

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

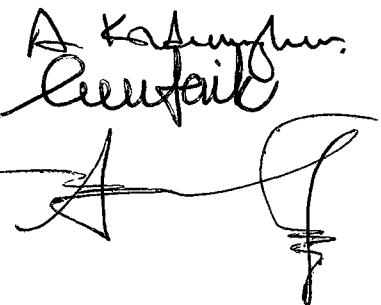
**AĞIR KURAKLIK STRESİ GEÇİRMİŞ *Ctenanthe setosa* BİTKİSİNİN YENİ
KURAKLIK KOŞULLARINA ADAPTASYON YETENEĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

Biyolog Aykut SAĞLAM

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünce
“Yüksek Lisans (Biyoloji)”
Ünvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 09.07.2004
Tezin Savunma Tarihi : 31.08.2004**

**Tez Danışmanı : Prof. Dr. Asım KADIOĞLU
Jüri Üyesi : Doç. Dr. Faik Ahmet AYAZ
Jüri Üyesi : Doç. Dr. Lokman ALTUN**



Enstitü Müdürü : Prof. Dr. Yusuf AYVAZ



Trabzon 2004

156161

ÖNSÖZ

Ağır kuraklık stresi geçirmiş *Ctenanthe setosa* bitkisinin yeni kuraklık koşullarına adaptasyon yeteneğinin araştırıldığı bu çalışma, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda ‘Yüksek Lisans Tezi’ olarak hazırlanmıştır.

Yüksek lisans tez danışmanlığını üstlenerek, gerek konu seçimi, gerekse çalışmaların yürütülmesi sırasında ilgisini esirgemeyen sayın hocam Prof. Dr. Asım KADIOĞLU'na, metot öğrenmemde yardımcı olan sayın Doç. Dr. Faik Ahmet AYAZ'a, Öğr. Gör. Rabiye TERZİ'ye, Yrd. Doç. Dr. Nuran DURMUŞ'a, Arş Gör. Neslihan SARUHAN'a ve Yrd. Doç Dr. Hatice KATTI'ya, bölümün imkanlarını kullanmama olanak tanıyan, bölüm başkanımız sayın Doç. Dr Ali Osman BELDÜZ başta olmak üzere tüm biyoloji bölümü çalışanlarına teşekkür ederim.

Tezin hazırlanması esnasında değerli yardımcılarını esirgemeyen sevgili arkadaşlarım Hakan KARAOĞLU, Handan ONAY, Utku AVCI, Bülent AKAR, Dilek DENKTAŞ, Ufuk BÜLBÜL, Nihal KUTLU, Hülya TORUN, Ali Adem BAHAR ve Örenay DEMİR'e, ve ayrıca gösterdikleri sabır ve hoşörüden ötürü aileme teşekkür ederim.

Aykut SAĞLAM
Trabzon 2004

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ÖZET.....	V
SUMMARY.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
TABLOLAR DİZİNİ.....	VIII
KISALTMALAR.....	IX
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1. 1. Giriş.....	1
1. 2. Stres Nedir ?.....	3
1. 3. Bitkilerin Kuraklığa Cevapları.....	5
1. 3. 1. Kuraklıktan Kaçış.....	5
1. 3. 2. Kuraklıktan Sakınma.....	5
1. 3. 3. Kuraklık Toleransı.....	6
1. 3. 3. 1. Osmolitler.....	6
1. 3. 3. 1. 1. Şekerler ve Stres.....	7
1. 3. 3. 1. 2. Prolin.....	8
1. 3. 3. 2. Antioksidant Enzim Sistemleri.....	9
1. 4. Proteinler.....	11
1. 5. Marantaceae Familyasının Özellikleri.....	12
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	13
2. 1. Deney Materyalininin Sağlanması.....	13
2. 2. Yaprak Kırılma Derecesinin Ölçülmesi.....	13
2. 3. Prolin Tayini.....	13
2. 4. Yapraklarda İndirgen Şeker Tayini.....	14
2. 5. Proteinlerin Analizi.....	15
2. 5. 1. Protein Özütünün Hazırlanması.....	15
2. 5. 2. Çözünebilir Protein Tayini.....	15
2. 5. 3. Peroksidaz Aktivitesi Tayini.....	16
2. 5. 4. Peroksidaz İzoenzimlerinin Belirlenmesi.....	16
2. 6. Toplam Çözünebilir Karbohidrat Tayini.....	17

2. 7.	İstatistik Analizler.....	17
3.	BULGULAR.....	18
3. 1.	Morfolojik Gözlemler ve Kuraklığın % Su İçeriğine Etkisi.....	18
3. 2.	Kuraklık Stresi Boyunca Peroksidaz Aktivitesinde Meydana Gelen Değişimler	20
3. 3.	Kuraklık Stresi Boyunca Çözünebilir Protein Miktarındaki Değişim.....	21
3. 4.	Kuraklık Stresi Boyunca Prolin Miktarındaki Değişim.....	22
3. 5.	Kuraklık Stresi Boyunca Çözünebilir Karbohidrat Miktarındaki Değişim..	23
3. 6.	Kuraklık Stresi Boyunca İndirgen Şeker Miktarındaki Değişim.....	24
4.	TARTIŞMA.....	25
5.	SONUÇLAR.....	28
6.	ÖNERİLER.....	29
7.	KAYNAKLAR.....	30
	ÖZGEÇMİŞ.....	43

ÖZET

Ağır kuraklık stresi geçirmiş *Ctenanthe setosa* bitkisinin yeni kuraklığa koşullarına adaptasyon yeteneğinin araştırıldığı bu çalışmada, yaprak kıvrılması ve kuraklığa stres arasındaki ilişki, yaprak kıvrılması sırasında çözünebilir protein, prolin, indirgen şeker, toplam çözünebilir karbohidrat seviyelerindeki ve peroksidaz aktivitesindeki değişimler belirlendi.

Yaprak kıvrılmalarının artan kuraklığa paralel olarak arttığı ve kıvrılmanın ilk kez stres geçiren bitkilere oranla daha çabuk meydana geldiği saptanmıştır. Ayrıca yaprakların ilk strese maruz kalmış bitkilere göre, kıvrılmış halde daha uzun süre kaldıkları tespit edildi. Buna ilaveten bitki yaprak alanı oranında ve yaprak sapı uzunlığında indirgenmeler gözlandı. Yapılan kantitatif analizler sonucunda çözünebilir protein miktarının; kontrole oranla azaldığı, fakat kuraklığın 23'ncü gününden itibaren bir artış sergilediği, prolin miktarının arttığı, indirgen şeker ve toplam çözünebilir karbohidrat miktarında istatistik olarak önemli bir değişimin olmadığı, peroksidaz aktivitesinin ise kontrole oranla artış gösterdiği belirlenmiştir.

Elde edilen sonuçlar, daha önce stres geçirmiş bitkilerin yeni streslere morfolojik ve fizyolojik olarak daha dirençli olduklarını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: *Ctenanthe setosa*, Ağır kuraklığa stresi, Yaprak kıvrılması, Prolin, Indirgen şeker, Peroksidaz

SUMMARY

The Investigation of The Adaptation Ability of *Ctenanthe setosa* Plant Exposed to Severe Drought Stress to The New Drought Conditions

In this study the ability of adaptation of *Ctenanthe setosa* plant exposed to severe drought stress to the new drought conditions was investigated. The relation between leaf rolling and drought stress, soluble proteins, proline, reducing sugar, total soluble carbohydrates levels, and changes in peroxidase activity during the leaf rolling were determined.

It was observed that leaf rolling developed parallel to increased drought, rolling took place faster than the plants exposed to the stress for the first time, and that leaves remained in rolling state for longer periods than the leaves of the plants exposed to stress for the first time. Reductions in the leaf area ratio and in the length of leaf petiol were recorded. As a result of the quantitative analysis, it was determined that soluble protein content decreased compared to control, but increased after 23 days of drought, and the level of proline increased, and the content of reducing sugar and total soluble carbohydrates were not statistically significant, and there was also an increase in the activity of peroxidase compared to control.

The findings indicate that the plants previously exposed to drought are morphologically and physiologically more resistant to the new stresses

Key words: *Ctenanthe setosa*, Drought stress, Leaf rolling, Proline, Reducing sugar, Peroxidase

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1. <i>C. setosa</i> 'nın kuraklık stresine maruz kalmamış (a) ve strese maruz kalmış (b) görünümü	18
Şekil 2. <i>C. setosa</i> 'nın ilk kuraklık periyodu sonrası elde edilen formu (a) ve ikinci kuraklığa maruz kalan (b) görünümü	19
Şekil 3. Kuraklık stresi uygulamaları boyunca Peroksidaz (POD) bantlarının görünümü	20



TABLULAR DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1. Kuraklık Stresinin Yaprak Kırılması Üzerine Etkisi.....	19
Tablo 2. Kuraklık Stresinin Peroksidaz (POD) Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi	21
Tablo 3. Kuraklık Stresinin Çözünebilir Protein Miktarına Etkisi	22
Tablo 4. Kuraklık Stresinin Prolin Miktarı Üzerine Etkisi.....	23
Tablo 5. Kuraklık Stresinin Çözünebilir Karbohidrat Miktarına Etkisi	24
Tablo 6. Kuraklık Stresinin İndirgen Şeker Miktarına Etkisi	24



KISALTMALAR

- ABA : Absisik Asit
BSA : Bovin Serum Albumin
CAT : Katalaz Enzimi
CBB : Coomassie Brillant Blue
GSH : İndirgenmiş Glutatyon
GSSH : Yükseltgenmiş Glutatyon
LAR : Yaprak Alan Oranı
LEA : Geç Embriyogenezde Bol Bulunan
LSD : En Küçük Farklılık Önemlilik Testi
POD : Peroksidaz Enzimi
RGR : Kısmi Büyüme Oranı
ROS : Reaktif Oksijen Türleri
SLA : Spesifik Yaprak Alanı

1.GENEL BİLGİLER

1.1 Giriş

Bilindiği gibi elverişsiz çevre koşulları bitkilerdeki üretkenliği azaltır ve uygun habitat alanlarını kısıtlayabilir. Bu da tarımsal üretim üzerinde önemli bir ekonomik zarar ortaya çıkarır. Bitkiler çevresel streslerin zorlukları ile mücadele etmek için geniş bir adaptasyon spektrumu geliştirmiştir sesil organizmalardır. Bununla birlikte adaptasyon mekanizmaları sıkılıkla ürün parametrelerini olumsuz biçimde etkiler. Yüksek bitkilerin verimlilik potansiyelini sınırlayan önemli bir faktör sudur. Su, çözücü, taşınım ortamı ve soğutucu olarak bir çok hayatı biyoreaksiyonu kolaylaştırır, tüm organizmaların metabolizmalarının önemli bir bileşenidir (Bohnert vd., 1995). Bitkilerde ve diğer ototroflarda su fotosentez için gereken enerjiyi sağlama rolünü de üstlenmiştir. Su eksikliği bitkileri farklı biçimlerde etkiler. Ortamda su eksikliği, bitkinin su içeriğinde küçük değişikliklere yol açar ve bitkiler bu durumundan su kaybını azaltarak ya da su alımını artırarak kurtulmaya çalışırlar (Bray, 1997). Kuraklık stresinin önemli sonuçlarından biri Cl^- ve NO_3^- gibi iyonların konsantrasyonlarını dengeleyen protoplazmik suyun kaybıdır. Bu iyonlar yüksek konsantrasyonlarda bitkinin metabolik fonksiyonlarını etkili bir biçimde inhibe ederler. Ayrıca protoplazmik bileşenlerin konsantrasyonu ve hücrelerde suyun kaybı, kristalleşme olarak adlandırılan bir oluşuma yol açar. Bu durumda hücredeki su yüksek bir viskositeye sahiptir. Bu olay kuraklık olarak bilinir ve protein denatürasyonu ile membran füzyonuna neden olabilen moleküller arası etkileşimi artırır (Hartung vd., 1998; Hoekstra vd., 2001).

Kuraklık sırasında gerçekleşen turgor kaybı ile bitkilerdeki bazı olaylar etkilenir (Barlow vd., 1980; Hsiao, 1973). Bitki bu durumdan en az şekilde etkilenmek için osmotik düzenleme mekanizmalarını devreye sokar. Osmotik düzenleme (çözünmüş maddelerin artışı ile osmotik potansiyelin düşmesi) çoğu hububat bitkisinde su stresine karşı geliştirilen bir adaptasyon mekanizması olarak düşünülmektedir (Jones ve Turner, 1978; Turner, 1979; Turner ve Jones, 1980). Osmotik düzenleme düşük su seviyesinde turgorun sürdürülmesine olanak sağlar. Bu olay bitkinin, sırasıyla hücre büyümesi ve stoma açılması gibi faaliyetlerini gerçekleştirir (Hsiao vd., 1976; Turner ve Jones, 1980). Örneğin yaprak kıvrılması ve yaprak ya da köklerin ölümü su eksikliğinin bir sonucu olarak meydana gelir. Her iki belirti de görsel kuraklık direncinin ifadeleri olarak kullanılabilir. Yaprak su

durumunun görsel indikatörü olan yaprak kıvrılması (O'Toole ve Moya, 1978), hububatların su eksikliğine en yaygın cevabı olarak bilinir (Begg, 1980; Blum, 1988). Yaprak kıvrılması etkili yaprak alanını ve su stresi meydana geldiğinde yaprak üzerindeki enerji yüklemesini azaltır. Pirinç bitkisinde yapılan çalışmalarda yaprak kıvrılma derecesi ve su potansiyeli arasında güçlü bir korelasyon bulunmuştur (O'Toole ve Moya, 1978). Yaprak kıvrılması arttıkça su potansiyeli düşmektedir. Kıvrılma cevabı yaprak üst epidermisindeki su kaybından kaynaklanır ve yaprak su eksikliğindeki günlük değişimlere son derece hassastır (Begg, 1980). Yaprak kıvrılması, yaprak ayasının üst epidermsinde yer alan bulliform hücrelerinin turgor potansiyeline bağlı olduğu için, yaprak su potansiyelindeki bir değişiklik gözle görünür su stresi belirtilerini ortaya çıkarır (Lee-Stadelmann ve Stadelmann, 1976). Hsiao vd., (1984) osmotik ayarlama ile yaprak kıvrılmasının geciktiğini ve osmotik olarak ayarlanmış yapraklardaki kıvrılmanın daha düşük su potansiyellerinde meydana geldiğini göstermişlerdir. Yaprak kıvrılmasının en önemli etkisi yaprak yüzeyini çevreleyen mikroklimayı değiştirmektir. Kuraklığa cevap olarak yaprak mikroklimasının değişmesi sonucunda stomalar açık kalır, fotosentez ve büyümeyenin devamı sağlanır (Matthews vd., 1990).

Ctenanthe setosa, yapraklarını kıvırmak suretiyle su eksikliğine uzun süre dayanabilen bir süs bitkisidir. *C. setosa* bitkisinde kıvrılma mekanizması üzerinde ilk çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar sırasında strese uğramış (yaprakları kıvrılmış) bitkiler, strese uğramamış bitkilerle karşılaştırıldığında farklı cevapların meydana geldiği gözlenmiş ve önemli veriler elde edilmiştir. 1) Su eksikliği ve hava sıcaklığının kıvrılmaya neden olan iki önemli faktör olduğu, ışığın ise su eksikliği ile beraber kıvrılmayı artırdığı (Turgut ve Kadıoğlu, 1998), 2) *C. setosa* bitkisinde de kıvrılma sırasında protein miktarının azaldığı (Kadıoğlu ve Turgut, 1999), 3) Düşük moleküller ağırlıklı karbohidratların birikimi ve bazı fenolik asitlerin artışı (Ayaz vd., 2000), 4) Poliaminlerin yaprak kıvrılmasını geciktirdiği (Kadıoğlu vd., 2002) belirlenmiştir. Bu verilere dayanarak, *Ctenanthe*'nin bu alandaki çalışmalarda kullanılabilecek çok iyi bir deney bitkisi olduğu tespit edilmiştir.

