

**BAZI EKMEKLİK BUĞDAY (*Triticum aestivum* L.)  
ÇEŞİTLERİNDE KURAKLIK STRESİNİN FOTOSENTETİK  
PİGMENTLER ve ANTİOKSİDANT ENZİMLER ÜZERİNE  
ETKİLERİ**

**Canan KOÇ**

**Yüksek Lisans Tezi  
Biyomühendislik Anabilim Dalı  
Biyomühendislik Programı  
Dr. Öğr. Üyesi Yakup ULUSU  
Haziran, 2018**

**T.C  
KARAMANOĞLU MEHMETBEY ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI EKMEKLİK BUĞDAY (*Triticum aestivum* L.) ÇEŞİTLERİNDE KURAKLIK  
STRESİNİN FOTOSENTETİK PİGMENTLER ve ANTİOKSİDANT ENZİMLER  
ÜZERİNE ETKİLERİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Canan KOÇ**

**Anabilim Dalı : Biyomühendislik**

**Program : Biyomühendislik**

**Danışman: Dr. Öğr. Üyesi: Yakup ULUSU**

**KARAMAN-2018**

## TEZ ONAYI

Canan KOÇ tarafından hazırlanan “ Bazı Ekmeklik Buğday ( *Triticum aestivum* L.) Çeşitlerinde Kuraklık Stresinin Fotosentetik Pigmentler ve Antioksidant Enzimler Üzerine Etkileri ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

### Danışman:

Dr. Öğr. Üyesi Yakup ULUSU

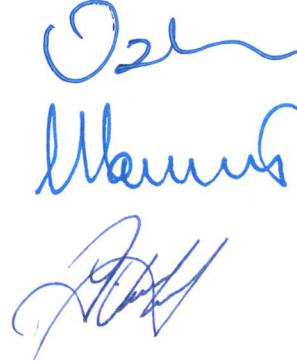
### Jüri Üyeleri:

Doc. Dr. Özlem ATEŞ SÖNMEZOĞLU

Dr. Öğr. Üyesi İlhami KARATAŞ

Dr. Öğr. Üyesi Yakup ULUSU

### İmza:



Tez Savunma Tarihi: 05 /06 / 2018

**Yukarıdaki sonucu onaylarım.**

Doç. Dr. Kamil ARI



**Enstitü Müdürü**

## TEZ BİLDİRİMİ

Yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.



**Canan KOÇ**

## ÖZET

### Yüksek Lisans Tezi

# BAZI EKMEKLİK BUĞDAY (*Triticum aestivum* L.) ÇEŞİTLERİNDE KURAKLIK STRESİNİN FOTOSENTETİK PİGMENTLER ve ANTİOKSİDANT ENZİMLER ÜZERİNE ETKİLERİ

Canan KOÇ

Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyomühendislik Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Yakup ULUSU

Haziran, 2018, 81 sayfa

Su, çok karmaşık yaşam formlarından tutun da basit ve tek hücreli canlılara kadar tüm canlı varlıklar için vazgeçilemez ve yeri doldurulamaz bir kaynaktır. Gün geçtikçe Dünya’ da yaşayan insan sayısı artmakta ve buna bağlı olarak da kişi başına tüketilen su miktarı da yükselmektedir. Su, başta küresel ısınma ve bilinçsiz tüketim olmak üzere birçok sebeplerden dolayı yok olma derecesine gelmiş durumdadır.

Buğday diğer tahıl ürünlerine göre daha geniş büyüme koşullarına sahip olmakla birlikte insan beslenmesinde de içerdiği yüksek karbonhidrat ve protein gibi birçok vitamin ve minerallerden dolayı vazgeçilmez bir besin kaynağı durumundadır. Kuraklıktan diğer canlılar gibi buğday verimi ve kalitesi de büyük ölçüde etkilenmektedir. Bu durumlar göz önüne alındığında tarımsal alanda kullanılan bitkilerin kuraklık toleranslarının artırılması yönünde ciddi adımların acilen atılması gerekmektedir.

Bu çalışmada 5 adet tescilli ekmeklik buğday genotipi ile kontrol olarak kuraklık toleranslı ve kuraklığa hassas buğday genotipleri kullanılmıştır. Bu 7 ekmeklik buğday genotipinin kuraklık stresi boyunca stres parametrelerindeki değişim incelenmiştir. Bu bağlamda kuraklık stresi uygulanan bitkilerde; polifenol oksidaz (PPO), peroksidaz (POD), askorbat peroksidaz (APX), katalaz (CAT), fotosentetik pigment, total protein, hidrojen peroksit, lipid peroksidasyonu (MDA) ve prolin seviyeleri belirlenmiştir. Yapılan kuraklık stresi tez çalışmasında 7 farklı buğday genotiplerinden kuraklığa karşı fizyolojik olarak en hassas olan genotipler Gerek ve Haymana olarak belirlenmiştir. Pastör ve Sultan genotiplerinde kuraklığa toleransın diğerlerine oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Dünyamızda kuraklığın gittikçe artmasıyla çeşitli buğday genotiplerin kuraklık stresine karşı farklı mekanizmalarla, farklı seviyelerde cevap verdiği görülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** Buğday, Kuraklık Stresi, Antioksidan Enzimler, Prolin.

## ABSTRACT

Ms Thesis

### THE EFFECTS OF DROUGHT STRESS ON PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS AND ANTIOXIDANT ENZYMES in SOME BREAD WHEAT VARIETIES (*Triticum aestivum* L.)

Canan KOÇ

Karamanoğlu Mehmetbey University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Bioengineering

Supervisor: Dr. Yakup ULUSU

June, 2018, 81 pages

As known, water is an essential and incomparable resource for all living organisms, from very complex to simple and single-celled life forms. Day after day the number of people living in the world is increasing and accordingly the water consumption per capita is also increase. Water has become extinct due to many reasons, especially global warming and unconscious consumption.

Wheat is an indispensable food source containing many vitamins and minerals besides high carbohydrates and proteins, which are necessary in human nutrition as well has broader growth conditions than other grain crop. Yield and quality of wheat like all other creatures are greatly affected by water scarcity. Given these circumstances, significant steps must be taken urgently in order to increase the drought tolerance of plants used in agricultural areas.

In this study, 5 registered bread wheat varieties and 1 drought tolerant and 1 drought sensitive wheat variety were used. Polyphenol oxidase (PPO), peroxidase (POD), ascorbate peroxidase (APX), catalase (CAT), photosynthetic pigment, total protein, hydrogen peroxide, lipid peroxidation and proline levels were determined for these plants exposed to drought stress. Among the 7 different wheat genotypes, the most physiologically sensitive genotypes against drought were determined as Gerek and Haymana in the study of drought stress. Pastör and Sultan genotypes were found to have higher tolerance to drought than the others. With increasing drought in our world, it has been seen that various wheat genotypes respond differently to drought stress with different mechanisms.

**Key Words:** Wheat, Drought Stress, Antioxidant Enzymes, Proline.

## ÖN SÖZ

Bu yüksek lisans tez çalışmasında bazı ekmeklik buğday genotiplerinde kuraklık stresinin fotosentetik pigmentler ve antioksidant enzim aktiviteleri üzerine etkileri araştırılmaya çalışılmıştır.

Öncelikle yüksek lisans sürecimde beni ve kızımı hiçbir şekilde kırmayan, hep anlayışlı olan hem ders dönemimde hem de tez çalışmam sırasında benden sabrını, bilgisini ve güler yüzünü hiçbir zaman esirgemeyen, tez konumu seçerken isteklerime ve fikirlerime büyük bir önem gösteren saygı değer hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Yakup ULUSU' ya teşekkürlerimi bir borç bilirim. Tez çalışmam sürecinde laboratuvar çalışmalarım da hatalarımı göz ardı edip, benden tecrübelerini ve bilgisini esirgemeyen Arş. Gör. Numan ECZACIOĞLU' nun çalışmamdaki emekleri çok büyüktür ve bu konuda kendisine çok teşekkür ederim. Benden anlayışlarını, güler yüzlerini esirgemeyen başta Doç. Dr. Mevlüt BAYRAKCI, Doç. Dr. Özlem ATEŞ SÖNMEZOĞLU ve Arş. Gör. Bahar YILMAZ olmak üzere Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Biyomühendislik Fakültesindeki tüm hocalarıma, yüksek lisansım sürecindeki destekleri ve eğitim hayatıma büyük katkıları için ne kadar teşekkür etsem azdır. Ayrıca üniversite ve yüksek lisans hayatım boyunca beni kendi çocuğu gibi büyük bir özveriyle destekleyen ve hayallerime ulaşmam için kendi isteklerinden ödün veren, hep yanımda olduğunu hissettiğim eşim Ersin KOÇ 'a ve beni evde babasıyla büyük bir sabırla bekleyen, kendisi küçük yüreği büyük kızım ve adaşım olan Canan KOÇ'a minnettarım. Bu yaşa gelmemde emeklerini ve fedakarlıklarını anlatamayacağım annem Cennet GÜLBASAR'a ve zorlu hayat mücadelemde fikirlerine çok değer verdiğim babam Çetin GÜLBASAR' a ve kardeşlerim Eyüp Cem GÜLBASAR ve Çağdaş GÜLBASAR'a hep yanımda oldukları için teşekkür ederim.

Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne 07 YL 17 projeye desteklerinden dolayı çok teşekkür ederim.

**Canan KOÇ**

**Haziran, 2018**

## İÇİNDEKİLER

### Sayfa

<b>ÖZET</b> .....	i
<b>ABSTRACT</b> .....	ii
<b>ÖN SÖZ</b> .....	iii
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	iv
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	vi
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	vii
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	viii
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI</b> .....	5
2.1. Mekanik Etki .....	15
2.2. Metabolik Etki .....	16
2.3. Oksidatif Etki .....	16
2.3.1. Antioksidan Sistemler .....	19
2.3.1.1. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar .....	20
2.3.1.2. Enzimatik Antioksidanlar .....	22
2.4. Makromoleküllerin ve İyonların Homeostazisi .....	24
2.5. Koruyucu Moleküllerin Sentezi .....	24
2.6. Reaktif Oksijen Türleri (ROS) ve Detoksifikasyon .....	28
<b>3. MATERYAL VE METOT</b> .....	30
3.1. Materyal .....	30
3.2. Metot .....	32
3.2.1. Tohum Sterilizasyonu ve Ekim İşlemleri .....	32
3.2.2. Protein Tayini .....	35
3.2.3. Prolin Tayini .....	36
3.2.4. Malonildialdehit Tayini .....	38
3.2.5. Antioksidant Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi .....	39
3.2.5.1. Katalaz .....	40



3.2.5.2. Peroksidaz.....	40
3.2.5.3. Askorbat Peroksidaz .....	41
3.2.5.4. Polifenol Oksidaz .....	41
3.2.6. Hidrojen peroksit (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) Tayini.....	41
3.2.7. Fotosentetik Pigment Tayini.....	42
3.2.8. İstatistiki Analiz.....	42
<b>4. BULGULAR</b> .....	<b>44</b>
4.1. Total Protein Miktarı .....	44
4.2. Prolin Miktarı .....	47
4.3. Malondialdehit Miktarı.....	50
4.4. Antioksidant Enzim Aktiviteleri.....	53
4.5. Hidrojen Peroksit Miktarı.....	62
4.6. Fotosentetik Pigment Miktarları.....	65
<b>5. SONUÇ</b> .....	<b>72</b>
<b>6. KAYNAKLAR</b> .....	<b>75</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	<b>82</b>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1. Petri kaplarında çimlendirilen buğday örnekleri.....	32
Şekil 2.1. Sera şartlarında yetiştirilmiş 40. gündeki buğday bitkileri .....	33
Şekil 3.1. Kuraklık stresinin 3. gününde bitkilerin genel durumu .....	33
Şekil 4.1. Kuraklık stresinin 6. gününde bitkilerin genel durumu .....	34
Şekil 5.1. Kuraklık stresinin 10. gününde bitkilerin genel durumu .....	34
Şekil 6.1. -80 C' de muhafaza edilen bitki numuneleri.....	35
Şekil 7.1. Coomassie Brilliant Blue G-250 boyası eklenmiş süpernatant örnekleri .....	36
Şekil 8.1. Sülfosalisilik asitle homojenize edilmiş bitki numuneleri .....	37
Şekil 9.1. 100 °C' lik su banyosundaki örnekler .....	37
Şekil 10.1. 100 °C' lik su banyosundan sonra pembe fazın oluşması.....	38
Şekil 11.1. 95 °C' lik su banyosundaki MDA örnekleri.....	39
Şekil 12.1. Buz banyosundaki MDA örnekleri .....	39
Şekil 13.1. Enzim ilave edildikten sonra 0. ve 120. sn' ler deki POD örnekleri .....	40
Şekil 14.1. % 80'lik asetonla homojenize edilmiş bitki numuneleri .....	42
Şekil 15.1. Total protein miktarının belirlenmesinde kullanılan standart grafik .....	44
Şekil 16.1. Uygulama gruplarına göre protein miktarı değişimleri.....	45
Şekil 17.1. Prolin miktarının belirlenmesinde kullanılan standart grafik.....	47
Şekil 18.1. Uygulama gruplarına göre prolin miktarı değişimleri .....	48
Şekil 19.1. Uygulama gruplarına göre malondialdehit miktarı değişimleri .....	51
Şekil 20.1. Uygulama gruplarına göre katalaz enzim aktivitesindeki değişimler .....	54
Şekil 21.1. Uygulama gruplarına göre peroksidaz enzim aktivitesindeki değişimler .....	56
Şekil 22.1. Uygulama gruplarına göre askorbat peroksidaz enzim aktivitesindeki değişimler .....	58
Şekil 23.1. Uygulama gruplarına göre PPO enzim aktivitesindeki değişimler .....	60
Şekil 25.1. Uygulama gruplarına göre hidrojen peroksit aktivitesindeki değişimler .....	63
Şekil 26.1. Uygulama gruplarına göre klorofil a miktarındaki değişimler .....	66
Şekil 27.1. Uygulama gruplarına göre klorofil b miktarındaki değişimler .....	68
Şekil 28.1. Uygulama gruplarına göre total klorofil miktarındaki değişimler .....	70

## TABLULAR DİZİNİ

<b><u>Tablo</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
<b>Tablo 1.1.</b> Araştırmada kullanılan ekmeklik buğday genotipleri .....	30
<b>Tablo 2.1.</b> Uygulama gruplarına göre protein miktarları .....	46
<b>Tablo 3.1.</b> Uygulama gruplarına göre prolin miktarları .....	49
<b>Tablo 4.1.</b> Uygulama gruplarına göre MDA miktarları .....	52
<b>Tablo 5.1.</b> Uygulama gruplarına göre CAT miktarları .....	55
<b>Tablo 6.1.</b> Uygulama gruplarına göre POD miktarları .....	57
<b>Tablo 7.1.</b> Uygulama gruplarına göre APX miktarları .....	59
<b>Tablo 8.1.</b> Uygulama gruplarına göre PPO miktarları .....	61
<b>Tablo 9.1.</b> Uygulama gruplarına göre hidrojen peroksit miktarları .....	64
<b>Tablo 10.1.</b> Uygulama gruplarına klorofil A miktarları .....	67
<b>Tablo 11.1.</b> Uygulama gruplarına göre klorofil B miktarları .....	69
<b>Tablo 12.1.</b> Uygulama gruplarına göre toplam klorofil miktarları .....	71

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

### Simgeler

°C

V, v

% h/h (% v/v)

C

L

ε

M

m

%

### Açıklama

Celcius

Hacim

Hacimce yüzde

Konsantrasyon (derişim)

Litre

Molar absorpsiyon katsayısı

Molarite

Molalite

Yüzde konstrasyon

### Kısaltmalar

APX

CAT

MDA

POD

PPO

UV

### Açıklama

Askorbat Peroksidaz

Katalaz

Lipid Peroksidasyonu

Peroksidaz

Polifenol Oksidaz

Ultraviyole

## 1. GİRİŞ

Gün geçtikçe Dünyada yaşayan insan sayısı artmakta ve buna bağlı olarak da kişi başına tüketilen su miktarı da artmaktadır. Dünya nüfusu 1700'lü yıllarda 700 milyon dolayında iken, su tüketimi yaklaşık 110 m<sup>3</sup> idi ve bunun da yaklaşık % 90'lık bir kısmı tarımda sulama amaçlı kullanılmaktaydı. 1990'lı yıllara gelindiğinde ise tüketilen su miktarının 40 kat arttığı belirtilmektedir (Örs ve Ekinci, 2015 ).

Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeleri oldukça etkileyen su stresi veya kuraklık tabii olayların başında gelmektedir. Genellikle uzun süren yağış azlığından kaynaklanan ve geçici olan bu meteorolojik durum kuraklık olarak tanımlanmaktadır. Bu ciddi durum ülkelerdeki su kaynakları, su kaynaklarının kötü kullanımı ve yağışsız geçen dönemin uzunluğuna, sıklığına da bağlı olarak değişmektedir (Eriyagama ve ark., 2010).

Su kıtlığı veya kuraklık, insan veya ekosistemin çok fazla su tüketimi veya tabii olarak gerçekleşen yağış eksikliklerini kapsamaktadır. Yapılan araştırmalara göre su kıtlığı 4 tipe ayrılmaktadır; meteorolojik ya da iklimsel kuraklık, sosyoekonomik kuraklık, hidrolojik kuraklık ve son olarak da tarımsal kuraklıktır (Wang ve ark., 2014).

Diğer üç kuraklıktan farklı olarak, sosyoekonomik kuraklık, su kıtlığının sosyoekonomik sistemlerdeki etkisini araştırarak ölçülebilen fiziksel kuraklıktır. Meteorolojik su kıtlığı ise iki etmene dayanarak gelişmektedir. Birinci faktör, doğal olarak beklenen yağış miktarlarındaki değişmedir ve bir bölgenin normal süreden daha fazla yağış alamamasıdır. Bu normal süreçten daha az olan yağış, nehir ve yeraltı sularında ciddi azalmalara neden olarak dolayısıyla da toprak neminde azalmaya sebep olur. Meteorolojik kuraklık ile ilişkili öteki etmenler arasında, yüksek sıcaklıklar, artan rüzgar hızı, düşük nem sayılabilir. Bu meteorolojik kuraklığın normalden daha uzun süre uzaması tarımı yalnızca toprak nemi kaybı açısından etkilemektedir. Yani havadaki nem ve topraktaki yağış miktarı azalsa da yerdeki

suyun hemen kaybolmadığı belirtilmiştir. Bu sebeplerden ötürü de uzun bir meteorolojik su kıtlığının ardından tarımsal kuraklık ortaya çıkmaktadır ve bu tarımsal su kıtlığı tarımsal verimi ciddi bir şekilde olumsuz olarak etkilemektedir. Hidrolojik kuraklık barajlar, yeraltı suyu kaynakları, göller ve nehirlerde ki bir azalma olarak tanımlanmaktadır (Kurnaz, 2014).

Tarımsal kuraklık ise, meteorolojik kuraklığın farklı özellikleri ile etkileşimlidir. Ayrıca su kaynaklarının kısıtlandırılması esnasında ortaya çıkan su ihtiyacı olarak tanımlanmaktadır. Tarımsal kuraklık döneminde yağış miktarından daha çok, yağış süresinin düşmesi önemlidir. Yani yağış bitki gelişiminin doğru aşamasında meydana gelirse bitki için faydalı olacaktır. Bu durumda yağış miktarının miktarı fazla olmasa bile yağış zamanı bitki gelişimine uygunsa bitki su depoladığı için tarımsal kuraklık meydana gelmeyebilir (Sade ve ark., 2011).

Bu çeşitli kuraklık türleri kendilerine özgü zaman özelliklerine sahiptirler. Hidrolojik su kıtlığı ve tarımsal su kıtlığının, meteorolojik su kıtlığına sebep olduğu belirtilmiştir. Bu farklı kuraklıkların oluşumunda çok sayıda iklim olayları ve kara atmosferinde meydana gelen olayların rolü büyüktür. Dünya için bu kadar önemli olaylara neden olan kuraklıkla mücadele edebilmek ve olumsuz etkilerini en aza indirmek için öncelikle kuraklığa sebep olan insan faaliyetlerini belirlemeli, ayrıca çeşitli kuraklık türlerinin nasıl meydana geldiğini ve bu kuraklık türlerinin birbirlerini nasıl etkilediği belirlenmelidir. Yapılan çalışmalara göre meteorolojik kuraklık ve hidrolojik kuraklık arasında önemli bir ilişki olduğu tespit edilmiştir. Su kıtlığının oluşumunda ve yayılımında da birçok müşterek özelliği olduğu da belirlenmiştir. Kuraklığın oluşumunda, yüzey suları ile yeraltı suları arasındaki ilişkilerin, su kıtlığı sırasında bitkilerin buharlaşma özelliklerinin ve insani etkilerin de olduğu anlaşılmıştır. Kuraklığın oluşumunda insani müdahalelerin de rolü oldukça büyüktür. İnsanların farklı sebepler ile su akış yönlerini değiştirmeleri ve mevcut bulunan su kaynaklarını farklı mekanlarda kullanımı ve uyarlamaları bunlar arasında gösterilebilir. Ayrıca sulama işlemleri, baraj ve depolama gibi müdahaleler de kuraklığın yayılımında oldukça etkilidir. Bu olaylar göz önüne alındığında su azlığı veya su kıtlığı ile ilgili acil önlemlerin alınması gereklidir. Bunlar arasında su

gereklerinin ve isteklerinin ürün yönetimi ile yönetilmesi, kıtlık dönemlerinde suyun iletilmesinde gerekli önlemleri almak ve su kaynaklarının iyileştirilmesi yer almaktadır. Dünya ve yaşam için bu kadar etkili olan kuraklığın belirlenmesinde ve izlenmesinde Standartlaştırılmış Yağış Endeksi (SPI), Küresel Kuraklık Şiddet İndeksi (DSI) ve Çok Değişkenli Standartlaştırılmış Kuraklık İndeksi (MSDI) gibi uydu gözlemlerine dayanan veriler ve endeksler kullanılarak belirlenir. Kuraklığın belirlenmesinde kuraklık izleme yöntemlerine ek olarak birden fazla iklim olayları, bitki örtüsü, toprak parametreleri ve ayrıca sosyoekonomik veriler de göz önüne alınarak tüm bunların bileşimi ile yapılmalıdır (Wang ve ark., 2014).

Yapılan birçok araştırmaya göre gelecek yüzyıl içerisinde dünya ikliminde 1.5 ile 5.0 °C arasında bir artış olacağı belirtilmiştir (Darwin ve ark., 1995). Küresel iklim değişikliklerinin, sıcaklıklarda ve atmosferdeki CO<sub>2</sub> miktarında önemli artışlara neden olduğu belirtilmektedir (Bhargava ve Sawant, 2013). Yeryüzünde ki bu sıcaklık artışları yağışları etkilemekte dolayısıyla da dünya için hem ekonomik hem de ekolojik olumsuz sonuçlara neden olmaktadır. Yeryüzünde ki bu iklim değişikliklerinin tarımsal olarak sonuçları ikiye ayrılmaktadır. İlk iklim değişikliği sonucu olarak, ürün ve hayvancılık kapasitesini etkileyebilmesidir. İkincisi ise tarımın bölgesel dağılımını ve yoğunluğunu etkilemesi ve buna bağlı olarak da ekonomik tepkilere yol açmasıdır. Bu nedenlerden dolayı da tarımın bazı yerlerde uzun süreli olarak rekabet gücünün risk altında olabileceğini, ayrıca tarım verimliliğinin risk altında kalabileceğini göstermektedir. Ayrıca tarım için gerekli olan toprak ve su kaynakları için tarım topluluklarının gittikçe daha şiddetli sorunlar yaşayabileceği anlamına gelmektedir. Dünyadaki bu iklim değişikliğinin olası sonuçlarını belirlemek amacıyla birçok çalışma ve araştırma yapılmıştır. Bu çalışmalar arasında 1978'de Ulusal Savunma Üniversitesi (NDU)'nin yaptığı araştırmalar ilk ve önemli çalışmalar olarak gösterilmektedir (Darwin ve ark., 1995).

Bitki verimini ve bitki dağılımını etkileyen en önemli iki unsur kuraklık ve tuz stresidir. Tarımda kullanılan 5,5 milyar hektarlık kurak alanın 3,6 milyarlık kısmı erozyon, toprak parçalanması ve tuzluluk stresi etkisi altındadır (Koyro ve ark., 2012). Bu iki stres, kuraklık ve tuzluluk, ekilebilen arazilerin yüzde 10'undan

fazlasını etkisi altına almaktadır. Dünya çapında çölleşme, yani su stresi ve tuzluluk çoğu bitkinin verimliliğini yaklaşık yüzde 50'den fazla etkilemektedir (Bartels ve Sunkar, 2005).

Dünyada tarımda kullanılabilen alanlar farklı stres faktörlerinden etkilenmektedir. Bu stres faktörleri incelendiğinde kuraklık % 26 oranla en yüksek paya sahip olup, bunu % 20 oranla mineral madde stresi, % 15 oranla soğuk ve don stresi izlemektedir. Bunların dışında kalan % 29'luk alan ise diğer stres faktörlerinden etkilenmektedir. Toplam kullanılabilen alanların sadece % 10'luk kısmının herhangi bir stres faktörünün etkisi altında olmadığı belirtilmektedir (Örs ve Ekinci, 2015).

İnsan beslenmesi için olmazsa olmaz ürünlerden olan buğday dünya nüfusunun yüzde 35' ten fazlasının beslenmesinde majör rol oynamaktadır. Kuraklık stresi tahıllar içinde önemli bir sorun haline gelmektedir. Su stresi tahıl üretimini ve kalitesini önemli derecede etkilemekte ve dünyada gittikçe artan bir sorun haline gelmektedir. Küresel iklim değişiklikleri de bu durumun daha da kötüleşmesine sebep olmaktadır (HongBo ve ark., 2005).

Bu durumlar göz önüne alındığında gelişimlerinde fazla miktarda suya ihtiyaç duyan bitkiler için ciddi anlamda sorunlar oluşacaktır. Bu nedenle de tarımsal alanda kullanılan bitkilerin kuraklık toleranslarının artırılması yolunda ciddi adımların acil olarak atılması gerekmektedir.

Bu çalışmada 5 farklı ekmeklik buğday genotipleri ve bunlara ek olarak bir kuraklık toleranslı, bir de kuraklığa karşı hassas olan genotip kullanılmıştır. Bu 7 farklı buğday genotiplerinin hangisinde antioksidan savunma sisteminin kuraklık stresine karşı en iyi toleransı oluşturulduğu belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışmada kuraklık stresi uygulanan bitkilerde; polifenol oksidaz (PPO), peroksidaz (POD), askorbat peroksidaz (APX), katalaz (CAT), fotosentetik pigment, total protein, hidrojen peroksit, lipid peroksidasyonu (MDA) ve prolin seviyeleri belirlenmiştir.



