştırmadan elde edilen tüm sonuçlar değerlendirildiğinde 4 çilek çeşidinin bilinen yüksek sıcaklığa toleransları ile kuraklığa toleransları arasında paralellik olduğu tespit edilmiştir. Çeşitlerin kuraklığa toleransında artan APX ve GR enzimlerinin önemli rol oynadığı belirlenmiştir. Ayrıca kuraklık stresi sonrası hücrelerde meydana gelen zararlanmanın, geri kazanım sonucunda özellikle tolerant çeşitlerde büyük oranda onarılarak geri dönüşümün sağlandığı görülmüştür. Dolayısıyla bu araştırmada yüksek sıcaklık stresine tolerant ve hassas olduğu belirlenen 4 çilek çeşidinde kuraklık stresinde ve geri kazanım sonucu ortaya çıkan genotipsel farklılıklar fizyolojik ve moleküler analizlerin yardımıyla mevcut bilgilerimize göre, literatürde ilk kez ortaya konulmuştur. Bu çalışmanın tamamlanması ile elde edilen sonuçlar, çilek çeşitlerinin yüksek sıcaklığa tolerans özellikleri ile kuraklığa toleransları arasında

paralellik olduğunu ortaya koyarken, ilek bitkisinde kuraklık stresine toleransın ve kuraklık sonucunda bitkinin geri kazanımının moleküler mekanizmasının araştırılmasına yönelik planladığımız çalışmalara da temel oluşturmuştur.

KAYNAKLAR

- Abdalla, M.M., El-Khoshiban N.H. 2007.** The influence of water stress on growth, relative water content, photosynthetic pigments, some metabolic and hormonal contents of two *Triticum aestivum* cultivars. *Journal of Applied Sciences Research*, 3(12): 2062-2074.
- Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S., Karanov, E. 2001.** The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant Cell Environ.*, 24: 1337–1344.
- Alexieva, V., Ivanov, S., Sergiev, I., Karanov, E. 2003.** Interaction between stresses. *Bulg. J. PlantPhysiol.*, Special Issue, 1-17.
- Alscher, R. G., Donahue, J. L. Cramer, C. L. 1997.** Reactive oxygen species and antioxidants: Relationships in green cells. *Physiol. Plant*, 100: 224–233.
- Anonim, 2010.** <http://faostat.fao.org>, (Erişim tarihi: Nisan 2011)
- Anonim, 2010.** Bölgelere Göre Çilek Üretimi <http://tuik.gov.tr>, (Erişim tarihi: Nisan 2011)
- Anyia, A.O., Herzog, H. 2004.** Genotypic variability in drought performance and recovery in cowpea under controlled environment. *J.Agronomy & Crop Science*, 190: 151-159.
- Arora, R., Wisniewski, M.E., Scorza, R. 1992.** Cold acclimation in genetically related (sibling) deciduous and evergreen peach (*Prunus persica* L. Batsch). I Seasonal changes in cold hardiness and polypeptides of bark and xylem tissues. *Plant Physiol.*, 99:1562–1568.
- Arora, R., Pitchay D.S., Bearce, B.C. 1998.** Water-stress induced heat tolerance in geranium leaf tissues: A possible linkage through stress proteins? *Physiol. Plant.*, 103: 24-34.
- Arora, A., Sairam, R.K., Srivastava, G.C. 2002.** Oxidative stress and antioxidative systems in plants, *Curr. Sci.*, 82:1227–1238.
- Asadi - Kavan, Z., Ghorbanli, M., Pessarakli, M., Sateei, A. 2009.** Effect of Polyethylene Glycol and its interaction with ascorbate on seed germination index in *Pimpinella Anisum* L. *Journal Of Food, Agriculture & Environment*, 7 (3&4): 662-666.
- Ashraf, M., Iram, A. 2005.** Drought stress induced changes in some organic substances in nodules and other plant parts of two potential legumes differing in salt tolerance. *Flora*, 200: 535-546.
- Ayas, S., Demirtas, C. 2009.** Deficit irrigation effects on cucumber (*Cucumis sativus* L. Maraton) yield in unheated greenhouse condition. *Journal of Food, Agriculture & Environment-JFAE*, 7(3-4) : 645-649.
- Bian, S., Jiang, Y. 2009.** 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.
- Blum, A. 1986.** Breeding crop varieties for stres environments. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2: 199-237.