Kuraklık stresine maruz bırakılmış bitkilerin bir takım adaptif özellikler kazandıkları bilinmektedir. Bunlardan biri yaprak alanının azalması bir diğer ise kök gövde oranındaki azalmadır (Heitholt, 1989). *C. setosa* ile gerçekleştirilen kuraklık çalışmaları sonucu, kuraklığa maruz kalan bitkilerin, verdikleri yeni yaprakların alanlarının dar ve yaprak sapi uzunluklarının ise daha kısa olduğu tarafımızdan gözlenmiştir. Bu gözlemlerimiz üzerine daha önce strese maruz kalmış bitkilerden oluşan yeni yapraklarda, ikinci bir stres

sonucunda nasıl bir cevabın oluşacağı tarafımızdan merak konusu olmuştur. Ayrıca yapılan literatür çalışmalarında yaprak kıvrılması mekanizmasına sahip bitkilerle ilgili bu konuda daha önce yapılmış bir araştırmaya rastlanılmamıştır.

Bu nedenle çalışmamızda ağır kuraklık stresine maruz kalmış bu bitkilerin, yeni bir kuraklık stresine adaptasyon cevabındaki değişimler hakkında biyokimyasal seviyede bazı bilgilerin elde edilmesi amaçlanmaktadır. Bu amaca yönelik olarak yaprak kıvrılması değerleri de dikkate alınarak, çözünebilir protein, prolin, indirgen şeker ve toplam çözünebilir karbohidrat miktarları ve peroksidaz aktitivitesindeki değişimlere artan kuraklık periyotlarında bakılacaktır.

1.2. Stres Nedir?

Stres, mühendis ve fizikçilerin bir obje üzerinde birim alana uygulanan kuvvet olarak tanımladıkları biçimde, temel olarak mekanik bir kavramdır (Hopkins, 1995). Biyolojik açıdan ise stresi tanımlamak zordur. J. Levitt ve diğer bazı araştırcılar fiziksel stres terminojisinin yalnız, yaşayan organizmalara uygulanabileceğini ileri sürmüşlerdir (Levitt, 1972; Turner ve Kramer, 1980). Fakat pratikte biyolojik stres konusu farklı bir anlam taşır. Örneğin ekosistem seviyesinde bir bitkiyi genetik potansiyelinin altındaki bir üretimle sınırlayan durum stres olarak düşünülebilir (Grime, 1979). Bu yaklaşım optimal çevrelerde genetik potansiyeli belirlemek için matematik modellerin uygalandığı tarım gibi bazı özel durumlarda kullanılabilir.

Çevresel stresi değerlendirdirken üzerinde düşünülmesi gereken bir soru ise hangi koşulun stres yaratacağıdır. Çünkü bitkilerin sıcaklık, su potansiyeli ve tuzluluk gibi üç koşullara dayanıklılığı çok değişkendir.

Belki de en anlamlı biyolojik stres tanımı normal sistemin fonksiyonlarını inhibeden olumsuz güç yada etkidir şeklinde yapılabilir (Jones ve Jones, 1989).

Açık arazide bitkiler sıkılıkla çeşitli çevresel streslere maruz kalırlar. Genellikle, birkaç stres faktörü bitkiler üzerinde aynı anda etkili olabilir. Sıcaklık, su ve yüksek ışıklandırma kombinasyonu bu streslere örnek olarak verilebilir. Orta ve kısa süreli streslerde hasar geçici olabilir ya da stres koşulları ortadan kaldırıldığında bitki iyileşebilir. Eğer stres şiddetli ise çiçeklenmeyi ve tohum oluşumunu engelleyebilir yada bitkinin hayatı kalmasını güçlendirir (Yordanov vd., 2000). Larcher, (1987) stresi, metabolik fonksiyonların bozulmaya başladığı ve buna bağlı olarak ihtiyaçların arttığı ve bu durumu

normale dönüşün ve direncin gelişmesinin izlediği bir olay olarak tanımlamıştır. Lichtenhaller, (1996) ise Larcher'in (1987) bitki stres kavramını eu-stres ve dis-stres şeklinde farklı iki başlıkla genişletmiştir. Eu-stres aktive edici stres olup bitki gelişimi için olumlu bir elementtir. Bununla birlikte dis-stres, şiddetli ve hasara neden olan, böylelikle bitki gelişimini olumsuz yönde etkileyen gerçek strestir.

Bitkilerin maruz kalabilecekleri stresleri iki ana başlık altında toplayabiliriz. Bunlar biyotik (patojenler ve organizmalar arası mücadele) ve abiyotik (yüksek sıcaklık, ışık ve donma, sel stresi, su eksikliği, tuzluluk, radyasyon, kimyasallar) streslerdir. Abiyotik stres formlarının çoğunun temelinde su eksikliği stresi yatkınlıdır (Schinozaki ve Yamaguchi, 1997). Su eksikliği stresi, kuraklık ve osmotik stres isimleri ile de ifade edilebilir.

Kuraklık, bitkileri değişik organizasyon seviyelerinde etkileyen çok boyutlu bir stres çeşididir. Bitkilerin kuraklığa cevapları çok kompleksdir (Blum, 1996). Kuraklığa toleranslı bitkilerin dehidrasyon işlemi, su ilişkilerinde, biyokimyasal ve fizyolojik olaylarda, membran yapısında ve organel ultrastrüktüründeki değişimlerle karakterize edilir (Gaff, 1989; Tuba vd., 1993, 1994, 1996; Safaris, 1998; Stefanovic vd., 1992). Su eksikliği sonucunda; ışık inhibisyonu, absisik asit (ABA) birikimi, prolin, mannosit ve sorbitol, radikal temizleyici bileşiklerin oluşumu (askorbat, glutatyon, α-tokoferol vb.), stoma kapanması, transpirasyon oranında, doku su potansiyellerinde, fotosentez oranında, yeni proteinlerin ve mRNA'ların sentezinde düşüşlerin olduğu bulunmuştur (Peláez vd., 1997).

Su eksikliğinin erken etkilerinden birisi vejetatif büyümeye azalmadır. Gövde büyümesi ve özellikle yaprak büyümesi su eksikliğine kök büyümesinden daha hassastır. Mısır bitkilerine uygulanan kuraklık ile ilgili bir çalışmada yaprak su potansiyeli -0,45 MPa' ya ulaştığında yaprak genişlemesinde önemli bir azalış gözlenmiş, -1.00 MPa' da büyümeye tamamen inhibe olmuştur (Westgate ve Boyer, 1985). Su eksikliği durumunda yaprak alanının azalması bitki için çok faydalıdır. Çünkü bu durum daha küçük yaprak alanına ve azalan transpirasyona neden olur. İyi sulanmış bitkilerle kıyaslandığında, su eksikliği stresine sahip bitkiler daha küçük bir hacme sahip olmaya meyllidirler (Hunt, 1982).

Kuraklığa dirençli bitkilerin birkaç tipik morfolojik özelliği vardır. Örneğin yapraklarının mum ile kaplı olması, yapraklarının kıvrılma potansiyeline sahip olması, güneş ışınlarına bağlı olarak yaprak yönünün değiştirilmesi vb. gibi. Yaprak kıvrılmasının birkaç çöl ve step bitkisinde transpirasyon oranını %46-63'e kadar azalttığı bilinmektedir (Townley-Smith, 1979; Sveshnikova, 1979). Otlardaki yaprak kıvrılması bitkilerin su

eksikliğine güçlü bir cevabıdır (Loresto vd., 1976; O'Toole ve Garrity, 1984). Kırılma üst yaprak yüzeyinden su kaybını indirger ve sonuçta su eksikliğine toleransa büyük oranda katkıda bulunur (O'Toole, vd., 1979).

1.3 Bitkilerin Kuraklığa Cevapları

Kuraklık esnasında çevredeki çözünmüşt maddelerin konsantrasyonunda bir artış olur. Su potansiyelindeki bu farklılık suyun osmotik gradiente göre bitki hücrelerini terk etmesine yol açar. Bitki hücrelerinde çözünmüş madde konsantrasyonu arttıkça ve su potansiyeli düştükçe, bu durum sırasıyla hücresel membranları kararsızlaştırır ve fotosentetik safhanın aksamasına yol açar. Fotosentez yavaşladığında ya da durduğunda hücrelerin kloroplastları ışıkla uyarılmaya başlar. Bu durum hücre membranı ve hücresel enzimlere zarar veren süperoksit ve peroksitler gibi reaktif oksijen türlerinin (ROS) sentezi ile sonuçlanır (Holmberg ve Bülow, 1998). Bitkiler kuraklığa bağlılı fizyolojik olayların üstesinden gelmek için çeşitli stratejiler geliştirmiştir. Bunlar kuraklıktan kaçış, kuraklıktan sakınma ve kuraklık toleransı olmak üzere üç kategoride toplanırlar (Courtois vd., 2000).

1.3.1. Kuraklıktan Kaçış

Kuraklık kaçışı, bitkinin çevresel streslere maruz kalışını azaltmak amacı ile geliştirdiği büyümeye özgürlüğü olarak bilinir. Kuraklık direncinin bu biçimini küçük, kalın kutikulalı, yaprak alt yüzeyinde yüksek oranda stoma ihtiiva eden yapraklar geliştirmek gibi özellikleri ihtiiva eder (Campbell vd., 1999). Ayrıca bu bitkiler gelişimlerinin en hassas safhalarını yoğun yağmurlu periyotlarda tamamlama eğilimindedirler (Courtois vd., 2000).

1.3.2. Kuraklıktan Sakınma

Kuraklıktan sakınma, bitkiler tarafından su eksikliği dönemlerinde yüksek su potansiyelini korumak için geliştirilmiş bir stratejidir (Tripathy vd., 1999). Bitkiler doğal olarak transpirasyonla büyük miktarlarda su kaybederler. Su eksikliği stoma kilit hücrelerinin turgorunu kaybetmesine yol açar. Bunun sonucunda stomalar kapanır ve

transpirasyon oranı önemli ölçüde azalır. Su eksikliği, bitkilerin mesofil hücrelerinde önemli ölçüde ABA sentezlenmesine ve salınmasına yol açar. Absisik asit, kilit hücrelerine etki ederek stomanın kapalı olmasını sağlar. Turgor olayı hücresel büyümeye için gerekli olduğundan, su eksikliği bitkilerde büyümeyi engeller. Çoğu türde (çoğunlukla monokotiledonlarda) yapraklar kuru havalarda kıvrılırlar ve böylece kendilerini strese karşı korumuş olurlar. Yaprakların kıvrılması durumunda stomaların açık olduğu belirlenmiş olup, bu olay fotosentezin devam etmesini sağlar. Aksi halde stomaların kapalı kalması sonucunda fotosentez azalır ve bitkilerin uzun süre hayatı kalması engellenmiş olur (Campbell vd., 1999).

1.3.3. Kuraklık Toleransı

Uzun süreli kuraklık periyotlarında bitkiler su potansiyelindeki azalmadan sakınamazlar. Bu durumda devreye kuraklık toleransı girer. Kuraklık toleransı uzun süreli kuraklığın neden olduğu hasarı sınırlandıran ve bitkilere metabolizmalarını sürdürübilmeye imkanı tanıyan mekanizmaları içerir. Bu mekanizmalar 5 kategoride özetlenebilir. Bunlar osmolitler, iyon uzaklaştırıcılar, iyon taşıyıcıları, hücre zarı düzenleyicileri ve antioksidant enzim sistemleridir (Courtois vd., 2000).

1.3.3.1. Osmolitler

Çoğu bakteri, alg ve bitkiler kuraklık ya da düşük sıcaklık streslerine karşı, şekerler, halkalı ya da halkasız poliyoller, fruktanlar, aminoasitler ve aminoasit türevleri ve kuaterner amino ve sülfonyum bileşiklerini biriktirirler. Bir bitkinin osmotik ayarlaması esas olarak osmolitler olarak adlandırılan düşük moleküller ağırlıklı bu bileşiklerin birikimi ile başarılıır (Delauney ve Verma, 1993; Bartels ve Nelson, 1994; Bohnert ve Jensen, 1996; Bajaj vd., 1999). Osmolitler, osmotik strese cevap olarak sentezlenen ve normal hücresel metabolizmayı durdurumsızın yüksek konsantrasyonlarda bulunan bileşiklerdir (Ramanjulu ve Bartels, 2002). Bu bileşiklerin birikimi çoğunlukla sitoplazmadadır. Osmolitlerin özellikleri kuraklık stresi esnasında turgor basının sürdürülmesini kolaylaştırır. Bu durum stoma açılması, fotosentez ve büyümeyin artırılması gibi fizyolojik olaylara katkı sağlar. Ayrıca proteinlerin etrafındaki su kabuğunu korur yada yeniler.

Bununla birlikte, protein komplekslerini ve membranları kararlı hale getiren bir koruyucu ajan olarak görev yapar (Carpenter vd., 1990; Blum, vd., 1983; Morgan, 1984; Ludlow ve Muchow, 1990; Murata vd., 1992; Galinski, 1993; Papageorgiou ve Murata, 1995; Blum, 1996). Osmolitlerin DNA'yı reaktif oksijen türlerinin yıkıcı etkilerinden koruyarak, serbest radikal temizleyici olarak fonksiyon gördükleri tespit edilmiştir (Akashi vd., 2001). Belirli osmolitlerin, biyosentetik enzimlerini yüksek oranda ekspires eden transgenik bitkileri kullanan araştırmalar, stres koruması için alternatif durumları açığa çıkarmışlardır. Örneğin mannitol, oksidasyona hassas hücresel yapıları, hidroksil radikal oluşumunu azaltarak yada reaktif oksijen türlerini temizleyerek korur (Shen vd., 1997a, b). Glisin betainin düşük konsantrasyonları, fotosentetik protein komplekslerini koruyarak yada hücre membranlarının lipid peroksidasyonunu azaltarak; tuz ve soğuk streslerine toleransı geliştirebilirler (Holmström vd., 2000, Chen vd., 2000). Ayrıca prolin gibi bazı metabolitlerin kısa süreli birikimi streste hücresel redoks durumunu ayarlamak için bir vana olarak fonksiyon görür (Shen vd., 1999; Kuznetsov ve Shevyakova, 1999). Ektoin, fruktan ve trehaloz gibi diğer osmotik koruyucular, membran kararlılığında rol oynarlar (Pilon-Smits vd., 1995; Romero vd., 1997; Nakayama vd., 2000).

1.3.3.1.1. Şekerler ve Stres

Pek çok organizmanın (bakteri ve özellikle mayalarda) kuruyan dokularında yüksek oranda şeker gözlenmiştir. Şekerlerin birikimi, karakteristik olarak kuraklık toleransının gelişimi için bir merkez olarak görülmektedir. Bu durum, geniş sayıda biyomolekülin, şekerlerin varlığında dehidre olduklarında denatürasyona daha az hassas olduklarının gösterilmesiyle desteklenmiştir. Şekerler ayrıca camlaşmayı (virtifikasiyon) kolaylaştırır ve böylece su çekildiğinde meydana gelen kristalleşmeden kaynaklanan hücre hasarını engellerler (Williams ve Leopold, 1989; Hoekstra vd., 2001).

