

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KURAKLIĞA HASSAS VE DAYANIKLI MISIR ÇEŞİTLERİNDE ALFA
LİPOİK ASİT ÖN MUAMELESİNİN KURAKLIK TOLERANSI ÜZERİNE
ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Funda Gül GÜVEN

KASIM 2013

TRABZON

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**KURAKLIĞA HASSAS VE DAYANIKLI MISIR ÇEŞİTLERİNDE ALFA
LİPOİK ASİT ÖN MUAMELESİNİN KURAKLIK TOLERANSI ÜZERİNE
ETKİSİ**

Funda Gül GÜVEN

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nce
“YÜKSEK LİSANS (BİYOLOJİ)”
Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 12/11/2013
Tezin Savunma Tarihi : 27/11/2013**

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Asım Kadioğlu

Trabzon 2013

Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalında

Funda Gül GÜVEN tarafından hazırlanan

**KURAKLIĞA HASSAS VE DAYANIKLI MISIR ÇEŞİTLERİNDE ALFA
LİPOİK ASİT ÖN MUAMELESİNİN KURAKLIK TOLERANSI ÜZERİNE
ETKİSİ**

**başlıklı bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulunun 12/11/2013 gün ve 1529 sayılı
kararıyla oluşturulan jüri tarafından yapılan sınavda**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan : Prof. Dr. Asım KADIOĞLU

Üye : Doç. Dr. Rabiye TERZİ

Üye : Yrd. Doç. Dr. Aykut SAĞLAM

Prof. Dr. Sadettin KORKMAZ

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

“Kuraklığa hassas ve dayanıklı mısır çeşitlerinde Alfa Lipoik Asit ön muamelesinin kuraklık toleransı üzerine etkisi” adlı bu çalışma, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı’nda “Yüksek Lisans Tezi” olarak hazırlanmıştır ve KTÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyonu Birimi tarafından 8922 proje kod numarasıyla desteklenmiştir.

Yüksek Lisans tez danışmanlığımı üstlenerek, gerek konu seçimi gerekse çalışmaların yürütülmesi ve değerlendirilmesi sırasında ilgi ve yardımlarını esirgemeyen sayın hocam Prof. Dr. Asım KADIOĞLU’na, çalışmam boyunca değerli fikirlerini ve yardımlarını benden esirgemeyen ve imkânları doğrultusunda her konuda yanımda bulunan sayın Doç. Dr. Rabiye TERZİ’ye ve Doç. Dr. Neslihan SARUHAN’a teşekkürü bir borç bilirim.

Laboratuar çalışmalarım boyunca yardımını ve desteğini esirgemeyen, her zaman sabırla bana yardımcı olan, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Aykut SAĞLAM’a şükranlarımı sunarım.

Hayatımın her anında moral desteğiyle her zaman yanımda olan, bana her zaman inanan ve varlıkları ile her zaman güç veren, desteklerini hep arkamda hissettiğim sevgili aileme ve tez yazımında desteğini hep yanımda bulduğum Zeynep ERBAŞ’a sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Funda Gül GÜVEN

Trabzon 2013

TEZ BEYANNAMESİ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Kuraklığa hassas ve dayanıklı mısır çeşitlerinde Alfa Lipoik Asit ön muamelesinin kuraklık toleransı üzerine etkisi” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Prof. Dr. Asım Kadioğlu'nun sorumluluğunda tamamladığımı, verileri kendim topladığımı, deneyleri ilgili laboratuarlarda yaptığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.
12/11/2013

Funda Gül GÜVEN

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ	III
TEZ BEYANNAMESİ	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET	VIII
SUMMARY	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XI
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş	1
1.2. Stres ve Stres Çeşitleri	3
1.3. Kuraklık ve Kuraklık Stresi	5
1.4. Bitkilerde Kuraklık Stresinin Etkileri.....	7
1.4.1. Oksidatif Etki	7
1.4.1.1. Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂).....	8
1.4.2. Mekanik Etki.....	8
1.4.3. Metabolik Etki.....	9
1.4.4. Kuraklığın Antioksidan Sistem Üzerine Etkisi	9
1.4.4.1. Antioksidan Enzimler	10
1.4.4.1.1. Peroksidaz (GPX).....	10
1.4.4.1.2. Askorbat Peroksidaz (APX).....	11
1.4.4.1.3. Süperoksit Dismutaz (SOD).....	11
1.4.4.1.4. Katalaz (CAT)	12
1.4.4.1.5. Glutasyon Redüktaz (GR)	13
1.4.4.1.6. Monodehidroaskorbat Redüktaz (MDHAR).....	13
1.4.5. Yaprak Su Potansiyeli	14
1.4.6. Nispi Su İçeriği (NSİ).....	15
1.4.7. Bitki Kuru Ağırlığı	16
1.4.8. Lipid Peroksidasyonu.....	16

1.5.	Mısır Hakkında Genel Bilgiler	17
2.	YAPILAN ÇALIŞMALAR	19
2.1.	Materyalin Sağlanması, Stres ve ALA Muamelesi	19
2.2.	Yaprak Su Potansiyelinin Belirlenmesi	19
2.3.	Nispi Su İçeriği Tayini (NSİ).....	20
2.4.	Yapraklarda Kuru Ağırlık Tayini	20
2.5.	Lipid Peroksidasyonu Tayini	20
2.6.	Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Tayini	21
2.6.1.	Enzimler İçin Ekstrakt Hazırlanması.....	21
2.6.2.	Guaiakol Peroksidaz (GPX) Aktivitesinin Tayini.....	21
2.6.3.	Katalaz (CAT) Aktivitesinin Tayini	21
2.6.4.	Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Tayini	21
2.6.5.	Askorbat Peroksidaz (APX) Aktivitesinin Tayini.....	22
2.6.6.	Glutasyon Redüktaz (GR) Aktivitesinin Tayini	22
2.6.7.	Monodehidroaskorbat Redüktaz (MDHAR) Aktivitesinin Tayini.....	22
2.7.	Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂) İçeriğinin Belirlenmesi	23
2.8.	İstatistik Analizler	23
3.	BULGULAR	24
3.1.	Alfa Lipoik Asit (ALA) Ön Muamelesinin Yaprak Su Potansiyeli Üzerine Etkisi	24
3.2.	Alfa Lipoik Asit (ALA) Ön Muamelesinin Nispi Su İçeriği Üzerine Etkisi	25
3.3.	Alfa Lipoik Asit (ALA) Ön Muamelesinin Kuru Ağırlık Üzerine Etkisi	26
3.4.	Alfa Lipoik Asit (ALA) Ön Muamelesinin Lipid Peroksidasyonu Üzerine Etkisi	27
3.5.	Alfa Lipoik Asit (ALA) Ön Muamelesinin İçsel H ₂ O ₂ İçeriği Üzerine Etkisi	28
3.6.	Alfa Lipoik Asit (ALA) Ön Muamelesinin Süperoksit Dismutaz Aktivitesi (SOD) Üzerine Etkisi	29
3.7.	Alfa Lipoik Asit (ALA) Ön Muamelesinin Katalaz Aktivitesi (CAT) Üzerine Etkisi	30

3.8.	Alfa Lipoik Asit (ALA) Ön Muamelesinin Guaiakol Peroksidaz Aktivitesi (GPX) Üzerine Etkisi	31
3.9.	Alfa Lipoik Asit (ALA) Ön Muamelesinin Askorbat Peroksidaz Aktivitesi (APX) Üzerine Etkisi	32
3.10.	Alfa Lipoik Asit (ALA) Ön Muamelesinin Glutatyon Redüktaz (GR) Üzerine Etkisi	33
3.11.	Alfa Lipoik Asit (ALA) Ön Muamelesinin Monodehidroaskorbat Redüktaz (MDHAR) Üzerine Etkisi	34
4.	TARTIŞMA	36
5.	SONUÇLAR	41
6.	ÖNERİLER.....	42
7.	KAYNAKLAR.....	43
ÖZGEÇMİŞ		

Yüksek Lisans

ÖZET

KURAKLIĞA HASSAS VE DAYANIKLI MISIR ÇEŞİTLERİNDE ALFA LİPOİK ASİT ÖN MUAMELESİNİN KURAKLIK TOLERANSI ÜZERİNE ETKİSİ

Funda Gül GÜVEN

Karadeniz Teknik Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Asım KADIOĞLU
2013, 54 Sayfa

Kuraklığa maruz bırakılan iki farklı mısır (*Zea mays* L.) çeşidinde (Akpınar; hassas ve Helen; dayanıklı), Alfa Lipoik Asit (ALA) ön muamelesinin yaprak su potansiyeli, nispi su içeriği, kuru ağırlık, lipid peroksidasyonu, hidrojen peroksit içeriği (H_2O_2), guaiakol peroksidaz (GPX), catalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (APX), glutatyon redüktaz (GR), monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR) gibi antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkisi araştırıldı.