## 2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

Yapılan çalışmalara göre sanayileşmiş ülkelerin çoğunda böyle ülkelerin gıda sorunu yaşamadığı belirtilmiştir. Bu ülkelerde nüfus artışı ile birlikte gıda üretimi de bu duruma ayak uydurmuştur. Ancak dünyanın geri kalan kısmında bu durumun böyle olmadığı anlaşılmıştır. Diğer ülkelerde belirli aralıklarla yaşanan gıda problemleri bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda yaklaşık 800 milyon insanın açlıkla mücadele ettiği ve kronik olarak yetersiz beslendiği belirtilmiştir. Bu durumdan en çok etkilenenler arasında kadınlar ve çocuklar bulunmaktadır. 180 milyondan fazla çocuk yaşlarına göre çok düşük kilodadır. Her sene 5 yaştan küçük 17 milyon çocuğun öldüğü belirtilmiştir ve yetersiz beslenme durumunun bu 17 milyon çocuk ölüm sayısının üçte birine sebep olduğu anlaşılmıştır. Beslenme de protein eksikliği, vitaminler, mineraller ve diğer mikro besin maddelerinin eksikliği oldukça fazladır. Yine yapılan çalışmalarda belirtildiği gibi, yaklaşık 100 milyon çocuğun vitamin A eksikliğinden etkilendiği açıklanmıştır. Eğer yeni önlemler alınmazsa gıda sorunu yaşayanların sayısı gittikçe artacaktır. 2020 yılına kadar, ilaveten bir buçuk milyar insanın beslenme gereksinimi duyacağı tahmin edilmektedir. Fakat yine yapılan araştırmalara göre ürün üretimi ve verimi konusunda umutların olduğu da belirtilmiştir. Örneğin Punjab'ta buğday veriminin başarılı bir şekilde arttığı belirtilmiş ancak bu başarıyı tehdit eden çok önemli bir sorunla karşılaşmaktadırlar. En büyük korku kuraklığın gittikçe artmasıdır (Conway, 2000).

Dünyada ve Türkiye'de her geçen yıl nüfus ve hayvan sayısı hızla artmaktadır. Bu nedenle de besin maddelerine olan gereksinimi karşılama sorunları doğmaktadır. Ortaya çıkan bu sorunlar da günümüzde tahıl üretimine büyük önem kazandırmaktadır. İnsanların büyük bir çoğunluğu beslenme gereksinimini tahıllarla karşılamaktadır. Dünyada tahıl ekiliş alanıyla buğday ve çeltikten sonra üçüncü sırada yer almaktadır (Gençoğlan ve Yazar, 1999).

Tahıl ürünleri binlerce yıldır insan beslenmesinde ve insan uygarlığının şekillenmesinde çok önemli rollere sahiptir. Dünyada insanların günlük kalori

alımlarında yüzde 50' den fazlası tahıllar tarafından karşılanmaktadır. Yapılan araştırmalara göre yaklaşık on bin yıl önce Yangtze Vadisi' nde pirinç evcilleştirilmelerine ayrıca Orta Amerika' da mısır ve Verimli Hilal olarak adlandırılan bölgelerde de buğday evcilleştirilmelerine rastlanmaktadır. Gelişmekte olan ülkeler gelişmiş ülkelere göre beslenme açısından tahıl ürünlerine daha fazla bağımlıdırlar. Verilere göre, gelişmekte olan ülkelerde kalori ihtiyaçlarının yüzde 60 lık gibi bir kısmının tahıllardan karşılanmakta olduğu, ayrıca en yoksul ülkelerde ise bu değerlerin yüzde 80 gibi rakamları bulunduğu görülmektedir. Gelişmiş ülkelerde ise bu durum yüzde 30 civarlarındadır (Awika, 2011).

Buğday yaklaşık 220 milyon hektar ekim alanı ile birçok kıtada yetiştirilmekte ve ilk kültüre alınan gıda ürünlerinden biri durumundadır. Avrupa, Batı Asya ve Kuzey Afrika'da birçok medeniyetin temel besin kaynağını oluşturmaktadır. Buğdayın diğer tahıl bitkilerinden daha fazla çeşidi bulunmakta ve günümüzde ticari olarak kullanılan yaklaşık 5000 ekmeklik buğday çeşidi bulunmaktadır (Yiğit, 2015).

Buğdayın diğer tahıl ürünlerine göre daha geniş büyüme koşullarına sahip olması ve bu koşullara uyarlanabilir olması dolayısıyla daha fazla ekiminin yapılmasına ve yüksek ürün verimi alınmasını sağlamaktadır. Nitekim 2009-2010 verileri 226 milyon hektar alan ve 650 milyon metrik ton ile bu kanıtlanmaktadır. Çin buğday üretiminde dünyanın en büyük üreticileri arasında yer almaktadır. 2010 yılı verilerine göre Çin ve Hindistan dünya yıllık buğday üretiminin yaklaşık yüzde 30' nu karşılamaktadır. 2010 yılında buğdayın küresel kişi başına ortalama tüketimi 66 kilogram civarındadır (Awika, 2011).

Buğdayın, dünya popülasyonunun üçte birinden fazlası için en önemli gıda maddesi olduğu belirtilmiştir. Beslenme açısından diğer tahıl ürünlerine kıyasla daha çok miktarda kalori ve protein içermektedir. Ayrıca buğday B grubu vitaminleri, mineraller ve diyet lifi olarak da iyi bir kaynak olarak kabul edilmektedir. Buğday unundan ekmek, bisküvi, şekerleme ürünleri, erişte gibi birçok gıda maddesi de yapılmaktadır. Bazı sindirim bozukluklarının önlenmesi ve tedavisi için buğday tohumu ve buğday kepeğinin kullanıldığı yapılan araştırmalarda belirtilmiştir. Yine

yapılan araştırmalarda hem kalp hastalıklarını hem de kanseri önlemede etkili olduğu belirtilmiştir. Ayrıca insanın metabolik sendrom ile yaşadığı düzensiz insülin işlevini azaltarak tam tahıl şeker rahatsızlığını da engellediği belirtilmiştir. Yapılan çalışmalarda kepekli tahılların içerdii bazı lif ve nişastaların bağırsak kolonlarında fermantasyon gerçekteştirdiği ve safra asitlerinin kanseri tetikleyen etkilerini engelleyen maddeler oluşturduğu da açıklanmıştır. İnsanlardaki hormon seviyelerini düzenleyen tahıl içerisindeki maddeler, hormonal düzensizliklerine bağlı olarak oluşan meme kanserinin oluşma riskini azalttığı açıktır. Az gelişmiş ölkeler için buğdayın önemi daha da fazladır. Buğday yaklaşık % 78 karbonhidrat, % 14 protein, % 2 yağ ve vitaminler, ayrıca çinko ve demir gibi insan beslenmesi için önemli mineraller de içermektedir. Ayrıca kolesterol içermeyen buğday, nişasta ve gluten, ısı ve enerji de sağlamaktadır (Kumar ve ark., 2011).

Başta buğday olmak üzere pirinç, mısırın da dahil olduğu tahıl grupları bütün insanlar için önemli gıda bitkileri olmaktadır. Bu tahıl grupları geçtiğimiz on bin yılda evcilleştirilmiştir. Yapılan araştırmalara göre, tahıl evcilleştirilmelerinin on bin ile on iki bin yıl öncesine kadar dayandığını göstermiştir. Bu evcilleştirme Verimli Hilal adı verilen Yakın Doğu, Orta Amerika ve Güney Çin'i kapsamaktadır. Yapılan evcilleştirmeler sonucu buğday, insan tüketimi için dünyanın en önemli besin kaynağı haline gelmiştir ve dünya nüfusunun yüzde 35'inden fazlası için kırktan fazla ölkede üretildiği anlaşılmıştır. ABD'de senede 55 ila 60 milyon ton buğday üretimi yapıldığı açıklanmakta ve bu rakamlarla ABD neredeyse dünya ihracatının yüzde 40'nı karşılamaktadır. Yapılan çalışmalardaki rakamlara göre dünyanın başlıca buğday üreten yerleri arasında ılıman ve güney Rusya, ABD'nin orta ovaları, Akdeniz Havzası, Hindistan, Avustralya, Kuzey Çin ve Arjantin yer almaktadır (Gustafson ve ark., 2009).

Buğdayın bu kadar önemli olmasının nedenleri arasında; iyi bir besin hammaddesi oluşu, adaptasyon sınırının genişliği, üretim, taşıma, depolama ve işleme kolaylığı gibidir. Bu nedenlerden dolayı dünya nüfusunun yaklaşık % 35'inin temel besin kaynağı durumundadır. Buğday tanesi yaklaşık % 65-75 nişasta, % 8-15 protein, % 1-5 yağ, % 1,5-3 şeker, % 1-2 kül, % 11-13 su içermektedir. Buğday tanesinde

karbonhidrat, yağ ve proteinin yanında, insan ve hayvan beslenmesinde önemli derecede rol oynayan vitaminleri de içermektedir (Özdemir, 2012).

Bitkiler sesil yani bir yere sabit şekilde tutunmuş yaşamları gereği hayat döngüleri boyunca büyüme ve gelişmelerini olumsuz yönde etkileyecek birçok stres faktörü ile karşılaşır (Öztürk ve Akten, 1996). Stres, canlı organizmalar için uygun olmayan çevresel faktörler ve koşullar olarak tanımlanmaktadır. Canlıların bu negatif çevre koşullarına karşı yaşama yeteneği ise stres direnci olarak adlandırılır. Canlılarda stres faktörleri gerginliğin artmasına sebep olmaktadır. Bu gerilme faktörü ise elastik gerilim de denilen ve olumsuz koşulların giderilmesiyle geri dönüşümlü olan fiziki ve kimyasal değişikliklere neden olmaktadır. Elastik gerilim tarım için çok fazla önemli değildir. Tarım için oldukça önemli olan, plastik gerilim ise stresin uzun ve devam etmesi halinde meydana gelen ve geri dönüşü olmayan bir gerginlik oluşturmaktadır. Stres, canlılarda önemli fizyolojik ve metabolik değişikliklere neden olarak büyümeyi ve gelişmeyi negatif olarak etkiler. Stres, bitki ve bitki doku ve organlarının ölmesine ayrıca ürün veriminin ve kalitesinin düşmesine neden olmaktadır. Stres etmenleri ile oluşan verimlilik kaybı yüzde 65 ve yüzde 82 gibi çok ciddi rakamlara ulaşmaktadır (Sade ve ark., 2011).

Stresler arası etkileşimler üzerine yapılan ilk araştırmalar bitki stres fizyolojisinin öncüsü olan Jacob Levitt tarafından yapılmıştır. Yapılan çalışmalara göre, normal şartlarda yani doğal koşulları içerisinde bitkiler en az iki çeşit stres faktörünün etkisi altındadır. Birbiriyle etkileşen bu stresler çapraz sinerjizm olarak adlandırılır. Doğal şartlarda bitkilerde bir stresin etkisi başka bir istenmeyen sorunlara neden olabilir. Örneğin; bitkilerde plastid pigmentlerin fotohibisyonu ile fotosentetik hızında azalmaya neden olan aşırı güneş ışınlarına genellikle kuraklık ve yüksek sıcaklık stresi de etki edebilir. Ayrıca fazla güneş ışınlarının negatif etkilerine ek olarak azotoksit, azotdioksit ile düşük molekül ağırlıklı toksik atıkların ortamda bulunması da eklenebilir. Bu bileşikler fotokimyasal reaksiyon geçirerek bitkiler için çok zararlı olan ozon ve peroksiasitrat gibi oksidatif ajanlara dönüşebilmektedirler. Birkaç stres faktörünün aynı andaki etkileri yani çapraz sinerjizm bitkilerdeki hasarın daha da artmasına neden olmaktadır (Alexieva ve ark., 2003).

Bu stres faktörleri abiyotik ve biyotik olarak sınıflandırılmaktadır (Büyük ve ark., 2012). Biyotik stres faktörleri; patojen, diğer organizmalarla rekabet iken, abiyotik stres faktörleri; kuraklık, tuzluluk, radyasyon, yüksek sıcaklık veya don vb.' dir (Kalefetoğlu ve Ekmekçi, 2005). Bu stres faktörlerinden kuraklık ve tuzluluk gibi abiyotik etmenler bitki gelişim ve ürün verimliliği için en önemli kısıtlayıcılar arasındadır (Boyer, 1982). Kuraklık stresi dünyadaki toprakların 1/3' ünden fazlasını etkilemektedir (Öztürk ve Akten, 1996). Kuraklık stresi, yalnızca su eksikliğini değil aynı zamanda tuz ve oksidatif stresi ve bunlara ek olarak besin sınırlandırılmasını da kapsayan karmaşık bir stres türüdür (Luna ve ark., 2005).

Bütün canlılar da olduğu gibi bitki büyüme ve gelişiminin de neredeyse her dönemi su noksanlığından etkilenmektedir. Bu bakımdan, suyun bitki hayatındaki önemini aşağıdaki gibi özetlemek mümkündür (Öztürk ve Akten, 1996).

- a. Hücre ve organların turgorunu ve stomaların açılıp-kapanmasını sağlar.
- b. Hücreyi ani sıcaklık değişimlerine karşı korur.
- c. Fotosentez için H<sup>+</sup> kaynağı olup, katalizator görevi yapar.
- d. Topraktan alınan erimiş bitki besin maddelerini kullanım yerlerine, sentez maddelerini de eriterek depo yerlerine taşır.
- e. Hücre içinde mineraller ve diğer iyonların eriticisidir.
- f. Enzim hidrasyonu ve dolayısı ile hücre organlarındaki metabolizma aktivitesi suyun varlığına bağlıdır.

Kuraklık, genel anlamda toprağın su içeriği ile bitki gelişiminde gözle görülür derecede azalmaya neden olacak kadar geçen yağışsız dönemdir. Genel olarak kuraklık, su noksanlığı ve kuruma olarak iki tipe ayrılabilir (Kalefetoğlu ve Ekmekçi, 2005). Buna göre:

Su noksanlığı; orta düzeydeki su kaybıdır ve stomalarda kapanmaya ve gaz değişiminde kısıtlamaya neden olmaktadır. Stomaların kapanmasına bağlı olarak da karbondioksit alımı kısıtlanmaktadır.

Kuruma; aşırı miktarda ki su kaybına denir. Metabolizma ve hücre yapısının tamamen bozulmasına neden olur. Bu aşırı su kaybı, enzimle katalizlenen

reaksiyonların durmasına bile neden olabilmektedir. Genel bir kural olarak, kuraklığa duyarlı vasküler bitkilerin çoğunda vejetatif doku, %30'un altındaki su içeriğinde iyileşme sürecine giremez (Kalefetoğlu ve Ekmekçi, 2005).

Genel olarak kuraklık stresine maruz kalan bitkilerin bu strese karşı ilk yanıtı büyümesini durdurmak olmuştur. Bitkiler sürgün büyümelerini durdurarak, metabolik gereksinimlerini en aza indirmekte ve ozmotik düzenlemeye yardımcı olacak koruyucu bileşiklerin sentezlenmesi için metabolitlerin harekete geçirilmesini sağlamaktadır. Kök büyümesinin durdurulmasıyla birlikte kök meristemleri aktif hale gelmektedir. Bu durumda da stres etkeni biraz hafifletildiğinde daha hızlı kök büyümesi olmaktadır. Stres durumunda bitkilerde stomalar da kapanmakta ve köklerden yapraklara düşük su iletkenliği olmakta sonrasında da hücelere su ulaşılabilirliği düşmektedir. Bu su iletkenliğindeki azalma filizlerde besin isteklerini düşürmektedir. Ancak bu durumun sonucunda da ksilemin embolisi önlenmiş olmakta, strese karşı bir yanıt oluşturulmaktadır. Normal şartlarda bitki büyümesi için kullanılan karbonhidratlar stres durumunda köklerin seçici büyümesini ve ozmotik ayarlama için gerekli olan çözeltilerin hazırlanılmasında kullanılmaktadır (Bhargava ve Sawant, 2013).

Bitki boyu, genetik bir özellik olmasına rağmen çevresel faktörler tarafından kontrol edilmektedir. Bitki kurak koşullarla karşılaştığında boyu azaltmaktadır. Buğdayda son sulamanın % 50'sinin tozlanma döneminde yapılması halinde kuraklığın bitki boyu üzerine pek de etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Yarı kurak Akdeniz ikliminde yetişen Arpa, özellikle tane dolum dönemine rastlayan geç dönem kuraklıklardan oldukça etkilenen önemli bir tahıldır. Kuraklık şiddetinin artmasıyla birlikte, bitkide fotosentez oranı, su içeriği, bitki boyu, tane dolum süreci, başak sayısı, başakta tane sayısı ve 1000 tane ağırlığında ciddi azalmaların olduğu belirtilmiştir. Kurak koşullar buğdayda ise, tane dolum sürecini ve yaşam döngüsünü kısaltmaktadır. Bu azalan tane dolum oranının nedeninin de fotosentez hızının azalması ve yaprak yaşlılığının artmasıdır. Yaprak yaşlılığının ilk belirtisi ise klorofil parçalanması ve fotosentezdeki azalmadır. Kuraklık yaşayan buğdayda absisik asit (ABA) biyosentezi gerçekleşmekte ve bunun sonucunda da polen sterilitesi meydana gelmektedir (Yavaş

ve ark., 2016). Su stresi bütün büyüme aşamalarında buğday verimini engellese de, özellikle de çiçeklenme ve tahıl doldurma dönemlerinde (terminal kuraklık) durum daha da ciddi bir hale gelmektedir ve büyük verim kayıpları oluşmaktadır. Bu ürün kayıplarının nedenleri arasında, metabolik sınırlamalar, kloroplastlardaki oksidatif hasar ve stomalardaki kapanma sebebiyle net fotosentez oranlarının azalması yer almaktadır. Dünya için çok önemli olan buğdayın kuraklığa direncinin geliştirilmesi için terminal kuraklığın etkilerinin iyi anlaşılması gerekmektedir (Farooq ve ark., 2014).

Kuraklık stresi yaşayan buğday kuraklığın süresine ve şiddetine göre farklı fenolojik dönemlerde değişik reaksiyonlar gösterebilmektedir. Bunların sonucunda da bitki gelişiminde ve verimliliğinde görülen olumsuz etkilerin de değiştiği belirtilmiştir. Örneğin; sapa kalkma döneminde kuraklık stresi yaşayan bitkide başakçık sayısının ve başaktaki tane sayısında azalmalar olduğu belirtilmektedir. Çiçeklenme ve tane doldurma döneminde ise, kuraklığın fertil başakçık sayısında azalmalara neden olduğu ayrıca taneye kuru madde taşınımında da düşüslere sebep olduğu ileri sürülmektedir (Aykut-Tonk ve ark., 2011).

Tozlanma sonrası kuraklık yaşayan buğdayda tane sayısı üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı belirtilmektedir. Tane dolum oranı üzerine etkisi de azdır. Ancak tane dolum süresi kısalmaktadır ve tane ağırlığında ciddi azalmalara yol açtığı belirtilmektedir. Ribuloz 1,5-bifosfat karboksilaz/oksigenaz (Rubisco) buğdayda kuraklıktan ilk olarak etkilenmektedir. Tozlanma dönemi kuraklık yaşayan bitkinin bayrak yaprağında Rubisco aktivitesi azalmaktadır. Ayrıca potansiyel olarak çözünebilir protein ve klorofil içeriğinin de azaltıldığı belirtilmektedir. Klorofil içeriğinin buğdayda, çeltikte ve nohutta kuraklık stresi ile birlikte azalma gösterdiği belirtilmiştir. Ancak bazı araştırmacılar mısır ve buğdayda kuraklık stresi karşısında klorofil içeriğinin stresin şiddetiyle ilgili olarak arttığını belirtmişlerdir. Bitkiler stres koşullarında su kaybını en aza indirmek için transpirasyonu azaltmakta ve bunun için de yaprak yüzey alanını daraltmaktadırlar. İşte bunlardan dolayı yapraklardaki toplam klorofil miktarının ve yaprak alanı başına klorofil içeriğinin arttığı düşünülmektedir. Geç dönemde kuraklık yaşayan buğdayda ise bin tane ağırlığında

(BTA) ciddi şekilde azalma olduğu belirtilmektedir. Soyada yapılan araştırmalara göre; kuraklığın bakla dolum döneminde meydana gelmesi soyadaki nisbi nem ve klorofil içeriğinin ciddi oranlarda azaldığını göstermektedir. *Triticale aestivum* de ise kuraklık stresi klorofil a, klorofil b, karotenoid içeriği, nisbi nem içeriği, bayrak yaprak alanı ve tane veriminin ciddi oranlarda azaldığı belirtilmiştir. Ayrıca prolin oranının kuraklıkla ilgili olarak arttığı belirtilmektedir (Yavaş ve ark., 2016).

Yapılan alışmalar sulama miktarının azaltılması ile buğdayda tane protein konsantrasyonunun arttığını, çekirdek ağırlığının azaldığını ve buna bağlı olarak da öğütme veriminin azaldığını göstermiştir. Su kıtlığının buğdayda proteini, kl gluteni arttırdığı belirtilmiş ancak nem oranında ve yağ miktarında ise ciddi düşüşlere sebep olmuştur (Noorka ve ark., 2009).

Son yıllarda yapılan bitki ve stres araştırmalarında amfifilik bir bileşik olan melatonin önemli bir çalışma konusu haline gelmiştir. Amfifilik özelliğinden dolayı hücre zarlarından kolayca geçebilmekte ve alt hücrelere rahatlıkla girebilmektedir. Melatonin denilen bileşik, bazı balık türlerinde, sürüngenlerde ve amfibiyenlerde bulunmaktadır ve bu canlıların cildini hafifletme yeteneğine sahiptir. Bitkilerde yapılan çalışmalara göre, melatoninin kök salıcı ajan olarak ve de büyüme promotörü olarak işlev gördüğü belirtilmiştir. Bu görevlerine ek olarak bitkinin stresle başa çıkma da önemli bir görevi olduğu da anlaşılmıştır. Yapılan araştırmalara göre, melatonin içeriği bakımından zengin olan bitkilerin strese daha toleranslı oldukları belirtilmiştir. Işık, sıcaklık gibi farklı çevresel stres koşullarında bitkide melatonin düzeylerinin arttığı belirlenmiştir. Stres çalışmalarına göre, güneş işığında yetiştirilen bitkilerin yapay işık altında yetiştirilen bitkilere göre köklerinde 3 kat daha fazla melatonin içerdiği belirlenmiştir. Bu da güneş işığındaki radyasyonun bitkideki melatonin seviyesini arttırdığını göstermektedir. Yine yapılan çalışmalara göre, farklı ozon stres hassasiyeti gösteren bitkilerin farklı melatonin içeriğine sahip olduğu bildirilmiştir. Bu sonuçlara göre araştırmacılar stres altındaki bitkilerin melatonin konsantrasyonlarındaki artışı stres koşullarını tolere etmeye yönelik bir reaksiyon geçirdiklerini, böylelikle melatonin seviyelerinin arttığını açıklamışlardır. Doğal yaşam alanlarında yüksek UV' ye maruz kalan Akdeniz bitkilerinde yapılan



çalışmalar yüksek miktarda melatonin içeriğine sahip olduğunu göstermekte ve bundan dolayı da araştırmacılar melatonin içeriğinin fotosentez olaylarını korumayla ilgili bir adaptasyon olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca yapılan farklı stres çalışmalarına göre yeşil mikro alglerdeki sıcaklık ve ağır metal bir bileşik olan kadmiyumun artışının canlıdaki melatonin düzeylerini bu oranda arttırdığı belirtilmiştir. Yüksek melatonin içeriğinin bitkilerde filizlenme sırasında tohumlarda koruyucu etkisi bulunmaktadır. Tuz ve kuraklık stresi altında bitkilerde fotosentetik olaylarda ve klorofil içeriğinde belirgin bir düşüş olmakta ve bunlara bağlı olarak da bitki büyümesi yavaşlamakta hatta durma derecesine gelmektedir. Streslerin bu yıkıcı etkilerini azaltmak için bitkilere melatonin ile ön muamele yapılmaktadır (Zhang ve ark., 2015).

Bazı stres çalışmalarına göre, bitkilerin stres etkenine maruz kalacağı dönemden daha erken bir sürede kalması bazı bitkilerin bu stres faktörleri için daha dirençli olacakları belirtilmiştir. İşte bitkilerin biyotik veya abiyotik stres etkenlerine önceden maruz bırakılması olayına astarlanma denilmektedir ve bu astarlanma olayının genellikle bitkilerde kısa süreli olsa bir stres hafızası oluşturduğu bunun neticesinde de bitkilerin stres faktörleri karşısında daha dirençli oldukları belirtilmektedir (Wang ve ark., 2014).

Kuraklık ve tuz stresi bitkiler için oldukça önemli etkilere sahiptir. Bu iki stres türü özellikle de yüksek ışık yoğunluğu altında fotosentezin normal sürecini bozmakta bunun sonucunda da fotorespirasyon artmakta ve hücrelerin homeostazisi değişmektedir (Miller ve ark., 2010).

Genel olarak özetlenecek olursa, kuraklık stresi ile birlikte bitkilerde, canlılar için oldukça zararlı olduğu bilinen reaktif oksijen türlerinin artışına neden olmaktadır. Zararlı bileşikler olan ROS (reaktif oksijen türleri)'ların etki alanları bitkiler için hayati öneme sahip fotosentez olayında gerekli olan klorofiller ayrıca mitokondri ve peroksizom gibi organellerdir. Bitkilerde stresle birlikte artan reaktif oksijen türleri enzimlerin inhibisyonuna, protein bozunmasına, DNA ve RNA hasarına neden olmakta ve bunların sonucunda da bitki ölümüne yol açmaktadır. Bitkilerin büyümesi

ve yaşamı için gerekli olan fotosentez ve solunum süreçlerini ROS' lar önemli derecede etkileyerek bitki büyümesini durdurmaktadır. Bitkiler su stresi sırasında daha fazla su kaybetmemek için stomalarını kapatmaktadırlar. Su stresi sırasında bitkilerde azalan fotosentez hızıyla birlikte ışık uyarımı fazla olduğunda PSII' nin aşırı uyarımına ve sonuç olarak da foto-oksidatif hasarın meydana gelmesine neden olmaktadır. Bu süreçler de zararlı olan reaktif oksijen türlerinin birikiminin daha da artmasına neden olur. Kuraklık stresi genellikle, PSI ve PSII' nin reaksiyon merkezlerinin oksijene dönüşen kompleksine zarar vermektedir (Huseynova, 2012).

Bitkilerin kuraklık stresinden etkilenmeleri bakımından bitki türleri ve çeşitleri arasında farklılıklar vardır. Hatta aynı bitkinin organları arasında bile fizyolojik ve metabolik değişimler açısından önemli farklılıklar bulunmaktadır. Bu farklı derecede kuraklıktan etkilenme şiddetleri genotipe bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Yani o genotipin stres altındayken geliştirdiği fizyolojik ve biyokimyasal tepkilere bağlıdır (Örs ve Ekinci, 2015).