Çim bitkileri ve hububatlar üzerinde yapılan önceki çalışmalar üreme gelişimleri esnasında çeşitli stres durumlarında karbohidratların depo edildiğini göstermiştir. (Meier ve Reid, 1982; Archbald, 1940). Bitkilerin farklı kısımlarında karbohidrat birikimi çeşitli çevresel streslere cevap olarak artırılır (Gorham vd., 1981; Gill vd., 2001; Macleod ve Orquodale, 1958; Prado vd., 2000. Wang vd., 1996). Tuz (Gill ve Singh, 1985) ve su stresleri durumunda (Prado vd., 2000; Siddique vd., 2000) karbohidrat seviyesinde meydana gelen artışların, söz konusu streslere adapte olmaya katkıda bulundukları

kaydedilmiştir. Ayrıca yüksek bitkilerin tohumlarında çözünebilir karbohidratların birikimi ve kuraklık toleransı kazanımı arasında bir korelasyon gözlenmiştir (Leprince vd., 1993). Çözünebilir karbohidratlar arasında sakkaroz ve fruktanların bu streslere adaptasyonda potansiyel bir rolü olduğu kaydedilmiştir (Williams vd., 1992; Housley ve Pullock, 1993; McKersie ve Lehsem, 1994).

Sakarozun, sıvı kristal fazdaki membran fosfolipidlerini korumak ve çözünebilir proteinlerdeki yapısal değişiklikleri önlemek için su ile yer değiştirmede rol oynayabileceği ileri sürülmüştür. Orta bir su eksikliği durumunda (-1,0 MPa) bezelye bitkilerinde nişasta/sakkaroz oranında düşüş olduğu, bu durumda nişasta sentezinin, sakkaroz sentezinden daha fazla inhibe edildiği bulunmuştur (Vassey ve Sharkey, 1989). Stoma kapanması ve CO₂ kaynağının kesilmesi ile fotosentezde azalma meydana gelmesi hem nişasta hem de sakkaroz sentez kapasitelerinde azalmaya yol açar (Yordanov vd., 2000). Artan su eksikliği, 2,6-fruktoz difosfat miktarında büyük bir artışa yol açar. Bu durum fruktoz-6-fosfat ve inorganik fosfat içeriklerindeki artışla açıklanır. Yüksek fruktoz-6-difosfat içeriği trioz fosfatların birikimine yol açtığı ve bu birimin foto inhibitöryona karşı önemli olduğu ileri sürülmüştür (Quick vd., 1989).

1.3.3.1.2. Prolin

Prolin, kuraklık, yüksek tuzluluk, yüksek sıcaklık, donma, UV radyasyonu ve ağır metaller gibi çevresel streslere maruz kalan pek çok bitkide biriken önemli bir organik moleküldür (Yamaguchi-Shinozaki, 2001).

Prolin birikimi, yüksek bitkilerin su eksikliğine ve tuz stresine yaygın bir metabolik cevabıdır. Suda yüksek oranda çözünebilen bu amino asit, tuzcul topraklarda büyüyen birçok halofitik yüksek bitki türünün yapraklarında (Stewart ve Lee, 1974; Briens ve Lahrer, 1982), su stresi yaşayan bitkilerin yaprak dokularında ve gövde apikal meristemlerinde (Barnett ve Naylor, 1996; Bogges vd., 1976; Jones vd., 1980), düşük su potansiyelinde büyüyen kök apikal bölgelerinde (Voetberg ve Sharp, 1991), su stresine adapte edilmiş bitki hücre kültürü süspansiyonlarında (Tal ve Katz, 1980; Handa vd., 1986; Rhodes vd., 1986) ya da tuz stresinde (NaCl) (Katz ve Tal, 1980; Tal ve Katz, 1980; Treichel, 1986; Binzel vd., 1987; Rhodes ve Handa, 1989) birliği tespit edilmiştir. Bitkilerde su yada tuzluluk stresine cevap olarak biriktirilen maddeler esas olarak sitozolde yerleşir (Leigh vd., 1981; Ketchum vd., 1991; Pahlich vd., 1983). Mısır kök

apikal meristemlerinde su eksikliğine cevap olarak prolin biriminin meydana geldiği kaydedilmiştir (Ober ve Sharp, 1994; Sharp vd., 1994). Mısır köklerinin prolini sentezlediği bilinmesine rağmen (Oaks vd., 1970), prolinin apikal bölgedeki artan biriminin, floem yoluyla apekse taşınamının artması ile mi yoksa apeksdeki *de novo* prolin sentezi yoluyla mı (Voetberg ve Sharp, 1991) meydana geldiği açık değildir.

Eksojenik olarak verilen prolin, bakterilerin yüksek tuzlu çevrelerde büyümeyi kolaylaştırmaktadır (Csonka, 1989; Storm vd., 1983; Csonka ve Hanson, 1991; Yancey, 1994). Ayrıca yüksek bitki hücreleri için osmotik stres (Tal ve Katz, 1980; Handa vd., 1986; Lone vd., 1987) ve dondurucu sıcaklıklardan koruyucu (cryoprotective) etki göstermektedir (Withers ve King, 1979; van Swaaij vd., 1985; Duncan ve Widholm, 1987; Songstad vd., 1990; Santarius, 1992). Prolinin sitoplazmadaki biriminin diğer solütlerin konsantrasyonundaki bir azalma ve sitozolik su hacminde bir artış takip eder (Cayley vd., 1991, 1992).

Prolin, membranları ve proteinleri, yüksek konsantrasyonlardaki inorganik iyonların ve yüksek sıcaklıkların zararlı etkilerinden korur (Pollard ve Wyn Jones, 1979; Paleg vd., 1981; Santarius, 1992; Santoro vd., 1992). Ayrıca prolinin, protein uyumlu hidrotrop (Srinivas ve Balasubramanian, 1995) ve hidroksil radikal temizleyicisi olarak (Smirnoff ve Cumbes, 1989) fonksiyon gösterebileceği rapor edilmiştir.

1.3.3.2. Antioksidant Enzim Sistemleri

Yapraklar optimal şartlarda, antioksidant enzimlerce ve metabolitlerce zengindir. Bu enzimler oksidatif hasarı indirgeyerek, aktif oksijene (O_2^-) karşı bir savunma geliştirirler. Antioksidant metabolitler kloroplastlarda son derece yüksek oranlarda mevcuttur (Iturbe-Ormaexté vd., 1998). Kuraklık stresi artan reaktif oksijen türleri üretimi ile sonuçlanır ve bu yüzden antioksidanların seviyesinin artırılması gereklidir. Bitkilerin çeşitli streslerin üstesinden gelme kabiliyetleri ve üretkenliklerini sürdürmeleri H_2O_2 , OH^- ve O_2^- gibi stres teşvikli toksik oksijen türlerinin temizlenmesi ile ilişkilidir. Hidrofilik antioksidanlar glutatyon ve askorbat, oksijen radikallerinin etkili temizleyicileridir (Polle ve Rennenberg, 1994). Çevredeki farklı zarar verici değişimlere bitki cevabının önemli bir biyokimyasal mekanizması, peroksidaz, katalaz ve süperoksit dismutazı da içeren enzim kompleksleridir. (Van Assche ve Clijsters, 1990). Bu enzimler, büyük miktarda reaktif oksijen türlerine

(ROS) maruz kalan hücrelerin bütünlüğünü sürdürmek için gereklidirler. Antioksidant enzim sistemleri oksidatif strese karşı hidroksil temizleyen proteinlerdir. Kuraklık stresinin bir sonucu olarak bitkilerde, fotosistemde elektronların yanlış yönelmesinden ya da diğer biyokimyasal aksaklılardan dolayı reaktif oksijen türlerinin oluşumu son derece hızlıdır. Genellikle, ROS (özellikle süperoksit ve hidroksil radikalleri) DNA, protein ve lipidler gibi hücresel bileşenlere zarar verir. Lipid peroksidasyonu bitki hücre membranlarının bütünlüğünü bozar. Sonuç olarak gerekli iyonlar hücrelerden ve organellerden sızar. Bunun sonucu olarak, membran fonksiyonlarında ve metabolik dengede bozukluklar oluşur. Bununla birlikte DNA bütünlüğünün herhangi bir biçimde zarar görmesi bitkinin optimal fonksiyonları için gerekli proteinlerin sentezlenemeyeceği anlamına gelir. Benzer biçimde biyokimyasal reaksiyonlar için gerekli önemli proteinlerin denatürasyonu tüm bitkinin olumsuz yönde etkilenmesine ve bu durumun üstesinden gelememesine yol açar. Antioksidant enzimlere, glutatyon redüktaz, süper oksit dismutaz, askorbat peroksidaz ve katalaz; serbest radikal temizleyicilerine ise askorbat, tokoferol ve yükseltgenmiş (GSSH) ve indirgenmiş (GSH) glutatyon örnek olarak verilebilir. (Bajaj vd., 1999; Price vd., 1994).

Peroksidazlar (POD) üzerinde yapılan yakın geçmişteki araştırmalar Saunders vd., (1964) tarafından incelenmiştir. İlk renk veren reaksiyon guaiacum'un biyolojik bir materyal ile muamelesi neticesi 1809 yılında gerçekleştirilmiş, fakat peroksidaz terimi ilk kez bir enzimin yabani turptan izole edilişinden yaklaşık bir asır sonra kullanılmıştır. Peroksidazlar bitkiler ve hayvanlar aleminde geniş bir yayılışa sahiptirler (Gaspar vd., 1982; Saunders vd., 1964). Bitki peroksidazları primer yapılarındaki faklılıklara dayanarak üç sınıfa ayrılır (Welinder, 1992). Birinci sınıf peroksidazlar bitki, bakteri ve mayalardaki (*Saccharomyces cerevisiae*) intraselular enzimleri ihtiva eder. Bu sınıfa dahil olan enzimlere, mikrobiyal sitokrom c peroksidaz (EC 1.11.1.5) ve askorbat peroksidaz örnek olarak verilebilir. İkinci sınıf bitki peroksidazları mantarlarda bulunan peroksidazlardır. Bu sınıfa örnek olarak lignin peroksidaz (EC 1.11.1.14) verilebilir. Üçüncü sınıf bitki peroksidazları, (EC 1.11.1. 7) gerçek peroksidazlar olarak tanımlanmışlardır. Bu enzimler hücrelerin dışına salınır ya da vakuollere taşınırlar (Welinder, 1992). Bu sınıfa ait bitki peroksidazlarının H_2O_2 'in uzaklaştırılması, toksik indirgeyicilerin oksidasyonu, lignin sentez ve yıkımı (Grisebach, 1981), yaralanmaya karşı savunma cevabı (Espelie vd., 1986) ve oksin katabolizması (Hinnman ve Lang, 1965) gibi birkaç fizyolojik fonksiyonu ileri sürülmüştür. Glukanları ve kalsiyumu ihtiva eden bir

hemoprotein olan peroksidaz, (EC 1.11.1.7) (Van Huystee R.B., 1990) bitkilerde en bol bulunan enzimlerden biridir. Peroksidazın hem sitozolde hem de bazı organellerde bulunduğu bu enzimin hücre metabolizmasında farklı olaylara iştirak ettiğini göstermiştir (Gaspar vd., 1982). Dış kaynaklı sinyallere ve zor çevre koşullarına aktivitesindeki çok hızlı değişimlerle cevap veren bir enzim olarak uzun süredir yapılan peroksidazlar H_2O_2 'in varlığında, *in vitro* hidrojen donörü olarak çeşitli organik ve inorganik substratları kullanabilirler (Van Assche ve Clijsters, 1986). H_2O_2 , birliği alanlarda, hücresel bütünlüğün kaybolmasına ve metabolik fonksiyonların bozulmasına yol açan oksidatif hasarı başlatabilen güçlü bir oksidanttır (Foyer vd., 1997). H_2O_2 , özellikle kloroplastlarda düşük konsantrasyonlarda olduğu zaman bile toksiktir. Çünkü çeşitli çiplak sülphidril gruplarına sahip Calvin döngüsü enzimlerini inaktif hale getirir. Böylece fotosentetik CO_2 assimilasyonunu azaltır (Asada ve Takashi, 1987) ve proteinleri denatürasyon için işaretleyerek metal katalizli oksidasyon sistemlerinde yer alır (Levine vd., 1996). Katalaz (CAT) ve POD bitkilerde H_2O_2 'in enzimatik olarak uzaklaştırılması için iki önemli sistemdir (Willekens vd., 1995).

1.4. Proteinler

Proteinlerin, su eksikliği stresi ile ilgili birkaç önemli metabolik fonksiyonun olduğu belirlenmiştir. Örneğin; su kanal proteinleri suyun membranlardan hareketinde fonksiyoneldir. Bununla birlikte prolin-5-karboksilat sentaz ve kolin oksidaz gibi bazı enzimler çeşitli osmotik koruyucuların biyosentezi için gereklidirler. Geç embriyogenetik (late embryogenesis abundant (LEA)) proteinleri ve osmotin, makromolekülleri ve membranları korur. Çaperonlar ve proteazların protein katlanması ve translokasyonunda rol aldıkları belirtilmiştir. Glutatyon-S-transferaz, katalaz, süperoksit dismutaz ve askorbat peroksidaz gibi detoksifikasyon enzimleri reaktif oksijen türlerinden korunmada önemli rol oynarlar. Düzenleyici fonksiyonları olan, protein kinazlar ve transkripsiyon faktörleri gibi sinyal transduksiyonunda yer alan proteinlerin stres cevaplarını yönetmede daha geniş rolleri vardır. Su eksikliği, bu stresle yakından ilişkili olmayan daha çok hücre hasarına karşı reaksiyon gösteren proteinlerin ekspresyonunu da teşvik eder. Bu proteinler farklı sıcak şok protein sınıfları konjugatları (Heikkila vd., 1984; Almoguera ve Jordano, 1992; Kiyosue vd., 1994), tiyol proteazlar (Guerrero vd., 1990;

Williams vd., 1994), proteinaz inhibitörleri (Downing vd., 1992; Reviron vd., 1992) ve osmotin (Kononowicz vd., 1992) dir.

1.5. Marantaceae Familyasının Özellikleri

Tropik bölge ormanlarında 30 cins ve yaklaşık 350 kadar türü bulunan, otsu çok yıllık rizomlu bitkilerdir. Esas olarak tropiklerde ve Amerika'da yayılış gösterir. Çoğu sera ve süs bitkisidir. Saphı ve asimetrik yapraklar distik dizilişlidir ve petiollerin tabanında dar veya geniş olabilen kın mevcuttur. Pinnat damarlar orta damardan paralel olarak uzanır (Heywood, 1978). Yapraklarında bazı baklagillerde olduğu gibi akordiyon dokulu pulvinus adı verilen hareket sağlayıcı yastıkçıkların bulunusu ilginçtir (Zeybek ve Zeybek, 1994).

Asimetrik çiçeklerin oluşturduğu çiçek durumu başak yada bileşik rasemdir. Andrekeum'da yalnız yarım anter (bir teka) verimli kalmış diğerleri petaloid olmuştur (staminodium). İç dairenin staminodyumu miğfer şeklini almış ve stilus'un etrafını sarmıştır. Bir böceğin çiçeği ziyaretinde, miğfer içinde sarılı stilus dışarı fırlayarak böcek üzerine dokunur ve diğer çiçeklerin polenlerini alır (Zeybek ve Zeybek, 1994).

Meyveleri kapsüla, bakka, nuks tipinde olabilir. Üç bileşik karpelli ovaryum, alt durumlu olup, 1 veya 3 lokulus'a sahiptir (Heywood, 1978). Tohumlarda arillus ve periperm vardır (Zeybek ve Zeybek, 1994).

Marantaceae, Musaceae, Zingiberaceae, Cannaceae ve Strelitziaceae familyaları ile yakın olarak ilişkilidir. Bu familyalar aynı takımda (Zingiberales) yer alan önemli vejetatif ve floral karakterleri paylaşır. Marantaceae, hem stamen hem de karpellerindeki aşırı indirgenme özelliği ile bu grubun çok fazla görülen bir familyasıdır (Heywood, 1978).

Önemli türlerinden *Maranta arundinacea* Batı Hindistan Adalarında yetişir. Rizomlarından nişasta elde edilir. *Maranta bicolor* ise vatanı Brezilya olan bir süs bitkisidir (Zeybek ve Zeybek, 1994).