Yapılan analizler sonucunda, kuraklık stresinin lipid peroksidasyonunu, hidrojen peroksit içeriğini, SOD, GPX, APX ve GR aktivitelerini arttırdığı, yaprak su potansiyelini, nispi su içeriğini, yaprak kuru ağırlığını azalttığı belirlendi. Kuraklık stresi altında ALA ön uygulamasının, lipid peroksidasyonunu ve H_2O_2 içeriğini azalttığı, SOD, GPX, MDHAR ve GR aktivitelerini artırdığı, yaprak su potansiyeli, nispi su içeriği ve yaprak kuru ağırlığındaki azalmayı engellediği bulundu.

Elde edilen verilere göre, ön ALA uygulaması ile kuraklık stresinin olumsuz etkisinin azaltılabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Alfa Lipoik Asit (ALA), Antioksidan sistem, Kuraklık stresi, Mısır (*Zea mays* L.)

Master Thesis

SUMMARY

EFFECT OF ALPHA LİPOİC ACID PRE-TREATMENT ON DROUGHT TOLERANCE
IN DROUGHT-SENSITIVE AND DROUGHT-RESISTANT MAIZE GENOTYPES

Funda Gül GÜVEN

Karadeniz Technical University
The Graduate School of Natural and Applied Sciences
Biology Graduate Program
Supervisor: Prof. Dr. Asım KADIOĞLU
2013, 54 Pages

Alpha lipoic acid (ALA) pre-treatment has been applied to two different genotypes of (Akpınar and Helen) maize (*Zea mays* L.) plant which were exposed to drought stress. Leaf relative water content, dry weight, leaf water potential, lipid peroxidation, hydrogen peroxide content (H₂O₂), guaiacol peroxidase (GPX), catalaz (CAT), süperoxide dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX), glutathione reductase (GR), monodehydroascorbate reductase (MDHAR) activities have been spectrophotometricly investigated.

After the analysis it has been determined that drought stress increased lipid peroxidation, hydrogen peroxide content, SOD, GPX, APX and GR activities and decreased leaf water potential, relative water content and leaf dry weight. It has been determined that ALA pre-treatment averted increase of lipid peroxidation, hydrogen peroxide content, induced SOD GPX, MDHAR and GR activities, and retarded to decrease of leaf water potential, relative water content and leaf dry weight under drought stress. It has been concluded that negative effect of drought stress can be alleviated by ALA pre-treatment.

Key Words: Alpha lipoic acid (ALA), Antioxidant system, Drought stress, Maize (*Zea mays* L.).

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1.	Başlıca çevresel stres tipleri	4
Şekil 2.	ALA ön muamelesinin yaprak su potansiyeli üzerine etkisi	24
Şekil 3.	ALA ön muamelesinin nispi su içeriği üzerine etkisi.	25
Şekil 4.	ALA ön muamelesinin yaprak kuru ağırlığı üzerine etkisi	26
Şekil 5.	ALA ön muamelesinin lipid peroksidasyonu üzerine etkisi	28
Şekil 6.	ALA ön muamelesinin içsel H ₂ O ₂ içeriği üzerine etkisi	29
Şekil 7.	ALA ön muamelesinin süperoksit dismutaz aktivitesi üzerine etkisi	30
Şekil 8.	ALA ön muamelesinin katalaz aktivitesi üzerine etkisi	31
Şekil 9.	ALA ön muamelesinin guaiakol peroksidaz aktivitesi üzerine etkisi	32
Şekil 10.	ALA ön muamelesinin askorbat peroksidaz aktivitesi üzerine etkisi	33
Şekil 11.	ALA ön muamelesinin glutatyon redüktaz aktivitesi üzerine etkisi	34
Şekil 12.	ALA ön muamelesinin monodehidroaskorbat redüktaz aktivitesi üzerine etkisi.....	35

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

APX	: Askorbat peroksidaz
CAT	: Katalaz
GPX	: Guaiakol peroksidaz
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
PEG	: Polietilen glikol
SOD	: Süperoksit dismutaz
NO	: Nitrik oksit
ALA	: Alfa lipoik asit
DHLA	: Dihidrolipoik asit
POD	: Peroksidaz
GR	: Glutasyon redüktaz
MDHAR	: Monodehidroaskorbat redüktaz
NSİ	: Nispi su içeriği
MDA	: Malondialdehid

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Bitkilerde stres, bitkilerin yaşadığı ortamda bir veya birden fazla etkenin, büyüme ve gelişmeyi olumsuz yönde etkileyerek, verim düşüklüğü ile sonuçlanan bir dizi gerileme nedeni olarak algılanır. Bitkiler yaşam süreçleri içerisinde değişik stres koşulları ile karşılaşır. Stres altında yetişen bitkilerin gelişmeleri, metabolizmaları ve verimleri önemli ölçüde olumsuz etkilenir. Stres faktörleri biyotik (patojen, diğer organizmalarla rekabet vb.) ve abiyotik (kuraklık, tuzluluk, radyasyon, yüksek sıcaklık vb.) olmak üzere ikiye ayrılırlar. Biyotik ve abiyotik stresler bitkilerde önemli fizyolojik ve metabolik değişimlere yol açarlar (Lawlor, 2002). Tüm bu stresler bitkilerin ürünlerinde nitelik ve nicelik kaybı yaşamasına (ürün kalitesinin ve miktarının azalmasına), bitkinin veya organlarının ölümüne yol açabilmektedirler (Drake vd., 1997).

Abiyotik stresler içinde kuraklık stresi % 26'lık payıyla en büyük dilimi içermektedir (Kalefetoğlu ve Ekmekçi,2005). Kuraklık stresi, bitkilerde belirli bir süre içerisinde yitirilen su miktarının çevreden alınan su miktarından fazla olması durumunda oluşmaktadır. Giderek azalan tarım alanlarında, strese yol açan olumsuz çevre koşullarına karşı bitkilerde tolerans geliştirmek bitkisel üretimde verimliliği sürdürmek açısından önemlidir (Pugnaire vd., 1994). Bunu başarmanın yolu ise genetik modifikasyonlar veya kimyasal muamelelerdir (Ejaz vd., 2012). Bitki üretimi stratejisi ve genetik mühendisliği yöntemiyle toleranslı çeşitlerin elde edilmesi uzun zaman alan kompleks işlemlerdir ve çoğu kez başarı sınırlıdır. Bitki büyüme düzenleyicilerinin uygulanması tekniği ise tolerans geliştirmede etkili ve basit bir tekniktir. Dıştan bitki büyüme düzenleyicilerinin yanı sıra, enzimatik olmayan antioksidan uygulamaları kuraklık stresinin bitki büyümesi ve verimi üzerine olumsuz etkilerini azaltmak için başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (Dolatabadian vd., 2009).

Son yıllarda askorbat ve glutatyon gibi enzimatik olmayan antioksidan bileşiklerin dışarıdan bitkilere uygulanması ile stresin etkilerini azaltmaya yönelik çalışmalar artmaktadır. Örneğin kuraklık stresi altındaki ayçiçeği bitkisine uygulanan askorbik asit, bitkinin strese olan direncini arttırmış ve stresin bitkiler üzerine olan olumsuz etkisini azaltmıştır (Ebrahimian ve Bybordi, 2012). Benzer şekilde, bir antioksidan bileşik olan

prolinin kuraklık stresi altındaki mısır fideleri üzerindeki olumsuz stres etkilerini iyileştirdiği bildirilmiştir (Ali vd., 2007). *Arabidopsis thaliana*'da yapılan bir çalışmada ise dışarıdan glutasyon uygulanan bitkilerin, kuraklık stresine daha toleranslı olduğu kaydedilmiştir (Chen vd., 2012).