Bitkiler maruz kaldıkları kuraklık stresine, biyokimyasal metabolizma, ekosistem seviyeleri ve kendilerine özgü bitki fizyolojik mekanizmaları ile direnç gösterebilirler. Bu tepkileri altı gruba ayırmak mümkündür. İlki; bitki kuraklık stresine girmeden önce yaşam döngüsünü tamamlayarak kuraklık stresinden kaçabilmektedir. İkincisi; su alma kapasitesini arttırarak su stresine karşı direnç oluşturmasıdır. Bitkiler bunu kök sistemlerini geliştirmek veya stomalarını ve yaprak alanlarını azaltarak yapabilmektedirler. Üçüncü su stresine tolerans ise, ozmotik ayarlama yeteneklerini geliştirmek ve hücre çeperi elastikiyetini arttırarak doku şişkinliklerini korumaya çalışmaktır. Dördüncü olay da bitkiler mesela yaşlı yapraklarını kuraklık stresine maruz bırakarak kuraklık stresinden en az derecede etkilenmeye çalışmaktadırlar. Beş; hayatlarının metabolik düzenlemelerini değiştirerek yani antioksidan metabolizmalarını arttırarak hayatta kalmaya çalışmaktadırlar. En son olarak da genetik mutasyon ve modifikasyon yoluyla bu kuraklık streslerine ayak uydurmaya çalışmaktadırlar (Xu ve ark., 2010).

İnsanların beslenmesinde çok önemli yerlere sahip olan bitkilerin stres etkenlerine maruz kalmasından dolayı oldukça büyük zararlar doğmaktadır. Durum böyle olmaya başlayınca da son yıllarda yapılan araştırmaların en önemli konularında biri de kuraklık başta olmak üzere, diğer stres türlerine karşı toleranslı bitkiler yetiştirmek olmuştur. Kuraklığa ve diğer streslere karşı toleranslı bitkiler geliştirmek için, fizyolojik, gen düzenleyici ağlar ve biyokimyasal süreçler incelenmekte ve araştırılmaktadır. Araştırmacıların bu çalışmalar için en çok kullandığı araçlar arasında, çeşitli görevlere sahip genomik araçlar yer almaktadır ve bunlar araştırmacılara stres sinyalini algılama ve iletimi ile ilişkili moleküler düzenleyici ağlar konusunda yardımcı olmaktadır. Bu genomik araçlar arasında, farklı stres indüklenebilir genler ve transkripsiyon faktörleri denilen çeşitli su stres indüklemeye sistemlerini düzenleyen faktörler yer almaktadır. Tolerans ve direnç süreçleri ile ilgili bitki özellikleri multigenik özelliğe sahip olduklarından dolayı kontrolleri ve mühendislikleri oldukça güçtür. Stresle ilgili transkriptler ve proteinler iki gruba ayrılmaktadır. Birinci grup, sinyalleme kaskadlarında ve transkripsiyonel kontrolleri kapsarken diğer grup da osmoprotektanlar, antioksidanlar ve reaktif oksijen türlerini (ROS) içermektedir (Valliyodan ve Nguyen, 2006).

Kuraklık stresine bağlı olarak bitkilerde ortaya çıkan etkileri 3 ana başlık altında toplayabiliriz (Kalefetoğlu ve Ekmekçi, 2005).

## **2.1. Mekanik Etki**

Bitkide turgor kaybı şeklinde kendini gösteren ve belirgin derecede su kaybı olduğu zaman ortaya çıkan birincil stresdir (Kalefetoğlu ve Ekmekçi, 2005). Su stresi ile birlikte bitkilerin normal büyümesi ve fizyolojisi birçok yönden olumsuz olarak etkilenmektedir. Su stresi olduğunda köklerde ters osmoz denilen kökün iç ortamına göre kök dışında çözülme konsantrasyonunun fazla olduğu bir olay gerçekleşmektedir. Bitki terleme yoluyla su kaybetmeye devam ederken su kök hücrelerinden çekilmektedir. Bunların sonucunda da hücre membranları büzülür ve hücre zarının bütünlüğü azalarak canlı hücrelerin zarar görmesine neden olmaktadır (Waraich ve ark., 2011). Hücrede su kaybı gerçekleştiğinde, membran

yapısı değişikliğe uğrar; fosfolipidlerin hidrofilik baş kısımları birbirlerine yaklaşır ve membranlar sıkı bir görünüm alırlar (Jel fazı). Jel fazında membran lipidleri sıvı-katı fazına göre daha az kinetik enerjiye sahiptirler. Böylece lateral (yan) ve rotasyonel (dönme) hareketleri de kısıtlanır. Su kaybıyla birlikte hücrede hacim de azalır. Daha sonra plazma membranı hücre duvarından ayrılır ve yalnız plazmodezmler aracılığıyla ilişkisini sürdürebilir duruma gelir yani hücrede plazmoliz olayı gerçekleşmiş olur. Gerilim altındaki plazma membranı ve tonoplastta gerçekleşen çökme, zarda yırtılmalara neden olabilir. Zarların yırtılmasıyla birlikte zarlar üzerinde yerleşmiş olan hidrolitik enzimler serbest kalabilir ve bu durumda sitoplazmanın otoliziyle sonuçlanabilir (Kalefetoğlu ve Ekmekçi, 2005).

## **2.2. Metabolik Etki**

Hücre için su; hücre içeriğinin büyük bir kısmını oluşturması, taşıyıcı olması, hücrenel reaksiyonlar ve işlevler için çözücü rolü oynaması gibi çok önemli fonksiyonel özelliklere sahiptir. Bu nedenlerden dolayı suyun hücreden kaybı gerçekleştiğinde normal olaylar ve düzenlemeler devam edemez ve metabolizma bozulur. Su kaybı olduğu zaman hücrede iyon-birikimi gerçekleşir. Bu iyon birikimleri de membran bütünlüğünü ve proteinlerin yapısının bozulmasına sebep olabilir. Bunların neticesinde de hücre zarar görebilir. Su kaybıyla birlikte proteinlerin yapısında da bozunmalar meydana gelir. Ayrıca hidrofobik ve hidrofilik amino asitlerin de su ile etkileşimleri bozularak protein denatürasyonlarına ve enzim inhibisyonlarına neden olabilir (Erenel ve ark., 1992).

## **2.3. Oksidatif Etki**

Serbest radikaller, dış orbitalinde tek sayıda elektron barındıran, hem organik hem de inorganik moleküller halinde bulunan atom veya moleküllerdir (Erden, 1992). Yüksek konsantrasyondaki oksijen hayvanlar, bitkiler ve mikroorganizmalar üzerinde şiddetli fizyolojik etkilere neden olabilir. Hatta daha ileri

konsantrasyonlarda letal (ölümcül) etkilere bile yol açabilmektedir (Erenel ve ark.,1992).

Bu serbest radikaller canlının içinde (in vivo) normal metabolizmanın ürünleri olarak açığa çıktığı gibi, organizmanın iyonize edici radyasyona, oksitleyici özellik taşıyan ajanlara ve doğal durumda serbest radikal metabolitleri oluşturabilen ksenobiotiklere maruz kaldığı durumlarda da açığa çıkabilirler. Canlılığın devamlılığı için zorunludurlar ve sayısız enzimatik reaksiyon ve biyolojik fonksiyonlar için gereklidirler (Erden, 1992).

Serbest radikaller, özellikle aktif oksijen türlerini; süperoksit molekülü ( $O_2^-$ ), singlet oksijen ( $^1O_2$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve hidroksil radikallerinin ( $OH^-$ ) oluşumunu içermektedir. Plazma membranı, mitokondri, ER membranlarında da serbest radikaller oluşabilmektedir (Kalefetoğlu ve Ekmekçi, 2005).

Bitkilerde stres sırasında oluşan ROS birikimi büyük ölçüde ROS üretimi ile birlikte ROS temizleme sistemi arasındaki ilişkiye bağlı olmaktadır. Yani bunlar da ışık, sıcaklık, kuraklık gibi bitki büyüme şartlarındaki değişiklikler ve bu etmenlerin süresi ve şiddetine de bağlı olmaktadır. Ayrıca bitki dokusunun bu dengesizliklere adaptasyon sürecine de bağlı olarak değişmektedir. Bitkilerde stres esnasında oluşan reaktif oksijen türlerinin artışının ana sebebi kloroplastlardaki karbondioksit fiksasyonunun sınırlandırılması ve buna ek olarak elektron taşıma zincirinin fazla indirgenmesi ile birleşmesidir (Miller ve ark., 2010).

Serbest radikallerden olan  $H_2O_2$  normal durumlarda fotosentez süreçleri, büyüme ve gelişme, biyotik ve abiyotik streslere tepki ayrıca hücre döngüsü gibi bitkiler için hayati öneme sahip olaylarda sinyal molekülü olarak görev yapmaktadır. Ancak aşırı  $H_2O_2$  birikimi hücrelerde oksidatif strese neden olmakta ve bunun sonucunda da kaçınılmaz hücre ölümleri gerçekleşmektedir. Serbest radikaller, hücrelerde birikimleri sonucu proteinlerde, DNA' da ve lipidlerde oksidatif hasara neden olmaktadır. Stres durumlarında bitkilerde “ oksidatif patlama ” denilen ROS' ların birikimi sonucu hücreler için oldukça zararlı bir olay gerçekleşmektedir. Bu

durumlar göz önüne alındığında serbest radikaller, özellikle de  $H_2O_2$ ' in hücrelerdeki miktarı stres göstergesi olarak kabul edilmektedir (Sofu ve ark., 2015).

Son yıllarda yapılan çalışmalara göre, hücreler için zararlı olduğu bilinen hidrojen peroksidin hücrelere zarar vermenin yanı sıra, hücrelerde bazı genlerin sentezlenmesi için bir sinyal molekülü ve düzenleyici bir rolü olduğu da ispatlanmıştır. Bu moleküller ve düzenleyiciler arasında, antioksidanları şifreleyen genler, hücreleri kurtarma veya savunma proteinleri, kinaz, fosfataz ve kopyalama faktörleri gibi sinyal proteinleri bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda tohumların veya fidelerin hidrojen peroksit ile ön-muamele yapılmasıyla soğuk stresi gibi farklı streslere karşı daha dirençli olduğu saptanmıştır. Hidrojen peroksit ile ön-muamele işlemleri ile hücrelerde antioksidan mekanizmaların aktifleşmesine veya gen ekspresyonunun modifikasyonuna neden olan erken stres sinyali olduğu düşünülmektedir (HongBo ve ark., 2005).

Bitkilerde ROS yoluyla sinyalleme, herhangi bir patojene karşı savunmada olduğu gibi apoplastik boşlukta yani hücre duvarında, NADPH oksidaz ile katalizlenen süperoksit oluşumu ile başlar ardından da apoplastik boşluğu lokalize eden SOD aktivitesi ve bunun sonucunda da  $H_2O_2$ ' e dönüştürme olayı gerçekleşmektedir (Kar, 2011).

İşte suyun kısıtlı olduğu zamanlarda, vejetatif bitki dokularında oksidatif stres meydana gelmektedir. Bunun nedeninin kloroplastta gerçekleşen ışık-klorofil etkileşimlerinin olduğu düşünülmektedir. Su azaldığı zaman, bitki daha fazla suyunu kaybetmemek için, genelde, stomalarını kapatır. Bu durumda da fotosentezle fiksasyon için gerekli olan  $CO_2$ 'nin alınımında azalmalara neden olur.  $CO_2$ 'nin bu kısıtlanmış alınımı da kuantum verimini azaltır ve fotosentez merkezinin reaksiyon merkezlerindeki eksitasyon enerjisinin artmasına neden olur, bu durumda da  $NADP^+$  (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 üretilmiş olur (Mehler reaksiyonu).

Suyun kısıtlı olduğu zaman birçok türde  $O_2^-$  oluşumu artmaktadır. Bu  $O_2$  oluşumu da; lipid peroksidasyonuna, yağ asidi doygunluğuna yol açarak membranların tamamen zarar görmesine neden olur. Aslında süperoksitin kendisi çok fazla reaktif değildir. Daha çok  $H_2O_2$  ve OH oluşturarak etkili olur. Hidrojen peroksit Calvin döngüsünün birçok enzimini inhibe eder. Ayrıca süperoksit ve hidrojen peroksit OH radikalini oluşturmak üzere tepkimeye girebilir (Haber-Weiss reaksiyonu). Bu tepkime sırasında da demir ya da bakır gibi diğer geçiş metalleri artar. Artan bu geçiş elementleri bu reaksiyonları hızlandırabilir ve sonuçta da oksidatif hasar daha da artabilir (Fenton reaksiyonu) (Kalefetoğlu ve Ekmekçi, 2005).

### **2.3.1. Antioksidan Sistemler**

Canlılarda çeşitli metabolik reaksiyonlar sonucu ortaya çıkan ve serbest radikallere karşı savaşan doğal bir savunma mekanizmaları vardır. İşte bu savunma mekanizmasını oluşturan bileşiklere “ antioksidanlar ” denilmektedir (Oral ve ark., 2015).

Antioksidanlar, enzimatik olmayan antioksidanlar ve enzimatik antioksidanlar olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Enzimatik olmayan antioksidanlar, askorbik asit (AA), tokoferoller (vitamin E), alkaloidler, protein dışı amino asitler, karotenoidler, glutatyon ve fenolik bileşiklerdir. Enzimatik antioksidanlar ise süperoksid dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (APX), glutatyon redüktazlar (DHAR), glutatyon peroksidaz (GPX), guaikol peroksidaz (GOPX), glutatyon- *S* (GR), monodehidroaskorbat redüktaz (MSHAR), dehidroaskorbat redüktaz ve katalaz (CAT) olarak bilinmektedir. Bitkiler için oldukça zararlı olduğu bilinen ROS' lar salisilik asit (SA), brasinosteroidler, etilen, jasmonik asit, absisik asit (ABA) gibi bitkilerin çevresel stresler karşısında büyüme ve gelişmesini ayrıca stres karşısında savunma yanıtları oluşturmasını sağlayan çeşitli fitohormonların sentezini indüklemektedir (Ahmad ve ark., 2010).

### 2.3.1.1. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

a) Askorbik asit (vitamin C): Enzimatik olmayan antioksidanlar arasında askorbik asit, reaktif oksijen türlerinin, özellikle de hidrojen peroksidin eliminasyonu için ana öneme sahiptir. Askorbik asitin yenilenmesi direkt olarak fotosistem I' deki indirgenmiş ferrodoksin ile ayrıca dehidroaskorbat (DHAR), monodehidrosterkorbit redüktaz (MDHAR) ve GSH ile katalizlenmektedir. Hidrojen peroksiti temizleyen AsA-GSH döngüsünü APX, MDHAR, DHAR, GSH, NADPH, GR ve GSH bileşikleri oluşturmaktadırlar (HongBo ve ark., 2005). Askorbik asit hücrelerdeki en güçlü ve en bol antioksidandır. Özellikle fotosentetik hücrelerde ve meristemlerde daha fazla miktarda bulunurlar. Koşullar normal durumdayken yaprak ve kloroplastlarda düşük seviyelerdedirler. Stres koşullarında konsantrasyonu artar.  $O_2^-$  ve  $OH^-$ 'in direkt temizlenmesini sağlayarak, oksidatif strese karşı tolerans sağlamada görev alır (Büyük ve ark., 2012). Ayrıca ABA, stres durumunda bitki dokularında SOD, APX, GR ve CAT gibi antioksidan enzim aktivitelerini de arttırmaktadır (Jiang ve Zhang, 2002).

Ayrıca yapılan çalışmalara göre, farklı buğday tohumları AsA ile ön işleme tabi tutmak bitkilerin stres durumlarında daha dayanıklı hale getirmiştir. AsA ile ozmoprimleme yapıldığında, AsA ve fenoliklerin ayrıca antioksidanların hareketi sayesinde buğday çeşitlerinin kuraklığa toleransı artmakta ve bunların sonucunda da dokulardaki su oranı, membran geçirgenliği ve fidelerin daha düzgün büyüdükleri görülmüştür. Dolayısıyla da oksidatif hasar azalmakta bunu takiben de bitki su içeriği de düzelmiştir (Farooq ve ark., 2013).

b) Tokoferoller (vitamin E): Biyolojik membranlarda özellikle de kloroplastların tilakoid membranlarında çok fazla bulunmaktadırlar. Bitkilerde tokoferollerin dört izomeri ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - ve  $\delta$ -) yer almaktadır. Bu dört izomer arasından  $\alpha$  tokoferoller; moleküler yapılarında üç metil grubu içerirler ve bu sebeple de en yüksek antioksidatif aktiviteye sahiptirler.  $O_2^-$  gibi ROS çeşitlerine karşı membran kararlılığının korunmasında önemli fonksiyonları vardır. Bazı yapılan araştırmalarda, oksidatif stresin bitkilerde tokoferol sentezinden sorumlu olan genlerin ifade seviyelerini arttırdığı belirtilmiştir. Örneğin; *Lycopersicon esculentum* (domates),



*Arabidopsis thaliana* (Farekulağı teresi) , *Nicotiana tabacum* (tütün) gibi birçok bitkide farklı stres şartları altında yapılan çalışmalarda,  $\alpha$  tokoferol artışı ve bununla birlikte bitki dokularının oksidatif strese karşı savunulmasında önemli rolü olduğu gözlenmiştir (Büyük ve ark., 2012).

c) Karotenoidler: Bitki ve mikroorganizmalarda bulunurlar. Karotenoidlerin doğada 600'ün üzerinde çeşitleri bulunmaktadır (Büyük ve ark., 2012).

d) Glutasyon: Bitkilerde sitozol, endoplazmik retikulum, vakuol, mitokondri, kloroplast, peroksizom gibi çoğu yerlerde bulunmaktadırlar. Glutasyon bitki normal koşullar altındayken sülfat taşınımının düzenlenmesi, sinyal iletimi, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu ve stresle ilgili genlerin ekspresyonu gibi görevlere sahiptir. Ayrıca hücre farklılaşması, hücre ölümü, patojen direnci ve enzimatik düzenleme gibi büyüme ve gelişme ile ilgili görevleri de bulunmaktadır (Büyük ve ark., 2012). Ayrıca bunlara ilaveten glutasyon askorbat/ glutasyon döngüsüne katılmakta ve hidrojen peroksiti metabolize etmektedir. Glutasyon sistemi glutasyon disülfür (GSSG)' nin GR aracılığıyla hızlı bir şekilde glutasyon (GSH)' ye düşürülmesinde etkilidir. Ayrıca glutasyon peroksidaz (GP) ve glutasyon transferaz (GT) hücre proteinlerini ve zarlarını zararlı olan oksidasyona karşı korumak için organik peroksitleri azaltmaktadırlar (Loggini ve ark., 1999).

e) Fenolik bileşikler: Karbon atomu sayılarına göre farklı gruplara (fenolik asitler ve flavonoidler) ayrılırlar. Yapılan araştırmalara göre; farklı çevresel faktörler ve stres koşulları altında fenolik bileşik miktarlarında artış meydana geldiği açıklanmıştır. İzoflavonlar flavonoidlerden biridir. Bitki enfekte olduğunda, yaralandığında, düşük sıcaklıklar altında ve düşük besin koşullarında izoflavonların miktarında artış olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca bitki kendisini UV-B etkisinden korumak için de UV absorbe eden flavonoidlerini epidermal hücrelerin vakuollerinde biriktirmektedir (Büyük ve ark., 2012).

Bitkilerde büyümeyi teşvik eden hormonlardan biri de brassinosteroidlerdir (BRs). Bu hormonların büyüme, tohum çimlenmesi, kök gelişmesi ve bitkinin maruz kaldığı abiyotik streslere karşı bitki toleransı sağlama gibi görevleri bulunmaktadır. Ayrıca brassinosteroidler bitkilerin büyümesini ve metabolizmasını farklı hormonlarla da sinerjik bir etki göstererek yapmaktadırlar. Yapılan çalışmalara göre bitki çeşitli

streslere maruz kaldığında brassinosteroidlerin miktarında bir artış olduğu belirtilmiştir. Yapılan çalışmalarda kuraklık stresi yaşayan *Korospora bungeana* bitkisine dışardan brassinosteroid uygulandığında kuraklığa olan direncinin arttığı ayrıca antioksidant enzimlerin ve enzimatik olmayan antioksidantların da miktarındaki artışla beraber lipid peroksidasyonu (MDA) miktarında bir azalma olduğu gözlemlenmiştir. Yine kuraklık stresi altında *Zea mays* (mısır) bitkisine ekzojen brassinosteroid uygulanmasıyla birlikte enzimatik antioksidant seviyeleri, protein içeriği ve stres göstergesi olan prolin seviyelerini arttırmış bunlara sonucunda da kuraklığın bitkideki zararları etkilerini azalttığı bildirilmiştir. *Glycine max* (soya fasulyesi) bitkisinin yapraklarına brassinosteroid uygulanmasıyla birlikte yapraklardaki şeker ve prolin konsantrasyonları artmış bununla birlikte de POD ve SOD aktivitelerini arttırarak yapraklardaki MDA konsantrasyonu azalmıştır. Brassinosteroidler sadece kuraklık stresi olan bitkilerde değil aynı zamanda diğer abiyotik stres etmenleri olan tuz stresi, böcek öldürücü ilaçlar, sıcaklık değişiklikleri ve ağır metallere karşı da bitkileri koruyucu rolleri bulunmaktadır (Vardhini ve Anjum, 2015).

### 2.3.1.2. Enzimatik Antioksidanlar

a) Süperoksit dismutaz (SOD: EC 1.15.1.1) : 1960' ların sonlarında keşfedilen süperoksit dismutaz' ların artık bazı anaeroblar dışında tüm organizmalarda olduğu düşünülmektedir. SOD' un keşfi ile biyolojik sistemlerde, oksijenin süperoksit bileşiğine  $H_2O$ ' ya dörtlü indirgeme ile oluştuğunun kabul edilmesine olanak tanımıştır (Foyer ve Noctor, 2005). Metalloproteinlerdir. Çok yüksek katalitik etkinliğe sahiptirler. Oksijeni  $H_2O_2$ 'e dönüştürürler. Bu enzimlerin aktif merkezlerinde bulunan metal iyonlarına göre üç izoenzimleri vardır. Aktif merkezinde bakır ve çinko içeren Cu/ Zn SOD, mangan içeren Mn SOD ve demir içeren Fe SOD'lardır. *Morus alba* L. (dut), *Cicer arietinum* L. (nohut) ve *Lycopersicon esculentum* (domates) gibi bitkilerde yapılan araştırmalara göre; SOD' ların biyotik ve abiyotik stres karşısında konsantrasyonlarının arttığı gözlemlenmiştir. Ayrıca oksidatif stresle başa çıkmada ve bitkilerin stres koşulları

altında canlılığını devam ettirmesinde önemli rolleri olduğu belirtilmektedir (Büyük ve ark., 2012).

b) Askorbat peroksidaz (APX: E.C. 1.11.1.11) :Yüksek bitkiler, algler, kamçılılar gibi birçok organizmada ROS'lara karşı savunmada önemli role sahip olduğu düşünülmektedir. tAPX, gmAPX, sAPX, cAPX gibi en az beş farklı izoformdan oluşurlar. APX'lar katalaza göre H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye daha fazla affiniteye sahiptirler. APX'ların da birçok stres karşısında bitkideki konsantrasyonlarının arttığı gözlenmiştir (Büyük ve ark., 2012).

c) Katalaz (CAT: E.C. 1.11.1.6.) : Hücreleri strese karşı korumada en önemli görevlere sahip antioksidanlardan biridir. Bitkide stres koşulları altında zararlı H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşmaktadır. Bu zararlı H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin H<sub>2</sub>O ve O<sub>2</sub>'ya direkt olarak dönüşümünü sağlamaktadırlar. Farklı katalaz izozimlerini kodlayan genlerin stres altındaki davranışlarını incelemek amacıyla gerçekleştirilmiş olan gerçek zamanlı kantitatif PCR çalışmaları sonucunda *Lycopersicon esculentum* (domates), *Hordeum vulgare* (buğday), *Corylus maxima Mill.* (Lambert fıncığı), *Pinus nigra* (çam) ve daha birçok bitkide yapılan gerçek zamanlı kantitatif PCR çalışmalarına göre; farklı katalaz izozimlerini kodlayan genlerin stresle ilişkili olarak ifade düzeylerinin de arttığı belirtilmektedir (Büyük ve ark., 2012).

d) Glutasyon peroksidaz (GPX: E.C.1.11.1.9): GPX'lerin farklı izozimleri vardır ve geniş bir aileye sahiptirler. Glutasyonu H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, organik ve lipit hidroperoksitlerin miktarlarını azaltmada kullanılmaktadır. *Capsicum annuum L.* (biber), *Pisum sativum* (bezelye) ve *Lycopersicon esculentum* (domates) gibi bazı bitkilerde yapılan çalışmalara göre; stres koşulları altında GPX'in hücreler için önemli koruyucu bir rolü olduğu belirtilmektedir (Büyük ve ark., 2012).

Daha önce de açıkladığımız gibi stres faktörleri bitkilerde fizyolojik ve biyokimyasal zararlar oluşturarak, ürün nicelik ve niteliğini olumsuz yönde etkileyebilir. Bitkiler bu olumsuz etkileri azaltmak veya engellemek için bazı moleküler savunma mekanizmalarına sahiptirler. Bu savunma mekanizmaları;

1. Makromoleküllerin ve iyonların homeostasisi,
2. Koruyucu moleküllerin sentezi,

3. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumu ve detoksifikasyon olmak üzere üç grupta toplanabilir (Büyük ve ark., 2012).

#### **2.4. Makromoleküllerin ve İyonların Homeostazisi**

Abiyotik stres faktörlerinin çoğu (tuzluluk, kuraklık, yüksek ve düşük sıcaklıklar gibi) bitkilerde hücrel dehidrasyona yol açmakta ve iç dengeyi (homeostazi) bozmaktadır. Hayvanlarda bulunan Na-ATPaz veya Na/K-ATPaz bitki hücrelerinde bulunmamaktadır. Bitkilerde ise tüm iyon ve metabolitlerin taşınımı H-ATPazlar ve H-pirofosfatazlar ile gerçekleştirilmektedir. Bitki herhangi bir yaşam evresinde stres faktörleriyle karşılaştığında birtakım düzenlemeler H-ATPazlar ve H-pirofosfatazlar aracılığı ile iyonların iletimi yapılmakta ve homeostazi sağlanmaktadır (Büyük ve ark., 2012). Ayrıca yapılan araştırmalara göre, kuraklık stresi ile karşılaşan bitkilerde köklerden ABA sentezlenmektedir. Bu sentez stomalarda kapanmayı gerçekleştirerek bitki büyümesini engellemekte ve stres koşullarına uyum sağlamasına yardımcı olmaktadır. Yapılan çalışmalara göre ABA biyosentezinde kilit bir enzim olan 9-*cis*-epoksikarotenoid dioksigenaz3 (NCED3)' ın *Arabidopsis thaliana'* a eksprese edildiğinde su stresi altında filiz büyümesinin iyileşmekte olduğu sonucuna varılmıştır (Bhargava ve Sawant, 2013). Bazı çalışmalarda da *Arabidopsis thaliana'* teki 9- *cis*- epoksikarotenoid dioksigenaz3 kuraklık stresi sırasında bitkilerde sentezlenen absisik asit biyosentezinde önemli bir basamağı aktifleştirdiği de belirtilmiştir. Ayrıca ABA sinyalinin, iyon taşınmasında ve stomatal cevapların düzenlenmesinde rol oynayan transkripsiyon faktörlerin (TF' ler) aracılık ettiği kompleks düzenleyici olaylar ile kontrol edildiği de belirtilmektedir (Osakabe ve ark., 2014).