Çalışmada kullanılan *Ctenanthe*, herdem yeşil taksonları olan bir cins olup, çalımsı çok yıllık bitkilerdir. Dekoratif yaprakları için yetiştirilir. Ayrıca soğuğa hassastır ve minimum 15 °C'de yaşayabilir. Nemli ortamları ve yarı gölgeli alanları tercih eder. Nemli fakat iyi drenajlı topraklarda daha iyi büyür. Üretilmesi ise ilkbaharda bölünerek yapılır (Brickell, 1994). *Ctenanthe pilosa*, *Ctenanthe setosa*, *Ctenanthe amabiüs* gibi bazı türlerinde nektar sekresyonu görülür (Kirchoff ve Kennedy, 1985).

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Deney Materyalinin Sağlanması

Ctenanthe setosa (Marantaceae) fideleri esit büyüklükteki saksılara (saksı yüksekliği , 16,3 cm, üst çapı, 17,9 cm, alt çapı, 11,2 cm) dikilerek vejetatif olarak çoğaltıldı. Fidelerin orta ışık yoğunluğu ($250 \mu\text{mol} (\text{foton}) \text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$) ve laboratuar koşullarında ($\sim 22,5^{\circ}\text{C}$) büyümeleri sağlandı. Daha sonra bu bitkilere 60 gün süreyle kuraklık muamelesi gerçekleştirildi. Kırılmış yapraklar kesildikten sonra bitkiler yeniden sulandı ve denemelerde kullanılacak olan kısa yaprak saplı, küçük yapraklı fidelerin yetiştirilmesi ve çoğaltılması sağlandı. Bu amaçla saksılar 90 gün boyunca düzenli olarak sulandılar. Yetişirilen bitkiler kuraklık muameleleri için 70 gün süreyle susuz bırakıldı. Kırılma derecelerine ve kuraklık süresine bağlı olarak, stres geçirmemiş bitkilerde dahil olmak üzere bitki yapraklarından örnekler alınarak biyokimyasal analizler yapıldı.

2.2. Yaprak Kırılma Derecesinin Ölçülmesi

Uygulamalar sonucunda ortalama kıvrılan % yaprak kıvrılma derecesi Premachandra vd.,'e (1993) göre ölçüldü.

Yaprak kıvrılma derecesi, ölçümlerin 3 tekerrürlü olarak yapılmasıyla belirlendi.

2.3. Prolin Tayini

Prolin miktarı spektrofotometrik olarak Asit-Ninhidrin metodu ile belirlendi (Bates vd., 1973). Bu amaçla önce saf prolin (Merck, K1033734) kullanılarak standart hazırlandı. Bunun için 1 ml'sinde 100 μg prolin içeren çözeltiden 0.1; 0.2; 0.3; 0.4; 0.5 ml alınarak % 3' lük sülfosalisilik asitle (Acros Organics, C.A.S. 5965-83-3) 1 ml'ye tamamlandı. Üzerine 1 ml glasial asetik asit (Riedel-de Haen, 27225) ve 1 ml asit-ninhidrin çözeltisi (1.25 g ninhidrin (Merck, K32406862), 30 ml glasial asetik asit ve 20 ml 6 M fosforik asit (Merck, 2275863)) içerisinde hafif ısıtılıarak çözüldü) ilave edildi. Numuneler $100^{\circ}\text{C}'$ ye ayarlı etüvde (Nüve FN 3000) 1 saat bekletildikten sonra reaksiyonu durdurmak için buz banyosunda 10

dakika tutuldu. Her tüpe 3 ml toluen (Merck K32200627) ilave edip, vorteksle (Fisons, WhirliMixer) karıştırıldıktan sonra 520 nm dalga boyunda spektrofotometre (Techcomp 8500 II) ile absorbansları ölçüldü. Kör olarak toluen kullanıldı.

Stres etkisi ile prolin değişimini belirlemek için stres geçirmiş (kırılmış) ve stres geçirmemiş (kontrol) bitkilerden alınan yapraklar 60°C' ye ayarlı etüvde kurutuldu. Bunlardan 0.24 g alınarak 8 ml %3'lük sülfosalisilik asit içinde homojenize edildi ve homojenat 4 kat tülbentten süzüldü. Süzüntü 5000 rpm' de 5 dakika santrifüj edildi. Süzüntüden 1'er ml alınıp yukarıdaki işlemlerden geçirildi. Elde edilen absorbans değerleri spektrofotometrede hazır olan standart grafik üzerinden μg prolin olarak belirlendi ve buradan 1 g kuru ağırlıktaki prolin miktarı hesaplandı.

2.4. Yapraklarda İndirgen Şeker Tayini

Bu yöntem Ross (1959) ve Kaplankıran'a (1985) göre uygulandı. İçerisinde 0.0; 0.2; 0.3; 0.4; 0.5; 1.0 mg D(+) glukoz (Merck, K3529646) bulunan 0,250 ml'lik seri çözeltiler hazırlandı. Bu çözeltilerin her birine 0,750 ml dinitrofenol çözeltisi ilave edildikten sonra 65-70°C'ye ayarlı su banyosunda (Ikamag REB) 6 dakika tutuldu. Daha sonra 3 dakika devamlı akan su altında soğutuldu ve 600 nm dalga boyunda spektrofotometrede (Techcomp 8500 II) ölçüldü. Birinci tüp kör olarak kullanıldı. numunelerdeki indirgen şeker miktarı, mg/g kuru ağırlık olarak hesaplandı.

Yapraklardaki stres etkisi ile indirgen şeker değişimini belirlemek için, stres geçirmiş (yaprakları kırvılmış) ve stres geçirmemiş (kontrol) yapraklar kesilerek 60°C' lik etüvde (Nüve FN 3000) kurutuldu. Bunlardan 0,1 g alınarak, 5 ml, %80 Etanol ile homojenize edildi. 2 kat tülbentten süzüldü. Süzüntü 5000 rpm'de 5 dakika santrifüj (Nüve NF 615) edildi. Süpernatanttan 0,250 'şer ml alınarak, yukarıda anlatılan işlemlerden geçirilerek, absorbansları okundu ve indirgen şeker miktarları belirlendi.

Çalışmada kullanılan dinitrofenol çözeltisi, A ve B olarak adlandırılan iki farklı çözeltinin karışımı olarak hazırlandı.

A çözeltisi: 1.786 g 2,4- α -dinitrofenol (Aldrich, D198501) hassas terazide (GEC AVERY) tartıldı. %5'lük NaOH (Merck, B164562 225) hazırlandı (6,25 g NaOH 125 ml saf suda çeşme suyu altında soğutularak çözülür). 1,786 g 2,4- α -dinitrofenol, bir beher içersine konulmuş olan 57,5 ml %5'lük NaOH üzerine ilave edildi. Beher kaynar su banyosuna

koyularak karıştırıldı. Bulanıklık giderilinceye kadar ısıtılmaya devam edildi. Bulanıklık tamamen kaybolunca, 0,625 g fenol (Surechem Products LTD.) ilave edildi ve tekrar bulanıklık giderilinceye kadar ısıtıldı.

B çözeltisi: 25 g sodyum potasyum tartarat (Sigma, S-2377), 125 ml saf suda çözüldü. A çözeltisi kaynar su banyosundan çıkarılır çıkarılmaz, B çözeltisi ile süratle karıştırıldı ve karışım saf suyla 250 ml 'ye tamamlandı.

2.5. Proteinlerin Analizi

2.5.1. Protein Özütünün Hazırlanması

Yapraklardan protein ekstraksiyonu için, strese maruz kalmış ve kontrol bitki yapraklarından 0.5 g alınarak 2,5 ml, pH 6,5 fosfat tamponu ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, Merck, K91148873) ve %0.1 PVPP (Sigma, P-6755) ilavesi ile buz üzerinde homojenize edildi. Elde edilen homojenat kalın tülbentten süzüldü. Süzüntü +4°C'de 20000 rpm'de 20 dakika santrifüj (Sigma 3 VK 18) edildi. Bu işlemlerden sonra elde edilen süpernatant protein miktarı ve Peroksidaz (POD) aktivitesi tayinleri için kullanıldı.

2.5.2. Çözünebilir Protein Tayini

C. setosa bitkisinde çözünebilir protein miktarının tayini Bradford'a (1976) göre yapıldı. Bu yöntem, fosforik asitli ortamda proteinlerin Coomassie Brilliant Blue (CBB G-250, Sigma, B-0770) reaktifi ile kompleks oluşturmaları ve oluşan kompleksin 595 nm'de maksimum absorbans göstermesi gerçeğine dayanır. Bu yöntemin diğer protein yöntemlerinden üstün tarafı, çok kısa sürede uygulanması, bozucu faktörlerin söz konusu olmaması ve protein boyalı kompleksinin çözeltilerde uzun süre kalmasıdır. Ayrıca proteine boyanın bağlanması, 2 dakika gibi çok kısa bir sürede gerçekleşir.

Protein tayini için 100 ml'inde 0.01 μg protein ihtiva eden standart Bovin Serum Albumin ((BSA), Merck, K20844518) çözeltisinden tüplere 0.2; 0.4; 0.6; 0.8; 1.0; 1.2; 1.4; 1.6 ml alındı. 0.05 M fosfat tamponu (pH 6.5) ile tüm tüplerin hacimleri 2 ml'ye tamamlandı. 1.5 ml Coomassie Brilliant Blue G-250 reaktifi ile her bir tüpe ilave edildi. Tüpler vorteksle (Fisons WhirliMixer) karıştırıldı. 2 dakika sonra 595 nm'de köre karşı absorbans değerleri

spektrofotometre (Techcomp 8500 II) ile okundu. Kör olarak, içerisinde 2 ml tampon ve 1.5 ml boyalı çözeltisi konmuş olan tüp kullanıldı. 595 nm'de okunan absorbanslara karşılık gelen μg protein değerleri belirlendi.

Numunedeki çözünebilir protein miktarını bulmak için hazırlanan protein özütünden 0.1 ml alınarak üzerine 0.05 M fosfat tamponu (pH 6,5) ilave edildi ve 1.5 ml Coomassie reaktifi kullanılarak vortekste karıştırıldı. 2 dakika sonra 595 nm'de spektrofotometrede absorbanslan ölçüldü. Numunedeki protein miktarları "mg protein/g taze ağırlık" olarak ifade edildi.

2.5.3. Peroksidaz Aktivitesi Tayini

Peroksidaz aktivitesi spektrofotometrik olarak Rodriguez ve Sanches (1982)'in tanımladığı gibi Van Lelyveld ve Pretarius (1973) metodunun biraz değiştirilmesiyle ölçüldü. Sübstrat olarak 40 mM guaiacol (Sigma, G-5502) ve 26 mM H_2O_2 (Merck, K3506500) çözeltileri kullanıldı.

Aktivite tayini için, içerisinde 1 ml guaiacol, 0,01 ml enzim ekstraktı ve 1,490 ml 0,05 M sodyum fosfat tamponu (pH 6,5) konulan tüpler, 25°C'ye ayarlı su banyosunda (Ikamag REB) 15 dakika bekletildi. Tüp içerisindeki karışım spektrofotometre küvetine dökülkerek üzerine 0,5 ml H_2O_2 ilave edildi. 420 nm dalga boyunda meydana gelen absorbans değişimi 3 dakika boyunca altmış saniye arayla okundu (Techcomp 8500 II). Enzim aktivitesi " ΔA_{420} /dk/g taze ağırlık" cinsinden ifade edildi.

2.5.4. Peroksidaz İzoenzimlerinin Belirlenmesi

Peroksidaz izoenzimleri Liu, (1973) tarafından tanımlanan poliakrilamid jel elektroforezi (Hoefer SE 600) ile belirlendi. %10 ayırma jeli kullanıldı. 100 μl toplam hacim içerisinde 35 μg protein, % 80 gliserol (Merck, K14865291) ve % 0,1 lik bromofenol blue boyası (Fischer Sci., B-857337915) ve 1 M pH 6,8 Tris (AppliChem, A2264) içeren enzim numuneleri bir enjektör yardımıyla kuyucuklara yüklandı. Yürütmeye tamponu (14,4 gr/lt glisin (Sigma, G-7126) ve 3 gr/lt tris, pH 8,3) kullanılarak +4 °C de 20 mA akımda 4-6 saat yürütüldü. Peroksidaz izo enzimlerinin analizi için jel dikkatli bir şekilde çıkarılarak, benzidin (Fluka chemika, 12115) ve H_2O_2 (Merck, K3506500)

sübstratıyla hazırlanan çözelti (0,1 g benzidin/100ml, 0,2 M sodyum asetat pH 5,0 (Merck, 2197458) ve 2,5 ml %3 H₂O₂) ile 35°C' de 20 dakika inkübe edildi (Thermolyne Compact CO₂ İnkübatör). Daha sonra %40 metanolde fiske edildi. Peroksidaz bantlarının Rf değerleri hesaplanarak, fotoğraf üzerinde gösterildi.

2.6. Toplam Çözünebilir Karbohidrat Tayini

Toplam çözünebilir karbohidratlar Dubois vd., 'ye (1956) göre belirlendi. Bu amaçla glukoz stoğu (20 μ g/ml) hazırlandı. Kör olarak 1 ml H₂O, 1ml % 5 fenol (Surechem Products LTD., P 1922) ve 5 ml H₂SO₄ içeren bir tüp hazırlandı. Standart ölçümü için 1 ml glukoz stoğu, 1 ml % 5 fenol ve 5 ml H₂SO₄ (Sigma, 33, 974-1) içeren bir tüp hazırlandı her iki tüp fenol ve H₂SO₄ ilavelerinden sonra birer kez vorteks (Fisons WhirliMixer) ile karıştırılarak soğumaya bırakıldı.

0,1 g kuru numune (yaprak) % 80 etanol ile homojenize edildi. 5000 rpm de 5 dakika santrifüj (Nüve FN 615) edildikten sonra süpernatant +4°C 'de depolandı. Spektrofotometrik ölçümler için bir tüp içerisine konulan 100 μ l numune üzerine 900 μ l su ilave edilerek seyreltildi. 1ml fenol ilave edilerek karıştırlıdı. 5 ml H₂SO₄ ilave edilerek tekrar karıştırlıdı ve soğumaya bırakıldı. 490 nm de köre karşı absorbanslar okunarak (Schimadzu UV-120-01) toplam şekerlerin miktarı mg/100 g kuru ağırlık olarak ifade edildi.

2.7. İstatistik Analizler

Üç tekrarlı olarak gerçekleştirilen denemeler sonucu elde edilen ortalama değerler arasındaki farklılığı belirlemek için Statistical Package for Social Sciences (SPSS) 10.0 paket programı içerisinde yer alan LSD Çoklu Karşılaştırmalı Testi kullanıldı.