Canlılarda birçok antioksidan bileşiğin varlığı bilinmektedir. Bunlardan biri olan alfa lipoik asit (ALA), vitamin benzeri bir antioksidan olarak kullanılan insan sağlığı için yararlı bir bileşiktir. Bakterilerden insana kadar, organizmalardaki enerji metabolizmasında rol oynayan bir kofaktör olan ALA, bitkilerde solunum ve dolaylı olarak karbon fiksasyonu ve azot asimilasyonunda rol oynaması bakımından önemlidir (Taylor vd., 2004). Kofaktör olan ALA'nın nörolojik hastalıklarda kullanıldığı ve güçlü bir beyin koruyucusu olduğu saptanmıştır. ALA'nın insanda yaşlanmaya karşı etkili olduğu, şeker hastalarında ise proteinlere bağlanarak proteinlerin şekerlenmesini engellediği ortaya konmuştur.

Alfa lipoik asit, diğer antioksidanlardan farklı olarak hem indirgenmiş (dihidrolipoik asit, DHLA) hem de yükseltgenmiş (lipoik asit) formda antioksidan özelliğini koruyabilen bir bileşiktir (Navari-izzo ve Quartacci, 2001). Alfa lipoik asit ve DHLA bitkilerde antioksidan olarak dört farklı role sahiptir. Birinci rolü; süperoksit, hidroksil radikali, hipoklorik asit, peroksil radikali ve singlet oksijen gibi reaktif oksijen bileşiklerini (ROS) temizlemeleridir (Packer vd., 1995). İkinci rolü; organizma stres koşullarında glutasyon, askorbat, tokoferol, vitamin C ve vitamin E gibi antioksidanları kullandığında, yan ürünlerden antioksidanları tekrar oluşturabilmeleridir (Packer vd., 1997; Navari-izzo ve Quartacci, 2001). Üçüncü rolü; metaller ile şelat oluşturabilmeleridir. Dördüncüsü ise okside olmuş proteinleri de tekrar eski hallerine dönüştürebilmeleridir (Navari-izzo vd., 2001; 2002).

Dünyada mısır, buğday ve arpadan sonra üçüncü önemli besin kaynağıdır. Mısırın tanesinden elde edilen nişasta, glikoz ve mısırözü yağı da ekonomide ham madde açısından büyük önem taşımaktadır. Ayrıca ülkemizde mısır tarımı hayvansal protein üretimine büyük ölçüde katkıda bulunmaktadır. Ülkemizde buğday ve arpadan sonra özellikle Karadeniz Bölgesi'nde 600.000 hektar alanda mısır tarımı yapılmaktadır (Tanyolaç vd., 2007). Mısır, çeşitli şekillerde insan gıdası, hayvan yemi ve endüstri hammaddesi olarak kullanılan bir bitkidir. 2020 yılına kadar gelişmekte olan ülkelerde mısıra olan talebin buğday ve pirincin önüne geçmesi ve yıllık mısır ihtiyacının 837 milyon tona kadar artması beklenmektedir (Rosegrant vd., 2001). Artan ihtiyacın çoğu, mevcut işlenebilir

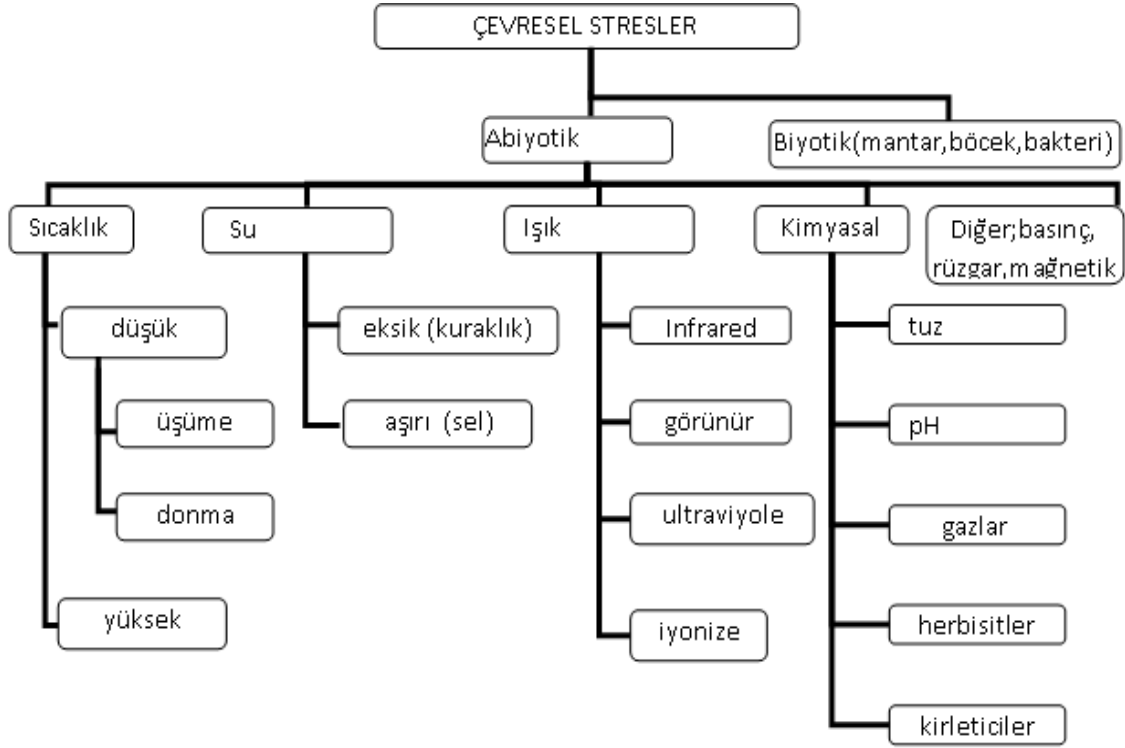
topraklardaki yoğunlaştırılmış üretim ile yerel kaynaklardan karşılanacaktır (Rosegrant ve Cline, 2003). Dünya sıcaklığının artış eğilimi ve bölgesel ya da mevsimsel aşırı iklim değişiklikleri göz önüne alındığında kuraklık stresine toleranslı mısır varyetelerinin geliştirilmesi önem kazanmıştır (Sağlam, 2011).

Yukarıda ifade edildiği gibi ALA'nın insanda birçok hastalık ve stres koşullarına karşı kullanıldığı bildirilmiştir. Bununla beraber yapılan literatür çalışmalarında, ALA'nın bitki gelişimi üzerine etkisi ve stres toleransındaki rolü konusunda herhangi bir kayıta rastlanmamıştır. Ayrıca literatür çalışmalarımızda, kuraklık koşullarındaki bitkilere dışarıdan antioksidan bileşiklerin uygulanarak antioksidan enzim aktivitesindeki değişimlerin incelendiği herhangi bir çalışma tespit edilememiştir. Bu nedenle mevcut araştırmada dışarıdan uygulanan ALA'nın mısır bitkisini kuraklık stresinden korumadaki rolü araştırılmıştır. Düşük konsantrasyonlarda insan sağlığına yararlı etkisi olan ALA'nın stres koşullarında iyileştirme sağlamak amacıyla tarımda kullanılma potansiyeli belirlenmeye çalışılmıştır. Bu amaçla ALA'nın kuraklığa dayanıklı ve hassas mısır çeşitlerinde antioksidan enzimlerin (süperoksit dismutaz, peroksidaz, katalaz, glutatyon redüktaz, askorbat ve glutatyon) aktivitesi, hidrojen peroksit seviyesi, lipid peroksidasyonu, nispi su içeriği, yaprak su potansiyeli ve bitki kuru ağırlığı üzerine etkisi incelenmiştir.

1.2. Stres ve Stres Çeşitleri

Canlılarda normal sistemin fonksiyonlarını inhibe etme eğiliminde olan ters etkiler ya da kuvvetler stres olarak tanımlanır (Kadioğlu, 2011). Diğer taraftan stres çoğunlukla, bitkiler üzerinde olumsuz etki oluşturan dışsal bir etmen olarak tanımlanmaktadır.