- Bradford, M. 1976.** A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248–254.
- Bray, E.A. 1997.** Plant responses to water deficit, *Trends Plant Sci.*, 2: 48-54.
- Campbell, M.K. 1991.** Biochemistry. Harcourt Brace Jovanovich College Publishers, Fort Worth, USA, 11 pp.
- Caruso, A., Cheddor, F., Carpin, S., Depierreux, C., Delmotte, F.M., Kahlem, G., Morabito D. 2008.** Physiological characterization and identification of genes differentially expressed in response to drought induced by PEG 6000 in *Populus canadensis* leaves. *Journal of Plant Physiology*, 165: 932-941.
- Charles, S.A., Halliwell, B. 1980.** Effect of hydrogenperoxide on spinach (*Spinaciaoleraceae*) chloroplast fructose biphosphatase. *Biochem. J.*, 189: 373-376.
- Chaves, M.M., Maroco, J.P., Pereira, J.S. 2003.** Understanding plant responses to drought-from genes to the whole plant, *Funct. Plant Biol.* 30: 239–264.
- Chopra R.K., Selote, D.S. 2007.** Acclimation to drought stress generates oxidative stress tolerance in drought-resistant than susceptible wheat cultivar under field conditions. *Environmental and Experimental Botany*, 60: 276–283.
- Çakmak, I., Marschner, H., 1992.** Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and glutathione reductase in bean leaves. *Plant Physiol*, 98: 1222-1226.
- Çırak, C., Esendal, E. 2006.** Soyada Kuraklık Stresi. *Omü Zir. Fak. Dergisi*, 21(2): 231-237.
- Ergin, S. 2012.** Yüksek Sıcaklık Stresinin Çilek Bitkisinde Enzimatik ve Enzimatik Olmayan Antioksidanlar ile Protein Metabolizmasına Etkileri. Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü *Doktora Tezi*, s.92.
- Farrant J.M., 2000.** A Comparison of Mechanisms of desiccation tolerance among three angiosperm resurrection plant species. *Plant Ecol.*, 151: 29-39.
- Fernandez-Conde, M.E., De La Haba, P., Gonzalez-Fontes, A., Maldonado, J.M. 1998.** Effects of drought (water stress) on growth and photosynthetic capacity of cotton (*Gossypiumhirsutum*L.). 5th Internet World Congress for Biomedical Sciences, December 7-16, Canada.
- Gerdakaneh, M., Mozafari, A., Khalighi, A. Mardah, A.S. 2010.** The effects of exogenous proline and osmotic stress on morpho-biochemical parameters of strawberry callus. *African Journal of Biotechnology*, 9(25): 3775-3779.
- Glombitza, S., Dubuis, P.H., Thulke, O., Welzl, G., Bovet, L., Gotz1, M., Affenzeller, M., Geist, B., Hehn, A., Asnaghi, C., Ernst, D., Seidlitz, H.K., Gundlach, H., Mayer, K.F., Martinoia, E., Werck-Reichhart, D., Mauch F., Schaffner A.R. 2004.** Crosstalk and differential response to abiotic and biotic stressors reflected at the transcriptional level of effector genes from secondary metabolism. *Plant Molecular Biology*, 54: 817–835.