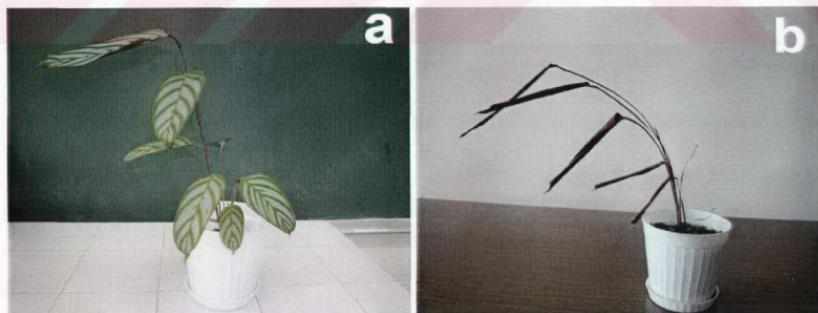
3. BULGULAR

3.1 Morfolojik Gözlemler ve Kuraklığın % Su İçeriğine Etkisi

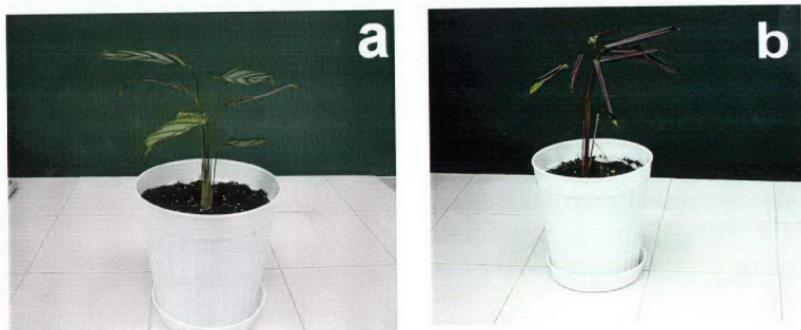
Ağır kuraklık stresi geçirmiş *C. setosa* bitkisinin yeni kuraklığa koşullarına adaptasyon yeteneğinin araştırıldığı bu çalışmada ilk kuraklık periyodu öncesi ölçülen 23 ortalama yaprak alanı $89,7 \text{ cm}^2$ ($n=23$), ortalama yaprak sapi uzunluğu $46,35 \text{ cm}$ ($n=15$) iken, kuraklık periyodu sonrası elde edilen bitkilerin, ortalama yaprak alanları $27,56 \text{ cm}^2$ ($n=23$) ve yaprak sapi uzunluğu ise $16,78 \text{ cm}$ ($n=15$) olarak belirlenmiştir.

Kuraklık periyodunun 23, 30, 38, 44, 52, 60 ve 70'nci günlerinde kısa yaprak saphı, küçük yaprak alanlı bitkilerin yaprak kıvrılması değerleri ölçülmüştür. Kuraklığın süresine bağlı olarak kıvrılma derecelerinde artış gözlenmiştir (Tablo 1.). Artan kuraklık periyoduna bağlı olarak kontrol bitkilerinde $\sim\%$ 84,8 olan su içeriği 25. günde ($\sim\%76,2$), 30. günde ($\sim\%79,5$), 38. günde ($\sim\%78,5$), 44. günde ($\sim\%79,2$), 52. günde ($\sim\%77,7$), 60. günde ($\sim\%71,9$) ve 70. günde ($\sim\%58,9$) olarak bulunmuştur. Bu değerler bize kuraklığa bağlı olarak % su içeriğinde bir azalışı ifade etmektedir.

Kuraklık stresine maruz kalmış ve kalmamış bitkiler Şekil 1 ve Şekil 2 de gösterilmiştir.



Şekil 1. *C. setosa*'nın kuraklık stresine maruz kalmamış (a) ve strese maruz kalmış (b) görünümü



Şekil 2. *C. setosa*'nın ilk kuraklık periyodu sonrası elde edilen formu (a) ve ikinci kuraklık periyoduna maruz kalan (b) görünümü

Tablo 1. Kuraklık Stresinin Yaprak Kırılmasına Üzerine Etkisi

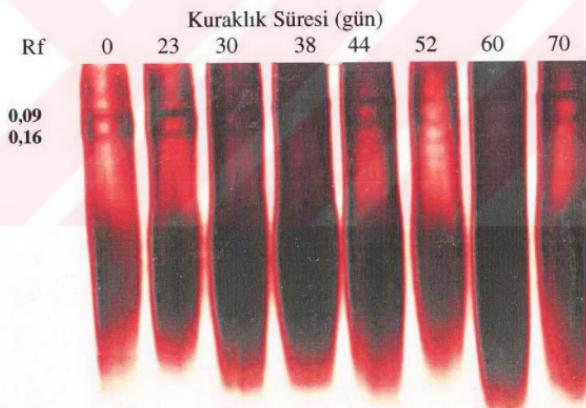
Kuraklık süresi (gün)	Yaprak kıvrılma derecesi (%)
23	* $70,9 \pm 5,5$ b
30	$80,1 \pm 3$ a
38	$81,1 \pm 2,5$ a
44	$81,5 \pm 4,1$ a
52	$82,3 \pm 4,9$ a
60	$85,1 \pm 3,6$ a
70	$87,1 \pm 4,6$ a

* Üç tekrarın ortalamaları arasında $p = 0,05$ önem seviyesinde LSD ile belirlenen farklılık ve benzerlikler harfler ile ifade edilmiş ve Ortalamaların standart sapmaları (\pm) verilmiştir. Aynı harf ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemsizdir.

3.2. Kuraklık Stresi Boyunca Peroksidaz Aktivitesinde Meydana Gelen Değişimler

Kuraklığın Peroksidaz (POD) aktivitesi üzerinde ne gibi değişimler meydana getirdiğinin araştırıldığı bu çalışmada spektrofotometrik ölçümler sonucu, kontrole kıyasla enzim aktivitesinde bir artış olduğu ve bu artışların kontrole kıyasla istatistik olarak önemli olduğu kaydedildi. En yüksek enzim aktiviteleri kuraklığın 60 ve 38'inci günlerinde belirlendi. Enzim aktivitelerinin LSD testi ile kendi içlerinde değerlendirilmesi sonucu kuraklığın 23 ve 30'uncu ve 44 ve 52'inci günlerindeki aktiviteler arasında istatistik olarak önemli bir farkın olmadığı gözlandı (Tablo 2.).

POD enzim aktivitesinin doğal elektroforez ile gösterildiği denemedede ise en yüksek aktivitenin görüldüğü, 0,09 Rf değerinde kuraklığın 38 ve 60'ncı günlerinde, diğer günlere göre daha aktif peroksidaz bantları elde edildi. 0,16 Rf değerinde enzim aktivitesinin, 0,09 Rf deki aktiviteye kıyasla daha az olduğu görüldü. Aynı Rf değerlerinde kuraklığın 30, 38, ve 60'ncı günlerinde yüksek aktiviteli bantlar gözlandı (Şekil 3).



Şekil 3. Kuraklık stresi uygulamaları boyunca POD bantlarının görünüşü

Tablo 2. Kuraklık Stresinin Peroksidaz (POD) Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi

Kuraklık süresi (gün)	POD aktivitesi ($\Delta A_{420}/dk/g$ taze ağırlık)
0 (Kontrol)	* 31,3±4 g
23	51,9±9 f
30	47,7±28 df
38	213,8±18 b
44	126,6±11 e
52	120,3±3 e
60	246,3±19 a
70	199,5±19 c

* Üç tekrarın ortalamaları arasında $p = 0,05$ önem seviyesinde LSD ile belirlenen farklılık ve benzerlikler harfler ile ifade edilmiş ve ortalamaların standart sapmaları (\pm) verilmiştir. Aynı harf ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemsizdir.

3.3. Kuraklık Stresi Boyunca Çözünebilir Protein Miktarındaki Değişim

Kuraklık stresi süresince çözünebilir protein miktarlarındaki değişimin araştırıldığı bu çalışmada, kontrole kıyasla çözünebilir protein miktarlarında genel bir azalış gözlandı. Bu azalışın istatistik açıdan önemli olduğu belirlendi. Kuraklığın 70. gününde ise protein miktarının kontrole göre önemli ölçüde değişmediği görüldü. Bununla birlikte kontrole göre çözünebilir protein miktarında en yüksek azalının meydana geldiği, kuraklığın 23. günü ile kıyaslandığında artan kuraklık süresi ile birlikte çözünebilir protein miktarlarında istatistik olarak önemli bir artış gözlandı. Ortalamaların kendi aralarında LSD testi ile kıyaslanması sonucu kuraklığın 30, 38 ve 52'nci günlerinde, 38 ve 44, ayrıca 60 ve 70'nci günlerindeki protein miktarlarındaki değişimlerin istatistik açıdan önemli olmadığı belirlendi (Tablo 3.).

Tablo 3. Kuraklık Stresinin Çözünebilir Protein Miktarına Etkisi

Kuraklık süresi (gün)	Çözünebilir protein (mg/g taze ağırlık)
0 (Kontrol)	* $3,15 \pm 0,3$ a
23	$1,43 \pm 0,04$ f
30	$2,46 \pm 0,02$ e
38	$2,57 \pm 0,02$ de
44	$2,73 \pm 0,03$ cd
52	$2,34 \pm 0,1$ e
60	$2,83 \pm 0,1$ bc
70	$2,98 \pm 0,1$ ab

* Üç tekrarın ortalamaları arasında $p = 0,05$ önem seviyesinde LSD ile belirlenen farklılık ve benzerlikler harfler ile ifade edilmiş ve ortalamaların standart sapmaları (\pm) verilmiştir. Aynı harf ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemsizdir.

3.4. Kuraklık Stresi Boyunca Prolin Miktarındaki Değişim

Kuraklığın prolin seviyesi üzerindeki etkisinin araştırıldığı bu çalışmada kuraklığın 23'ncü gününden itibaren prolin seviyesinde kontrole göre bir artış tespit edildi. En yüksek prolin seviyesi kuraklığın 70'nci gününde belirlenirken en düşük prolin seviyesi 23'ncü günde tespit edildi. Kuraklığın 23'ncü günündeki azalış ve 52, 60 ve 70'nci günlerindeki artışın, kontrole göre istatistik açıdan önemli olduğu belirlenirken; 30, 38 ve 44'ncü günlerdeki prolin seviyesi artışının kontrole göre istatistik açıdan önemli olmadığı tespit edildi (Tablo 4.).

Tablo 4. Kuraklık Stresinin Prolin Miktarı Üzerine Etkisi

Kuraklık süresi (gün)	Prolin (mg/g kuru ağırlık)
0	41,7±3 d
23	29,5±3,4 e
30	39,7±1,5 de
38	40,9±3,5 de
44	55,1±7 d
52	95,1±5 c
60	169±24 b
70	231,4±6 a

* Üç tekrarın ortalamaları arasında $p = 0,05$ önem seviyesinde LSD ile belirlenen farklılık ve benzerlikler harfler ile ifade edilmiş ve ortalamaların standart sapmaları (\pm) verilmiştir. Aynı harf ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemsizdir.

3.5. Kuraklık Stresi Boyunca Toplam Çözünebilir Karbohidrat Miktarındaki Değişim

Kuraklık stresi boyunca toplam çözünebilir karbohidrat seviyesinin araştırıldığı bu çalışmada karbohidrat seviyesindeki en yüksek değer kuraklığın 60'ncı günü 522,2 mg/g kuru ağırlık olarak, en düşük değer ise kuraklığın 70'nci gününde 470,1 mg/g kuru ağırlık belirlendi. Bununla birlikte bu değişimin istatistik açıdan önemsiz olduğu tespit edildi (Tablo 5.).

Tablo 5. Kuraklık Stresinin Toplam Çözünebilir Karbohidrat Miktarına Etkisi

Kuraklık süresi (gün)	Toplam Çözünebilir Karbohidrat (mg/100 g kuru ağırlık)
0 (Kontrol)	480,8±56
44	522,1±47
52	480,1±69
60	522,2±51
70	470,1±32

* Üç tekrarın ortalamaları arasında $p = 0,05$ önem seviyesinde LSD ile belirlenen farklılık ve benzerlikler harfler ile ifade edilmiş ve ortalamaların standart sapmaları (\pm) verilmiştir.

3.6. Kuraklık Stresi Boyunca İndirgen Şeker Miktarındaki Değişim

Kuraklık stresi boyunca indirgen şeker seviyesinin araştırıldığı bu çalışmada indirgen şeker seviyesinde en yüksek değeri kuraklığın 52'nci günü, en düşük indirgen şeker değeri ise kuraklığın 70'nci günü tespit edilmiştir. Kontrole göre devam eden kuraklık periyotları arasında istatistik olarak önemli bir fark bulunamamakla (Tablo 6.) birlikte kuraklık stresinin artması ile indirgen şeker miktarında bir azalma belirlenmiştir.

Tablo 6. Kuraklık Stresinin İndirgen Şeker Miktarına Etkisi

Kuraklık süresi (gün)	İndirgen şeker (mg/g kuru ağırlık)
0 (Kontrol)	1082±60 ab
44	711,9±40 b
52	822,1±18 a
60	726±22 b
70	689±24 b

* Üç tekrarın ortalamaları arasında $p = 0,05$ önem seviyesinde LSD ile belirlenen farklılık ve benzerlikler harfler ile ifade edilmiş ve ortalamaların standart sapmaları (\pm) verilmiştir. Aynı harf ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemsizdir.

4. TARTIŞMA

Daha önce yapılan çalışmalarda *C. setosa*'da kuraklığın etkisi ile yaprak kıvrılmاسının meydana geldiği gösterilmiştir (Turgut ve Kadioğlu, 1998). Bu çalışmada ise ikinci kez kuraklığa maruz kalan bitkiler kullanılmak sureti ile yaprak kıvrılması değerleri belirlenmiştir. Turgut ve Kadioğlu, (1998) tarafından orta ışık yoğunluğu ve laboratuar şartlarında gerçekleştirilen denemede kuraklık stresinin yaprak kıvrılması üzerindeki etkisi araştırılmış ve bitkilerin kuraklığa 35. günde % 27 değerinde bir kıvrılma ile cevap verdikleri ve kuraklığın 56. gününde % 85'lik bir yaprak kıvrılması değerine ulaşlığını tespit etmişlerdir. Turgut ve Kadioğlu,'nun (1998) çalışması ile mukayese edildiğinde de kısa yaprak saplı ve küçük yaprak alanlı bu bitkilerin kuraklık stresine daha çabuk cevap verdikleri (15-25 gün) ve örneklemeler içerisinde en yüksek değer olan ~% 87-90 'lik yaprak kıvrılması değerine, 70-85 gün gibi uzun bir sürede ulaştı belirlenmiştir. Bu bilgiler ışığında daha önce bir kuraklık stresi geçirmiş bitkilerin ilk kuraklık stresine maruz bırakılan bitkilerden daha dayanıklı olduğu ifade edilebilir.

Kalapos vd., (1996) buğday bitkisinde kuraklığa teşvik edilen kısmi büyümeye oranı (RGR) azalısını tespit etmişlerdir. Frenandez ve Reynolds, (2000) sekiz adet çok yıllık otsu bitkide kuraklığa cevap olarak spesifik yaprak alanı (SLA) değişimleri bulmuşlardır. Fernandez vd., (2002) iki C₄ bitkisi ile yaptıkları denemelerde yaprak alan oranı (LAR) miktarında düşüş belirlemiştir. Alves ve Setter, (2000) manyok (cassava) ile yaptıkları çalışmada kuraklığa cevap olarak yaprak alanı büyümесinde azalma tespit etmişlerdir. Bu çalışmada ikinci kez kuraklığa maruz kalmış bitkilerin yaprak alanı değerlerinde, bir kez kuraklığa maruz kalan bitkilere göre % 69,3 oranında bir azalma tespit edildi. Bu bize yaprak alanı küçülmesinin kuraklığa bir adaptasyon cevabı olduğunu işaret etmektedir. Böylece bitki, yaprak alanını küçülterek transpirasyonla kaybolacak suyun oranının azaltmaktadır, yaprak sapının kısalması ile kısa mesafelerde hızlı bir biçimde çeşitli maddelerin taşınımı sağlamak ve osmotik ayarlamayı kolaylaştırmaktadır.

Çoğu bakteri, alg ve bitkiler kuraklığa karşı şekerlerleri biriktirirler (Delauney ve Verma, 1993; Bartes ve Nelson, 1994; Ballantyne ve Chamberlin ,1994; Bohnert ve Jensen, 1996; Bajaj vd., 1999). Sakaroz ve indirgen şekerlerin stres koşullarında birikiği rapor edilmiştir (Binzel vd., 1987). Iljin (1957) üç *Rumex* türünde su içeriğinde % 20 oranındaki bir azalının %49 olan şeker seviyesini %96 ya kadar artırdığını belirlemiştir.