Bitkilerin maruz kaldığı başlıca çevresel stres faktörleri, biyotik ve abiyotik olmak üzere iki kısma ayrılabilir. Bu stres faktörleri Şekil 1'de özetlenmektedir.



Şekil 1. Başlıca çevresel stres tipleri

Bu çevresel stres tiplerinin etkileri birbiriyle ilişkilidir. Örneğin, yüksek sıcaklığa dayanıklılık, onunla birlikte meydana gelen kuraklık şartlarına dayanıklılığa bağlıdır. Diğer taraftan donmaya dayanıklılık, dokunun dehidrasyonuna dayanıklılığı ile önemli derecede bağlantılıdır (Hale ve Orcutt, 1987).

Stres etmenlerinin oluşturduğu zarar, bitkinin çevreye genetik adaptasyon derecesine bağlı olarak değişir. Bu olgu değişik bitkilerin farklı bölgelerde en iyi şekilde yetişmelerini belirleyen temel faktördür. Diğer taraftan, bir bitkinin bazı kısımları (tohumlar, tomurcuk ve dormant hücreler) strese dayanıklı iken, diğer kısımları (meristemler, sukkulent organlar ve fideler) duyarlı olabilir. Ayrıca bitkiler yaşamak zorunda oldukları çevreye kısmen veya tamamen uyabilme özelliğine sahiptirler (Bidwell, 1974). Bu, bitkilerin ortamdaki mevcut streslere dayanıklılık veya hassaslık özelliklerine bağlıdır.

Strese dayanıklılık mekanizması bitkilerde iki şekilde etkili olmaktadır. Bitkiler ya geliştirdikleri önleyici mekanizmalarla stres faktörlerinin etkinliğini önlemekte (sakınma) ya da tolerans mekanizmalarıyla karşı koymakta ve yaşamlarını sürdürmektedirler (URL-1, 2013). Sakınma, dış çevrede stres oluşturabilecek koşullar olmasına rağmen bitkinin, hücrelerini stres altına sokmayan bir iç ortam hazırlamasıdır. Diğer bir deyişle bitkinin

dıştan gelen olumsuz faktörlerin etkisini stres oluşturmada önleme yeteneğidir (Street ve Öpik, 1984). Çoğu bitkilerde çeşitli kuraklık sakınma mekanizmaları gelişmiştir. Örneğin, kserofit bitkilerde su kaybını azaltan yaprak kıvrılması, yüzey tüyleri, alt durumlu stoma ve benzer mekanizmalar bulunur. Benzer şekilde kaktüs bitkisi, su stresi esnasında hücre içindeki su miktarını koruyarak kuraklıktan sakınabilir (Bidwell, 1974). Tolerans ise dıştan uygulanan bir strese canlının dayanabilme yeteneğidir. Eğer bir bitki stres sonucu oluşan hasarları azaltabilme veya hiç hasar oluşturmama özelliğinde ise bu durum tolerans olarak adlandırılır (Street ve Öpik, 1984). Kuraklık toleransına sahip bitkilerin protoplazması su kaybettiği zaman yeniden su alana kadar hayatsal faaliyetlerine devam edebilmesi ise tolerans mekanizmasına bir örnektir. (Hopkins, 1995).

Stres altındaki bitkiler üzerinde çalışma yapılmasının iki önemli nedeni vardır. Birincisi, bitkilerin strese karşı reaksiyon mekanizmasının öğrenilmesidir. İkincisi ise tarımsal alanlarda stres altında bulunan bitkilerin söz konusu streslere dayanma yeteneklerinin ölçülmesi ve dolayısıyla daha verimli ürün elde edilmesidir. Bilindiği gibi dünya topraklarının % 10'undan daha azı tarıma elverişlidir. Bu nedenle aşırı olumsuz şartlardan kaynaklanan streslere dayanabilen ya da bu stresleri tolere edebilen bitkiler yetiştirmeye ihtiyaç vardır. Daha dayanıklı ve toleranslı bitkiler yetiştirmek için strese dayanıklılık ve tolerans mekanizmalarının bilinmesi gerekir.

1.3. Kuraklık ve Kuraklık Stresi

Kuraklık genel anlamda meteorolojik bir olgu olup, toprağın su içeriği ile bitki gelişiminde gözle görülür azalmaya neden olacak kadar uzun süren yağışsız dönem için kullanılan bir terimdir. Yağışsız dönemin kuraklık oluşturması; toprağın su tutma kapasitesi ve bitkiler tarafından gerçekleştirilen buharlaşma veya transpirasyon hızına bağlı olarak gerçekleşir (Jones, 1992; Kozlowski ve Pallardy, 1997).

Kuraklık stresi büyümeyi ve verimi etkileyen en yaygın çevresel streslerden biri olup bitkilerde birçok fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler cevabı oluşturmaktadır. Buna bağlı olarak bitkiler, sınırlı çevresel koşullara adapte olmayı sağlayacak bazı tolerans mekanizmaları geliştirirler (Arora ve Mohan, 2002). Kramer (1980)'e göre bu mekanizmalar kuraklıktan sakınma ve kuraklığa tolerans gösterme olmak üzere iki ana başlık altında incelenebilir. Çoğu bitkide çeşitli kuraklık sakınma mekanizmaları gelişmiştir. Stresten sakınma mekanizmalarından ilki çöl bitkilerinde görülür. Örneğin,

çölde kısa ömürlü olan bitkiler yeterli yağmur periyodu sırasında büyür ve ürerler. Kuraklık periyodunda ise dormant tohumlar meydana getirirler. Diğer bir sakınma mekanizması sukkulent bitkilerde görülür. Bu bitkiler kuraklığa karşı sukkulent dokularında su depolayarak su kaybını en az oranda tutarlar ve böylece uzun bir süre canlılıklarını sürdürebilirler (Salisbury ve Ross, 1992). Örneğin herdem yeşil çöl bitkileri kuraklık periyodu boyunca dokularındaki turgoru devam ettirebilmek için suda çözünebilir maddeleri biriktirerek kuraklıktan sakınırlar (Mundree vd., 2002). Diğer taraftan, bitkisel organlar arasında stresten en çok etkilenen organlardan birisi yapraklar olup, özel çevre koşullarına adapte olmak için bir takım metamorfozlar geçirirler. Örneğin, kurak ortam bitkileri ışık etkisinden korunmak ve su kaybını engellemek için yaprak yüzeyinde tüy, kütikula ve stoma modifikasyonları gibi özel yapılar geliştirirler.

Stresten sakınan bitkiler yalnızca orta şiddetteki kuraklık stresi durumunda hayatta kalırken strese toleranslı bitkilerde ise çok daha şiddetli kuraklık stresi durumunda hayatta kalabilirler. Kuraklığa toleranslı bitkiler dehidrasyonu erteleyenler ve dehidrasyona tolerans gösterenler olmak üzere iki gruba ayrılırlar (Kramer, 1980). Dehidrasyonun ertelenmesi transpirasyonu azaltan veya su absorpsiyonunu artıran mekanizmalar ile sağlanır. Böylece bitkinin zarar oluşturacak derecede düşük su potansiyeline ulaşması önlenir. Dehidrasyon toleransı ise hücreler su hasarına ve düşük su potansiyeline maruz bırakıldıktan sonra bitkinin canlılığını devam ettiren veya büyüten mekanizmaları içerir. Su hasarı artarsa hücreler turgor durumlarını kaybederler ve böylece hücrelerin büyümesi sınırlandırılır. Ayrıca, hücreler içsel osmotik potansiyellerini ayarlayarak da hücre büyüme ve gelişmesini düzenlerler (Hasegawa vd., 1984).

Kuraklık stresine karşı tolerans mekanizmalarından biri de osmotik ayarlamadır (Kramer, 1980). Kuraklık stresinin bir sonucu olarak bitkiler, osmolitler olarak bilinen ve turgorun devamını sağlayan maddeleri biriktirirler. Osmotik ayarlama, kuraklık sonucu turgor özelliğini kaybeden bitki hücrelerinin, sakınma mekanizmalarının yokluğunda turgoru yeniden kazanmaları ve büyümeyi devam ettirebilmeleri için başvurdukları bir yoldur (Handa vd., 1983). İndirgen şekerler, prolin, betainler, trehaloz, K^+ , fruktanlar, osmotik ayarlama sağlamak için bitkiler tarafından sentezlenirler (Hasegawa vd., 1984; Smirnof, 1998). Yapılan araştırmalar, osmotik ayarlamasının bitkinin türüne, yaşına, stresin derecesine, çevresel şartlara ve strese maruz kalan bölgeye bağlı olduğunu göstermiştir (Ackerson vd., 1980; Turner vd., 1986). Osmotik ayarlama, stomaların açık tutulması

(Turner vd., 1978; Ackerson vd., 1980; Ludlow vd., 1985) ve fotosentezin devam etmesine (Ackerson vd., 1980) katkı sağlar.