#### **2.5. Koruyucu Moleküllerin Sentezi**

Bitkilerde strese karşı verilen cevaplardan biride düşük moleküler ağırlıklı çözünen maddeler veya ozmolitler (şekerler, polioller, prolin gibi aminoasitler), ısı şoku proteinleri (Heatshock) ve LEA (geç embriyogenez bağımlı) proteinleri gibi farklı özel proteinlere dayanmaktadır (Mattioni ve ark., 1997). Bitkilerde kuraklık, tuzluluk

gibi çeşitli stres etkenleri altında putrescine, spermi ve spermidin denilen üç önemli poliamin birikimi gözlenmektedir. Yapılan çalışmalara göre, stres koşullarının ornitin dekarboksilaz (ODC)' den daha fazla arginin dekarboksilaz (ADC)' ın aktivitesini indüklediği belirtilmektedir (Groppa ve Benavides, 2008).

Ozmolitler ROS'un temizlenmesinde görev yaparlar ve koruyucu moleküllerdir. Ozmotik ayarlayıcı ve ozmoprotektan olarak görevleri vardır. Suyun sitoplazmada alıkonmasını sağlarlar. Sodyumun apoplast ve vakuollerde tutulmasını kolaylaştırırlar ve böylece hücrel yapıları korumaktadırlar. Bitkilerin çoğu kuraklık, tuzluluk ve diğer stres türlerine maruz kaldıklarında kendileri için zararlı olmayan ve koruyucu role sahip olan ozmolitler biriktirmektedirler. Bu ozmolitlerden biri de prolindir. Bitki hücrelerinde bu prolinin birikimi iki şekilde olmaktadır. Bunlar; biyosentezinin aktivasyonu ve de bozunmasının inaktivasyonu ile olmaktadır (Mattioni ve ark., 1997).

Prolin organizma için çok önemli görevlere sahiptir. Mitokondriyal işlevleri optimize etmek, hücre proliferasyonunu etkilemek ve stres durumlarında bitkinin hayatta kalabilmesi ve iyileşmesi için gen ekspresyonunu aktive etmek için bir sinyal görevi görmek bu önemli fonksiyonlar arasındadır (Szabados ve Savouré, 2010).

*Escherichia coli*' de yaklaşık 40 yıl önce biyosentetik yolu belirlenen prolin 20 amino asitten biridir. Prolin bitkilerde glutamat yolu ve ornitin yolu olmak üzere iki şekilde sentezlenmektedir. Ozmotik stres esnasında büyük prolin birikimi oluşmaktadır ki bu glutamat yoludur. İkinci prolin sentezlenme yolu ise, ornitin- $\delta$ -aminotransferaz ile ornitin' den sentezlenmektedir. Muhteşem bir ozmolit olan prolin, stres sırasında metal kilitleme maddesi, antioksidan savunma molekülü ve sinyal molekülü olmak üzere üç ana rol oynamaktadır. Yapılan çalışmalara göre, prolinin stres altında kalan bitkilerde fazla proliferasyona neden olduğu ve bunun sonucunda da hücre turgoru ve ozmotik dengeyi koruyarak bitkilerde strese karşı tolere yeteneği kazandırdığı düşünülmektedir. Daha da fazlası elektrolit sızıntılarını engelleyen zarları dengelemekte ve ROS' ların miktarlarını normal değerlere gelmesini sağlayarak bitkiler için çok zararlı olduğu bilinen oksidatif patlamayı

önlemektedir. Stres çalışmalarında belirtildiğine göre bitkilere ekzojen olarak düşük miktarlarda prolin verildiğinde strese karşı toleransın arttığı belirtilmektedir. Ayrıca prolinin kuraklık stresi sırasında fotosentez üzerine de önemli etkileri bulunmaktadır. Mitokondrial elektron taşıma II kompleksini, RUBISCO ve zar ve proteinleri dengeleyerek bitkileri strese karşı muhafaza etmektedir. Tütün bitkisine ekzojen olarak uygulanan prolin, glisin betain gibi diğer ozmolit bileşiklerle karşılaştırıldığında stresin etkilerinin azaltılmasında daha etkili olduğu görülmüştür (Hayat ve ark., 2012).

Ozmotik ayarlama yoluyla kuraklık stresine karşı bitkileri koruyan diğer bileşiklerden biri de manitol adı verilen ve farklı alg ve bitki türlerinde bulunan önemli bir fotosentez ürünüdür. Çalışmalara göre, mannitol dehidrogenaz (mtl) geninin buğdaya aktarılması sonucunda kuraklık stresine karşı suyun artışı sağladığı ve bunun sonucunda da bitkinin strese karşı tolerans oluşturduğu belirtilmiştir (Valliyodan ve Nguyen, 2006).

Reaktif oksijen türlerinden olan singlet oksijen ( $^1O_2$ ) canlı sistemleri için oksidatif hasarın başlıca sebeplerinden biridir. Su stresi, tuzluluk, ağır metaller, herbisitler gibi stres durumlarında singlet oksijeninin arttığı araştırmalarda belirtilmiştir. Çeşitli stres durumlarında prolin birikiminin arttığı bilinmekte ancak bu birikimin sebebi henüz tam olarak bilinmemektedir. Genellikle prolin, karbonat ve azot kaynağı gibi hareket etmekte ve böylece enzimlerin denatürasyonunu engellemekte, sitozollerdeki asit değerlerini stabilize etmekte ayrıca bunlara ek olarak NAD/ NADH oranının dengelenmesinde yardımcı olduğuna inanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda belirtildiğine göre, ayrıca prolin stres durumlarında artan singlet oksijeninin azatılmasında çok etkili olduğu öne sürülmüştür (Alia ve ark., 2001).

Stres durumlarında bitkilerde zararlı etkilere karşı savunmayı sağlayan çözünür şekerler, amino asitler, organik asitler, lipidler ve poliaminlerden oluşmaktadır. Bu çeşitli metabolitlerin önemli bir grubu da suda oldukça çözünebilir ve çok fazla zehirli olmayan organik metabolitlerdir ki bunlar “ uyumlu çözünen maddeler ” denilen maddeleri içermektedirler. Stres çalışmalarında en iyi çalışılabilen uyumlu

çözünen maddelerden biri de glisin betain (GB) denilen bileşiktir. Glisin betain, bir kuarterner amonyum bileşiği olmakla birlikte bakterilerde, deniz omurgasızlarında, bitkilerde ve memelilerde bulunmaktadır. Glisin betain genellikle 2 biyosentetik yol ile oluşmaktadır. Birincisi birçok hayvan, bitki ve mikroorganizmalar da gözlemlenen glisin betain kolin ile iki safhalı olan bir oksidasyon reaksiyonu ile sentezlenmektedir. İkincisi ise *Actinopolyspora halophila* ve *Ectothiorhodospira halochloris* gibi ekstrem halofitik bakterilerde tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalara göre bu bakterilerde glisin betain, glisinden 3 aşamalı N-metilasyon tepkimesi ile sentezlenmektedir. Tuz, kuraklık, sıcaklık gibi abiyotik stres etmenleri glisin betainin bitkilerde doğal olarak sentezlenmesini tetiklemektedir. Ayrıca bitkilerde abiyotik stres glisin betain sentezinin tek indükleyicisidir. Glisin betain birikiminin bitkilerde çeşitli abiyotik stres etmenlerine karşı tolerans sağladığı belirtilmiştir (Chen ve Murata, 2011). Kuraklık stresi altında olan iki farklı tütün bitkisine ekzojen olarak yapraklardan glisin betain uygulanmış ve bunun sonucunda da yapraklardan glisin betain absorbe edilmiş ve GB' nin biriktiği gözlemlenmiştir. GB ile muamele edilen bitkilerde antioksidan aktiviteler artmış ve gelişmiş ozmotik ayarlamalar sayesinde de yapraktaki su durumunu muhafaza ettiği görülmüştür. Yapılan çalışmalara göre, büyüme evresindeki bitkilere yapraklardan glisin betain uygulamasının bitkide özellikle su seviyesinin iyileştirilmesi ve PSII aktivitesinin artmasına ve bunların sonucunda da bitki büyümesinin hızlandığı belirtilmektedir (Ma ve ark., 2007).

Isı şoku proteinleri; protein katlanması, hücresel düzenlenme ve uygun olmayan proteinlerin hücrede birikiminin önlenmesini, proteinlerin fonksiyonel konformasyonlarının muhafaza edilmesini sağlamaktadırlar. Bunlara ek olarak proteinleri ve zarları stabilize eder ve stres durumlarında proteinin yeniden katlanmasına olanak tanımaktadırlar (Wang ve ark., 2004).

LEA (geç embriyogenez bağımlı) proteinleri farklı stres koşullarında da sentezlenmektedirler. Moleküler şaperon gibi davranarak proteinlerin üç boyutlu yapısını kazanmasını sağlayan proteinlerdir. Isı şoku proteinleri hasar görmüş ve yanlış katlanmış polipeptitleri bağlama kapasitesine sahiptirler. Bu sayede polipeptitlerin yıkımını önlerler ve hücreyi strese karşı korumada rol almaktadırlar.

LEA (geç embriyogenez bağımlı) proteinlerine ilk olarak tohum embriyolarında tanımlanmıştır. Yine bu proteinlerin de bitkilerde stres faktörlerine karşı koruyucu etkileri olduğu düşünülmektedir. Hidrofilik LEA (geç embriyogenez bağımlı) proteinlerinin suyu bağlama yetenekleri bulunmaktadır. Stres faktörleri karşısında su eksikliği etkilerini azaltmaktadırlar ve hücre sel bütünlüğün korunmasında rol oynamaktadırlar (Büyük ve ark., 2012).

## 2.6. Reaktif Oksijen Türleri (ROS) ve Detoksifikasyon

Bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük moleküller serbest radikal olarak tanımlanmaktadır (Mercan, 2004). Serbest radikaller oksijenin kısmi indirgenmesiyle oluşmaktadırlar. Dokular ve hücreler, nükleik asitler ve özellikle de membran lipidleri için önemli tehlikeler oluşturmaktadırlar (Harris, 1992). Hücrelerde endojen ve ekzojen kaynaklı etmenlere bağlı olarak oluşmaktadırlar. Ekzojen kaynaklı etmenler arasında parakuat, allokstan gibi kimyasallar, karbon tetraklorür, iyonize ve ultraviyole radyasyon, sigara dumanı, alkol ve uyuşturucular gibi maddeler yer almaktadır. Serbest radikaller hidroksil, süperoksit, nitrik oksit ve lipid peroksit radikalleri gibi değişik kimyasal yapılara sahiptirler. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir (Mercan, 2004).

Hücrelerde bilinen başlıca ROS'lar; singlet oksijen ( $^1O_2$ ), süperoksit anyonu ( $O_2^-$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve hidroksil radikali ( $OH^-$ ) dir ve bunlar normal koşullarda hücredeki düzeyleri denge halindedir. ROS' lar bitkilerde endojen kaynaklı olarak bulunurlar. Bu endojen kaynaklar arasında kloroplastlardaki fotosentez reaksiyonları, plastit ve peroksizomlarda, mitokondrilerdeki sitrik asit döngüsünde NADPH oksidaz, hücre duvarı peroksidazları ve amino oksidazlar gibi enzimlerin etkisiyle oluşmaktadırlar (Büyük ve ark., 2012).

Stres çalışmalarına göre, glutatyon (GSH) ve glutatyon disülfür (GSSG) redoks çiftlerinin miktarları bitkinin optimum koşullar veya stres etkenleri altında olup olmadığına bağlı olarak değişmektedir. Bu redoks çiftleri hücre ve dokularda redoks



dengeinin korunmasını sağlamaktadırlar. Bitki optimum büyüme şartlarında GSH/ GSSG oranı yüksektir. Ancak stres durumunda moleküler arası disülfür köprülerinin oluşumu engellenmekte bunun neticesinde de bu oran azalmaktadır. Stres koşullarında reaktif oksijen türlerinin detoksifikasyonu esnasında GSH' ın oksidasyonu nedeniyle ve metabolizmadaki dengesizlikler sonucunda GSH/ GSSG oranı oldukça azalmaktadır. Bu azalan oran ile birlikte antioksidanlar, stres hormonları ve oksidanları kapsayan bir redoks sinyal yolağı ile farklı savunma mekanizmaları aktif hale gelmiş olmaktadır. Ayrıca bunlara ilaveten GSH tioldisülfür ve glutatyonilasyon dönüşümü ile proteinlerin gen ekspresyonunu ve aktivitelerini de kontrol etmektedir (Szalai ve ark., 2009).

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Materyal

Araştırmada, 7 adet tescilli ekmeklik buğday genotipi kullanılmıştır (Tablo 1.1.). Çalışmada kullanılmış olan buğday genotipleri ülkemizde bulunan bazı tarımsal araştırma enstitülerinde geliştirilmiş, kuraklığa toleransla ilgili fizyolojik testler sonucu öne çıkan genotiplerdir. Kontrol çeşit olarak kuraklığa oldukça toleranslı olduğu bilinen Gerek 79 genotipi ile hassas Sultan 95 genotipi kullanılmıştır.

**Tablo 1.1.** Araştırmada kullanılan ekmeklik buğday genotipleri

No	Geliştiren Kurum	Çeşit/ Hat Adı	Fizyolojik Açından Önemli Parametre	Bitkinin Tez İçerisinde Kullanılan Kısaltılmış Adı
1	GKTAE	GEREK 79	Yüksek Kardeşlenme Kapasitesi, Erkencilik	GEREK
2	GKTAE	SULTAN 95		SULTAN
3	GKTAE	HAYMANA79/ALTAY 2000	Tane Doldurma	HAYMANA
4	GKTAE	GRK/CTY//MESA/3/RL 6043/4*NAC/4 MNCH	Erken Kapatma, Oransal Su İçeriği	GRK/ CTY
5	GKTAE	T 98-9//VORONA/HD2402	Erken Kapatma, Oransal Su İçeriği	T98-9
6	GKTAE	PASTOR/DEMİR2000// MUFITBEY	Yeşil Kalma Süresi	PASTÖR
7	GKTAE	PM ME1 IRR_S-32//TMP64/YY305/3/M UFITBEY	Yeşil Kalma Süresi	PMMEI

GKTAE: Eskişehir Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü

#### **Tez çalışmasında kullanılan cihazlar;**

Thermo SCIENTIFIC (-80 cihaz)

OHAUS pH metre

DLAB vorteks mixer

DLAB orbital çalkalayıcı

DAIHAN Biomedical hassas terazi

BM 302 su banyosu

Shimadzu spektrofotometre

### **Tez çalışmasında kullanılan kimyasallar;**

ACROS Trichloroacetic acid, % 99  
ACROS Ascorbic acid, % 99  
ACROS Catechol, % 99  
ACROS Guaiacol, % 99  
ACROS Ninhydrin  
FISHER Potassium Phosphate Dibasic  
FISHER Potassium Phosphate Monobasic  
FISHER Albumin  
FISHER Brilliant Blue G-250  
FISHER Acetic acid glacial  
TCI Thiobarbituric Acid  
J. T. Baker Toluene  
SIGMA- ALDRICH Acetone  
SIGMA- ALDRICH Ethanol  
SIGMA- ALDRICH Sodium hypochlorite

### **Tez çalışmasında kullanılan tamponlar;**

1 M  $K_2HPO_4$  (Dibasic)' ten 5,35 g ve 1 M  $KH_2PO_4$  (Monobasic) 'ten 2,62 g tartılıp 900 ml suda çözünür ve pH:7 için ölçüm yapılır. Son hacim 1 lt' ye su ile tamamlanır.

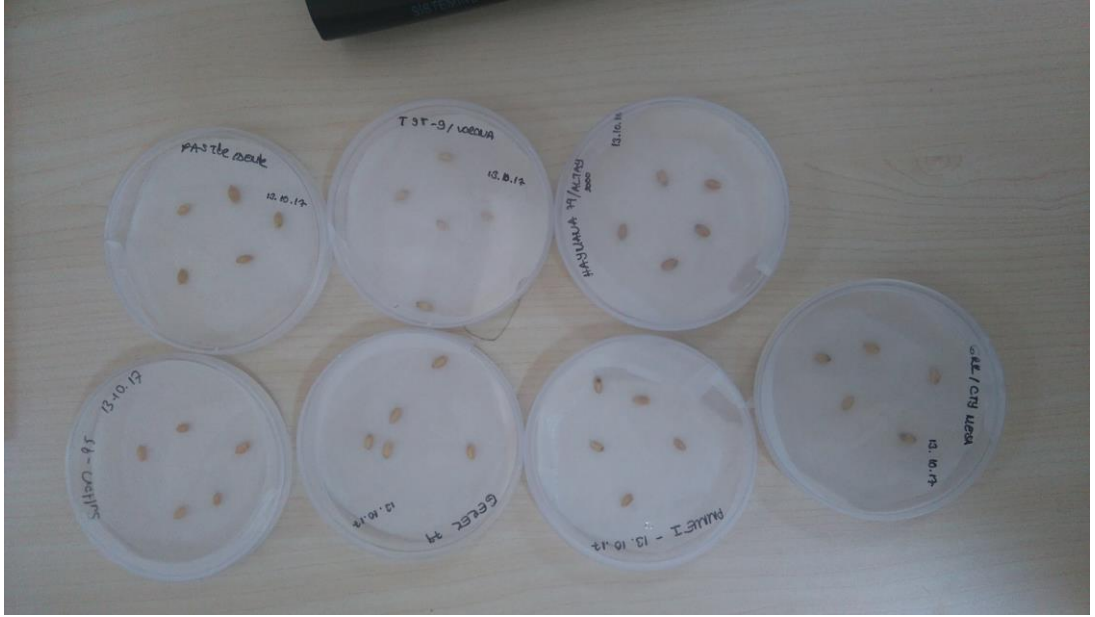
1 M  $K_2HPO_4$  (Dibasic) ' ten 1,15 g ve 1 M  $KH_2PO_4$  (Monobasic)' ten 5,9 g tartılıp 900 ml suda çözünür ve pH:6 için ayarlama yapılır. Son hacim 1 lt' ye su ile tamamlanır.

1 M  $K_2HPO_4$  (Dibasic)' ten 8,18 g ve 1 M  $KH_2PO_4$  (Monobasic)' ten 0,4 g tartılıp 900 ml suda çözünür ve pH:8 için ölçüm yapılır. Son hacim 1 lt' ye su ile tamamlanır.

## 3.2. Metot

### 3.2.1. Tohum Sterilizasyonu ve Ekim İşlemleri

Seçilen buğday çeşitlerine ait tohumlar % 70'lik etanol içerisinde 1 dakika boyunca tutulduktan sonra % 5'lik sodyum hipoklorit içerisine konularak 10 dk boyunca karıştırılmıştır. Sodyum hipokloritten alınan tohumlar 4 kez distile su ile durulama yapılmış ve bu şekilde yüzey sterilizasyonu sağlanmıştır. Bu işlemlerin ardından tohumlar petri tabaklarında çimlendirilmiştir (Şekil 1.1.). 7-10 günlük fideler saksılara alınarak 40 gün boyunca saksılarda sera ortamında eşit koşullarda yetiştirilmiş (Şekil 2.1.) ve 40. gün sulama bırakılmıştır. Sulamanın bırakıldığı gün 0. gün kabul edildi ve 10 gün boyunca bitkiler sulanmamıştır. Daha sonra uygulama gruplarından 3, 6, ve 10. günlerde bitki örnekleri toplanmış (Şekil 3.1. , 4.1. ve 5.1.) ve analiz edilmek için -80 °C' de muhafaza edilmiştir (Şekil 6.1.) (Chakraborty ve Prodhan, 2012).



Şekil 1.1. Petri kaplarında çimlendirilen buğday örnekleri



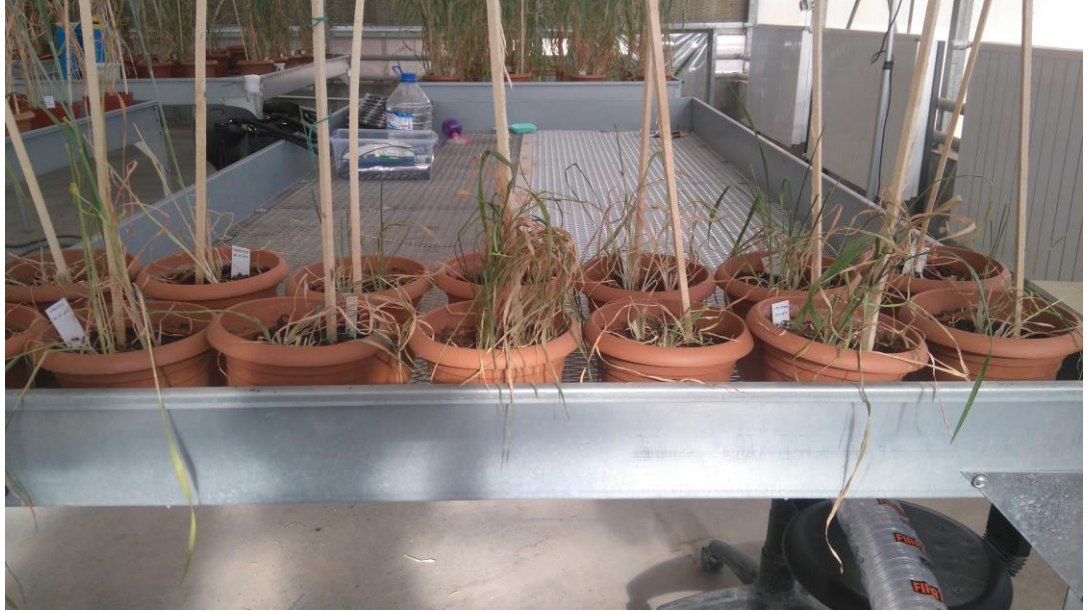
**Şekil 2.1.** Sera şartlarında yetiştirilmiş 40. gündeki buğday bitkileri



**Şekil 3.1.** Kuraklık stresinin 3. gününde bitkilerin genel durumu



**Şekil 4.1.** Kuraklık stresinin 6. gününde bitkilerin genel durumu



**Şekil 5.1.** Kuraklık stresinin 10. gününde bitkilerin genel durumu



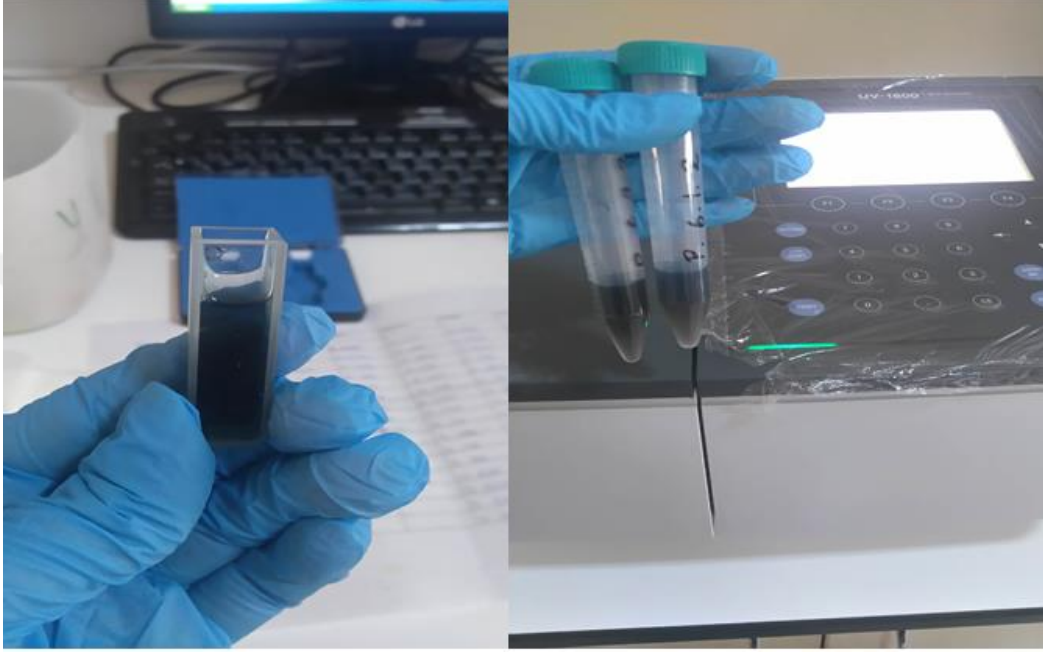
Şekil 6.1. -80 C' de muhafaza edilen bitki numuneleri

### 3.2.2. Protein Tayini

Yapraklardaki protein miktarı Bradford (1976) yöntemine göre belirlenmiştir. Bu yöntemde kullanılan boya (Coomassie brilliant blue G-250) negatif yüklüdür ve protein üzerindeki pozitif yüklere bağlanmaktadır. Bu boyanın kırmızı ( $A_{\max}=465$  nm) ve mavi ( $A_{\max}=595$  nm) formları mevcuttur. Boya ile proteinin bağlanması kırmızı formun mavi forma dönüşümünü sağlar. Bu yöntem çok geniş bir kullanım alanına sahiptir. Meydana gelen renk, stabilitesini bir saat kadar koruyabilir. Protein miktarının belirlenebilmesi için 0,25 g yaprak dokusu, 2,5 ml 50 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (pH=7) tamponu içerisinde porselen havanda homojenize edilmiş ve homojenat eppendorf tüplerine aktarılarak +4 °C'de 15.000 g'de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifügasyon sonucunda süpernatantlar buzdolabında muhafaza edilerek protein miktarının belirlenmesi için kullanılmıştır. Süpernatanttan 20 µl alınarak üzerine 2,5 ml Coomassie brilliant blue G-250 ilave edilmiş ve vorteksleme işlemi yapılmıştır. 10 dakikalık inkübasyonun ardından tüplerin 595 nm'deki absorbansları ölçülmüş (Şekil 7.1.) ve standart grafik yardımıyla yapraklardaki protein miktarı belirlenmiştir. (Öztürk, 2002).