Diğer taraftan Handa vd., (1983) su stresi ve indirgen şeker konsantrasyonu arasındaki ilişkiyi rapor etmiş ve adaptasyon derecesi ile hücrelerde artan indirgen şeker konsantrasyonlarını belirlemiştir. Bununla birlikte Kadioğlu ve Turgut'un (1999) *Ctenanthe setosa* bitkisi ile yaptıkları çalışmada bir kez kuraklığa maruz bıraktıkları bitkilerde, kontrol bitkilerine oranla indirgen şeker ve çözünebilir şeker miktarlarında artış olduğunu ortaya koymuşlardır. Çalışmamızda ise indirgen şeker miktarında kontrole göre istatistik açıdan önemli bir değişim gözlenmemiştir *C. setosa*'nın toplam karbohidrat ve indirgen şekerleri osmotik potansiyeli ayarlamak sureti ile topraktan su alabilmek için biriktirdiği bildirilmiştir (Kadioğlu ve Turgut, 1999). Bununla birlikte ilk kez kuraklığa maruz kalmış *C. setosa* bitkilerinin, sulama sonrası yaprak alt yüzeyinde şeker kristallerinin görülmesi osmotik ayarlama için şekerleri biriktirdiklerinin bir göstergesidir (Turgut ve Kadioğlu, 1998). Bu çalışmada ise ikinci kez kuraklığa maruz kalan bitkilerde kristal oluşumunun görülmemesi, buna ilaveten indirgen şeker ve toplam karbohidratta değişimin gözlenmemesi, bitkinin muhtemelen osmotik potansiyeli ayarlamak için şekerlerden başka bileşikleri tercih edebileceğini göstermektedir.

Kadioğlu ve Turgut, (1999)'un yapmış olduğu çalışmanın sonuçlarına benzer olarak, bizim çalışmamızda da çözünebilir protein seviyesinde genel bir azalma gözlenmiştir. Bu azalmayı stres etkisiyle bazı proteinlerin yıkımı ya da azot metabolizmasının sekteye uğramasıyla açıklayabiliriz. Bununla birlikte kuraklığın 23'ncü gününden itibaren meydana gelen artış stres esnasında sentezlenen ve koruyucu bir takım fonksiyonları olan proteinler ile açıklanabilir. Çeşitli genlerin kuraklık stresine cevap verdikleri bilinmektedir. Kuraklık ile teşvik edilen genler, metabolik olarak önemli proteinleri (çaperonlar, LEA proteinler, osmotin antifiriz proteinleri, mRNA bağlanma proteinleri, osmolit sentezi anahtar enzimleri, su kanal proteinleri ve proteazlar) ürettiği ve hücreleri su eksiliği stresinden koruduğu bildirilmiştir (Yamaguchi-Shinozaki vd., 2002). Bununla birlikte Handa vd., (1983) kültüre edilmiş bitki hücrelerinde su stresine adaptasyon sırasında çözünebilir protein seviyesinde azalmalar kaydetmişlerdir.

Çalışmamızda kuraklığın 23. gününden itibaren gözlenen prolin artışını Kadioğlu ve Turgut, (1999) tarafından daha önce *C. setosa* ile gerçekleştirilen çalışma ile elde edilen sonuçlarla bu bakımdan uygunluk göstermektedir. Toleranslı bitkilerin yüksek prolin birikimine sahip oldukları rapor edilmiştir (Singh vd., 1973; Sivaramakrishan vd., 1988; Gzik, 1996). Prolinin osmotik ayarlamaya ve strese adaptasyona önemli ölçüde katkı sağladığı bilinmektedir (Wyn Jones vd., 1977; Rhodes vd., 1986; Cayley vd., 1991; Handa

vd., 1986). Prolindeki bu artışın osmotik ayarlamayı sağlamak ve toprakta mevcut sudan en iyi şekilde faydalananmayı sağlamak üzere metabolizmasını bu yönde çalıştığı sonucuna varılabilir. Buna ilaveten prolindeki bu artışın kuraklığın 23. gününden itibaren meydana gelen protein artışına katkıda bulunmuş olabileceği görüşünü kuvvetlendirmektedir.

Çalışmamızda ölçülen diğer parametre POD aktivitesi olup, kontrol bitkilerine kıyasla bu enzim aktivitesinde artışlar meydana gelmiştir. Benzer olarak Srivalli vd., (2003) pirinçle yaptıkları çalışmada artan kuraklık stresi ile birlikte POD aktivitesinde artışlar tespit etmişlerdir. Yine Moran vd., (1994) bezelye bitkisinde su stresinin etkisi ile POD seviyesinde artış bulmuşlardır. Ayrıca POD aktivitesinin su miktarı, ağır metaller, yüksek ve düşük sıcaklık gibi faktörlerin etkisi ile moleküller seviyede hızlı değişimler gösterdiği rapor edilmiştir (Esnault ve Chibbar, 1997). *C. setosa*'da gözlenen peroksidaz aktivitesi değişimini, bitkinin kuraklık stresi etkisi ile oluşan reaktif oksijen türlerinin, özellikle H_2O_2 nin yarattığı oksidatif hasarı indirmek için yararlandığı antioksidant bir savunma şekli olarak yorumlayabiliriz.

Kısaca bu çalışmada elde edilen bilgilerle, daha önce kuraklık stresi geçirmiş olan bitkilerin, ilk kez kuraklık stresi geçiren bitkilere göre daha farklı bir dayanıklılık ve metabolizma sergilediklerini söyleyebiliriz.

5. SONUÇLAR

1-) Daha önceden kuraklık stresine maruz kalmış *C. setosa* bitkilerinin yeni kuraklık stresine daha hızlı cevap verdiği, yani yaprak kıvrılma zamanın kısalığı bulunmuştur. Ayrıca bu bitkilerin yüksek kıvrılma oranı ile daha uzun süre canlı kaldığı, yaprak alanı ve yaprak sapı uzunluğunu azaltarak, strese karşı bir adaptasyon geliştirdiği tespit edilmiştir.

2-) Artan kuraklık stresi ile birlikte çözünebilir protein seviyesinde genel bir azalma tespit edilmiş olup, kuraklığın 23'ncü gününden itibaren kontrolün protein seviyesine yaklaşan bir artış tespit edilmiştir.

3-) Kuraklık stresine cevap olarak POD aktivitesinde kontrole göre genel bir artış gözlenmiştir. Bununla birlikte en yüksek enzim aktiviteleri kuraklığın 38 ve 60. günlerinde tespit edilmiştir.

4-) Prolin seviyesinde artan kuraklıkla birlikte, özellikle kuraklığın 52, 60 ve 70. günlerinde önemli seviyede artışlar belirlenmiştir. Kuraklığın 23, 30, 38 ve 44. günlerindeki prolin miktarı değişimlerinin kontrole göre istatistik olarak önemli olmadığı tespit edilmiştir.

5-) İndirgen şeker ve toplam çözünebilir karbohidrat seviyelerinde kontrole göre önemli bir fark olmamasına rağmen, indirgen şeker seviyesinde genel bir azalma belirlenmiştir.

6. ÖNERİLER

Elde edilen bulgular ışığında morfolojik ve fizyolojik açıdan dirençli bir bitki olduğunu ifade ettiğimiz *C. setosa* hakkında bundan sonra yürütülecek moleküller seviyedeki çalışmalar ile yaprak kıvrılmasının moleküller mekanizmasının aydınlatılmasına ihtiyaç olduğu açıktır. Buna ilaveten bu çalışma ile kuraklığa bağlı olarak, biyokimyasal seviyede miktarlarında artışlar belirlediğimiz Prolin ve POD'ın ekspresyonlarının moleküller çalışmalar ile tespit edilmelidir. Kuraklık stresi esnasında membran kararlılığı ve proteinlerin korunmasında önemli fonksiyona sahip oldukları bilinen LEA stres proteinlerinin sentezlenip sentezlenmediğinin gerek biyokimyasal, gerekse moleküller çalışmalar ile aydınlatılması yararlı olacaktır.



7. KAYNAKLAR

- Akashi, K., Miyake, C., Yokota, A., 2001. Citrulline, A Novel Compatible Solute in Drought Tolerant Wild Watermelon Leaves, is an Efficient Hydroxyl Radical Scavenger, FEBBS Lett., 508, 438-442.
- Almoguera, C., Jordano, J., 1992. Developmental ve Environmental Concurrent Expression of Sunflower Dry-Seed-Stored Low Molecular Weight Heat Shock Protein ve Lea mRNA's, Plant Mol. Biol. 19, 781-792.
- Alves, A. A.C., Setter, T.L., 2000. Responsesn of Cassava to Water Deficit: Leaf Area Growth ve Abscisic Acid, Crop Sci., 40, 131-137.
- Archbald, H.K., 1940. Fructosans in The Monocotyledons, A Review, New Phytol., 39, 185-219.
- Asada, K., Takahashi, M., 1987. Production ve Scavenging of Active Oxygen in Photosynthesis, in Kyle, D.J., Osmond, C.B., Arntzen, C.J., eds, Photoinhibition, Elsevier Science Publisher, New York, 227-287.
- Ayaz, F.A., Kadioğlu, A., Turgut, R., 2000. Water Stress Effects on The Content of Low Molecular Weight Carbohydrates ve Phenolic Acids in *Ctenanthe setosa* (Rosc.) Eichler. Can J. Plant Sci., 80, 373-378.
- Bajaj, S., Targolli, J., Liu, L.F., Ho T.H.D., Wu, R., 1999. Transgenic Approaches to Increase Dehydration- Stres Tolerance in Plants, Mol. Breed., 5, 493-503.
- Ballantyne, J.S., Chamberlin, M.E., 1994. Regulation of Cellular Aminoacid Levels, in Strange, K., ed., Cellular ve Molecular Physiology of Cell Volume Regulation, CRC Pres, Boca Raton, 111-122.
- Barlow, E.W.R., Munns, R.E., Brady, J.C., 1980. Drought Responses of Apical Meristems, in Turner, N.C., Kramer, P.J., eds, Adaptation of Plants to Water ve High Temperature Stres., Wiley-Interscience, New York, 191-205.
- Barnett, N.M., Naylor, A.W., 1966. Aminoacid ve Protein Metabolism in Bermuda Grass During Water Stress. Plant Physiol., 41, 1222-1230.
- Bartels, D., Nelson, D.E., 1994. Approaches to Improve Stres Tolerance Using Molecular Genetics, Plant Cell Environ., 17, 659-667.
- Bates, L.S., Waldren, R.P., Teare, I.D., 1993. Rapid Determination of Free Prolin for Water Stres Studies, Plant ve Soil, 39, 205-207.
- Begg, J.E., 1980. Morphological Adaptation of Leaves to Water Stres, In Turner, N.C., Kramer, P.J., eds, Adaptation of Plants to water ve High Temperature Stres, John Wiley & Sons, New York, 33-42.

- Binzel, M.L., Hasegawa, P.M., Rhodes, D., Handa, S., Handa, A.K., Bressan, R.A., 1987. Solute Accumulation in Tobacco Cells Adapted to NaCl. *Plant Physiol.*, 84, 1408-1415.
- Blum A., Mayer, J., Golzan, G., 1983. Associations Between Plant Production ve Some Physiological Components of Drought Resistance in Wheat, *Plant Cell Environ.*, 6, 219-225.
- Blum, A., 1988. Plant Breeding for Stres Environments, CRC Pres, Boca Raton, USA, 1-223.
- Blum, A., 1996. Crop Responses to Drought ve The Interpretation of Adaptation . *Plant Growth Regulation*, 20, 135-148.
- Boggess, S.F., Aspinall, D., Paleg, L.G., 1976. Stress Metabolism. IX. The Significance of End-Product Inhibition Of Proline Biosynthesis ve of Compartmentation in Relation to Stress-Induced Proline Accumulation. *Aust. J. Plant Physiol.*, 3, 513-525.
- Bohnert, H.J., Nelson D.E., Jensen R.G., 1995. Adaptation to Environmental Stresses., *Plant Cell* 7, 1099–1111.
- Bohnert, H.J., Jensen, R.G., 1996. Strategies for Engineering Water-Stress Tolerance in Plants, *Trends Biotech.*, 14, 89-97.
- Bradford, M.M., 1976. Rapid ve Sensitive Method for The Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilising The Principle of Protein Dye Binding, *Anal. Biochem.*, 72, 248-254.
- Bray, E.A., 1997. Plant Responses to Water Deficit. *Trends Plant Sci.*, 2, 48-54.
- Brickell, C., 1994. The Royal Horticultural Society Gardeners' Encyclopedia, Plants and Flowers., Dorling Kindersley, London.
- Briens, M., Larher, F., 1982. Osmoregulation in Halophytic Higher Plants: A Comparative Study of Soluble Carbohydrates, Polyols, Betaines ve Free Proline, *Plant Cell Environ.*, 5,287-292.
- Campbell, K.G., Bergman, C.J. Gualberto, D.G., Veerson, J.A., Giroux, M.J., Hareland, G., Fulcher, R.G., Sorrells, M.E., Finney. P.L., 1999. Quantitative Trait Loci Associated with Kernel Traits in A Soft by Hard Wheat Cross. *Crop Sci.*, 39, 1184–1195.
- Carpenter J.F., Crowe, L.M., Arakawa, T., 1990. Comparison of Solute-Induced Protein Stabilisation in Aqueous Solution ve in the Frozen ve Dried States, *J. Dairy Sci.*, 73, 327-333.
- Cayley, S., Lewis, B.A., Guttmann, H.J., Record, M.T.Jr., 1991. Characterization of the Cytoplasm of *Eschehchia coli* K-12 As A Function of External Osmolarity. Implications for Protein-DNA interactions *in vivo*. *J. Mol. Biol.*, 222:281-300.

- Cayley, S., Lewis, B.A., Record, M.T.Jr., 1992. Origins of the Osmoprotective Properties of Betaine ve Proline in *Escherichia coli* K-12. *J. Bacteriol.*, 174: 1586-1595.
- Chen, W.P., Li, P.H., Chen, T.H.H., 2000. Glycinebetaine Increases Chilling Tolerance ve Reduces Chilling-Induced Lipid Peroxidation in *Zea mays* L. *Plant Cell Environ.*, 23, 609-618.
- Courtois, B., McLaren, G., Sinha, P.K., Prasad, K., Yadav, R., Shen, L., 2000. Mapping QTLs Associated with Drought Avoidance in Upland Rice *Molecular Breeding*, 6, 55-66.
- Csonka, L.N., 1989. Physiological ve Genetic Responses of Bacteria to Osmotic Stress. *Microbiol. Rev.* 53, 121-147.
- Csonka, L.N., Hanson, A.D., 1991. Prokaryotic Osmoregulation: Genetics ve Physiology. *Annu. Rev. Microbiol.* 45, 569-606.
- Delauney, A.J., Verma, D.P.S., 1993. Proline Biosynthesis ve Osmoregulation in Plants, *Plant J.*, 4, 215-223.
- Downing, W.L., Mauxion, F., Fauvarque, M.O., Reviron, M.P., de Vienne, D., 1992. A *Brassica napus* Transcript Encoding a Protein Related to the Kunitz Protease Inhibitor Family Accumulates upon Water Stres in Leaves, Not in Seed, *Plant J.*, 2, 685-693.
- Dubois M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F., 1956. Colorimetric Method for Determination of Sugars ve Related Substrates, *Anal. Biochem.*, 28, 350-356.
- Duncan, D.R., Widholm, J.M., 1987. Proline Accumulation ve Its Implication in Cold Tolerance of Regenerable Maize Callus, *Plant Physiol.* 83: 703-708.
- Esnault, R., Chibbar, R.N., 1997. Peroxidase ve Plant Defence, *Plant Peroxidase Newslett.*, 10, 34-41.
- Espelie, K.E., Franceschi, V.R., Kolattukudy, P.E., 1986., Immunocytochemical Localization ve Time Course of Apperance of Anioic Peroxidase Associated with Suberization in Wound-Healing PotatoTuber Tissue, *Plant Physiol.*, 81, 487-492.
- Fernandez, R.J., Reynolds, J.F., 2000. Potential Growth ve Drought Tolerance of Eight Desert Grasses: Lack of A Trade-off?, *Oecologia*, 123, 1, 90-98.
- Fernandez, R.J., Wang, M., Reynolds, J.F., 2002. Do Morphological Changes Mediate Plant Response to Water Stres? A Steady State Experiment with Two C₄ Grasses, *New Phytologist*, 155, 79-88.
- Foyer, C.H., Lopez-Delgado H., Dat, J.F., Scott, I.M., 1997. Hydrogenperoxide ve Glutathione- Associated Mechanisms of Acclimatory Stres Tolerance ve Signalling, *Physiologia Plantarum*, 100, 241-254.