1.4. Bitkilerde Kuraklık Stresinin Etkileri

1.4.1. Oksidatif Etki

Bitkilerdeki oksidatif etki serbest radikallerin özellikle reaktif oksijen türlerinin oluşumunu içerir. Serbest radikaller eşleşmemiş elektron içeren moleküller olup oldukça reaktiftirler. Her türden kimyasal ve biyokimyasal tepkime daima atomların dış orbitallerindeki elektronlar sayesinde gerçekleşir. Dış orbitallerde paylaşılmamış elektron bulunması serbest radikallerin reaktivitesini arttırdığı için, serbest radikaller kimyasal aktifliği yüksek moleküllerdir. Bu radikaller plazma membranı, mitokondri ve ER membranlarında da oluşabilir (McKersie ve Lehsem, 1994). Bununla birlikte, suyun kısıtlı olduğu durumlarda, bitki daha fazla su kaybetmemek için, genellikle stomalarını kapatır. Bu durum fotosentez için gerekli CO₂'nin alınımının kısıtlanmasına neden olur ve böylece fotosentetik kuantum verimi azalır. Bu nedenle fotosentezdeki elektron akseptörü NADP⁺ kısıtlı hale gelir ve ferrodoksin NADP yerine oksijeni redükler ve PS I'in elektronları O₂'ye transferi sonucunda reaktif süperoksit radikali (O₂⁻), üretilir (Mehler reaksiyonu) (Tambussi vd., 2000). Birçok türde kuraklık stresi altında artan süperoksit üretim hızı lipid peroksidasyonuna, yağ asidi doygunluğuna ve sonuç olarak membranların bütünüyle zarar görmesine neden olur (Sgherri vd., 1996). Süperoksit tek başına çok fazla reaktif olmayıp, H₂O₂ ve OH radikallerini oluşturmak suretiyle etkili olur (Halliwell ve Gutteridge, 1989). Süperoksit ve hidrojen peroksitin hidroksil radikalini oluşturmak üzere tepkimesi sırasında (Haber-Weiss reaksiyonu), artan demir ya da bakır gibi diğer geçiş metalleri, bu reaksiyonları hızlandırmak suretiyle oksidatif hasarı daha da artırabilir (Fenton reaksiyonu) (Smirnoff, 1993). Serbest radikaller, hem indirgen hem de yükseltgen olarak bazen de her iki etkiyi birlikte göstererek hücre hasarına neden olurlar. Serbest radikallerin DNA, hücresel proteinler ve lipidler üzerinde de zararlı etkileri vardır.

Serbest oksijen radikalleri genellikle hidroksil, hidrojen peroksit, singlet oksijen, peroksit radikallerinden oluşur. Bu radikallerin yarılanma ömürleri birkaç mili saniye ile dakikalar hatta saatler arasında değişebilmektedir.

1.4.1.1. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit, oksijenin enzimatik olarak iki elektron ile indirgenmesiyle ya da süperoksitlerin enzimatik veya enzimatik olmayan dismutasyon tepkimeleri sonucu oluşur. Süperoksitin olduğu yerlerde önemli miktarda H_2O_2 de üretilir. Fotosentetik elektron transport zinciri H_2O_2 'nin üretiminden sorumludur. H_2O_2 'nin üretildiği başka bir kaynak fotorespirasyonla glikolatın oksidasyonunun meydana geldiği peroksizomlardır. Ayrıca biyokimyasal olarak oksijenin iki elektronlu indirgenmesinin gerçekleştiği solunum işlemleri sırasında ve genellikle flavoproteinlerle gerçekleştirilen reaksiyonlarla da oluşturulur. Diğer taraftan plazma membranı ve ekstrasellular matriks H_2O_2 'nin üretildiği diğer önemli kaynaklardır (Slesak vd., 2007). H_2O_2 'nin oksitleyici bir tür olarak bilinmesinin nedeni demir ve bakır gibi metal iyonlarının varlığında hidroksil radikalinin öncülü olarak davranmasıdır. H_2O_2 özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturur. Bu formdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilir. Oksitleyici özelliği nedeniyle biyolojik sistemlerde oluşan H_2O_2 'nin ortamdan uzaklaştırılması gerekir. Bu görevi hücrelerdeki önemli antioksidan enzimler olan katalaz ve peroksidaz yerine getirir (Halliwell, 1984).

1.4.2. Mekanik Etki

Bitki hücrelerinden belirgin bir su kaybı gerçekleştiği zaman bitkide turgor azalmasıyla kendini gösteren birincil stresir (Lewitt, 1980). Plazma membranının yapısı hücredeki sulu ortamın bir sonucudur. Bu yapı membrandaki hidrofobik fosfolipid kuyrukların su tarafından itilmesiyle oluşur (sıvı-katı faz). Hücreden su kaybıyla beraber, membran yapısı değişikliğe uğrar; fosfolipidlerin hidrofilik baş kısımları birbirine yaklaşır ve membranlar kompakt bir görüntü alır (Jel fazı). Bu yeni yapıda membran lipidleri sıvı-katı fazında olduğundan daha az kinetik enerji ile lateral ve rotasyonel harekete sahiptir. Su kaybına bağlı olarak hücre hacmi de azalır ve plazma membranı hücre çeperinden ayrılarak plazmodesmalar aracılığıyla ilişkisini sürdürür. Gerilim altındaki plazma membranı ve tonoplastta gerçekleşen çökme, yırtılmalara yol açabilir (McKersie ve Lehsem, 1994) ve bu durum, zarlar üzerinde yerleşmiş olan hidrolitik enzimlerin serbest kalması ve

dolayısıyla sitoplazmanın otolizi ile sonuçlanabilir (Salisbury ve Ross, 1992) Bu etki, normal hücrel metabolizmayı genelde kalıcı olarak bozar.

1.4.3. Metabolik Etki

Hücre içeriğinin büyük bir kısmını oluşturması, taşıyıcı olması, hücrel reaksiyonlar ve işlevler için çözücü rolü oynaması gibi fonksiyonel özelliklerinden dolayı suyun, hücreden kaybı durumunda, normal regülasyon devam edemez ve metabolizma bozulur. Su kaybına bağlı olarak gerçekleşen iyon birikimi, membran bütünlüğünün proteinlerinin yapısının bozulmasına yol açarak hücreye zarar verebilir. Su kaybı sonucunda, proteinlerin yapısında bulunan hidrofobik ve hidrofilik aminoasitlerin su ile etkileşimleri bozulur (Campbell, 1991) ve bu durum protein denatürasyonlarına neden olur (Bray, 1997; Kalefetoğlu ve Ekmekçi, 2005). Proteinlerin parçalanmasıyla dokularda aminoasitler birikir ve enzim inhibisyonları ortaya çıkar. En önemlisi NH_3 gibi toksik bir bileşik ortaya çıkar. NH_3 bitkide metabolik dengenin bozulmasına neden olduğu gibi suyun yukarı doğru taşınmasına da engel olarak iki yönlü zarar verir. Kuraklık stresi sırasında hasar gören diğer yapılar DNA ve RNA gibi nükleik asitlerdir. Kessler (1961)'e göre kuraklık stresine maruz kalmış olan bitkilerde RNAaz aktivitesi artmakta ve bu da enzimin bağlı durumundan serbest duruma geçmesinden kaynaklanmaktadır. Kuraklık stresi altında bitkilerde hormonal dengelerde de bir takım değişiklikler meydana gelir. ABA miktarı artarken, sitokininlerin, GA'nın ve IAA'nın miktarları azalmaktadır (Çırak ve Esendal, 2006).