Standart grafik için önce 1 mg/ml protein çözeltisi ihtiva eden sığır serum albumin çözeltisi hazırlanacak bu stok çözeltiden tüplere sırasıyla 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60,

70, 80 ve 90 µl pipetlenerek son hacimler saf su ile 100 µl'ye tamamlanarak yapılmıştır. Her bir tüpün üzerine 2,5 ml Coomassie brilliant blue G-250 ilave edilerek 10 dakikalık inkübasyondan sonra 595 nm'de absorbansları ölçülmüş ve standart grafik hazırlanmıştır.



**Şekil 7.1.** Coomassie Brilliant Blue G-250 boyası eklenmiş süpernatant örnekleri

### 3.2.3. Prolin Tayini

Uygulama gruplarında Prolin miktarını belirlemek için 0,4 g yaprak numunesi % 4' lük sülfosalisilik asitte homojenize edilmiş ve daha sonra homojenat süzgeç kağıdı aracılığıyla süzölmüştür (Şekil 8.1.). Süzöntüden 0,5 ml alınarak saf su ile 10 kat seyreltme yapılmış ve her bir numune için 3 farklı tüpe örnek alınmıştır. Tüplere 1 ml numune, 1 ml % 96'lık glasiyel asetik asit ve 1 ml asit ninhidrin ilave edilerek bütün tüpler 100 °C'de su banyosunda 60 dakika inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 9.1.). İnkübasyonun ardından tüpler aynı anda buz banyosunda 10 dakika boyunca tutularak, her bir tüpe 2 ml toluen ilave edilmiş ve vorteklenmiştir. Bu işlemin ardından beş dakika beklenerek her tüpün üst kısmında oluşan pembe fazın absorbansı ölçülmüştür (Şekil 10.1.). Sonuçlar saf prolinden hazırlanan standart grafik yardımıyla g/taze doku başına prolin miktarı olarak hesaplanmıştır (Öztürk ve



Demir, 2003). Standart grafik için 10 mg saf prolin 50 ml destile suda çözülmüş ve hazırlanan bu stok çözeltiliden tüplere sırasıyla 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 ve 100 µl pipetlenmiştir. Tüplerin son hacimleri destile su ile 1 ml'ye tamamlanarak, tüplere 1 ml % 96'luk glasiyel asetik asit ve 1 ml asit ninhidrin ilave edilmiştir. Tüpler 1 saat 100 °C'de inkübasyona bırakılarak her tüpe 2 ml toluen ilave edilmiş ve vortekslenmiştir. Bu işlemin ardından beş dakika beklenerek her bir tüpün üst kısmında oluşan pembe fazın absorbansı 520 nm'de ölçülerek kaydedilmiş ve standart grafik çizilmiştir.



**Şekil 8.1.** Sülfosalisilik asitle homojenize edilmiş bitki numuneleri



**Şekil 9.1.** 100 °C' lik su banyosundaki örnekler



Şekil 10.1. 100 °C' lik su banyosundan sonra pembe fazın oluşması

#### 3.2.4. Malonildialdehit Tayini

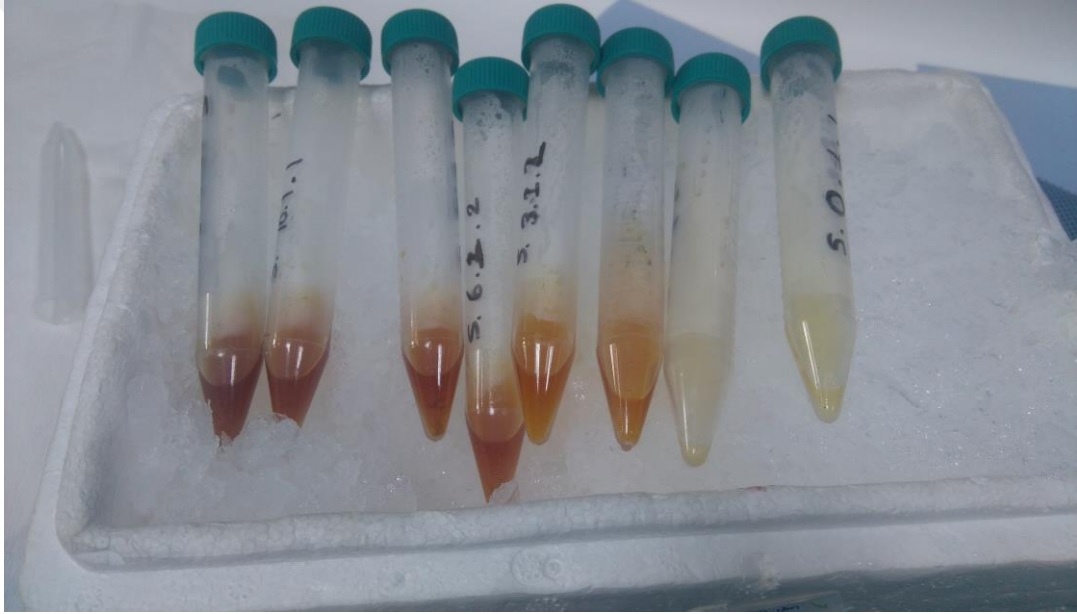
Malondialdehit tayini amacıyla; 0,5 g bitki dokusu 5 ml % 0,1' lik (w/v) TCA ile homojenize edilmiş ve daha sonra 10.000 g'de 20 dakika santrifüj edilmiştir. 0,5 ml süpernatant alınıp 1 ml % 0,5 (w/v) % 20' lik TCA' da hazırlanan TBA eklenmiştir. Karışım 95°C' de su banyosunda 30 dakika bekletilmiş daha sonra hızlı bir şekilde buz banyosunda soğutulmuştur (Şekil 11.1.-12.1. ). Karışım 5 dakika 10.000 g'de tekrar santrifüj edilmiş ve süpernatantın absorbansı spektrofotometre de 532 nm'de ölçüm yapılarak belirlenmiştir (Sreenivasulu ve ark., 1999). Non-spesifik bağlanmaları önlemek için 600 nm' de absorbansları okunarak bu değer düşürülür.

Ekstraksiyon katsayısı ( $\epsilon$ ) =  $155 \text{ mM}^{-1} / \text{cm}^{-1}$  olarak kullanılmıştır.

A=  $\epsilon \cdot b \cdot c$  formülü kullanılarak gerekli hesaplamalar yapılmıştır.



Şekil 11.1. 95 °C' lik su banyosundaki MDA örnekleri



Şekil 12.1. Buz banyosundaki MDA örnekleri

### 3.2.5. Antioksidant Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

Antioksidant enzim aktivitelerinin belirlenebilmesi için; 0,2 g bitki dokusu herbir enzim aktivitesi için 50 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (pH: 7) 2 ml' lik tamponları ile homojenize edilerek 10.000 g'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatant enzim aktivitelerinin belirlenmesinde kullanılmıştır.

### 3.2.5.1. Katalaz ( E.C. 1.11.1.6. )

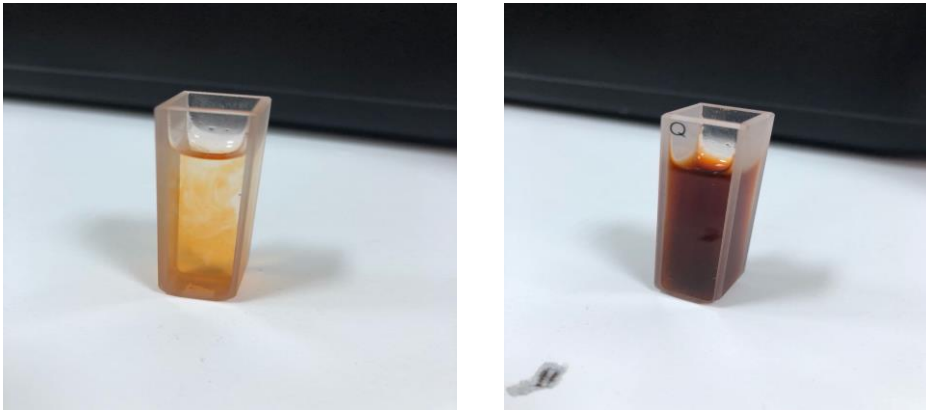
Hidrojen peroksitin ( $H_2O_2$ ) su ( $H_2O$ ) ve oksijen ( $O_2$ )'e parçalanmasını katalizler. Aktivite ölçümü ise bu reaksiyon sırasında  $H_2O_2$ 'nin su ve oksijene parçalanması sırasında meydana gelen renk açılmasının 240 nm'de izlenmesi esasına dayanır.

Aktivite ölçümünde 3 ml'lik reaksiyon karışımı 1450  $\mu$ l 50 mM  $KH_2PO_4$  tamponu (pH=7), 1500  $\mu$ l % 30' luk  $H_2O_2$  ve 50  $\mu$ l homojenattan oluşacak şekilde hazırlanmış ve 2 dakika boyunca absorbansı ölçülmüştür (Öztürk, 2002).

Ölçümlerde lineer olarak absorbans azalması olan aralıktan dakika başına düşen absorbans miktarı hesaplanmış ve katalaz aktivitesi buna göre belirlenmiştir. Hesaplamalarda ışık yolu 10 mm, ekstinksiyon katsayısı ( $\epsilon_{H_2O_2}$ ) 0,0394 ( $mmol^{-1} \times mm^{-2}$ ) alınarak  $A = \epsilon \cdot b \cdot c$  formülünden 240 nm'de, bir dakika içerisinde 1  $\mu$ mol  $H_2O_2$ 'nin parçalanmasını sağlayan enzim miktarı belirlenmiştir.

### 3.2.5.2. Peroksidaz ( E.C. 1.11.1.7 )

Spektrofotometrik olarak peroksidaz aktivitesinin belirlenmesi için aktivite ölçümünde 3 ml'lik reaksiyon karışımı 970  $\mu$ l 50 mM  $KH_2PO_4$  tamponu (pH=6), % 30 'luk 1000  $\mu$ l  $H_2O_2$ , 1000  $\mu$ l guaiacol ve 30  $\mu$ l enzim ekstraktından oluşacak şekilde hazırlanmıştır. Reaksiyona aktivite ölçüm ortamına en son olarak enzim çözeltisinin ilave edilmesiyle başlanmış ve 470 nm'de 2 dakika boyunca optik dansitesi kaydedilmiştir (Şekil 13.1.). Bir enzim ünitesi bir dakikada 1  $\mu$ mol guaiacol'u katalizleyen enzim miktarı olarak hesaplanmıştır (Demir ve Öztürk, 2003).



Şekil 13.1. Enzim ilave edildikten sonra 0. ve 120. sn' lerdeki POD örnekleri

### **3.2.5.3. Askorbat Peroksidaz (E.C. 1.11.1.11 )**

Spektrofotometrik olarak askorbat peroksidaz aktivitesinin belirlenmesi için aktivite ölçümünde 3 ml'lik reaksiyon karışımı 1450 µl 50 mM fosfat tamponu (pH=7), 750 µl % 30' luk H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 750 µl askorbik asit ve 50 µl enzim ekstraktından oluşacak şekilde hazırlanmıştır. Reaksiyon aktivite ölçüm ortamına en son olarak hidrojen peroksitin ilave edilmesiyle başlanmış ve 2 dakika boyunca 290 nm'de absorbansı kaydedilmiştir. Enzim aktivitesi askorbatın ekstinksiyon katsayısı (2.8 mM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>) kullanılarak hesaplanmıştır (Karabal ve ark., 2003).

### **3.2.5.4. Polifenol Oksidaz ( E.C. 1.14.18.1 )**

Polifenol oksidaz aktivitesinin belirlenmesi için; 0,2 g bitki dokusu alınarak 2 ml 50 mM (pH:7) tamponu ile homojenize edilmiş ve homojenat 12.000 g' de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Aktivite ölçümü için 3 ml' lik reaksiyon karışımı 1500 µl katekol, 1450 µl 50 mM (pH: 8) fosfat tamponu ve 50 µl enzim ekstraktı eklenerek hazırlanmıştır. Aktivite ölçümü bir o-fenol olan katekol'ün oksijen varlığında kahverengi-sarı renkli kinona dönüşmesinin sebep olduğu absorbans artışının 420 nm'de izlenmesi esasına dayanmaktadır (Öztürk ve Demir, 2003).

### **3.2.6. Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) Tayini**

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> tayini için yaprak dokuları (500 mg) 5 ml % 0,1 (w/v) TCA ile buz banyosunda homojenize edilmiştir. Homojenat 15 dk 12.000 g'de santrifüj edilmiş ve süpernatantın 0,5 ml'si 0,5 ml 50 mM potasyum fosfat (pH:7 ) tamponu ve 1 ml 1 M KI' e katılmıştır. Daha sonra karışımın absorbansı 390 nm' de belirlenmiş ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarı standart grafikten yararlanılarak bulunmuştur (Velikova ve ark., 2000).

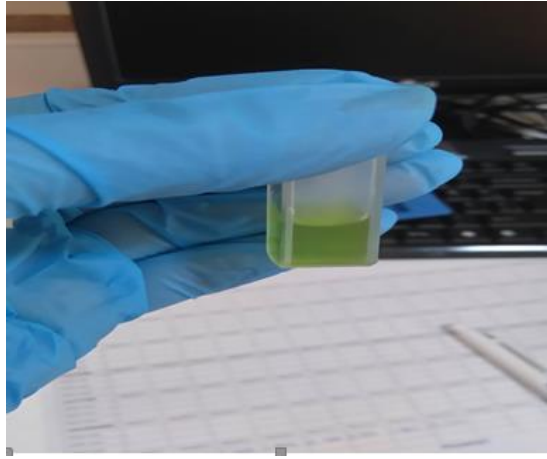
### 3.2.7. Fotosentetik Pigment Tayini

Klorofil a, b miktarları bitki yapraklarının % 80 asetonla ekstraksiyonundan sonra Arnon'a göre belirlenmiştir (Arnon, 1949). 0,2 g yaprak dokusu % 80'lik 5 ml aseton ile porselen havanda homojenize edilmiş ve homojenat 15 ml'lik santrifüj tüplerine alınarak 3.000 g'de 5 dakika santrifüj edilmiştir (Şekil 14.1.). Elde edilen süpernatantın 645 ve 663 nm'deki absorbansları spektrofotometrede okunmuş ve bu absorbanslar yardımı ile aşağıda belirtilen formüllerden mg pigment/ml ekstrakt miktarı hesaplanmıştır.

$$\text{Klorofil a} = 12,7 \times A_{663} - 2,69 \times A_{645}$$

$$\text{Klorofil b} = 22,9 \times A_{645} - 4,68 \times A_{663}$$

$$\text{Total Klorofil} = 20,2 \times A_{645} + 8,02 \times A_{663}$$



**Şekil 14.1.** % 80'lik asetonla homojenize edilmiş bitki numuneleri

### 3.2.8. İstatistiki Analiz

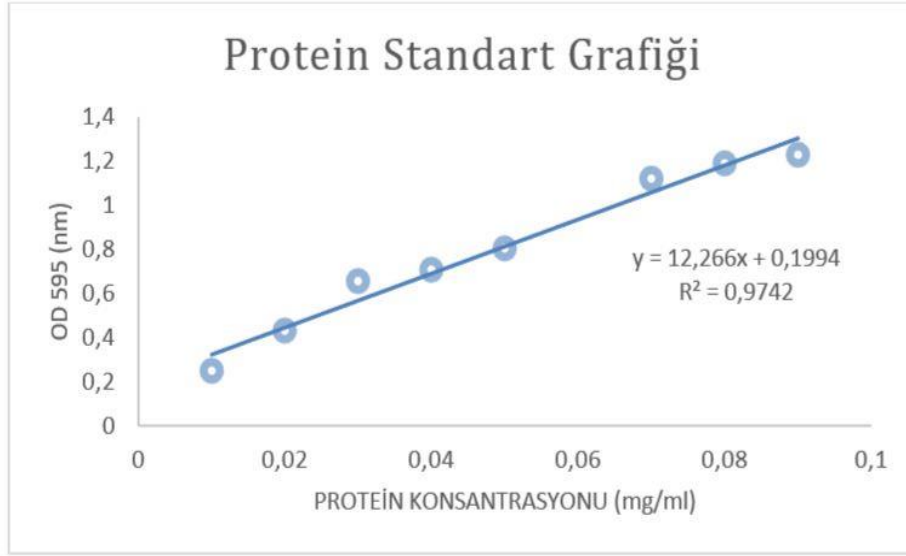
Kuraklığa dayanıklı, hassas ve uygulama gruplarındaki farklılıklar Duncan çoklu aralık testine göre  $P < 0,05$  önemlilik değerinde analiz edilmiştir. Çalışmada her bir grup için 4 tekrar yapılmıştır ( $n=4$ ). İstatistiki analizler SPSS Standart Version paket programı ile yapılmış olup, kontrol ve uygulama grupları arasındaki farklılıklar tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) ile analiz edilmiştir (Duncan, 1955).



## 4. BULGULAR

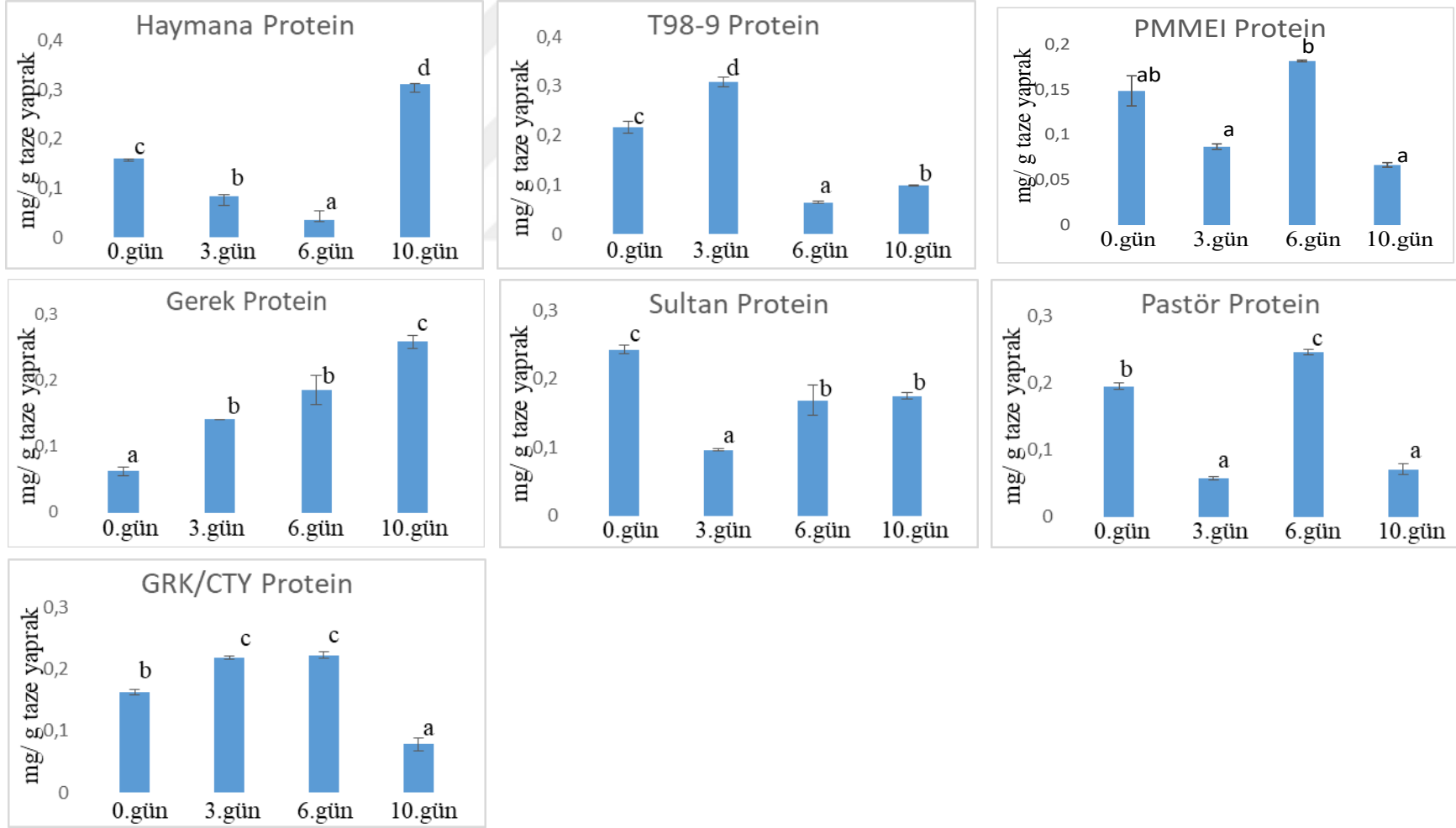
### 4.1. Total Protein Miktarı

40 gün boyunca saksılarda sera ortamında yetiştirilen buğday fidelerine düzenli aralıklarla yapılan sulama işlemine son verilmiş ve 10 gün boyunca kuraklık stresine maruz bırakılmıştır. Sulamanın bırakıldığı ilk gün 0. gün kabul edilmiş olup bundan itibaren 0, 3, 6. ve 10. günlerde analizler için toplanan bitki numuneleri Bradford yöntemine göre protein miktarları 4' er tekrarlı halde belirlenmiştir. Standart grafik kullanılarak (Şekil 15.1.), elde edilen sonuçlar istatistiki analizlerle hesaplanmış ve gruplar arasındaki değişimler (Şekil 16.1.) ve miktarlar (Tablo 2.1.) belirlenmiştir.



Şekil 15.1. Total protein miktarının belirlenmesinde kullanılan standart grafik





Şekil 16.1. Uygulama gruplarına göre protein miktarı değişimleri

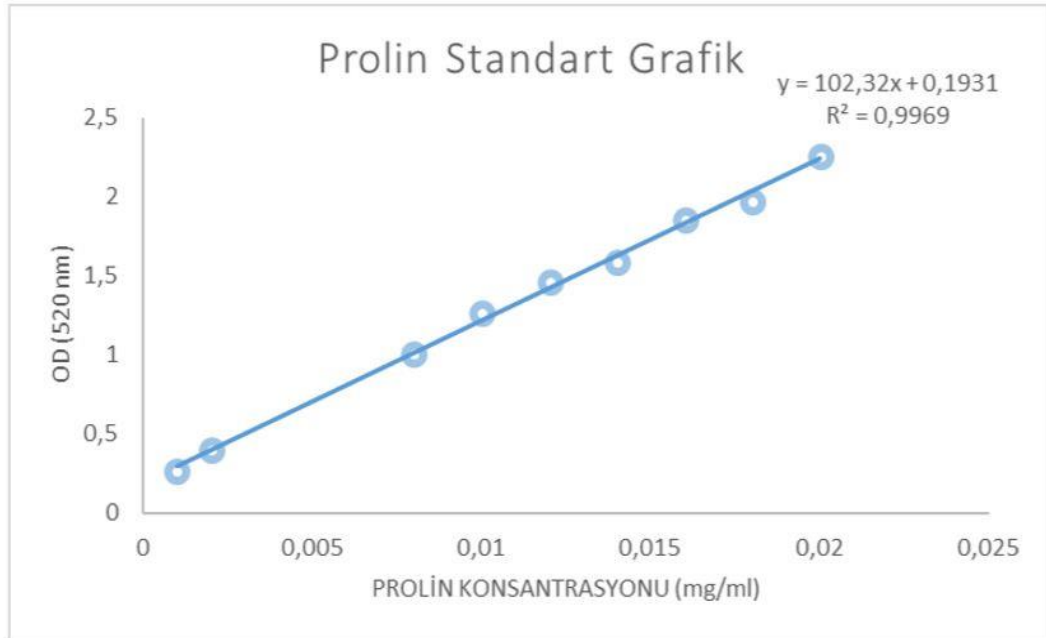
**Tablo 2.1.** Uygulama gruplarına göre protein miktarları

<b>Protein Miktarları</b>	<b>0.gün</b>	<b>3.gün</b>	<b>6.gün</b>	<b>10.gün</b>
<b>Haymana</b>	0,1595±0,0046	0,0831±0,0186	0,0351±0,0022	0,3109±0,0156
<b>T98-9</b>	0,2168±0,0113	0,3089±0,0105	0,0644±0,0027	0,0988±0,0005
<b>PMMEI</b>	0,1484±0,0167	0,0867±0,0029	0,1815±0,0009	0,0664±0,0024
<b>Gerek</b>	0,0632±0,0065	0,1417±0,0004	0,1862±0,0222	0,26±0,01
<b>Sultan</b>	0,2426±0,0063	0,0965±0,0016	0,1689±0,0218	0,175±0,005
<b>Pastör</b>	0,1948±0,0051	0,0577±0,0028	0,2457±0,0042	0,071±0,0077
<b>GRK/ CTY</b>	0,1635±0,0042	0,2188±0,0019	0,2227±0,0051	0,0783±0,0102

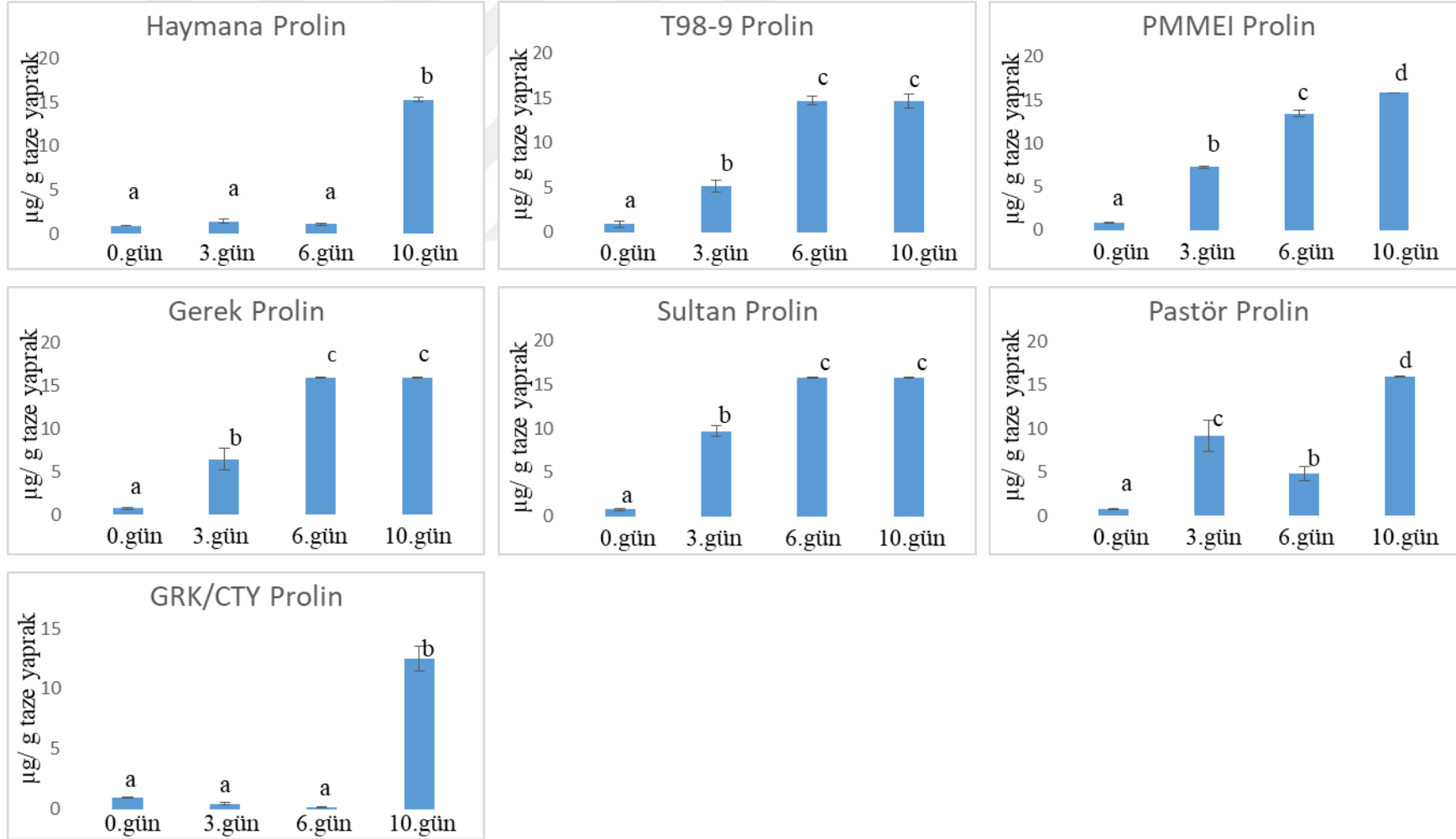
Protein miktarı açısından kuraklık stresinden en fazla etkilenen Sultan genotipi olurken, Gerek genotipinde antioksidan savunma sistemindeki artışlarla paralel olarak protein miktarı da artmıştır.