- Gaff, D.F., 1989. Responses of Desiccation Tolerant "Ressurection" Plants to Water Stress, in Kreeb, K.H., Richter, H., Hinckley, T.M., eds, Structural and Functional Responses to Environmental Stresses: Water Shortage, SPB Acad Publ, The Hague, 255-268.
- Galinski, E.A., 1993. Compatible Solutes of Halophilic Eubacteria: Molecular Principles, Water Soluble in Reactions, Stress Protection, Experientia, 49, 487-495.
- Gaspar, T., Penel, C., Thorpe, T., Greppin, H., 1982. Peroxidases 1970-1980 A Survey of Their Biochemical and Physiological Roles in Higher Plants, University of Geneva Pres, Switzerland.
- Gill, P.K., Singh, O.S., 1985. Effect of Salinity on Carbohydrate Metabolism During Paddy (*Oryza sativa*) Seed Germination Under Salt Condition. J.Exp. Biol., 23, 384-386.
- Gill, P.K., Sharma, A.D., Singh, P., Bhullar, S.S., 2001. Effect of Various Abiotic Stresses on The Growth, Soluble Sugars, and Water Relations of Sorghum Seedlings Grown in Light and Darkness, Bulg. J. Plant Physiol., 27, 72-84.
- Gorham, J., Hughes, L.Y., Wyn Jones, R.G., 1981. Low Molecular Weight Carbohydrates in Some Salt Stressed Plants, Physiol. Plant. 53, 27-33.
- Grime, J.P., 1979. Plant Strategies and Vegetation Processes, Wiley, Chichester.
- Grisebach, H., 1981. Lignins, in Stumpf, P.K., Conn, E.E., eds, The Biochemistry of Plants, 7, 457-478.
- Guerrero, F.D., Jones, J.T., Mullet, J.E., 1990. Turgor Responsive Gene Transcription and RNA Levels Increase Rapidly When Pea Shoots are Wilted: Sequence and Expression of Three inducible Genes, Plant Mol. Biol., 15, 11-26.
- Gzik, A., 1996. Accumulation of Proline and Pattern of α -aminoacids in Sugar Beet Plant in Response to Osmotic, Water and Salt Stress, Env. Exp. Bot., 36, 29-38.
- Handa, S., Bresson, R.A., Handa, A.K., Carpita, N.C., Hasegawa, P.M., 1983. Solutes Contributing to Osmotic Adjustment in Cultured Plant Cells to Water Stress, Plant Physiol., 81, 626-629.
- Handa, S., Handa, A.K., Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., 1986. Proline Accumulation and The Adaptation of Cultured Plant Cells to Water Stress, Plant Physiol. 80, 938-945.
- Hartung, W., Schiller, P., Karl-Josef, D., 1998. Physiology of Poiklohydric Plants., Prog. Bot., 59, 299-327.
- Heikkila, J.J., Papp, J.E.T., Schutz, G.A., Brewley, J.D., 1984. Induction of Heat Shock Protein Messenger RNA in Maize Mesocotyls by Water Stress, Abscisic acid and Wounding, Plant Physiol., 76, 270-274.

- Heitholt, J.J., 1989. Water Use Efficiency ve Dry Matter Distribution in Nitrogen ve Water Stressed Winter Wheat, Argon. J., 81, 464-469.
- Heywood, V.H., 1978. Flowering Plants of The World, Oxford University Pres, Oxford, UK., 300-301.
- Hinman, R.L., Lang, L., 1965. Biochemistry, 4, 144-158.
- Hoekstra, P.A., Golovina, E.A., Buitink, J., 2001. Mechanism of Plant Dessication Tolerance., Trends Plant Sci., 6, 431-438.
- Holmberg, N, Bülow, L., 1998. Improved Stress Tolerance in Plants by Heterologous Gene Transfer: Recent Achievements ve Future Prospects, Trends Plant Sci., 3, 61.
- Holmstörm, K.O, Somersalo, S., Mveal, A., Palva, T.E., Welin, B., 2000. Improved Tolerance to Salinity ve Low Temperature in Transgenic Tobacco Producing Glycine Betaine, J. Exp. Bot., 51, 177-185.
- Hopkins, W.G., 1995. Introduction to Plant Physiology, John Wiley & Sons INC., London.
- Housley, L., Pollock, C.j., 1993. The Metabolism of Fructan in Higher Plants, In Suzuki, M., Chatteron, N.J., eds, Science ve Technology of Fructans, CRC Pres, London, 191-225.
- Hsiao, T.C., 1973. Plant Responses to Water Stres., Annu Rev Plant Physiol., 24, 519-570
- Hsiao, T.C., Acevedo, E., Fereres, E., Henderson, D.W., 1976. Water Stres, Growth ve Osmotic adjustment, Philos Trans. R. Soc Lond. B., 273, 479-500.
- Hsiao, T.C., O'Toole, J.C., Yambao, E.B., Turner, N., 1984. Influence of Osmotic Adjustment on Leaf Rolling ve Tissue Death in Rice (*Oryza sativa* L.), Plant Physiol., 75, 338-341.
- Hunt, R., 1982. Plant Growth Curves: The Functional Approach to Growth Analysis, London, UK.
- Ilijn, W.S., 1957. Drought Resistance in Plants ve Physiological Processes, Annu.Rev.Plant Physiol., 8, 257-274.
- Iturbe-Ormaextre, I., Escuredo, P.R., Arrese-Igor, C., Becana, M., 1998. Oxidative Damage in Pea Plants Exposed to Water Deficit or Paraquat, PlantPhysiol., 116, 173-181.
- Jones, H.G., Jones, M.B., 1989. Introduction: Some Terminlogy ve Common Mechanisms, In Jones, H.G., Flowers, T.J., Jones, M.B., eds, Plants Under Stress, Cambridge University Pres, Cambridge, 1-10.
- Jones, M.M., Turner, N.C., 1978. Osmotic Adjustment in Leaves of *Sorghum* in Response to Water Deficit, Plant Physiol., 122-126.

- Jones, M.M., Osmond, C.B., Turner, N.C., 1980. Accumulation of Solutes in Leaves of Sorghum ve Sunflower in Response to Water Deficits. Aust. J. Plant Physiol., 7, 193-205.
- Kadioğlu, A., Turgut, R., 1999. Some Biochemical Changes during Leaf Rolling in *Ctenanthe setosa* (Marantaceae), Acta Physiol. Plant., 21, 203-214.
- Kadioğlu A., Turgut, R., Palavan-Ünsal, N., Saruhan, N., 2002. Effect of Polyamines on Leaf Rolling in *Ctenanthe setosa*, Israeli J. Plant Sci., 50, 19-23.
- Kalapos, T., Van den Boogaard, R., Lambers, H., 1996. Effects of Soil Drying on Growth biomass Allocation ve Leaf Gas Exchange of Two Annual Grass Species, Plant Soil., 185, 137-149.
- Kaplankıran, M., Özsarı, M., Tuzcu, Ö., 1985. Bazı Turunçgil Anaçlarında Anaç x Kalem Etkileşmesinin İncelenmesinin Karbohidrat Düzeylerine Etkileri, Doğa Bilim Dergisi, 9, 261-268
- Katz, A., Tal, M., 1980. Salt tolerance in The Wild Relatives of Cultivated Tomato: proline accumulation in callus tissue of *Lycopersicon esculentum* ve *L. peruvianum*. Z. Pflanzenphysiol. Bd., 98: 429-435.
- Ketchum, R.E.B., Warren, R.C., Klima, L.J., Lopez-Gutierrez, F., Nabors, M.W., 1991. The mechanism ve regulation of Proline Accumulation in Suspension Cultures of The Halophytic Grass *Distichlis spicata* L. v Plant Physiol. 137, 368-374.
- Kirchoff, B.K., Kennedy, H., 1985. Foliar, Nonstructural Nectaries in The Marantaceae, Can. J. Bot., 63, 1785-1788.
- Kiyosue, T., Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K., 1994. Cloning of cDNAs for Genes That are Early Responsive to Dehydration Stres (ERDs) in *Arabidopsis thaliana* L. Identification of Three ERDs As HSP Cognate Genes. Plant Mol. Biol., 25, 791-798.
- Kononowicz, A.K., Nelson, D.E., Singh, N.K., Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., 1992. Regulation of Osmotin Gene Promoter, The Plant Cell, 4, 513-524.
- Kuznetsov, V.V., Shevyakova, N.I., 1999. Proline Under Stres: Biological Role, Metabolism ve Regulation, Russ. J. Plant Physiol., 46, 274-287.
- Larcher, W., 1987. Streß bei Pflanzen, Naturwissenschaften, 74, 158-167.
- Lee-Stadelmann, O.Y., Stadelmann, E.J., 1976. Cell permeability ve Water stres., In Lange, O.L., Kappen, L., Schulze, E.D., eds, Water ve Plant Life: Problems ve Modern Approaches, Springer-Verlag, Berlin, 268-280.
- Leigh, R.A., Ahmad, N., Wyn Jones, R.G. 1981. Assessmentof Glycinebetaine ve Proline Compartmentation by Analysis of Isolated Beet Vacuoles. Planta, 153, 34-41.
- Leprince, O., Hendry, G.A.F., McKersie, B.M., 1993. The Mechanism of Dessication Tolerance in Developing Seeds, Seed Sci.Res., 3, 231-246.

- Levine, A., Pennell, R.I., Alvarez, M.E., Palmer, R., Lamb, C., 1996. Calcium-Mediated Apoptosis in A Plant Hypersensitive Disease Resistance Response, *Cell*, 79, 583-593.
- Levitt, J., 1972. Responses of Plants to Environmental Stress, Academic Press, New York.
- Lichtenthaler, H.K., 1996. Vegetation Stress: An Introduction to the Stress Concept in Plants, *J. Plant Physiol.*, 148, 4-14.
- Liu, E.H., 1973. A Simple Method for Determining the Relative Activities of Individual Peroxidase Isoenzymes in A Tissue Extract, *Anal. Biochem.*, 56, 149-145.
- Lone, M.I., Kueh, J.S.H., Wyn Jones, R.G., Bright, S.W.J., 1987. Influence of Proline and Glycinebetaine on Salt Tolerance of Cultured Barley Embryos, *J. Exp. Bot.*, 38: 479-490.
- Loresto, G.C., Chang, T.T., Tagumbay, O., 1976. Field Evaluation and Breeding for Drought Resistance, Philippines J. Crop. Sci., 1, 36-39.
- Ludlow, M.M., Muchow, R.C., 1990. A Critical Evaluation of Traits for Improving Crop Yields in Water Limited Environments. *Advances in Agronomy*, 43, 107-153.
- Macleod, A.M., Orqudale, M.C., 1958. Water Soluble Carbohydrates of Seeds of The Gramineae, *New Phytol.*, 57, 168-182.
- Matthews, R.B., Azam-Ali, S.N., Peacock, J.M., 1990. Response of Four Sorghum Lines to Mid-Season Drought, *Field Crops Research*, 25, 297-308.
- McKersie, B.D., Lehsem, Y.Y., 1994. Stress and Stress Coping in Cultivated Plants, Kluwer Academic Publishers, London.
- Meier, H., Reid, J. S. G., 1982. Reserve Polysaccharides Other Than Starch in Higher Plants, in Encyclopedia of Plant Physiology New Series, Plant Carbohydrates I, In Loveys, F.A., Taner, W., Eds, Springer Verlag, London, 13 A, 418-471.
- Moran, S.M., Clarke, T.R., Inoue, Y., Vidal, A., 1994. Estimating Crop Water Deficit Using The Relationship between Surface-air Temperature and Spectral Vegetation Index, *Remote Sens. Environ.*, 49, 246-263.
- Morgan, J.M., 1984. Osmoregulation and Water Stress in Higher Plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 35, 299-319.
- Murata, N., Mohanty, P.S., Hayashi, H., Papageorgiou, G.C., 1992. Glycinebetaine Stabilizes the Association of Extrinsic Proteins with the Photosynthetic Oxygen-Evolving Complex. *FEBBS Lett.*, 296, 187-189.

- Nakayama, H.K., Yoshida, K., Ono, H., Murooka, Y., Shinmyo, A., 2000. Ectoine, The Compatible Solute of *Halomonas elongata*, Confers Hyperosmotic Tolerance in Cultured Tobacco Cells. *Plant Physiol.*, 122, 1239-1247.
- O'Toole, J.C., Moya, T.B., 1978. Genotypic Variation in Maintenance of Leaf Water Potential in Rice. *Crop Sci.*, 18, 873-876.
- O'Toole, J.C., Cruz, R.T., Singh, T.N., 1979. Leaf Rolling ve Transpiration, *Plant Sci. Lett.*, 16, 111-114.
- O'Toole, J.C., Moya, T.B., 1981. Comparison of Pressure Chamber ve Psycometer Estimates of Leaf Water Potential in Rice, *Plant Soil.*, 62, 313-317.
- O'Toole, J.C., Garrity, D.P., 1984. Upland Rice Soil Plant Water Relationship, In: An Overwiev of Upland Rice Research, International Rice Research Institute, Los Banos.
- Oaks, A., Mitchell, D.J., Barnard, R.A., Johnson, F.J., 1970. The Regulation of Proline Biosynthesis in Maize Roots. *Can. J. Bot.*, 48, 2249-2258.
- Ober, E.S., Sharp, R.E., 1994. Proline Accumulation in Maize (*Zea mays L.*) Primary Roots at Low Water Potentials. I. Requirement for Increased Levels of Abscisic acid. *Plant Physiol.* 105, 981-987.
- Pahlich, E., Keres, R., Jager, H.J, 1983. Influence of Water Stress on The Vacuole/Extravacuole Distribution of Proline in Protoplasts of *Nicotiana rustica*. *Plant Physiol.* 72, 590-591.
- Paleg, L.G., Douglas, T.J., van Daal, A., Keech, D.B., 1981. Proline, Betaine ve Other Organic Solutes Protect Enzymes Against Heat Inactivation, *Aust. J. Plant Physiol.*, 8: 107-114.
- Papageorgiou, G.C., Murata, N., 1995. The Unusually Strong Stabilizing Effects of Glycinebetaine on The Structure ve Function in Oxygen-Evolving Photosystem II Complex, *Photosyn.Res.*, 44, 243-252.
- Pelah, D., Wang, W.X., Altman A., Shoseyov O., Bartels D. 1997. Differential Accumulation Of Water Stress-Related Proteins, Sucrose Synthase ve Soluble Sugars in *Populus Species* That Differ in Their Water Stres Response. *Physiologia Plantarum*, 99, 153-159.
- Pilon-Smits, E.A.H., Ebskamp, M.J.M., Paul, M.J., Jeuken, M.J.W., Weisbeek, P.J., Smeekens, S.C.M, 1995. Improved Performance of Trangenic Fructan-Accumulating Tobacco Under Drought Stres, *Plant Physiol.*, 107, 125-130.
- Pollard, A., Wyn Jones, R.G., 1979. Enzyme Activities in Concentrated Solutions of Glycinebetaine ve Other Solutes, *Planta*, 144, 291-298.