1.4.4. Kuraklığın Antioksidan Sistem Üzerine Etkisi

Antioksidan terimi, zararlı bir forma dönüşmeksizin reaktif oksijen türleri (ROS)'ni temizleyebilen bileşikler için kullanılmaktadır. Bitki dokuları stres koşullarında hücreleri ROS etkisinden korumak için, bazı enzimler (süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon redüktaz, peroksidazlar) ve düşük moleküler ağırlıklı antioksidanlar (glutatyon, askorbat, karotenoidler, tokoferoller) ihtiva ederler. Antioksidan enzimler koordineli bir şekilde ROS'ları temizlerler veya onları daha az toksik olan bileşiklere metabolize ederler. Bitkiler bütün hücre alt yapılarında antioksidan sisteme sahiptirler.

Yapılan literatür araştırmalarına göre kuraklık stresine maruz kalan bitkilerin, antioksidan savunma sistemlerinin bazılarının ya da tamamının aktivasyonu ile oksidatif stresin üstesinden geldikleri bildirilmiştir. (Srivalli vd., 2003; Jung, 2004; Pinheiro vd., 2004; Ramachandra vd., 2004).

1.4.4.1 Antioksidan Enzimler

1.4.4.1.1. Peroksidaz (GPX)

Peroksidazlar (POD, EC 1.11.1.17) bitkilerde yaygın olarak bulunan ve hem grubu ihtiva eden oksidaz grubu enzimlerdir. POD'lar çoklu moleküler formlara ve geniş bir hücre altı dağılımina sahiptirler. Bitki hücrelerinde POD esas olarak, hücre çeperinde, vakuollerde, membrana bağlı ribozomlarda ve bitki dokularının ekstrasellular alanlarında bulunurlar. Hücre çeperine bağlı olan peroksidazlar çözünebilir, iyonik bağlı ve kovalent bağlı formlarda mevcuttur. Peroksidazların birçok fizyolojik olayla ilişkili olduğu ve metabolizmada aktif bir rol oynadığı belirlenmiştir.

Bitki hücrelerindeki eperin uzama kabiliyeti, lignin biyosentezi ve oksin katabolizmasıyla ilişkisinin olmasının yanı sıra en önemli fonksiyonu H₂O₂'nin parçalanmasını katalizleyerek antioksidan savunma sistemine katkı sağlamalarıdır. Stres altındaki bitkilerde peroksidaz aktivitesinin arttığı bilinmektedir (Gaspar vd., 1991). Örneğin *Arabidopsis* bitkisinde yapılan bir çalışmada kuraklık stresine maruz bırakılan bitkilerde peroksidaz aktivitesinin arttığı belirlenmiştir. Peroksidaz aktivitesi, dış kaynaklı sinyallere ve zor evre koşullarına cevap olarak hızlı bir şekilde değişebilir. Peroksidazlar hidrojen vericisi olarak birçok organik ve inorganik substratı kullanarak H₂O₂'yi temizlerler ve H⁺ vericisi olarak kullandıkları substrata göre isimlendirilirler. Guaiakol peroksidazlar guaiakole olan yüksek spesifikliklerine rağmen başka birçok substratı elektron vericisi olarak kullanabilirler.

Kuraklık stresi koşullarında mısır bitkisinde yapılan bir çalışmada guaiakol peroksidaz aktivitesinin arttığı kaydedilmiştir (Zhang vd., 1995). Benzer şekilde orta şiddette kuraklık stresine maruz bırakılan eltik bitkisinde guaiakol peroksidaz aktivitesinin kontrole göre arttığı, fakat ağır kuraklık koşullarında aktivitenin azaldığı belirlenmiştir (Sharma ve Dubey, 2005).

1.4.4.1.2. Askorbat Peroksidaz (APX)

Hidrojen peroksiti parçalarlarken substrat olarak askorbatı kullanan enzimler askorbat peroksidazlar (APX, EC 1.11.1.11) olarak adlandırılırlar. APX'lerin bitki hücrelerinin sitoplazma ve kloroplastlardaki H_2O_2 'nin temizlenmesinde etkili oldukları düşünülmektedir (Dalton vd., 1987; Asada, 1992). Bu enzimin kloroplastlarda tilakoid membrana bağlı ve stromada bulunan formları vardır (Chen ve Asada, 1989; Miyake ve Asada, 1992). Bu formlar elektron verici olarak askorbat için spesifik olup, askorbatın yokluğunda aşırı derecede kararsızdırlar (Miyake ve Asada, 1996). Askorbat peroksidazlar yaygın şekilde çalışılan guaiakol peroksidazlara benzemesine rağmen H^+ vericisi olarak askorbata olan yüksek spesifikliklerinden dolayı aralarında farklılıklar vardır (Nakano ve Asada, 1987). Sitoplazmada bulunan askorbat peroksidazlar, kloroplasttakine benzer ancak askorbat yokluğunda daha fazla kararlı olup askorbattan başka elektron vericilerini de kullanabilir.

Kuraklık stresine maruz kalan duyarlı buğday çeşitlerinde askorbat peroksidaz aktivitesinin uyarıldığı, toleranslı buğdayda ise sadece yüksek stres yoğunluğunda arttığı kaydedilmiştir (Sgherri vd., 2000). Benzer şekilde orta şiddetli kuraklık stresine maruz bırakılan çeltik bitkisinde artan askorbat peroksidaz aktivitesinin H_2O_2 'nin detoksifikasyonunda anahtar bir rol oynadığı kaydedilmiştir (Sharma ve Dubey, 2005).

1.4.4.1.3. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz (SOD, EC 1.15.1.1) süperoksit serbest radikalının hidrojen peroksit ve oksijene dönüşümünü katalizleyen bir enzimdir (Fridovich, 1986; Elstner, 1987). SOD, ilk kez Mann ve Kleilis (1938) tarafından izole edilmiş ve başlangıçta bir bakır depo proteini olduğu düşünülmüştür. Bu enzimin katalitik fonksiyonu keşfedilene kadar eritrokuprein, indofenol oksidaz ve tetrazolium oksidaz gibi isimlerle adlandırılmıştır. Canlı organizmalar SOD ile süperoksiti uzaklaştırır ve Haber-Weiss reaksiyonuyla hidroksil radikalının oluşum riskini azaltır. SOD, süperoksit anyonlarını uzaklaştırmasına rağmen toksik bir oksijen türevini (O_2^-) diğerine (H_2O_2) dönüştürür (Mehlhorn vd, 1996). Bu reaksiyon sonucu oluşan H_2O_2 , fotosentezin güçlü bir inhibitörüdür ve kloroplast fonksiyonu için risk oluşturur. Bu toksik ürün peroksidazlar tarafından temizlenebilir. SOD bütün aerobik organizmalarda ve aktifleşmiş oksijen üreten

bütün hücre alt yapılarında bulunduğu için oksidatif strese karşı savunmada merkezi bir rolünün olduğu düşünülmektedir (Bowler vd., 1992).

Yapılan çalışmalarda; SOD'ların ifadesindeki artışların biyotik ve abiyotik strese bağlı oluşan oksidatif stresle başa çıkmada ve bitkilerin stres koşulları altında canlılığı sürdürmesine katkı sağlamada önemli rolleri olduğu ileri sürülmüştür. *Morus alba* L. (dut), *Cicer arietinum* L. (nohut) ve *Lycopersicon esculentum* (domates) gibi birçok bitkide çeşitli stres koşulları altında gerçekleştirilen çalışmalarda SOD aktivitesinde artışlar meydana geldiği gözlenmiştir (Harinasut P vd., 2003, Attia H vd., 2009). Diğer taraftan SOD'un hücre membran proteinleriyle ilişkisi olduğu düşünülmektedir (Ogawa vd., 1997).

1.4.4.1.4. Katalaz (CAT)

Stres koşulları altında oluşan zararlı H_2O_2 'in H_2O ve O_2 'e direkt olarak dönüşümünü sağlayarak hücreleri strese karşı korumada görevli en önemli enzimatik antioksidanlardan biridir. Katalaz yüksek konsantrasyonlardaki H_2O_2 'nin iki elektronunu kullanarak su ve oksijene indirgenmesini katalizleyen, tetramerik demir porfirin içeren ve yüksek molekül ağırlığına sahip bir enzimdir. Aynı zamanda katalaz, düşük H_2O_2 konsantrasyonlarında alkoller, askorbat ve fenol içeren indirgenmiş substratları kullanarak peroksidatif aktivite gösterebilir (Chaudiere ve Ferrari-Iliou, 1999).