- Gonzalez, L., Gonzalez-Vilar, M. 2001.** Determination of relative water content. *Handbook of Plant Ecophysiology Techniques*, 14: 207–212.
- Güneş, A., Çiçek, N., İnal, A., Alpaslan, M., Eraslan, F., Güneri, E., Güzelordu, T. 2006.** Genotypic Response of Chickpea (*Cicer Arietinum* L.) Cultivars to drought stress implemented at pre- and post-anthesis stages and its relations with nutrient uptake and efficiency. *Plant Soil Environ.*, 52(8): 368–376.
- Gulen, H., Eriş, A. 2003.** Some physiological changes in strawberry (*Fragaria x ananassa* cv. Camarosa) plants under heat stress. *J Hort Sci Biotech*, 78: 894-898.
- Gulen, H., Eriş, A. 2004.** Effect of heat stress on peroxidase activity and protein content in strawberry plants. *Plant Sci*, 166: 739-744.
- Gülen, H., Çetinkaya, C., Kadioğlu, M., Kesici, M., Cansev, A., Eriş A. 2007.** Peroxidase Activity and Lipid Peroxidation in Strawberry (*Fragaria X ananassa*) Plants Under Low Temperature. *J. Biol. Environ. Sci.*, 2(6): 95-100.
- Gülsoy, E., Yılmaz, H. 2004.** Van Ekolojik Koşullarında Farklı Örtü Tiplerinin Bazı Çilek Çeşitlerinin Adaptasyonu Üzerine Etkileri. *Y.Y.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9(1): 50–57.
- Hale, M.G., Orcutt D.M. 1987.** *The Physiology of Plants Under Stress*, 206 pp.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C. 1989.** *Free radicals in biology and medicine. Oxford: Clarendon Press.* 10 pp.
- Jaleel, C.A., Manivannan, P., Sankar, B., Kishorekumar, A., Gopi, R., Somasundaram, R., Paneerselvam, R. 2007.** Water deficit stress mitigation by calcium chloride in catharanthus roseus. Effects on Oxidative Stress, Proline Metabolism and Indole Alkaloid Accumulation. *Biointerfaces*, 60: 110-116.
- Jones, H.G. 1990.** Physiological aspects of the control of water status in horticultural crops. *HortScience*, 25: 19-26.
- Jung, S., 2004.** Variation in antioxidant metabolism of young and mature leaves of *Arabidopsisthaliana* subjected to drought. *Plant Sci.*, 166: 459-466.
- Kalefetoğlu, T., Ekmekçi, Y. 2005.** Bitkilerde kuraklık stresinin etkileri ve dayanıklılık mekanizmaları. *G.Ü. Fen Bilimleri Dergisi*, 18(4): 723-740.
- Kalefetoğlu, T., Ekmekçi, Y. 2005.** The effect of drought on plants and tolerance mechanisms. *G. U. Journal Of Science*, 18(4): 723- 740.
- Kaynaş, N., Eriş, A.1995.** Bazı nektarin çeşitlerinde toprak su noksanlığının biyokimyasal değişimler üzerine etkileri. *Tr. J. of Agriculture and Forestry*, 22: 35-41.
- Kesici, M. 2009.** Bazı Çilek (*Fragaria x ananassa*) Çeşitlerinin Yüksek Sıcaklığa Toleransları. *Yüksek Lisans Tezi*, Uludağ Üniv. Fen Bil. Ens. Bursa, 49 s.
- Kessler, B. 1961.** Nucleicacids as factors in droughtresistance of higherplants. *Recent Advan. Bot.*, 1153-1159.
- Klamkowski, K., Treder, W. 2006.** Morphological and physiological responses of strawberry plants to water stress. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 71: 159–165.

- Klamkowski, K., Treder, W. 2008.** Response to drought stress of three strawberry cultivars grown under greenhouse conditions. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 16: 179–188.
- Kocaçalışkan, İ. 2003.** Bitki Fizyolojisi. DPÜ Fen-Edebiyat Fakültesi Yayını, 420.
- Levitt, J. 1980.** Responses of plants to environmental stresses. Academic Press, 497 pp.
- Liu, X., HUANG, B. 2000.** Heat stress injury in relation to membrane lipid peroxidation in creeping bentgrass. *Crop Science*, 40: 503–510.
- Mahajan, S., Tuteja, N. 2005.** Cold, salinity and drought stresses: An overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 444: 139–158.
- McKersie, B.D. Leshem, Y. 1994.** Stress and Stress Coping in Cultivated Plants. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 256 pp.
- Moran, J.F., Becana, M., Iturbe-Ormaetxe, I., Frechilla, S., Klucas, R.V., Aparicio-Tejo, P. 1994.** Drought induces oxidative stress in pea plants, *Planta*, 194: 346–352.
- Moran, R., Porath, D. 1980.** Chlorophyll determination in intact tissues using *N,N*-Dimethylformamide. *Plant Physiol.*, 65(3): 478–479.
- Mundree, S.G., Farrant, J.M. 2000.** Some physiological and molecular insights into the mechanisms of desiccation tolerance in the resurrection plant *Xerophyta viscosa* Baker. In Cherry et al. (eds) *Plant tolerance to abiotic stresses in Agriculture: Role of Genetic Engineering*, Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 201-222 pp.
- Mundree, S.G., Baker, B., Mowla, S., Peters, S., Marais, S., Willigen, C.V., Govender, K., Maredza, A., Muyanga, S., Farrant, J.M., Thomson, J.A. 2002.** Physiological and molecular insights into drought tolerance. *Afr. J. Biotechnol.*, 1: 23-38.
- Nakano, Y., Asada, K. 1980.** Hydrogen peroxide scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplast, *Plant Cell Physiol.* 22: 867–880.
- Nasri, M., Zahedi, H., Moghadam, H.R.T., Ghooshci, F., Paknejad, F. 2008.** Investigation of water stress on macro elements in rapeseed genotypes leaf (*Brassic napus*). *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 3(4): 669-672.
- Nikolaeva, M.K., Maevskaya, S.N., Shugaev, A.G., Bukhov, N.G. 2010.** Effect of drought on chlorophyll content and antioxidant enzyme activities in leaves of three wheat cultivars varying in productivity. *Russian Journal of Plant Physiology*, 57(1): 87-95.
- Okie, W.R. 2004.** Register of new fruit and nut varieties. *HortScience*, 39(6):1517–1521.
- Oliveira Neto, C.F., Silva Lobato, A.K., Gonçalves-Vidigal, M.C., Lobo Da Costa, R.C., Santos Filho, B.G., Ruffeil Alves, G.A., Mello E Silva Maia, W.J., Rodriguez Cruz, F.J., Borges Neves, H.K., Santos Lopes, M.J. 2009.** Carbon Compounds and Chlorophyll Contents in Sorghum Submitted to Water Deficit During Three Growth Stages. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 7 (3-4): 588-593.