- Polle, A., Rennenberg, H., 1994. Protection from Oxidative Stress Tolerance in Transgenic Plants, Biochem. Soc. Trans., 22, 939-946.
- Prado, F.E., Boero, C., Gallardo, M., Gonzalez, J.A., 2000. Effects of NaCl on Germination, Growth and Soluble Sugar Content in *Chenopodium quinoa* Wild Seeds, Bot. Bull. Acad. Sin., 41, 27-34.
- Premachandra, G.S., Saneoka, H., Fujita, K., Ogata, S., 1993. Water Stress and Potassium Fertilization in Field Grown Maize (*Zea mays* L.): Effects of Leaf Water Relations and Leaf Rolling, J. Argon. ve Crop Sci., 170, 195-201.
- Price, A.H., Taylor, A., Ripley, S.J., Griffiths, A., Trewavas, A.J., Knight, M.R., 1994. Oxidative Signals in Tobacco Increases Cytosolic Calcium, Plant Cell, 6, 1301-1310.
- Ramanjulu, S., Bartels, D., 2002. Drought and Desiccation-Induced Modulation of Gene Expression in Plants, Plant Cell Environ., 25, 141-151.
- Quick, P., Siegl, G., Neuhaus, E., Feil, R., Stitt, M., 1989. Short-term Water Stress Leads to A Stimulation of Sucrose Synthesis by Activating Sucrose-Phosphate Synthase, Planta, 177, 535-546.
- Reviron, M.P., Vartanian, N., Sallantin, M., Huet, J.C., Pernollet, J.C., de Vienne D., 1992. Characterization of A Novel Protein Induced by Progressive or Rapid Drought and Salinity in *Brassica napus* Leaves, Plant Physiol., 100, 1486-1493.
- Rhodes, D., Handa, S., Bressan, R.A 1986. Metabolic Changes Associated with Adaptation of Plant Cells to Water Stress. Plant Physiol., 82, 890-903.
- Rhodes, D., Handa, S., 1989. Amino acid Metabolism in relation to Osmotic Adjustment in Plant, In Cherry, J.H., ed., Environmental Stress in Plants: Biochemical and Physiological Mechanisms, NATO ASI Series, Vol. G19, Springer, Berlin, 41-62.
- Rodriguez, R., Sanches, T.R., 1982. Peroxidase and IAA Oxidase in Germinating Seeds of *Cicer arietinum* L., Rev. Esp. Fisiol., 38, 183-188.
- Romero, C., Belles, J.M., Vaya, J.L., Serrano, R., Culianez-Macia, F.A., 1997. Expression of The Yeast Trehalose-6-Phosphate Synthase Gene in Transgenic Tobacco Plants: Pleotropic Phenotypes Include Drought Tolerance, Planta, 201, 293-297.
- Ross, A.I., 1959. Dinitrophenol Method for Reducing Sugars, First Edition, The Avi Publishing Company, Wesport.
- Safaris, V., 1998. Chloroplasts: A Structural Approach, J. Plant Physiol., 152, 248-264.
- Santarius, K.A., 1992. Freezing of Isolated Thylakoid Membranes in Complex Media. VIII. Differential Cryoprotection by Sucrose, Proline and Glycerol, Physiol. Plant., 84, 87-93.

- Santoro, M.M., Liu, Y., Khan, S.M.A., Hou, L.X., Bölen, D.W., 1992. Increased Thermal Stability of Proteins in The Presence of Naturally Occurring Osmolytes, *Biochemistry*, 31, 5278-5283.
- Saunders, B.C., Holmes Siedle, A.G., Stark, B.P., 1964. Peroxidase, Butter Worths, London.
- Sharp, R.E., Wu, Y., Voetberg, G.S., Saab, I.N., LeNoble, M.E., 1994. Confirmation That Abscisic acid Accumulation is Required for Maize Primary Root Elongation at Low Water Potentials, *J. Exp. Bot.*, 45, 1743-1751.
- Shen, B., Jensen, R.G., Bohnert, H.J., 1997a. Increased Resistance to Oxidative Stres in Transgenic Plants by Targeting Mannitol Biosynthesis to Chloroplasts, *Plant Physiol.*, 113, 1117-1183.
- Shen, B., Jensen, R.G., Bohnert, H.J., 1997b. Mannitol Protects Against Oxidation by Hydroxyl Radicals, *Plant Physiol.* 115, 527-532.
- Shen, B., Hohmann, S., Jensen, R.G., Bohnert, H.J., 1999. Roles of Sugar Alcohois in Osmotic Stres Adaptaion. Replacement of Glycerol by Mannitol ve Sorbitol in Yeast, *Plant Physiol.*, 121, 45-52.
- Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K.Y., 1997. Gene Epression ve Signal Transduction in Water Stres Response, *Plant Physiol.*, 115, 327-334.
- Siddique, M.R.B., Hamid, A., Islam, M.S., 2000. Drought Stres Effects on Water Relations of Wheat, *Bot . Bull. Acad. Sin.*, 41, 35-39.
- Singh, T.N., Paleg, L.G., Aspinall, D., 1973. Stres Metabolism. III. Variations in Response to Water Deficit in Barley Plant. *Aust.J. Biol. Sci.*, 26, 65-76.
- Sivaramakrishann, S., Patell, V.Z., Flower, D.J., Peacock, J.M., 1988. Proline Accumulation ve Nitrate Reductasae Activity in Contrasting *Sorghum* Lines During Mid-Season Drought Stres, *Physiol. Plant.* 74, 418-426.
- Smirnoff, N., Cumbes, Q.J., 1989. Hydroxyl Radical Scavenging Activity of Compatible Solutes. *Phytochemistry*, 28, 1057-1060.
- Songstad, D.D., Duncan, D.R., Widholm, J.M., 1990 Proline ve Polyamine Involvement in Chilling Tolerance of Maize Suspension Cultures. *J. Exp. Bot.* 41: 289-294.
- Srinivas, V., Balasubramanian, D., 1995. Proline is A Protein-Compatible Hydrotrope. *Langmuir* 11, 2830-2833.
- Srivalli, B., Geetanjali, S., ve Khanna-Chopra, R., 2003. Antioxidative Defense System in An Upland Rice Cultivar Subjected to Increasing Intensity of Water Stres Followed by Recovery, *Physiologia Plantarum.*, 119, 503-512.

- Stevanovic, B., Thu, P.T.A., DaSilva, J.V., 1992., Effects of Dehydration ve Rehydration on Polar Lipid ve Fatty-Acid Composition of *Ramonda* Species, Can. J. Bot., 70,107-113.
- Stewart, G.R., Lee, J.A., 1974. The Role of Proline Accumulation in Halophytes, Planta, 120, 279-289.
- Strom, A.R., Le Rudulier, D., Jakowec M.W., Bunnell, R.C., Valentine, R.G., 1983 Osmoregulatory (Osm) genes ve osmoprotective compounds, In Kosuge, T., Meredith, C.P., Hollaender, A., eds, Genetic Engineering of Plants. An Agricultural Perspective, Plenum Press, New York, 39-59.
- Sveshnikova,V.M., 1979. Dominant Kazakhstanskikh Stepei (Dominants of Kazakhstan Steppe) Leningrad, Nakua.
- Tal, M., Katz, A., 1980. Salt Tolerance in The Wild Relatives of the Cultivated Tomato: The Effect of Proline on the Growth of Callus Tissue of *Lycopersicon esculentum* ve *L. peruvianum* Under Salt ve Water Stres, Z. Pflanzenphysiol. Bd., 98, 283-288.
- Townley-Smith, T.F., Hurd, E.A., 1979. Testing ve Selecting for Drought Resistance in Wheat, In Mussell, H., Staples, R.C., eds, Stress Physiology in Crop Plants, John Wiley & Sons, New York, 447-464.
- Treichel, S., 1986. The Influence of Naci on Delta'-Pyrroline-5-Carboxylate Reductase in Proline-Accumulating Cell Suspension Cultures of *Mesembryanthemum*, *Nodiflorum* ve Other Halophytes, Plant Physiol., 67, 173-181.
- Tripathy, S., Venables, B.J., Chapman, K.D., 1999. N-Acylethanolamines in Signal Transduction of Elicitor Perception. Attenuation of Alkalization Response ve Activation of Defense Gene Expression Plant Physiol., 121, 4, 1299-308.
- Tuba, Z., Lichtenthaler, H.K., Csintalan, Z., Pócs T., 1993. Regreening of Desicatted leaves of poikilochlorophyllous *Xerophyta scabrida* upon Rehydration, J. Plant Physiol., 142, 103-108.
- Tuba, Z., Lichtenthaler, H.K., Csintalan, Z., Nagy, Z., Szente, K., 1994. Reconstitution of Chlorophylls ve Photosynthetic CO₂ Assimilation upon Rehydration of the Desiccated Poikilochlorophyllous Plant *Xerophyta scabrida* (Pax) Th. Dur. Et Schinz, Planta, 192, 414-420.
- Tuba, Z., Lichtenthaler, H.K., Csintalan, Z., Nagy, Z., Szente, K., 1996. Loss of Chlorophylls ve Photosynthetic CO₂ Assimilation ve Respiration in the Poikilochlorophyllous Plant *Xerophyta scabrida* During Desiccation, Physiol. Plant., 96, 383-388.
- Turgut, R., Kadioğlu, A., 1998. The Effect of Drought, Temperature ve Irradiation on Leaf Rolling in *Ctenanthe setosa*, Biol. Plant., 41, 629-633.

- Turner, N.C., 1979. Drought Resistance ve Adaptation to Water Deficits in Crop Plants, In H Mussell. RC Staples, eds, Stres Physiology in Crop Plants. Wiley- Interscience, New York, 343-372.
- Turner, N.C., Jones, M.M., 1980. Turgor maintenance by osmotic adjustment: a review ve evaluation. In Turner, N.C. , Kramer, P.J., eds Adaptation of Plants to Water ve High Temperature Stres. Wiley-Interscience, New York, 87-103.
- Turner, N.C., Kramer, P.J., 1980. Adaptation of Plants Water ve High Temperature Stres, New York
- Van Assche, F., Clijsters, H., 1986. Inhibition of Photosynthesis in *Phaseolus vulgaris* by Treatment with Toxic Concentration of Zinc effect on Ribulose-1,5- Biphosphate Carboxylase/Oxygenase, Journal of Plant Physiology, 125, 355-360.
- Van Assche, F., Clijsters, C.P.H., 1990. Effects of Metals on Enzym Activity in Plants, Plant Cell Environ., 13-206
- Van Huystee, R.B., Breda, C., Sesto, P., Beopoulos, N., Esnault, R., 1990. Measurement ve Detection of Peroxidase, Plant Science, 69, 19-26.
- Van Lelyveld, L., Pretorius, I.J., Assay, W.J., 1973. Method for Determination α -Amylase, Indol-3-Acetic Acid Oxidase ve Ascorbic Acid Oxidation in A Crude Extract from Avocado, Agrochemo. Physica, 5, 2-34.
- van Swaaji, A.C., Jacobsen, E., Feenstra, W.J., 1985. Effect of Cold Hardening, Wilting ve Exogenously Applied Proline on Leaf Proline Content ve Frost Tolerance of Several Genotypes of *Solanum*. Physiol. Plant. 64,230-236.
- Vassey, T.L., Sharkey, T.D., 1989. Mild Water Stres of *Phaseolus vulgaris* Plants Leads to Reduced Starch Synthesis ve Extractable Sucrose Phosphate Synthase Activity, Plant Physiol., 89,1066-1070.
- Voetberg, G.S., Sharp, R.E., 1991. Growth of The Maize Primary Root Tip at Low Water Potentials. III. Role of Increased Proline Deposition in Osmotic Adjustment. Plant Physiol. 96, 1125-1130.
- Wang, Z., Quebedeaux, B., Stutte, G.W., 1996. Partitioning of (^{14}C) Glucose into Sorbitol ve Other Carbohydrates in Apple Under Water Stres, Aust. J. Plant Physiol., 23, 245-251.
- Welinder, K.G., 1992. Superfamily of Plant Fungal ve Bacterial Peroxidases, Curr. Opin. Struct. Biol., 2,388-393.
- Westgate, M.E., Boyer, J.S., 1985. Osmotic Adjustment ve Inhibition of Leaf, Root, Stem ve Silk Growth at Lower Water Potentials in Maize, Planta, 164, 540-549.
- Willekens, H., Inzé D., Van Montagu, M., Van Camp, W., 1995. Catalases in Plants, Mol. Breeding, 1, 207-228.

- Williams, J.H.H., Williams, A.L., Pollock, C.J., Farrar, J.F., 1992. Regulation of Leaf Metabolism by Sucrose, Sov. Plant Physiol., 39, 443-446.
- Williams, R.J., Leopold, A.C., 1989. The Glassy State in Corn Embryos, Plant Physiol., 89, 977-981.
- Withers, L.A., King, P.J., 1979. Proline: A Novel Cryoprotectant for The Freeze Preservation of Cultured Cells of *Zea mays*. Plant Physiol. 64, 675-678.
- Wyn Jones, R.G., Storey, R., Leigh, R.A., Ahmad, N., Polar, A., 1977. A Hypotesis on Cytoplasmic Osmoregulation, In Marre, E., Cifferi, O., eds., Regulation of Cell Membrane Activities in Plants, 121-136.
- Yamaguchi-Shinozaki, K., 2001. Biological Functions of Proline in Osmotolerance Revealed in Antisense Transgenic Plants, JIRSAC Newsletter, 27.
- Yamaguchi-Shinozaki, K., Kasuga, M., Liu, Q., Nakashima, K., Sakuma, Y., Abe, H., Shinwari, Z.K., Seki, M., Shinozaki, K., 2002. Biological Mechanisms of Drought Stres Response, JIRCAS Working Report, 1-8.
- Yancey, P.H., 1994. Compatible ve counteracting solutes, In Strange, K., ed., Cellular ve Molecular Physiology of Cell Volume Regulation, CRC Press, Boca Raton., 81-109.
- Yordanov, I., Vekilova, V., Tsoyev, T., 2000. Plant Responses to Drought, Acclimation ve Stres Tolerance, Photosynthetica, 38, 171-186.
- Zeybek, N., Zeybek, U., 1994. Farmasötik Botanik, 2. Baskı, Ege Univ. Eczacılık Fak. Yayınları, Bornova, İzmir.

- Yamaguchi-Shinozaki, K., 2001. Biological Functions of Proline in Osmotolerance Revealed in Antisense Transgenic Plants, JIRSAC Newsletter, 27.
- Yamaguchi-Shinozaki, K., Kasuga, M., Liu, Q., Nakashima, K., Sakuma, Y., Abe, H., Shinwari, Z.K., Seki, M., Shinozaki, K., 2002. Biological Mechanisms of Drought Stres Response, JIRCAS Working Report, 1-8.
- Yancey, P.H., 1994. Compatible ve counteracting solutes, In Strange, K., ed., Cellular ve Molecular Physiology of Cell Volume Regulation, CRC Press, Boca Raton., 81-109.
- Yordanov, I., Vekilova, V., Tsovev, T., 2000. Plant Responses to Drought, Acclimation ve Stres Tolerance, Photosynthetica, 38, 171-186.
- Zeybek, N., Zeybek, U., 1994. Farmasötik Botanik, 2. Baskı, Ege Univ. Eczacılık Fak. Yayınları, Bornova, İzmir.

ÖZGEÇMİŞ

01-09-1978 tarihinde Trabzon'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Trabzon'da tamamladıktan sonra, 1996-1997 eğitim öğretim yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazandı. 2000 yılında bu bölümde mezun oldu. Aynı yıl Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Prof. Dr. Asım KADIOĞLU danışmalığında yüksek lisans öğrenimine başladı. 21-12-2001 tarihinden itibaren Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde Araştırma Görevlisi olarak hizmet vermektedir.

Aykut SAĞLAM