Katalaz kararlı bir enzim değildir. Yüksek ışık yoğunluğu ve stresli bitki hücrelerinde oluşan H_2O_2 'nin yüksek konsantrasyonlarıyla inhibe edilebilir (Feierabend vd., 1992; Streb vd., 1993). Siyanid, azid, süperoksit ve indirgenmiş glutatyon tarafından da katalaz aktivitesinin inhibe edildiği rapor edilmiştir (Fridovich, 1986). Ayrıca H_2O_2 'ye olan zayıf affinitesi bu enzimin etkinliğini kısıtlamaktadır (Foyer vd., 1994). Katalazın büyük bir kısmı, peroksizomlarda çok az miktarda da mitokondri matriksinde bulunur. Katalazın bitki dokusunda H_2O_2 'in uzaklaştırılmasında önemli rol oynadığı düşünülmektedir (Patykowski ve Urbanek, 2003). Katalazın temel fonksiyonu, moleküler oksijen mevcudiyetinde H_2O_2 'in ve ROOH gibi bir peroksitin radikalliğini gidererek özellikle membranlarda oluşturabilecekleri geri dönüşümsüz hasarları engellemektir (Chaudiere ve Ferrari-Iliou, 1999).

Yüksek bitkilerde tanımlanmış çok sayıda katalaz izozimi; *Hordeum vulgare*'de (arpa), *Helianthus annuus* L.'ta (ayçiçeği), *Brassica oleracea* L. 'da (karnabahar) ve *Zea mays* L.'da (mısır) çalışılmıştır. Elde edilen veriler neticesinde enzimin farklı stres

koşulları ve farklı bitkilerde değişik düzeylerde koruma sağladığı gözlenmiştir (Polle A. vd., 1992; Azevedo RA vd., 1998). Kuraklık stresinde yetiştirilen buğday çeşitlerinde yapılan bir çalışmada antioksidan enzimlerdeki değişimler araştırılmış ve katalaz enzim aktivitesinin önemli derecede arttığı bildirilmiştir (Sairam vd., 1998).

1.4.4.1.5. Glutasyon Redüktaz (GR)

Glutasyon redüktaz (GR, EC 1.6.4.2) elektron verici olarak NADPH'ı kullanan oksitlenmiş glutasyonun (GSSG), indirgenmesini (GSH) katalizleyen bir enzimdir (Scruton vd., 1990; Creissen vd., 1994). GR'nin hem prokaryotlarda hem de ökaryotlarda bulunduğu belirlenmiş olup (Creissen vd., 1994) ilk defa eritrositlerde ve mayalarda tespit edilmiştir (Meldrum ve Tarr, 1935). GR hem gimnospermler hem de angiospermlerin dahil olduğu birçok bitkide çalışılmıştır (Creissen vd., 1994). GSH'nin antioksidan özelliğinden dolayı, glutasyon redüktaz hücrenin antioksidan kapasitesinin devamlılığı için önemlidir (Meister, 1983; Creissen vd., 1994).

Glutasyon redüktaz, bitkilerin kuraklık, yüksek oksijen basıncı ve hava kirleticileri tarafından üretilen oksidatif stresin olumsuz etkilerinin düzeltilmesine ve strese karşı direnç sağlanmasına katkıda bulunur (Sairam vd., 1997). GR enzimi GSSG'yi GSH'a indirgerken, NADPH'ı kullanmakta ve böylece CO₂ fiksasyonu azaldığı zamanlarda, NADPH/NADP⁺ oranının ayarlanmasına yardımcı olmaktadır. Bu nedenle GR tarafından GSSG'nin GSH'a indirgenmesi, oksidan temizlenmesinde büyük bir adım olarak kabul edilmekte (Creissen vd., 1996) ve oksidatif strese karşı korunmada GR'nin önemli bir enzim olduğu düşünülmektedir (Aono vd., 1995). Nitekim, yapılan çeşitli çalışmalarda oksidatif stres durumunda bu enzim aktivitesinin arttığı kaydedilmiştir (Mehlhorn vd., 1987; Pastori ve Trippi, 1992; Edwards vd., 1994).

1.4.4.1.6. Monodehidroaskorbat Redüktaz (MDHAR)

Monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR, EC 1.6.5.4), bitkilerde ilk kez 1951 yılında bulunmasına rağmen (Matthews, 1951), bu enzimin izolasyonu ve karakterizasyonu son yıllarda yapılmıştır (Arrigoni vd., 1981; Kow, 1982a, 1982b; Hossain vd., 1984; Hossain ve Asada, 1984). MDHAR aktivitesi, askorbik oksidaz ve L-askorbik asit veya

askorbat peroksidaz ve L-askorbik asit gibi monodehidroaskorbat oluşumuna neden olan bir sistem varlığında NAD(P)H'nin oksidasyonu ile belirlenir. MDHAR'ın NADH'a olan ilgisi NADPH'a olandan iki kat daha fazladır (Hossain ve Asada, 1984; Sano vd., 1995) ve elektron vericisi olarak NADH'ı kullanır. MDHAR, NAD(P)H aracılığıyla monodehidroaskorbatın (MDHA) askorbata indirgenmesini katalizler (Hossain ve Asada, 1984).

Monodehidroaskorbat redüktaz, birçok bitkide, hayvanda, mantar, alg ve tek hücreli canlılarda bulunmuştur (Arrigoni vd., 1981; Hossain ve Asada, 1984). Bitkilerde kloroplastlarda (Hossain vd., 1984), glioksizomlarda (Bowditch ve Donaldson, 1990), peroksizomlarda (Jimenez vd., 1997), mitokondri ve sitozolde (Yamamuchi vd., 1984) bulunduğu belirlenmiştir. Kloroplastlardaki MDHAR, stromaya yerleşik olarak bulunur ve yapısı tilakoid membrana bağlı APX'e çok benzerlik gösterir.

Reaktif oksijen türlerini temizlemede ASC'nin antioksidan aktivitesinin sürmesi için MDHA'dan ASC'nin oluşumu önemlidir. MDHA, kendiliğinden ya da NAD(P)H'ı indirgeyici ajan olarak MDHAR tarafından askorbata indirgenir. Birçok enzim MDHA tarafından inaktive edilir. Bu yüzden hücrelerde MDA radikalinin düşük konsantrasyonlarda tutulması gereklidir. MDHAR, ASC üretmek için MDHA'nın indirgenmesini katalizleme kapasitesine sahip olan tek enzimdir.

Monodehidroaskorbat redüktaz'ın ROS'ları temizlemedeki anahtar rolüne ek olarak, bitki hücrelerinin uzaması ve hücre bölünmesinde, tohum çimlenmesinde rol oynadığı rapor edilmiştir. (Cakmak vd., 1993; Arrigoni, 1994). Su stresi altındaki bitkilerde MDHAR sentezinin artması, oksidatif stresin etkisini azaltmak için bitkinin gösterdiği temel cevaplardan biridir. Örneğin, yapılan çalışmalarda kuraklık stresi esnasında çeltik bitkisinde MDHAR aktivitesinin arttığı kaydedilmiştir (Sharma ve Dubey, 2005). Benzer şekilde kuraklık koşullarında bezelye (*Pisum sativum*) yapraklarının mitokondri ve peroksizomlarında MDHAR aktivitesinin oldukça yüksek olduğu rapor edilmiştir (Jimenez vd., 1997).

1.4.5. Yaprak Su Potansiyeli

Yaprak su potansiyeli, bitkinin içsel su durumunu tanımlayan ve kolaylıkla ölçülebilen bir parametredir. Stres ile ilgili çalışmalarda ve bitki-su ilişkilerinin incelendiği çalışmalarda, temel parametre olan yaprak su potansiyeli, bitkinin gelişmesini devam

ettirebildiği kritik su düzeyinin saptanmasında önemli bir özelliktir. Çünkü düşük yaprak su potansiyeli değerinde yaprak turgoritesinin devam etmesi, büyüme ve gelişmenin az da olsa gerçekleştiğini göstermektedir. Turgor potansiyelinin düzenlenememesi sonucu bu değerdeki azalma, yaprak su potansiyelinin düşmesine, dolayısıyla büyümenin durmasına neden olmaktadır (Kaynaş vd., 1995).