- Özcan, S., Babaoğlu, M., Gürel, E. 2004.** Bitki Biyoteknolojisi Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları, S.Ü. Vakfi Yayınları, Konya.
- Pinheiro, H.A., Da Matta, F.M., Chaves, A.R.M., Fontes, E.P.B. Loureiro, M.E. 2004.** Drought tolerance in relation to protection against oxidative stress in clones of *Coffeacane*phorasubjectedtolong-term drought. *Plant Sci*, 167: 1307-1314.
- Reddy, A.R., Chaitanya, K.V., Jutur, P.P., Sumithra, K. 2004.** Differential antioxidative responses to water stress among five mulberry (*Morusalba*L.) cultivars, *Environ. Exp. Bot.*, 52: 33-42.
- Riekert Van Heerden, P.D., Kruger, G.H.J. 2002.** Separately and simultaneously induced Dark chilling and drought stres effects on photosynthesis, proline accumulation and antioxidant metabolism in soybean. *J.PlantPhysiol*, 159: 1077-1086.
- Romo, S., Labrador, E., Dopico, B. 2001.** Water stress-regulated gene expression in *Cicer arietinum* seedlings and plants. *Plant Physiol. Biochem.*, 39: 1017–1026.
- Salisbury, F.B., Ross, C.W. 1992.** *PlantPhysiology*, Wadsworth Publishing Co., California, 682 pp.
- Sanchez-Rodriguez, E., Rubio-Wilhelmi, M., Cervilla, L.M., Blasco, B., Rios, J.J., Rosales, M.A., Romero, L., Ruiz, J.M. 2010.** Genotypic Differences in Some Physiological Parameters Symptomatic for Oxidative Stress under Moderate Drought in Tomato Plants. *Plant Science*, 178: 30–40.
- Sgherry, C.L.M., Pinzino C., Navari-Izzo, F. 1996.** Sunflower seedlings subjected to increasing water stres by water deficit: changes in O₂- production related to the composition of thylakoid membranes. *PhysiolPlant*, 96: 446-45.
- Sharma, S., Dubey, R.S. 2004.** Ascorbate Peroxidase from rice seedlings: Properties of enzyme isoforms, effects of stresses and protective roles of osmolytes. *Plant Science*, 167: 541–550.
- Sharma, S., Dubey, R.S. 2005.** Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant Growth Regulation*, 46:209–221
- Sherwin, H.W., Farrant J.M. 1998.** Protection mechanisms against excess light in the resurrection plants *Craterostigma wilmsii* and *Xerophytaviscosa*, *Plant Growth Regul.*, 24: 202-210.
- Sircely, H. 2007.** Detecting different levels of drought stress in apple trees (*Malus domestica* Borkh.) with selected biochemical and physiological parameters. *Scientia Horticulturae*, 113(4): 362-369.
- Smirnoff, N. 1993.** The role of activeoxygen in theresponse of plants to water deficit and desiccation. *New Phytol.*, 125: 27-58
- Smirnoff, N., Ishikawa, T., Dowdle, N. 2006.** Progress in manipulating ascorbic acid biosynthesis and accumulation in plants, *Physiol. Plant.*, 126: 343–355.