## 4.2. Prolin Miktarı

Kuraklık stresine maruz bırakılan buğday çeşitlerindeki prolin miktarı Öztürk ve Demir, (2003) tarafından yapılan çalışmada uygulanan prosedüre göre belirlenmiştir. Yapılan çalışmalar 4'er tekrarlı yapılmış olup elde edilen sonuçlar standart grafik yardımıyla da (Şekil 17.1.) istatistiki analizlerin sonuçları ile birlikte gruplar arasındaki değişimler(Şekil 18.1.) ve miktarlar (Tablo 3.1.)' de belirlenmiştir.



Şekil 17.1. Prolin miktarının belirlenmesinde kullanılan standart grafik



Şekil 18.1. Uygulama gruplarına göre prolin miktarı değişimleri

**Tablo 3.1.** Uygulama gruplarına göre prolin miktarları

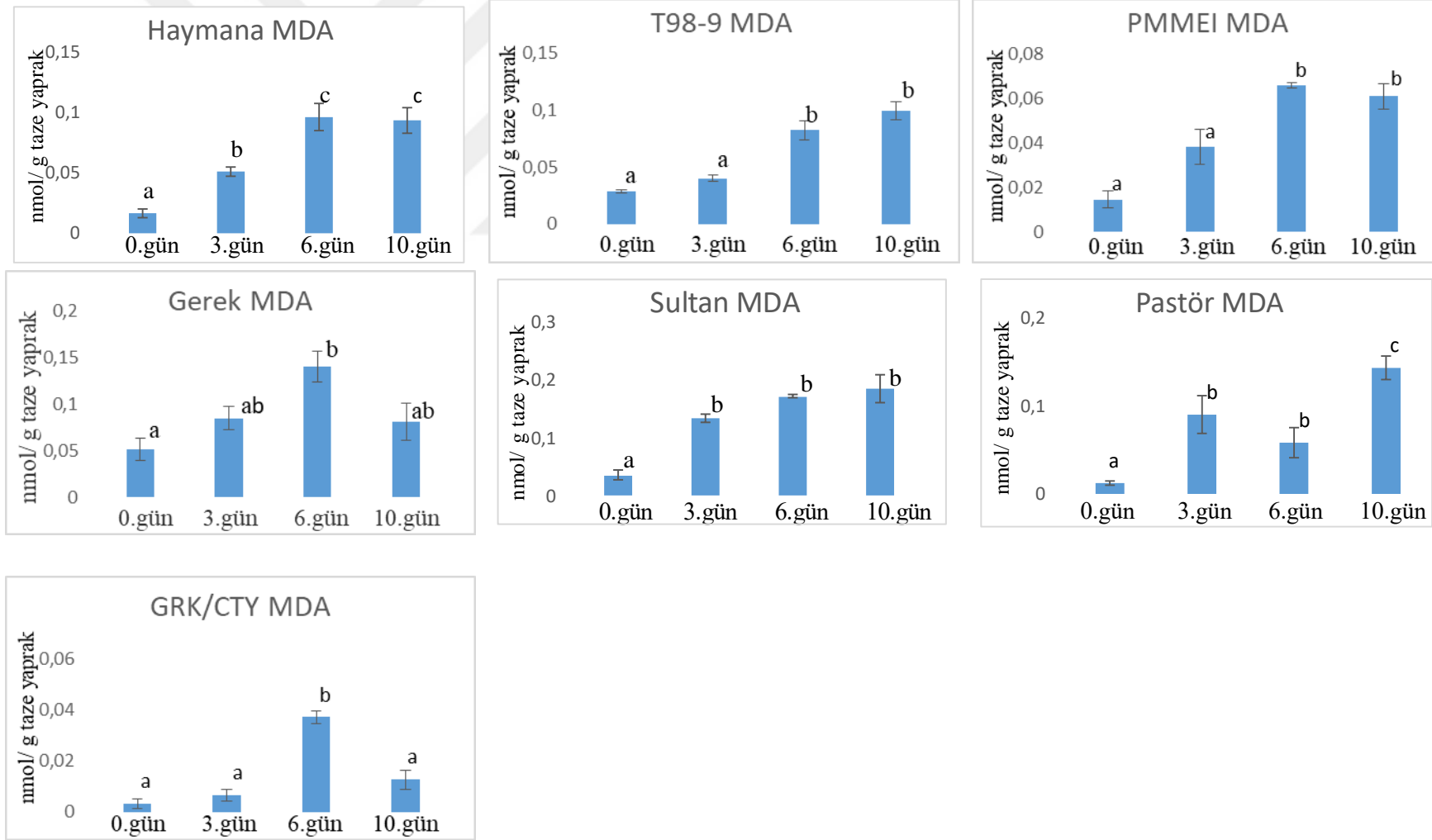
<b>Prolin Miktarları</b>	<b>0.gün</b>	<b>3.gün</b>	<b>6.gün</b>	<b>10.gün</b>
<b>Haymana</b>	0,9427±0,0245	1,4244±0,2756	1,1253±0,1019	15,3258±0,2126
<b>T98-9</b>	0,9179±0,3656	5,1177±0,6553	14,7131±0,4619	14,6212±0,7838
<b>PMMEI</b>	0,7971±0,0475	7,2482±0,1444	13,4308±0,4160	15,8096±0,0194
<b>Gerek</b>	0,7666±0,1173	6,4449±1,2665	15,881±0,0752	15,8771±0,0728
<b>Sultan</b>	0,7854±0,1100	9,6583±0,6363	15,7275±0,0786	15,7559±0,0280
<b>Pastör</b>	0,7365±0,09	9,1423±1,8408	4,8127±0,8533	15,9259±0,0646
<b>GRK/ CTY</b>	0,9535±0,0652	0,4588±0,0851	0,1769±0,0571	12,5004±1,0615

Bir stres göstergesi olan prolin içeriği bakımından Sultan genotipinde erken kuraklık döneminde (3.gün) ciddi bir artış görülmektedir. Diğer tüm genotiplerde dikkate değer prolin birikimi 4-7.gün aralığında gerçekleşmektedir. Haymana ve GRK/ CTY' de prolin birikimi 10.günde ancak farklılık göstermiştir.

### 4.3. Malondialdehit Miktarı

Kuraklık stresine maruz kalan buğday çeşitlerinde lipid peroksidasyonu seviyelerinin belirlenmesi için reaksiyon sonucunda ortaya ürün olarak ortaya çıkan malondialdehit miktarları Sreenivasulu ve ark., (1999) tarafından yapılan çalışmadaki uygulanan prosedüre göre belirlenmiştir. Analizler 4'er tekrarlı şekilde gerçekleştirilmiş ve elde edilen sonuçlar istatistiksel analizlere tabi tutularak gruplar arasındaki değişimler (19.1.) ve miktarlar (Tablo 4.1.)' de belirtilmiştir.





Şekil 19.1. Uygulama gruplarına göre malondialdehit miktarı değişimleri

**Tablo 4.1.** Uygulama gruplarına göre MDA miktarları

<b>MDA Miktarları</b>	<b>0.gün</b>	<b>3.gün</b>	<b>6.gün</b>	<b>10.gün</b>
<b>Haymana</b>	0,0165±0,0035	0,051±0,0038	0,0962±0,0112	0,0934±0,0105
<b>T98-9</b>	0,0287±0,0013	0,0402±0,0027	0,0823±0,0082	0,0991±0,0076
<b>PMMEI</b>	0,0147±0,0037	0,0382±0,0076	0,0657±0,0010	0,0609±0,0057
<b>Gerek</b>	0,0518±0,0118	0,085±0,0122	0,1403±0,0162	0,0814±0,0196
<b>Sultan</b>	0,0335±0,0086	0,1333±0,0060	0,1709±0,0034	0,1847±0,0245
<b>Pastör</b>	0,0122±0,0024	0,0904±0,0215	0,0585±0,0171	0,1438±0,0134
<b>GRK/ CTY</b>	0,0032±0,0018	0,0065±0,0024	0,0371±0,0024	0,0127±0,0037

MDA içeriği bakımından en fazla MDA birikimi T98-9 genotipinde görülürken, kuraklığa hassas olduğu bilinen Sultan genotipinde ise MDA seviyesi düzenli olarak stres şartları altında yükselmiştir.



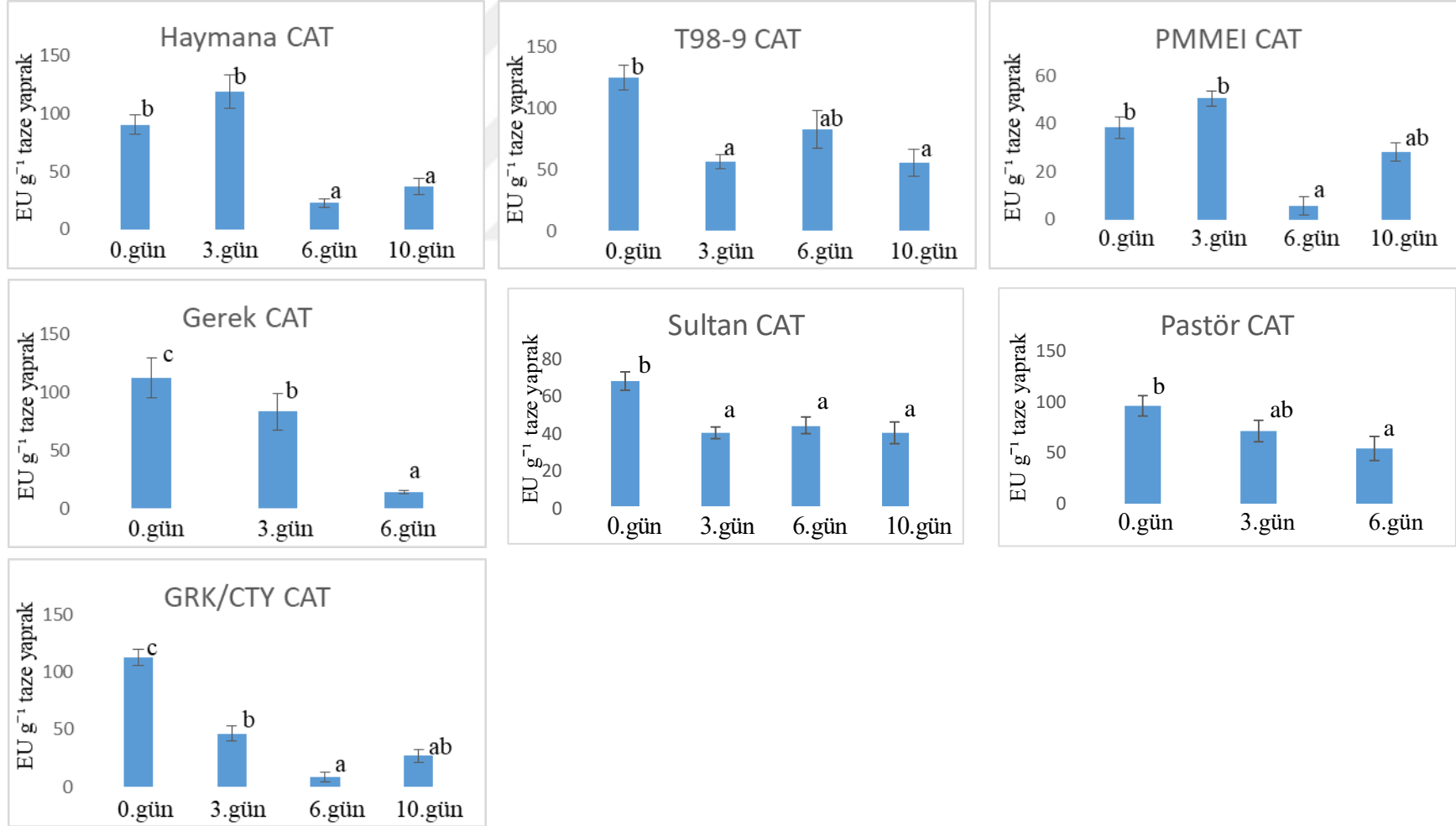
#### 4.4 Antioksidant Enzim Aktiviteleri

Antioksidant enzim aktivitelerinin belirlenmesi için 0,2 g bitki numunesi 50 mM pH:7 fosfat tamponu kullanılarak homojenize edildi ve 10.000 g' de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatant içerisinde gruplara göre enzim aktiviteleri belirlenmiştir. Katalaz enziminin aktivitesinin belirlenmesi amacıyla hidrojen peroksidin kaybolma hızı 240 nm'de izlenmiş ve reaksiyon hızına göre 1 g taze dokudaki enzim miktarları (Tablo 5.1.) ve gruplar arasındaki değişimler (Şekil 20.1.) belirtilmiştir.

Peroksidaz aktivitesinin belirlenmesi amacıyla H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve guaiacol reaksiyona 420 nm' de Demir ve Öztürk (2003) tarafından belirtilen metoda göre EÜ/gram taze doku miktarları (Tablo 6.1.) ve gruplar arasındaki değişimler (Şekil 21.1.) belirtilmiştir.

Askorbat peroksidaz enzimi için gerçekleştirilen analizler için Karabal ve ark. (2003) tarafından geliştirilen metot kullanılmıştır. Ölçümler 290 nm'de kaydedilerek askorbat peroksidaz aktivitesi EÜ/gram taze doku miktarları (Tablo 7.1.) ve gruplar arasındaki değişimler (Şekil 22.1.) belirtilmiştir.

Uygulama grupları için polifenol oksidaz (PPO) aktivitesi Demir ve Öztürk (2003)' ye göre belirlenmiştir. Aktivite ölçümü katekol'ün kinona dönüşmesinin sebep olduğu absorbans artışının 420 nm' de izlenmesi şeklinde gerçekleştirilmiştir. Polifenol oksidaz aktivitesi EÜ/gram taze doku miktarları (Tablo 8.1.) ve gruplar arasındaki değişimler (Şekil 23.1.) belirtilmiştir.

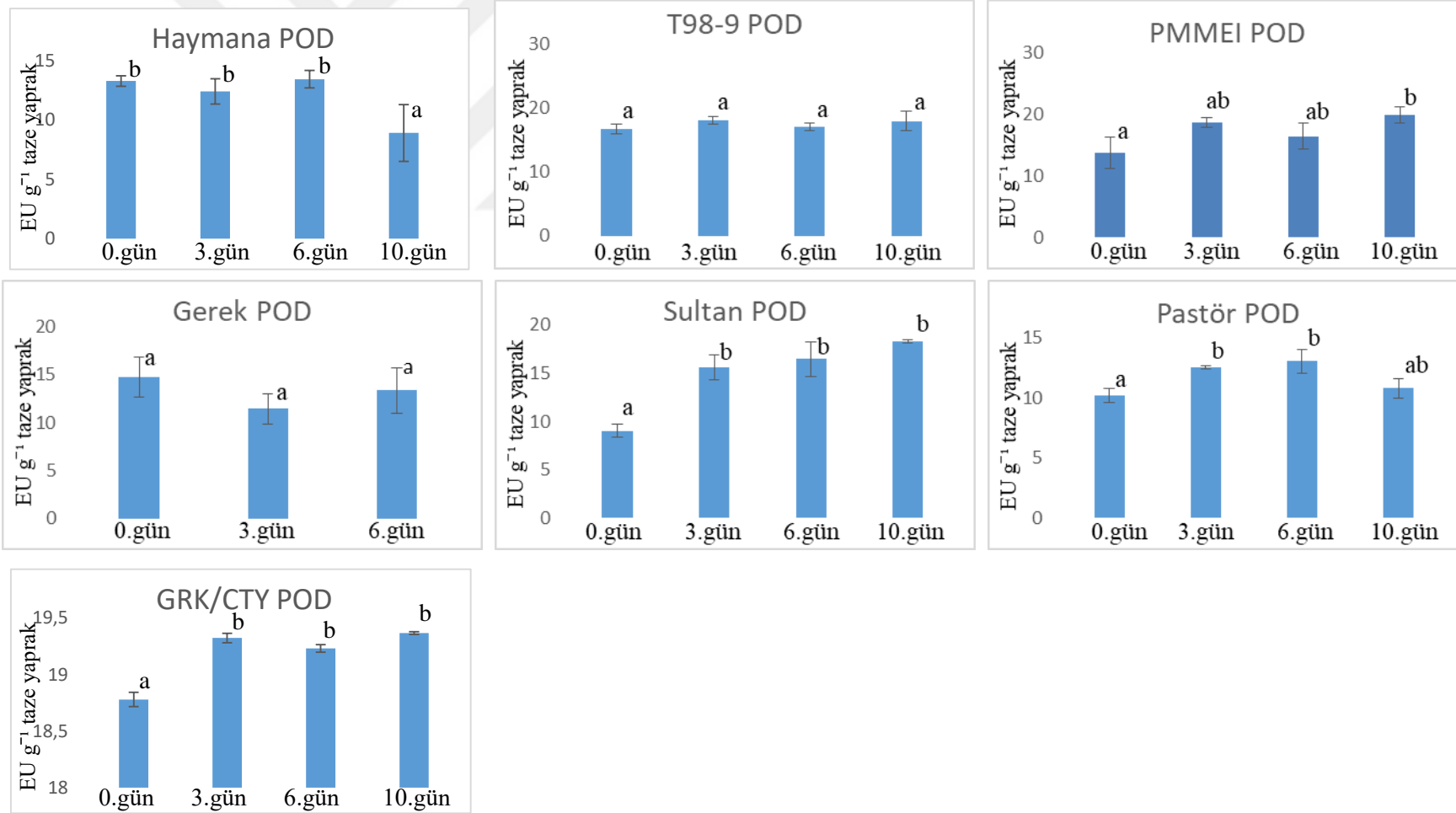


**Şekil 20.1.** Uygulama gruplarına göre katalaz enzim aktivitesindeki değişimler

\*Pastör ve Gerek bitkilerinin 10. gün kuraklık stresi sonucunda tüm dokularını kaybetmesi nedeniyle analiz için örnekler toplanamamıştır.

**Tablo 5.1.** Uygulama gruplarına göre CAT miktarları

<b>CAT Miktarları</b>	<b>0.gün</b>	<b>3.gün</b>	<b>6.gün</b>	<b>10.gün</b>
<b>Haymana</b>	90,375±8,3234	119,0825±14,2832	22,685±3,8143	36,5433±6,9284
<b>T98-9</b>	124,6775±10,0404	56,65±5,7907	82,94±15,2268	55,5025±10,6307
<b>PMMEI</b>	38,3756±4,3749	50,4569±3,1477	5,7868±3,9593	28,1726±3,9601
<b>Gerek</b>	112,0775±16,7152	82,99±15,6442	14,025±1,505	
<b>Sultan</b>	67,8173±5,0632	40,2792±3,1360	44,0102±4,1691	40,1015±5,9293
<b>Pastör</b>	96,2437±10,0507	71,4975±10,5323	54,2132±11,8657	
<b>GRK/ CTY</b>	112,3075±7,0621	46,5325±6,7673	8,5233±4,0200	26,9475±5,5535

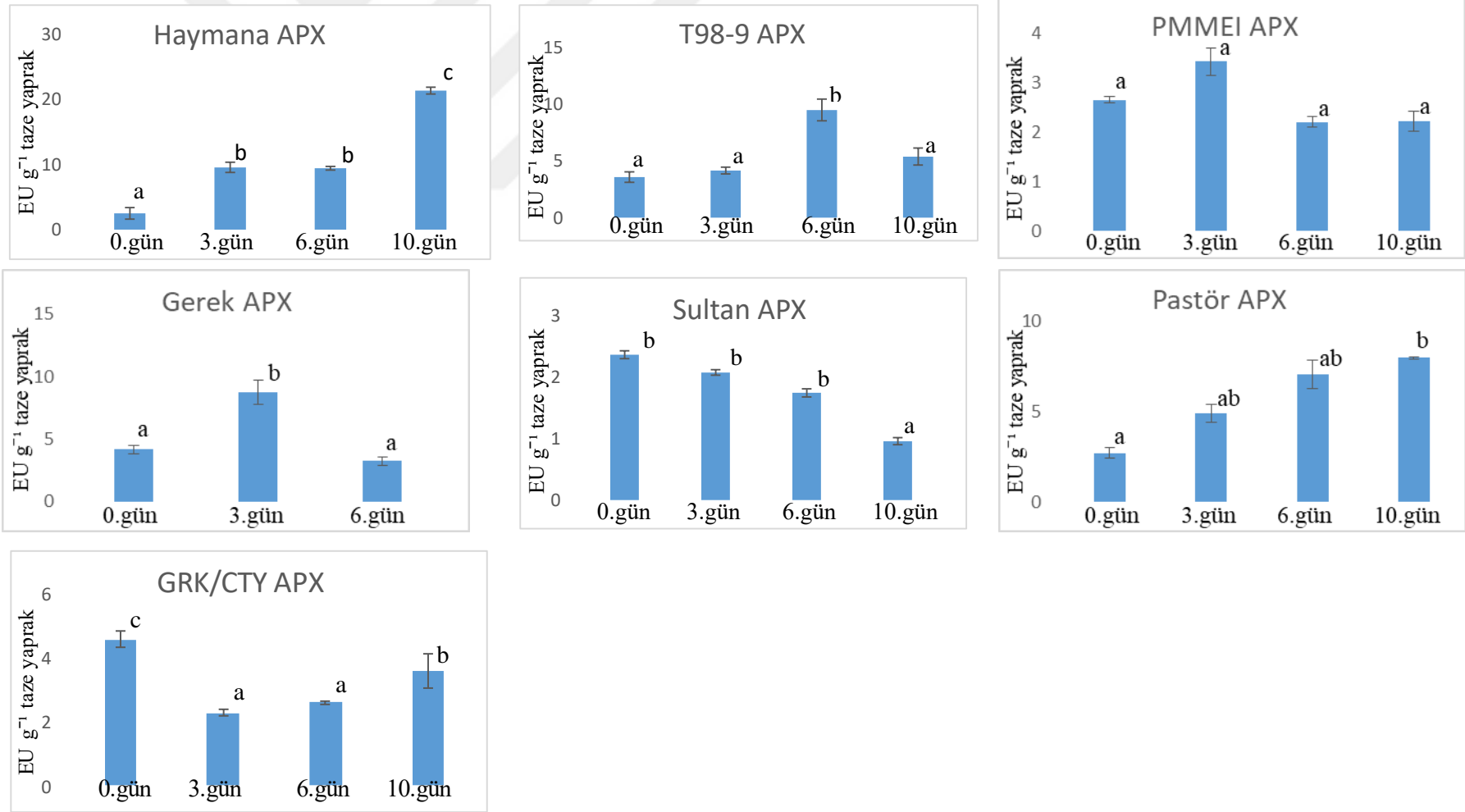


**Şekil 21.1.** Uygulama gruplarına göre peroksidaz enzim aktivitesindeki değişimler

\*Gerek bitkilerinin 10. gün kuraklık stresi sonucunda tüm dokularını kaybetmesi nedeniyle analiz için örnekler toplanamamıştır.

**Tablo 6.1.** Uygulama gruplarına göre POD miktarları

<b>POD Miktarları</b>	<b>0.gün</b>	<b>3.gün</b>	<b>6.gün</b>	<b>10.gün</b>
<b>Haymana</b>	13,2688±0,4434	12,3891±1,0546	13,4192±0,7466	8,8891±2,3997
<b>T98-9</b>	16,7011±0,7586	18,0376±0,5820	17,0395±0,6328	17,9605±1,5579
<b>PMMEI</b>	13,7331±2,5225	18,6485±0,7121	16,3872±2,1240	19,8289±1,3127
<b>Gerek</b>	14,75±2,0833	11,4474±1,5719	13,391±2,3629	
<b>Sultan</b>	9,0414±0,7088	15,6071±1,2684	16,4643±1,7622	18,3008±0,1393
<b>Pastör</b>	10,1767±0,5946	12,5132±0,1560	13,0226±0,9895	10,7895±0,8107
<b>GRK/ CTY</b>	18,7782±0,0623	19,3214±0,0423	19,2223±0,0323	19,3647±0,0123

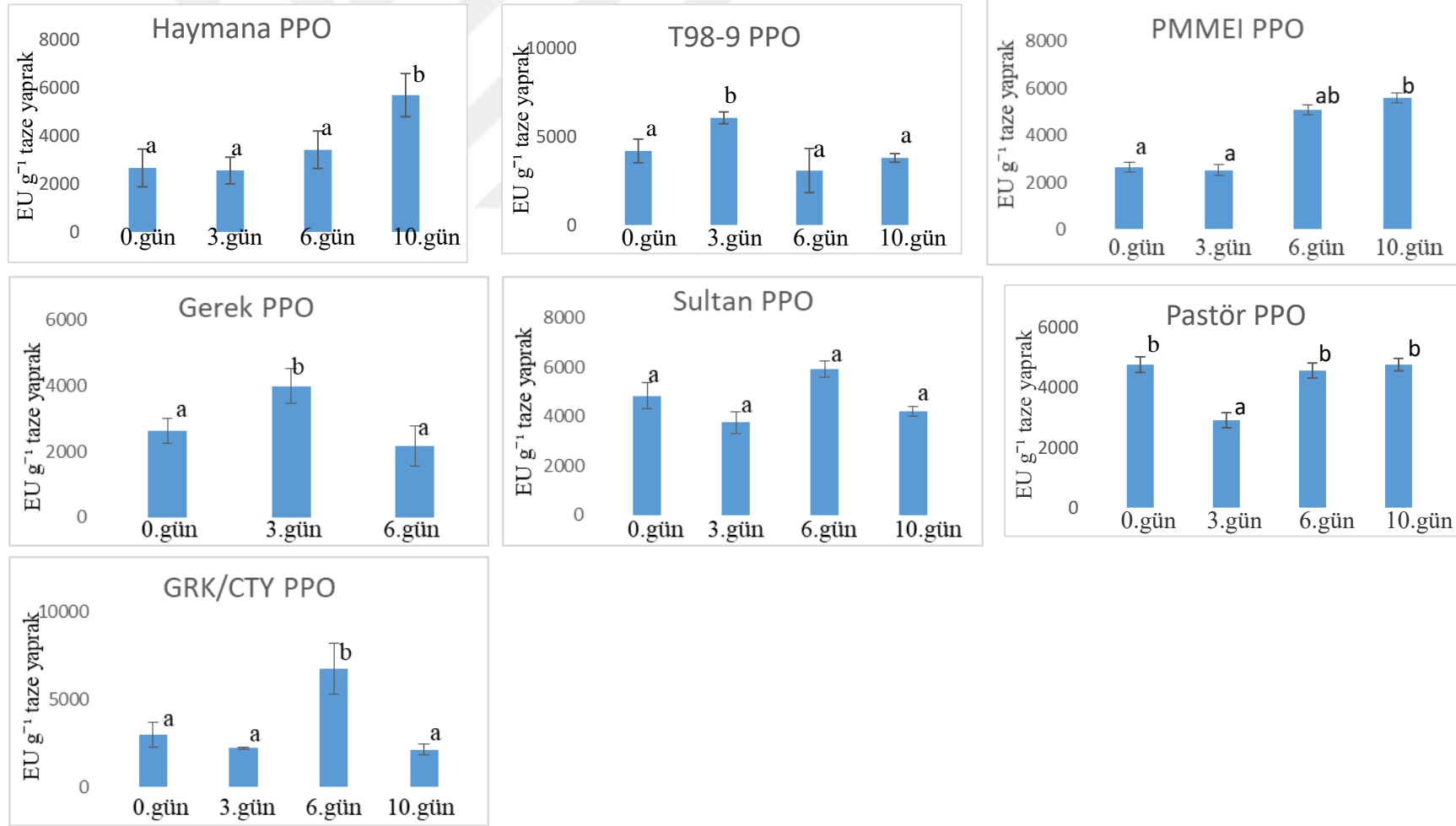


**Şekil 22.1.** Uygulama gruplarına göre askorbat peroksidaz enzim aktivitesindeki değişimler

\*Gerek bitkilerinin 10. gün kuraklık stresi sonucunda tüm dokularını kaybetmesi nedeniyle analiz için örnekler toplanamamıştır.

**Tablo 7.1.** Uygulama gruplarına göre APX miktarları

<b>APX Miktarları</b>	<b>0.gün</b>	<b>3.gün</b>	<b>6.gün</b>	<b>10.gün</b>
<b>Haymana</b>	2,5071±0,8905	9,5786±0,7928	9,45±0,2909	21,3857±0,5142
<b>T98-9</b>	3,5679±0,4620	4,1571±0,3015	9,5036±0,9604	5,3893±0,7542
<b>PMMEI</b>	2,6571±0,0726	3,4286±0,2726	2,2071±0,1026	2,2179±0,2006
<b>Gerek</b>	4,1714±0,3377	8,775±0,9679	3,2286±0,3571	
<b>Sultan</b>	2,3679±0,0649	2,0786±0,0453	1,7464±0,0667	0,9571±0,0578
<b>Pastör</b>	2,7±0,2693	4,9071±0,4928	7,0393±0,8071	7,9607±0,0543
<b>GRK/ CTY</b>	4,5857±0,2486	2,2821±0,0915	2,6143±0,0524	3,6107±0,5427



**Şekil 23.1.** Uygulama gruplarına göre PPO enzim aktivitesindeki değişimler

\*Gerek bitkilerinin 10. gün kuraklık stresi sonucunda tüm dokularını kaybetmesi nedeniyle analiz için örnekler toplanamamıştır.



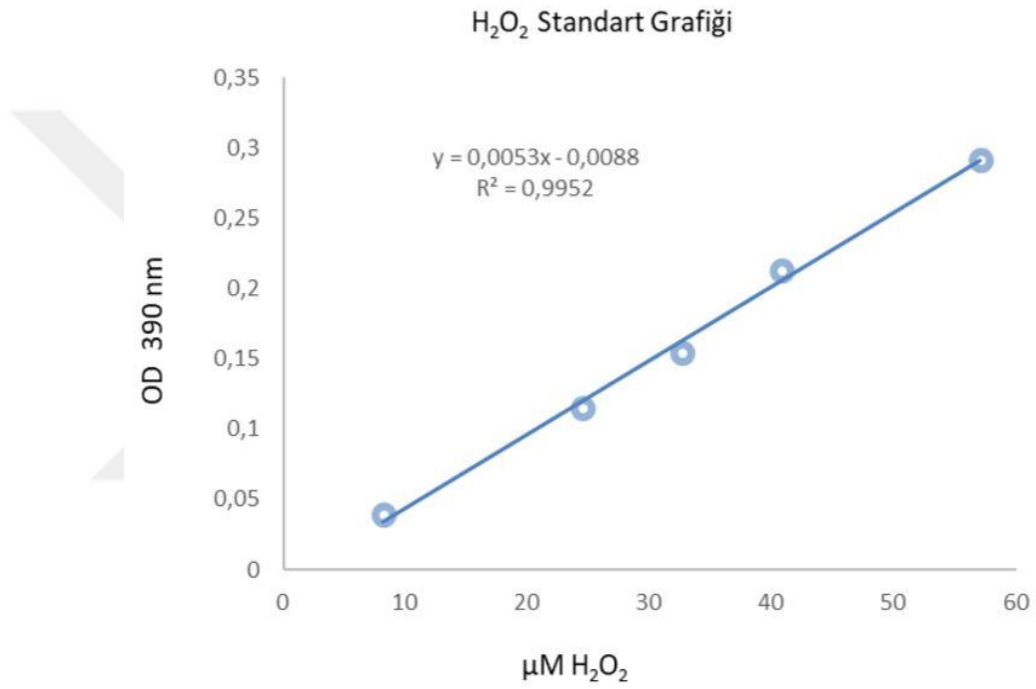
**Tablo 8.1.** Uygulama gruplarına göre PPO miktarları

<b>PPO Miktarları</b>	<b>0.gün</b>	<b>3.gün</b>	<b>6.gün</b>	<b>10.gün</b>
<b>Haymana</b>	2670±785,93	2560±560	3420±780	5700±897,68
<b>T98-9</b>	4200±668,13	6080±335,46	3080±1247,7	3800±243,3
<b>PMMEI</b>	2640±202,7	2520±240	5100±220	5600±211,6
<b>Gerek</b>	2640±382,2	3990±527,5	2160±600	
<b>Sultan</b>	4840±520,7	3750±453,6	5910±317,7	4200±212,9
<b>Pastör</b>	4760±262,2	2910±251,8	4560±249,7	4760±204,7
<b>GRK/ CTY</b>	2960±693,9	2220±60	6720±1440	2120±312,4

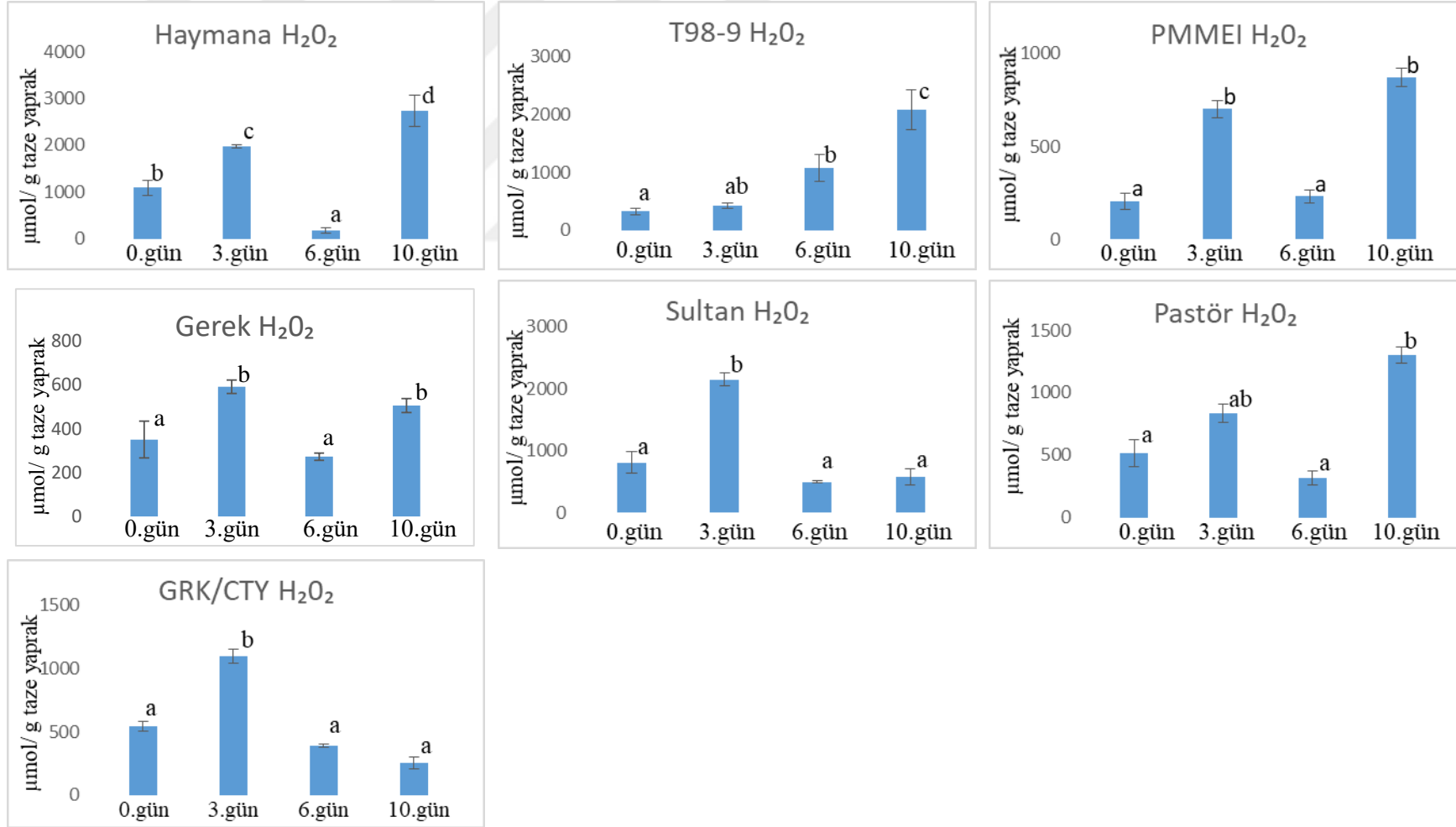
PPO ve APX stres şartları altında benzer davranışlar sergilerken erken stres döneminde hafif artışlar gözlemlenmiştir. Özellikle Sultan genotipinde APX aktivitesi düzenli olarak stres boyunca azalırken, PPO aktivitesinde değişiklik görülmemiştir. Diğer tüm genotiplerden farklı olarak APX yalnızca GRK/ CTY’ de azalma göstermiştir.

#### 4.5. Hidrojen Peroksit Miktarı

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> tayini Velikova ve ark. (2000) tarafından metoda göre gerçekleştirilmiştir. Analizler sonunda standart hidrojen peroksit ile hazırlanan grafik yardımıyla (Şekil 24.1.) 1 g taze dokudaki H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarları (Tablo 9.1.) ve gruplar arasındaki değişimler (Şekil 25.1.) ifade edilmiştir.



**Şekil 24.1.** H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarının hesaplanmasında kullanılan standart grafik



Şekil 24.1. Uygulama gruplarına göre hidrojen peroksit aktivitesindeki değişimler

**Tablo 9.1.** Uygulama gruplarına göre hidrojen peroksit miktarları

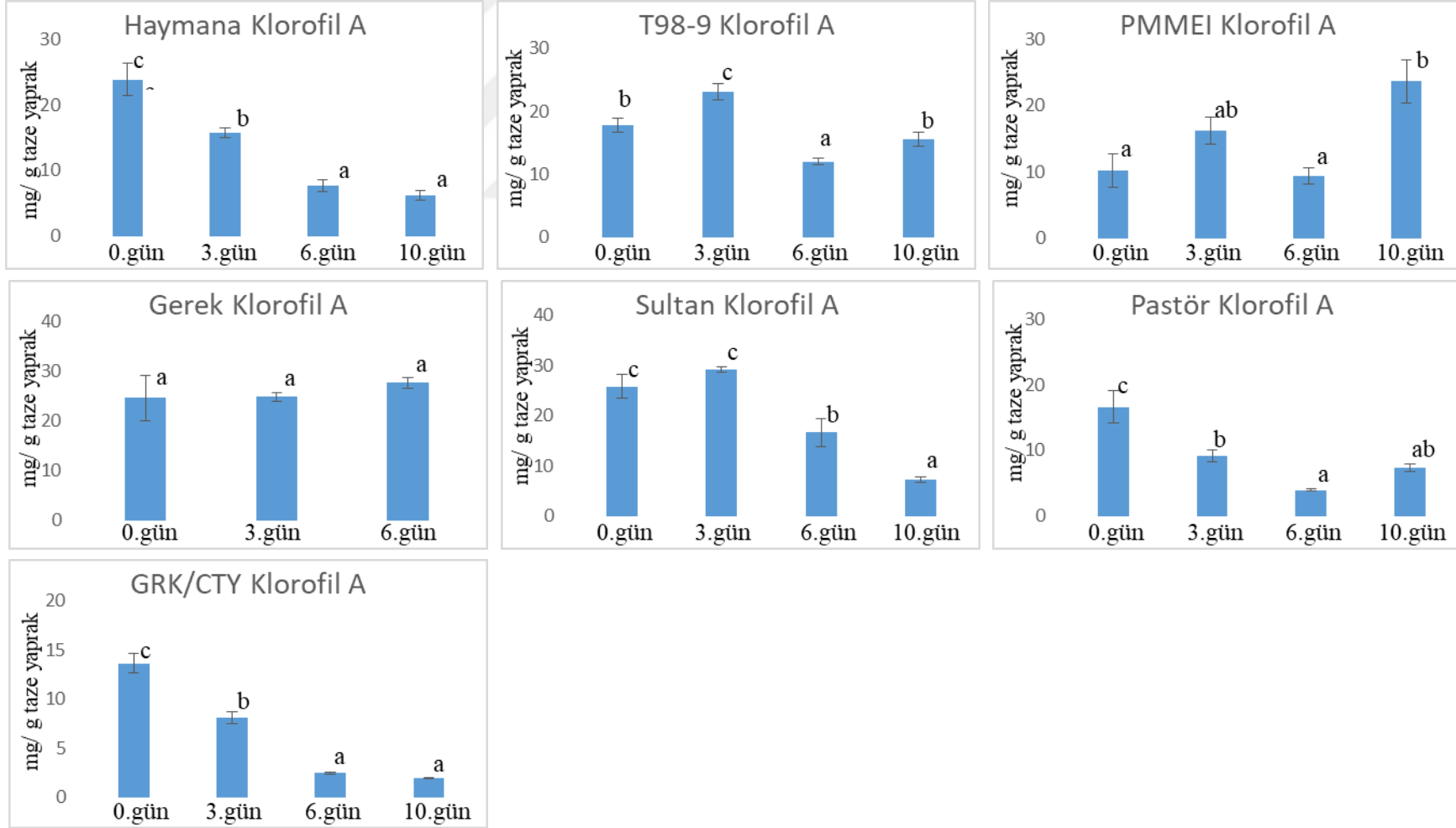
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Miktarları</b>	<b>0.gün</b>	<b>3.gün</b>	<b>6.gün</b>	<b>10.gün</b>
<b>Haymana</b>	1094,7±162,1	1975,1±32,3	185,6±56,9	2732,2±339,6
<b>T98-9</b>	327,6±57,6	423,5±45,7	1072,9±233,9	2081,6±343,8
<b>PMMEI</b>	203,7±43,3	700,5±45,6	232,3±34,2	870,5±50,2
<b>Gerek</b>	350,5±83,8	591,1±30,9	272,2±16,1	505,7±32,6
<b>Sultan</b>	803,3±173,6	2149,4±100,8	495,1±17,4	574,2±126,1
<b>Pastör</b>	513,8±107,1	833,2±71,8	318,2±57,9	1302,6±63,9
<b>GRK/ CTY</b>	546,1±37,5	1099,7±55,2	389,8±15,9	257,2±47,1

Hidrojen peroksit içeriği bakımından tüm uygulama gruplarında erken stres döneminde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeriği artarken, bitkilerin antioksidan savunma mekanizmalarını devreye sokmasıyla H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ileri aşamada T98-9 genotipinde düşmeye başlamıştır. Fakat 10. günün ardından protein ve enzimlerin yapısındaki bozulmalar, bitki homeostazisini etkilemiş bu da H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarında farklı artışların gözlemlenmesini sağlamıştır.

#### 4.6. Fotosentetik Pigment Miktarları

Toplam klorofil, klorofil a ve klorofil b miktarlarının belirlenmesi amacıyla Arnon (1949), denklemleri kullanılmıştır (Öztürk ve Demir, 2003). Bitki dokularının aseton ekstratlarının 645 ve 663 nm 'deki absorbansları kullanılarak ilgili denklemler ile fotosentetik pigment hesaplamaları yapılarak Şekil 26.1. , 27.1. ve 28.1.' de 1 gram taze doku başına pigment miktarlarındaki değişimler ve miktarları Tablo 10.1. , 11.1. , 12.1.' de ifade edilmiştir.



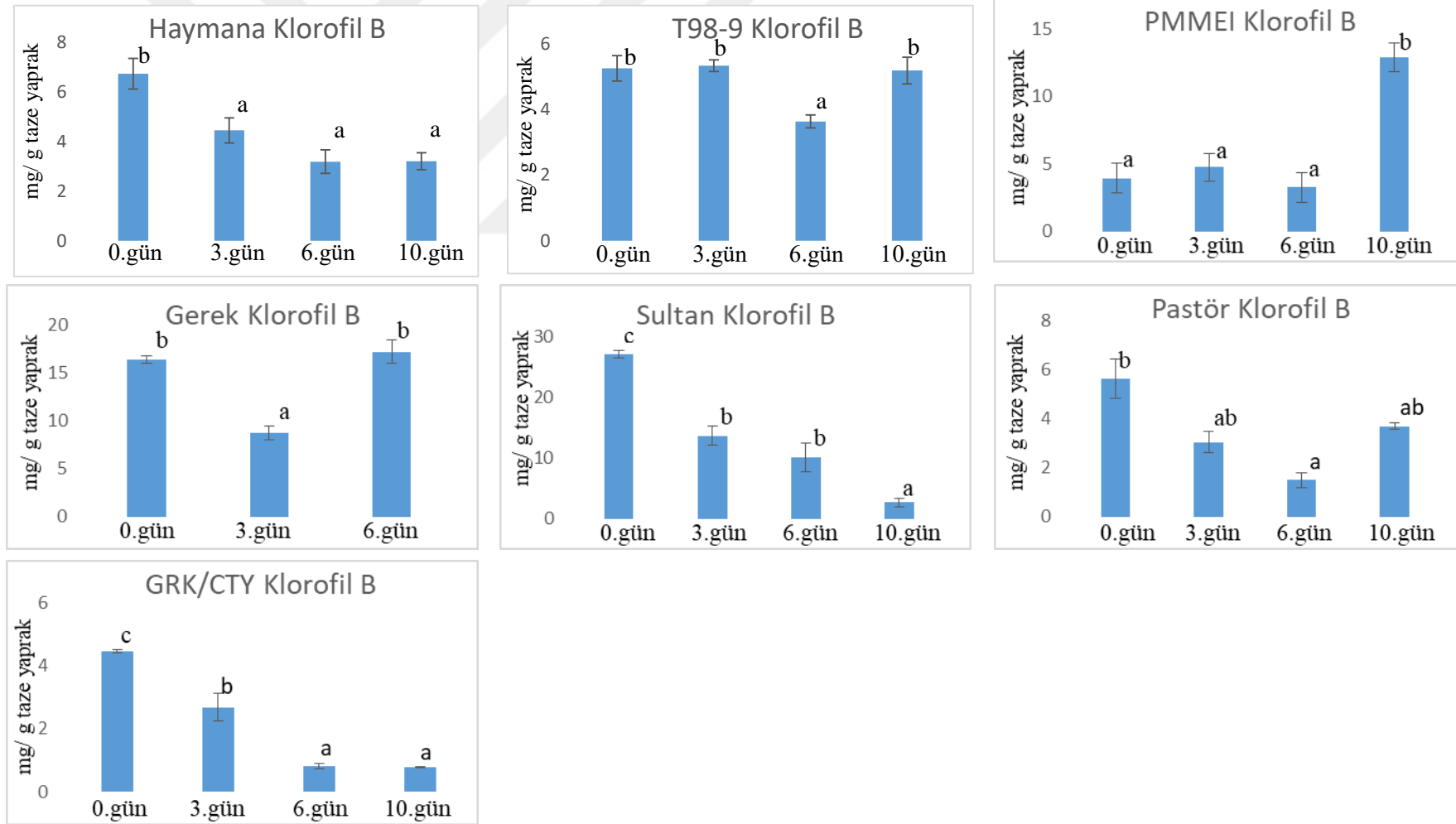


Şekil 25.1. Uygulama gruplarına göre klorofil a miktarındaki değişimler

\*Gerek bitkilerinin 10. gün kuraklık stresi sonucunda tüm dokularını kaybetmesi nedeniyle analiz için örnekler toplanamamıştır.

**Tablo 10.1.** Uygulama gruplarına klorofil A miktarları

<b>Klorofil A Miktarları</b>	<b>0.gün</b>	<b>3.gün</b>	<b>6.gün</b>	<b>10.gün</b>
<b>Haymana</b>	23,91±2,49	15,74±0,78	7,62±0,91	6,19±0,67
<b>T98-9</b>	17,79±1,14	23,11±1,34	12,02±0,45	15,48±1,11
<b>PMMEI</b>	10,20±2,49	16,21±2,03	9,42±1,22	23,68±3,30
<b>Gerek</b>	24,59±4,59	24,83±0,91	27,64±1,15	
<b>Sultan</b>	25,77±2,33	29,16±0,55	16,55±2,75	7,17±0,48
<b>Pastör</b>	16,6±2,52	9,12±0,90	3,96±0,23	7,34±0,53
<b>GRK/ CTY</b>	13,62±1,02	8,133±0,60	2,44±0,11	1,93±0,03



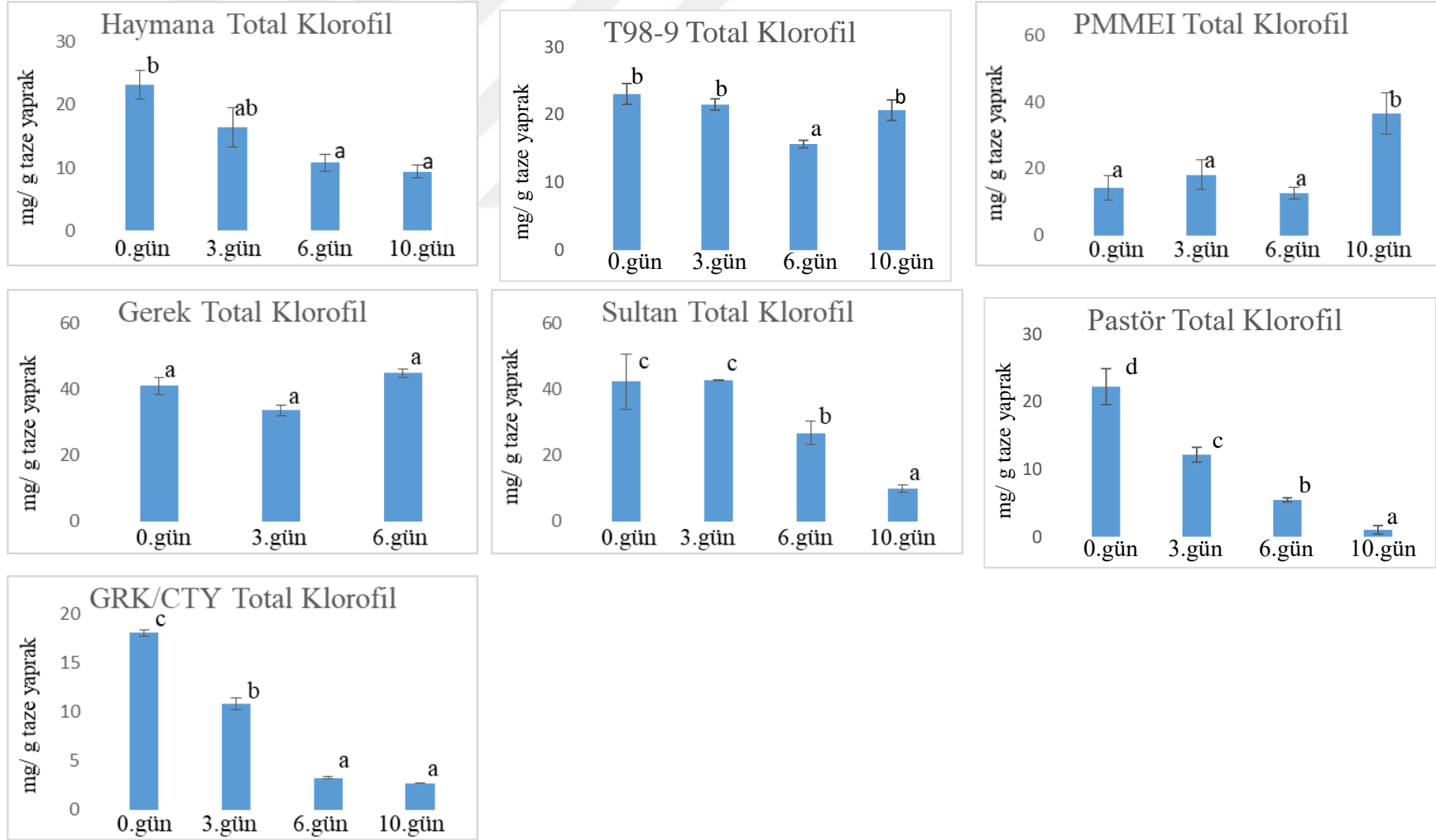
**Şekil 26.1.** Uygulama gruplarına göre klorofil b miktarındaki değişimler

\* Gerek bitkilerinin 10. Gün kuraklık stresi sonucunda tüm dokularını kaybetmesi nedeniyle analiz için örnekler toplanamamıştır.