- Srivalli, B., Sharma, G., Khanna-Chopra, R. 2003.** Antioxidative defence system in upland rice cultivar subjected to increasing intensity of water stress followed by recovery. *Physiol. Plant.*, 119: 503-512.
- Stuhlfauth, T., Scheuermann, R., Fock, H.P. 1990.** Light energy dissipation under water stress conditions. *Plant Physiol.*, 92: 1053-1061.
- Tambussi, E.A., Bartoli, C.G., Beltrano, J., Guiamet, J.J., Araus, J.L. 2000.** Oxidative damage to thylakoid proteins in water-stressed leaves of wheat (*Triticum aestivum*). *Physiol. Planta*, 108: 398-404.
- Teiz, L., Zieger, S.C.E. 1998.** Plant Physiology, University of California, Los Angeles Sinauer Associates, Inc., Publisher, USA, 726-735 pp.
- Tsuji, W., Ali, M.E.K., Inanaga, S., Sugimoto, Y. 2003.** Growth and gas exchange of three sorghum cultivars under drought stress. *Biomedical and Life Sciences*, 46 (4): 583-587.
- Türkan, İ., Bor, M., Özdemir, F., Koca, H. 2005.** 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 mediates water stress. *Plant Science*, 168: 223-231.
- Van Den Berg, L., Zeng, Y.J. 2006.** Response of south african indigenous grass species to drought stress induced by polyethylene glycol (PEG) 6000. *South African Journal of Botany*, 72: 284 – 286.
- Vicré, M., Sherwin, H.W., Driouich, A., Jaffer, M., Jauneau, A. Farrant J.M. 1999.** Cell wall properties of hydrated and dry leaves of the resurrection plant *Craterostigmawilmsii*. *J. PlantPhysiol.*, 155: 719-726.
- Wang, W.X., Vinocur, B., Shoseyov, O., Altman, A. 2001a.** Biotechnology of plant osmotic stress tolerance: physiological and molecular considerations. *Acta Hort* 560:285–292.
- Wang, W., Vinocur, B., Altman, A. 2003.** Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta*, (2003) 218: 1–14
- Wang, W., Kim, Y.H., Lee, H.S., Kim, K.Y., Deng, X.P., Kwak, S.S. 2009.** Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. *Plant Physiology and Biochemistry*, 1–8 pp.
- Van der Willigen, C., Pammenter, N.W., Mundree S.G., Farrant, J.M. 2001.** Some physiological comparisons between the resurrection grass, *Eragrostisnindensis*, and the related desiccation-sensitive species, *Eragrostiscurvula*. *Plant Growth Regul.*, 35: 121-129.
- Van der Willigen, C., Mundree S.G., Farrant, J.M. 2002.** Tonoplast intrinsic proteins in the resurrection grass, *Eragrostisnindensis*. Gordon Conference, Oxford, UK.

Xu, Z., Zhou, G. 2008. Responses of leaf stomatal density to water status and its relationship with photosynthesis in a grass. *Journal Exper. Botany.*, 59(12): 3317-3325.

Yuan-Yuan, M., Wei-yi, S., Zi-hui, L., Hong-mei, Z., Xiu-Lin, G., Hong-bo, S., Fu-Tai, N. 2009. The Dynamic Changing of Ca²⁺ cellular localization in maize leaflets under drought stress. *C. R. Biologies*, 332: 351–362.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı	: Cem Çetinkaya
Doğum Yeri ve Tarihi	: İstanbul - 27.06.1984
Yabancı Dili	: İngilizce - İtalyanca
Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)	: Lisans (Uludağ Üniv. 2008)
Lise	: Ataköy Cumhuriyet Lisesi
Lisans	: Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi
Yüksek Lisans	: Uludağ Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü
Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl	: ATK Tekstil Sanayi Ticaret A.Ş. 2011- ...
İletişim (e-posta)	: cctnky@gmail.com
Yayımları	:

Gülen H., **Çetinkaya C.**, Kadıoğlu M., Kesici M., Cansev A. and Eriş A. 2008. Peroxidase activity and lipid peroxidation in strawberry (*Fragaria X ananassa*) plants under low temperature. J. Biol. Environ. Sci. 2(6): 95-100.

Çetinkaya, C., Kesici, M., Ergin, S. ve Gülen, H. 2010. Kuraklık ve geri kazanım uygulamalarında bazı çilek çeşitlerinin prolin ve peroksidaz aktivitesi. 1. Ulusal Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji Kongresi, 26-29 Ekim 2010, Antalya, Bildiri Özetleri, p.13.