**Tablo 11.1.** Uygulama gruplarına göre klorofil B miktarları

<b>Klorofil B Miktarları</b>	<b>0.gün</b>	<b>3.gün</b>	<b>6.gün</b>	<b>10.gün</b>
<b>Haymana</b>	6,72±0,61	4,44±0,50	3,18±0,47	3,20±0,34
<b>T98-9</b>	5,25±0,38	5,33±0,17	3,63±0,19	5,18±0,41
<b>PMMEI</b>	3,93±1,08	4,76±1,02	3,26±1,08	12,88±1,05
<b>Gerek</b>	16,42±0,41	8,76±0,72	17,1±1,18	
<b>Sultan</b>	27,1±0,62	13,63±1,61	10,12±2,38	2,68±0,73
<b>Pastör</b>	5,61±0,81	3,03±0,44	1,49±0,29	3,68±0,13
<b>GRK/ CTY</b>	4,45±0,04	2,67±0,43	0,81±0,09	0,78±0,02



**Şekil 27.1.** Uygulama gruplarına göre total klorofil miktarındaki değişimler

\*Gerek bitkilerinin 10. gün kuraklık stresi sonucunda tüm dokularını kaybetmesi nedeniyle analiz için örnekler toplanamamıştır.

**Tablo 12.1.** Uygulama gruplarına göre toplam klorofil miktarları

<b>Toplam Klorofil Miktarları</b>	<b>0.gün</b>	<b>3.gün</b>	<b>6.gün</b>	<b>10.gün</b>
<b>Haymana</b>	23,24±2,30	16,49±3,11	10,80±1,38	9,39±1,01
<b>T98-9</b>	23,04±1,53	21,49±0,83	15,65±0,56	20,66±1,52
<b>PMMEI</b>	14,13±3,62	18,20±4,38	12,68±1,76	36,55±6,17
<b>Gerek</b>	41,01±2,54	33,59±1,60	44,87±1,21	
<b>Sultan</b>	42,31±8,28	42,78±0,15	26,67±3,53	9,85±1,15
<b>Pastör</b>	22,26±2,66	12,16±1,10	5,45±0,31	1,03±0,63
<b>GRK/ CTY</b>	18,07±0,30	10,80±0,60	3,25±0,08	2,71±0,01

Fotosentetik pigment kompozisyonu bakımından tüm uygulama gruplarında ciddi bir azalma görülürken, Sultan genotipinde 6. gün kuraklık stresi itibariyle toplam klorofil miktarları düşmüştür. Gerek genotipindeki bitkilerin 10. gün itibariyle tüm vejetatif dokularını kaybetmesi nedeniyle analiz gerçekleştirilememiştir.

## 5. SONUÇ

Diğer tüm canlılar gibi bitkiler de yaşadıkları çevrenin olumsuz koşullarından negatif olarak etkilenmektedir. Bu olumsuz çevre koşulları biyotik ve abiyotik stres olarak gruplandırılmaktadır. Biyotik stres koşulları arasında patojenler, diğer canlılar gibi unsurlar yer alırken abiyotik stres koşulları içerisinde de kuraklık, tuzluluk, sıcaklık, don gibi faktörler yer almakta ve bunlar arasında da kuraklık ve tuzluluk bitkilerin büyümesini ve yaşamasını olumsuz olarak etkileyen faktörlerin başında gelmektedir. Yapılan bazı çalışmalara göre 2050 yılına kadar, tarımda kullanılan ekilebilir arazilerin nerdeyse % 50' sinden fazlasının kuraklık stresinden önemli derecede etkileneceği belirtilmiştir (Vinocur ve Altman, 2005). Kuraklık stresi genellikle bitkilerde ozmotik etkiye sebep olmakta, bunun sonucunda da büyüme inhibisyonu, toksik olmayan bazı bileşiklerin sentezi ve doğal veya tarımsal yaşam alanlarındaki hücrenin ozmotik potansiyelinde artış gibi sonuçlar gözlenmektedir. Bitkilerin kuraklık toleransı genellikle antioksidan enzimlerdeki değişiklikler ve  $H_2O_2$  seviyesinin belli bazı sınırlar içerisinde korunması ile sağlanabilmektedir. Su stresi, kloroplastlarda, mitokondride ve peroksizomlarda ROS' un, özellikle  $O_2^-$  ve  $H_2O_2$  birikiminin artması nedeniyle artmış oksidatif stres ile ilişkilidir. Antioksidant enzim aktivitelerinin indüksiyonu, bitkilerin oksidatif stresleri aşmak için kullandıkları genel bir adaptasyon stratejisidir (Foyer ve Noctor, 2003).

Gerçekleştirilen tez çalışmasında kuraklık stresine bir cevap olarak hücre içerisinde hidrofilik total protein miktarında da değişiklikler gözlenmiştir. Analiz edilen 7 farklı genotipde de genellikle istatistiksel olarak önemli sayılabilecek derece protein miktarında göreceli olarak artış gözlenmiştir. Bu artışı hücre içi antioksidant savunma sistemlerinden olan antioksidant enzimlerin sentezindeki aktivitelerin, sağlamış olması kuvvetle muhtemeldir. Kukreja ve ark. (2005) tarafından su stresine yanıt olarak peroksidaz ve süperoksit dismutaz aktivitesinde çeşitli artışlar bildirilmiştir. SOD aktivitesi, kuraklığa duyarlı ve kuraklığa dayanıklı pek çok bitki çeşidinde  $H_2O_2$  üretmek üzere  $O_2^-$  radikalini temizlemekten sorumlu enzim olarak kabul edilmektedir. Genellikle  $H_2O_2$  seviyelerindeki kuraklıkla beraber meydana gelen bu artışlar SOD aktivitesiyle ilişkilendirilebilir.  $H_2O_2$ 'nin abiyotik ve biyotik

stres faktörlerinin etkisiyle miktarında meydana gelen artışların aynı zamanda son derece kompleks bir işlem olan sinyal iletim mekanizmalarında da rol aldığı pek çok araştırmacı tarafından belirtilmiştir (Smirnoff, 1998; Bano ve ark., 2012).  $H_2O_2$  içeren birçok stres reaksiyonu vardır.  $H_2O_2$ 'nin homeostazı çoğunlukla katalazın düzenleyici işlevleri sayesinde sağlanmaktadır. Bu nedenle, ROS ile antioksidan sistem arasındaki denge hayatta kalma ve strese adaptasyon için son derece önemlidir. CAT, buğdayın fide yapraklarındaki yüksek konsantrasyondaki  $H_2O_2$ 'i etkili bir şekilde parçalayabilir ve  $H_2O_2$  tarafından üretilen OH' nin hasarını azaltabilir. Bitki hücrelerinde hidrojen peroksit seviyesi CAT tarafından kontrol edilir. POD, farklı bitki dokularında yaygın olarak bulunan ve  $H_2O_2$  katabolizmasında yer alan bir antioksidant enzimdir. Bu enzimin, hidrojen peroksit konsantrasyonundaki hafif değişiklikleri kontrol etme etkisi vardır. Tayebeh ve Hasan (2010), POD izoformlarının, su stresinden sonra yağlı tohumlu bitkilerde sayı ve yoğunluğu artırma kabiliyetine sahip olduğunu bulmuştur. POD' lar, bitki büyümesi, gelişimi, lignifikasyonu, suberizasyonu ve hücre duvarı bileşiklerinin çapraz bağlanmasını da etkiler (Passardi ve ark., 2005). Araştırmalar, genellikle kuraklığa dayanıklı bitkilerin sıklıkla stres koşulları altında hassas bitkilerden daha yüksek POD aktivitesine sahip olduğunu göstermiştir (Wang ve ark., 2014). Bu tez çalışmasında Sultan, PMMEI ve Haymana varyetelerinde POD aktivitesinde artış gözlemlenirken diğer uygulama gruplarında strese bağlı olarak POD aktivitesinde kayda değer bir değişim gözlemlenmemiştir. Hücre membranlarındaki lipid peroksidasyonun, çeşitli derecelerde strese maruz kalan tüm hücrelerin membranlarındaki su stresi üzerindeki en zorlu ve zararlı etkilerden biri olduğu söylenmektedir (Thankamani ve ark. 2003) ve MDA içeriği açısından ölçülen lipid peroksidasyon derecesi, herhangi bir bitkinin maruz kaldığı stresin seviyesini belirleyen belirleyicilerden biridir. Kuraklık stresi bu çalışmada kullanılan bitki genotiplerinde de MDA seviyesinde dikkate değer artışlara neden olmuştur. Gerek ve GRK/CTY genotiplerinde 6. gün itibariyle en yüksek seviyesine ulaşan MDA miktarında 10. günde düşüş gözlemlenmiştir. Bu durumda özellikle membran lipidlerinin strese bağlı olarak kaybolmaya başladığının ve bitki hemostazis durumunun yavaş yavaş ortadan kalkmaya başladığının bir göstergesi olduğu düşünülmektedir. Chakraborty ve Pradhan (2012) buğday üzerinde yaptıkları kuraklık çalışmalarında klorofil içeriğindeki azalma ve prolin birikiminde bir artış

gözlemişlerdir. Bazı araştırma grupları da su stres koşullarına maruz kalan bitkilerde daha yüksek prolin seviyeleri bildirmiştir. Yapılan bu tezde tüm uygulama gruplarında özellikle 10. kuraklık günü itibarıyla prolin seviyesinde son derece ciddi artışlar belirlenmiştir. Bu da bitkilerin kuraklık sonu strese girdiklerini ve de organizmanın kendi iç bünyesinde pek çok biyokimyasal ve fizyolojik antioksidant savunma mekanizmasının devreye girebilmesi için yeterli sinyalin oluşmasını sağlamıştır. Fotosentetik pigment seviyeleri ise stres şartları altında farklı uygulama gruplarına göre değişiklik gösterirken, toplam klorofil miktarı bakımından çeşitler arasında düşüşler gözlenmiştir. Klorofil a' da kuraklık şartlarına bağlı olarak ciddi oranda meydana gelen klorozis, klorofil b'de çok daha az gerçekleşmiştir. Bu durumda total klorofil içerisindeki dormant tipin klorofil a olmasıyla birlikte düşünüldüğünde, bitkilerdeki total klorofil havuzunda klorofil b'ye düşen pay oransal olarak artış göstermiştir.

Yapılan kuraklık stresi tez çalışmasında 7 farklı buğday genotiplerinden kuraklığa karşı fizyolojik olarak en hassas olan genotipler Gerek ve Haymana olarak belirlenmiştir. Pastör ve Sultan genotiplerinde kuraklığa toleransın diğerlerine oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak; kuraklığın günbegün artış gösterdiği dünyamızda çeşitli buğday genotiplerinin kuraklık stresine karşı farklı mekanizmalarla, farklı seviyelerde cevap verdiği görülmüştür. Elde edilen veriler kuraklık şartlarına daha çok adapte olabilen yeni genotiplerin geliştirilmesinde fizyolojik olarak diğer araştırmalara ışık tutacaktır.

## 6. KAYNAKLAR

- Ahmad, P., Umar, S. ve Sharma, S., 2010. Abiyotik Stres Altındaki Bitkilerde Serbest Radikal Temizleme Mekanizması ve Fitohormonların Rolü. In Ashraf M., Öztürk M. ve Ahmad M., Bitki Uyum ve Bitki Düzeltme. *Springer, Dordrecht*
- Alexieva, V., Ivanov, S., Sergiev, I. ve Karanov, E., 2003. Interaction between Stresses. *Bulg. J. Plant Physiol*, 29(3-4), 1-17.
- Alia, Mohanty, P. ve Matysik, J., 2001. *Effect of Proline on The Production of Singlet Oxygen. Amino Acids*, 21(2), 195-200.
- Arnon, D.I., 1949. Copper Enzymes in Isolated Chloroplast. Polyphenoloxidase in Beta vulgaris. *Plant Physiol*, (24), 1-15.
- Aykut-Tonk, F. A. İlker, E. Tatar, Ö. Reçber, A. ve Tosun, M., 2011. Farklı Yağış Miktarı ve Dağılımlarının Ekmeklik Buğday Verimi Üzerine Etkileri. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 48(2).
- Awika, J. M., 2011. Major Cereal Grains Production and Use around The World. In *Advances in Cereal Science: Implications to Food Processing and Health Promotion. American Chemical Society*, (p. 1-13)
- Bano, A., F. Ullah ve A. Nosheen. 2012. Role of abscisic acid and drought stress on the activities of antioxidant enzymes in wheat. *Plant Soil Environ.*, 58(4): 181-185.
- Bartels, D. ve Sunkar, R., 2005. Drought and Salt Tolerance in Plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 24(1), 23-58.
- Bhargava, S. ve Sawant, K., 2013. Drought Stress Adaptation: Metabolic Adjustment and Regulation of Gene Expression. *Plant Breeding*, 132(1), 21-32.
- Boyer, J.S., 1982. *Plant Productivity and Environment Science*, 218(4571), 443-448.
- Bradford, M. M., 1976. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Anal. Biochem*, 72, 248.
- Büyük, İ., Aydın, S. S. ve Aras, S., 2012. Molecular Responses of Plants to Stress Conditions. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 1(69), 97-110.

- Chakraborty, U. ve Pradhan, B., 2012. Oxidative stress in five wheat varieties (*Triticum aestivum* L.) exposed to water stress and study of their antioxidant enzyme defense system, water stress responsive metabolites and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> accumulation. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 24(2), 117-130.
- Chen, T. H. ve Murata, N., 2011. Glycinebetaine Protects Plants Against Abiotic Stress: Mechanisms and Biotechnological Applications. *Plant, cell & Environment*, 34(1), 1-20
- Conway, G., 2000. 21. Yüzyılda Herkes için Yiyecek. Çevre: *Sürdürülebilir Kalkınma için Bilim ve Politika*, 42 (1), 8-18.
- Darwin, R., Tsigas, M. E. ve Lewandrowski, J., 1995. World Agriculture and Climate Change: Economic Adaptations.
- Demir, Y. ve Öztürk, L., 2003. Influence of Ethephon and 2,5-norbornadiene on Antioxidative Enzymes and Proline Content in Salt-Stressed Spinach Leaves. *Biologia Plantarum*, 47 (4), 609-612.
- Duncan, B.D., 1955. Multiple Range and Multiple F-tests. *Biometrics*, p. 1-42.
- Erden, M., 1992. Serbest radikaller. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 12(3), 201-207.
- Erenel, G., Erbaş, D. ve Arıcıoğlu, A., 1992. Serbest radikaller ve antioksidan sistemler. *Gazi medical journal*, 3(4).
- Eriyagama, N., Smakhtin, V. ve Gamage, N., 2010. A global picture of drought occurrence, magnitude and preparedness. CIHEAM/FAO/ICARDA/GDAR/CEIGRAM/MARM: Zaragoza, Spain, 19–25.
- Farooq, M. Irfan, M. Aziz, T. Ahmad, I. ve Cheema, S. A., 2013. Seed Priming with Ascorbic Acid Improves Drought Resistance of Wheat. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 199(1), 12-22.
- Farooq, M., Hussain, M., ve Siddique, K. H., 2014. Drought Stress in Wheat during Flowering and Grain-Filling Periods. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 33(4), 331-349.
- Foyer, C. ve Noctor, G., 2003. Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. *Plant Physiology*. 119, 355-364.
- Foyer, C.H. ve Noctor, G., 2005. Bitkilerde Oksidan ve Antioksidan Sinyalizasyon: Fizyolojik Bağlamda Oksidatif Stres Kavramının Yeniden Değerlendirilmesi. *Plant, Cell & Environment*, 28 (8), 1056-1071.



- Gençoğlan, C. ve Yazar, A., 1999. The effects of deficit irrigations on corn yield and water use efficiency. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 23(2), 233-242.
- Gustafson, P., Raskina, O., Ma, X. ve Nevo, E., 2009. Wheat Evolution, Domestication, and Improvement. *Wheat Science and Trade*, 3-30.
- Groppa, M. D. ve Benavides, M. P., 2008. Polyamines and Abiotic Stress: Recent Advances. *Amino acids*, 34(1), 35-45.
- Hafeez, M., *Propagation of Drought: From Meteorological Drought to Agricultural and Hydrological Drought*.
- Harris, E. D., 1992. Regulation of Antioxidant Enzymes. *The FASEB Journal*, 6(9), 2675-2683.
- Hayat, S. Hayat, Q. Alyemeni, M. N. Wani, A. S. Pichtel, J. ve Ahmad, A. 2012. Role of Proline under Changing Environments: A Review. *Plant Signaling & Behavior*, 7(11), 1456-1466.
- Huseynova, I. M., 2012. Photosynthetic Characteristics and Enzymatic Antioxidant Capacity of Leaves from Wheat Cultivars Exposed to Drought. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1817(8), 1516-1523.
- HongBo, S., ZongSuo, L. ve MingAn, S., 2005. Changes of Anti-Oxidative Enzymes and MDA Content under Soil Water Deficits among 10 Wheat (*Triticum aestivum L.*) Genotypes at Maturation Stage. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 45(1), 7-13.
- Jiang, M. ve Zhang, J., 2002. Water Stress-Induced Abscisic Acid Accumulation Triggers The Increased Generation of Reactive Oxygen Species and Up-Regulates The Activities of Antioxidant Enzymes in Maize Leaves. *Journal of Experimental Botany*, 53(379), 2401-2410.
- Kalefetoğlu, T. ve Ekmekci, Y., 2005. The Effects Of Drought On Plants And Tolerance Mechanisms (Review). *Gazi University Journal of Science*.
- Kar, R. K., 2011. Plant Responses to Water Stress: Role of Reactive Oxygen Species. *Plant Signaling & Behavior*, 6(11), 1741-1745.
- Karabal, E. Yücel, M. ve Öktem, H. A., 2003. Antioxidant Responses of Tolerant and Sensitive Barley Cultivars to Boron Toxicity. *Plant Science*, (164), 925-933.
- Kukreja, S., A.S. Nandval, N. Kumar, S.K. Sharma, V. Unvi ve P.K. Sharma. 2005. Plant water status, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> evolution and membrane integrity of *Cicer arietinum* roots as affected by salinity. *Plant Biology*, 49: 305-308

- Kumar, P., Yadava., R. K., Gollen, B., Kumar, S., Verma, R. K. ve Yadav, S., 2011. Nutritional Contents and Medicinal Properties of Wheat: A Review: *Life Sci Med Res*, 22, 1-10.
- Kurnaz, L., 2014. Drought in Turkey. Istanbul Policy Center, *Sabancı University*, p. 4-8.
- Koyro, H. W., Ahmad, P. ve Geissler, N., 2012. Abiotic Stress Responses in Plants: An Overview. In *Environmental Adaptations and Stress Tolerance of Plants in The Era of Climate Change* (p. 1-28). *Springer New York*.
- Luna, C. M., Pastori, G. M., Driscoll, S., Groten, K., Bernard, S. ve Foyer, C. H., 2005. Drought controls on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Accumulation, Catalase (CAT) Activity and CAT Gene Expression in Wheat. *Journal of Experimental Botany*, 56(411), 417-423.
- Loggini, B., Scartazza, A., Brugnoli, E. ve Navari-Izzo, F., 1999. Antioxidative Defense System, Pigment Composition, and Photosynthetic Efficiency in Two Wheat Cultivars Subjected to Drought. *Plant physiology*, 119(3), 1091-1100.
- Ma, X. L., Wang, Y. J., Xie, S. L., Wang, C. ve Wang, W., 2007. Glycinebetaine Application Ameliorates Negative Effects of Drought Stress in Tobacco. *Russian Journal of Plant Physiology*, 54(4).
- Mattioni, C., Lacerenza, N. G., Troccoli, A., Leonardis, A. D. ve Fonzo, N. D., 1997. Water and Salt Stress-Induced Alterations in Proline Metabolism of *Triticum durum* Seedlings. *Physiologia Plantarum*, 101(4), 787-792.
- Mercan, U., 2004. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15(1), 91-96.
- Miller, Gad, Suzuki, N. Ciftci-Yılmaz, S. ve Mittler, R., 2010. Kuraklık ve Tuzluluk Stresleri Sırasında Tepkisel Oksijen Türü Homeostaz ve Sinyalizasyon. *Bitki, Hücre ve Çevre*, 33 (4), 453-467.
- Noorka, I. R., Rehman, S., Haidry, J. R., Khaliq, I., Tabassam, S. ve Din, M., 2009. Effect of Water Stress on Physico-Chemical Properties of Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Pakistan Journal of Botany*, 41(6), 2917-2924.
- Oral, O., Zusa, A., Akdogan, İ. Ç., Alakoç, F. ve Tirpan, M. S., 2015. Antioxidants And Astaxanthin In Sports Nutrition. *International Journal of Educational Researchers*, 6(3), 63-71.
- Osakabe, Y., Osakabe, K., Shinozaki, K. ve Tran, L. S. P., 2014. Response of Plants to Water Stress. *Frontiers in Plant Science*, p.5.

- Örs, S. ve Ekinci, M., 2015. Kuraklık stresi ve bitki fizyolojisi. *Derim*, 32(2), 237-250.
- Özdemir, E., 2012. Ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.)'da priming uygulamalarının fizyolojik parametreler üzerine etkileri. *Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Konya.
- Öztürk, A. ve Akten, Ş., 1996. Buğday ve Kuraklık Stresi. *Journal of the Faculty of Agriculture*, 27(1).
- Öztürk, L., 2002. Normal Şartlarda Büyütülen Ispanak (*S. Oleraceae* cv. Gladiatör) Bitkisinde Etakon ve Poliamin Uygulamalarının Oksidatif Enzimler Üzerine in vivo ve in vitro Etkilerinin İncelenmesi. *Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum.
- Öztürk, L. ve Demir, Y., 2003. Effects of Putrescine and Ethephon on Some Oxidative Stress Enzyme Activities and Proline Content in Salt Stressed Spinach Leaves. *Plant Growth Regulation*, (40), 89-95.
- Passardi, F., Cosio, C., Penel, C. Ve Dunand, C., 2005. Peroxidases have more functions than a Swiss army knife. *Plant Cell Rep.*, 24, 255-265.
- Sade, B., Soylu, S. ve Yetim, E., 2011. Kuraklık ve Oksidatif Stres. *African Journal of Biotechnology*, 10 (54), 11102-11109.
- Smirnoff, N., 1998. Plant resistance to environmental stress. *Plant Biotech.*, 9(2): 214-219.
- Sreenivasulu, N., Ramanjulu, S., Ramachandra-Kini, K., Prakash, H.S., Shekar-Shetty, H., Savithri, H.S. ve Sudhakar, C., 1999. Total peroxidase activity and peroxidase isoforms as modified by salt stress in two cultivars of fox-tail millet with differential salt tolerance. *Plant Science*, 141, 1-9.
- Shu-Hsien, Hung., Chih-Wen, Yu. ve Chin Ho Lin., 2005. Hydrogen Peroxide Functions as A Stress Signal in Plants. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 46, 1-10.
- Sofo, A., Scopa, A., Nuzzaci, M. ve Vitti, A., 2015. Kuraklık ve Tuzluluk Stresine Maruz Kalan Bitkilerde Askorbat Peroksidaz ve Katalaz Aktiviteleri ve Bunların Genetik Düzenlenmesi. *Uluslararası Moleküler Bilim Dergisi*, 16 (6), 13561-13578.
- Szabados, L. ve Saviouré, A., 2010. Proline: A Multifunctional Amino Acid. *Trends in Plant Science*, 15(2), 89-97.

- Szalai, G., Kellős, T., Galiba, G. ve Kocsy, G., 2009. Glutathione as An Antioxidant and Regulatory Molecule in Plants under Abiotic Stress Conditions. *Journal of Plant Growth Regulation*, 28(1), 66-80.
- Tayebeh, A. ve Hassan, P., 2010. Antioxidant enzyme changes in response to drought stress in ten cultivars of oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Czech J. Genet. Plant Breed.*, 46(1), 27-34.
- Thankamani, C.K., Chempakam, B., Ashokan, P.K., 2003. Water stress induced changes in enzymatic activities and lipid peroxidation in black pepper (*Piper nigrum*). *J. Med. Aromat. Plant Sci.*, 25,646.
- Valliyodan, B. ve Nguyen, H. T., 2006. Understanding Regulatory Networks and Engineering for Enhanced Drought Tolerance in Plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 9(2), 189-195.
- Vardhini, B. V. ve Anjum, N. A., 2015. Brassinosteroids Make Plant Life Easier under Abiotic Stresses Mainly by Modulating Major Components of Antioxidant Defense System. *Frontiers in Environmental Science*, 2, 67.
- Velikova, V., Yordanov, I. ve Edrava, A., 2000. Oxidative Stress and Some Antioxidant Systems in Acid Rain-Treated Bean Plants. Protective Role of Exogenous Polyamines. *Plant Science*, 151, 59-66.
- Vinocur, B. ve Altman, A., 2005. Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievements and limitations. *Current Opinion in Biotechnology*, 16(2), 123-132.
- Wang, W. Vinocur, B. Shoseyov, O. ve Altman, A., 2004. Role of Plant Heat-Shock Proteins and Molecular Chaperones in The Abiotic Stress Response. *Trends in Plant Science*, 9(5), 244-252.
- Wang, W.B., Kim, Y.H., Lee, H.S., Kim, K.Y., Deng X.P. ve Kwak., S.S. 2009. Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. *Plant Physiol and Biochem.*, 47, 570-577.
- Wang, X., Vignjevic, M., Jiang, D., Jacobsen, S. ve Wollenweber, B., 2014. Improved Tolerance to Drought Stress After Anthesis due to Priming Before Anthesis in Wheat (*Triticum aestivum* L.) var. Vinjett. *Journal of Experimental Botany*, 65(22), 6441-6456.
- Waraich, E. A. Ahmad, R. ve Ashraf, M. Y., 2011. Role of Mineral Nutrition in Alleviation of Drought Stress in Plants. *Australian Journal of Crop Science*, 5(6), 764.
- Yavaş, İ. Nail, H. ve Ünay, A., 2016. The Applications to Increase Drought Tolerance of Plants. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 4(1), 48-57.

Yiğit, A., 2015. Türkiye'de Yaygın Olarak Yetiştirilen Ekmeklik Buğday (*Triticum aestivum* L.) Çeşitlerinin Protein, Aminoasit Dağılımı ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi.

Zhang, N., Sun, Q., Zhang, H., Cao, Y., Weeda, S., Ren, S. ve Guo, Y. D., 2015. Roles of Melatonin in Abiotic Stress Resistance in Plants. *Journal of Experimental Botany*, 66(3), 647-656.

Xu, Z., Zhou, G. ve Shimizu, H., 2010. Plant Responses to Drought and Rewatering. *Plant Signaling & Behavior*, 5(6), 649-654.



## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı :Canan KOÇ  
Doğum Tarihi ve Yer :1990 - Tokat  
Medeni Hali : Evli  
Yabancı Dili : İngilizce  
Telefon : 05075129905  
e-mail : c.gulbasar.koc@gmail.com

### Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi	2018
Lisans	Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi	2015
Lise	Tepebağ Lisesi	2007