Büyüme periyodundaki mısır bitkisinde yaprak su potansiyelinin -0,6 ile -0,7 MPa'dan düşük olmaması gerektiği ileri sürülmüştür (Padurariu vd., 1969). Örneğin, şekerpancarında bu değer -0,5 MPa olarak kaydedilmiştir. Karnabahar bitkisinde de bakır stresi koşulları altında transpirasyon hızında ve su potansiyelinde önemli ölçüde azalma gözlenmiştir (Chatterjee ve Chatterjee, 2000). Grzesiak vd. (2007) tarafından mısır bitkileri ile yapılan çalışmada kuraklık stresi sonucunda yaprak su potansiyelinde azalma olduğu belirlenmiştir.

Benzer biçimde Guoth vd. (2009) buğday çeşitlerinde su potansiyelinin kuraklığa cevap olarak hızlı bir biçimde azaldığını gözlemişlerdir. Mısır bitkisinde su stresinin artmasıyla stoma iletkenliğinin, yaprak su potansiyelinin ve osmotik potansiyelin azaldığı ve stoma iletkenliği ile yaprak su potansiyeli ve osmotik potansiyel arasında pozitif bir korelasyonunun olduğu rapor edilmiştir (Premachandra vd., 1992). Benzer şekilde, *Olea europaea*'da kuraklığın stoma iletkenliğini ve yaprak su potansiyelini düşürdüğü ve stoma iletkenliği ile yaprak su potansiyeli arasında pozitif bir ilişkinin olduğu kaydedilmiştir (Giorio vd., 1999). Kurak koşullarda yetiştirilen nohut bitkisi üzerine dönemsel kuraklığın etkilerini belirlemek için yapılan bir çalışmada susuz koşullarda yetiştirilen bitkilerde yaprak su potansiyelinin -3 MPa'ın altına düştüğü gözlenmiştir (Leport vd., 1999).

1.4.6. Nispi Su İçeriği (NSİ)

Nispi su içeriği (NSİ), bitkinin su durumunun genel bir ifadesidir (Sivaramakrishnan vd., 1988). Diğer bir deyişle yaprağın su durumunu ve dokunun metabolik aktivitesini yansıtan bitkideki su miktarının alternatif bir ölçümüdür (Flower ve Ludlow, 1986). Su potansiyeline benzer olarak nispi su içeriği de bir çok çevresel parametreden etkilenen transpirasyon ve topraktan su alınımı arasındaki dengenin sağlanmasına karşı oldukça duyarlıdır (Sivaramakrishnan vd., 1988). Kuraklık etkisi ile bitkilerde yaprakların nisbi su içeriğinin düşmesi fotosentez oranını azaltmaktadır (Lawlor ve Cornic, 2002). Stres çalışmalarında NSİ'nin belirlenmesi oldukça önemlidir.

Buğday çeşitleri (Sairam vd., 2001) ve ayçiçeğinde (Sgherri ve Navari-Izzo, 1995) NSİ su stresinin artmasıyla azalır. Stres esnasında dayanıklı ırkların nispi su içeriğindeki azalışın hassas olanlara nazaran daha az olduğu bilinmektedir. Örneğin, Pastori ve Trippi (1992), NSİ'nin iki mısır kültüründe kuraklık periyodu esnasında azaldığını ve bu azalışın hassas olan ırkta dayanıklı olana göre önemli derecede fazla olduğunu rapor etmişlerdir. Buğday bitkisinde yapılan diğer bir çalışmada da toleranslı olan kültürün hassas olanla karşılaştırıldığında, stres periyodu esnasında daha fazla NSİ'ye sahip olduğu görülmüştür (Sgherri vd., 2000). Soğan (*Allium cepa*) bitkisinde yapılan başka bir çalışmada ise NSİ'nin kontrol ile karşılaştırıldığında % 25 oranında azaldığı tespit edilmiştir (Egert ve Tevini, 2002).

1.4.7. Bitki Kuru Ağırlığı

Kuraklık stresine maruz bırakılan bitkilerde, bitki kuru ağırlığında azalma olduğunu bildiren birçok araştırma bulunmaktadır (Srivalli vd. 2003; Jung 2004; Lazaridou ve Koutroubas, 2004; Maggio vd., 2005). Kuraklık süresince üretimin sınırlanması ve fotoasimilatların tüketimine bağlı olarak karbonun yapraklardaki ve tüm bitkideki miktarı kaçınılmaz şekilde değişmekte ve bu da kuru ağırlıkta azalmaya neden olmaktadır. Gövde kuru ağırlığındaki azalmanın fotosentetik CO₂ asimilasyonundaki ve klorofil içeriğindeki azalmaya bağlı olduğu da bildirilmiştir (Mohsenzadeh vd., 2006).

Kuraklık stresi sonucu hücrede meydana gelen su kaybı, plazma membranında oluşan çökme ve serbest kalan hidrolitik enzimler sitoplazmanın otolizine neden olmakta, sonuçta büyümede yavaşlama ve turgorda azalma meydana gelmektedir (Kalefetoğlu ve Ekmekçi, 2005). Alexieva ve ark. (2001)'nin buğdayda ve Tsuji ve ark. (2003)'nin sorgumda yaptıkları çalışmalarda, kuraklık stresi sonucu bitkilerin yaş ve kuru ağırlıklarında kayıplar oluştuğunu vurgulanmıştır.

1.4.8. Lipid Peroksidasyonu

Tiyobarbitürik asitle ölçülen malondialdehid (MDA), oksidatif hasarı göstermede yaygın olarak kullanılan bir parametredir (Yılmaz ve Bahçecioğlu, 2000). Stres etkisiyle oluşan serbest radikaller bitkilerde lipid peroksidasyonunu başlatabilir (Thompson vd.,

1987). Lipid peroksidasyonu olayı, membranda bulunan ve çift bağ taşıyan doymamış yağ asitlerinin (RH), reaktif oksijen türleri tarafından peroksitler, alkoller, aldehidler, hidroksi yağ asitleri gibi çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonudur. Lipit hidroperoksitlerinin (ROOH) yıkımı ile oluşan ve biyolojik olarak aktif olan aldehidler, ya hücre düzeyinde metabolize edilirler, ya da başlangıçtaki etki alanlarından diffüze olup, hücrenin diğer bölümlerinde de peroksidasyonun başlamasına neden olurlar (Yılmaz ve Bahçecioğlu, 2000).

Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda malondialdehid (MDA) meydana gelir (Smirnoff, 1993). Malondialdehit, membran bileşenlerinin çapraz bağlanmasına ve polimerleşmesine neden olarak, membran bütünlüğünün bozulmasına ve hücrenin elektrolitlere permeabilitesinin artmasına yol açmaktadır (Tarin vd., 1998). Lipid peroksidasyonu oksidatif stres sonucunda oluşan malondialdehit (MDA) içeriğine bakılarak belirlenir (Iriyogen vd., 1992) ve yaprak senesensi esnasında önemli bir değişim olarak düşünülür (Thompson vd., 1987). Stres altında lipidlerin oksidasyonu iki veya 3 kat artabilir. Örneğin çeltik sürgünlerinde (Yordanov vd., 2000), buğday genotiplerinde (Sairam vd., 2001) ve şeker kamışı yapraklarındaki (Smirnoff, 1993) kuraklık stresi lipid peroksidasyonunu artırır. Lipid peroksidasyonunun düşük seviyede olması özellikle SOD ve peroksidaz gibi bazı antioksidan enzimlerin aktivitesinin yüksek seviyede tutulmasının bir sonucu olabilir (Fu ve Huang, 2001).

Ayrıca lipid peroksidasyonunun bitkilerin strese toleransı ile ilişkili olduğu bilinir. Örneğin su stresine maruz bırakılmış buğday ve mısır çeşitlerinde su stresi şartları altında MDA içeriği artarken hassas genotiple karşılaştırıldığında strese toleranslı genotiplerde düşük oranda lipid peroksidasyonu meydana gelir (Sairam vd., 1998). Buğday bitkisine uygulanan su stresinin lipid peroksidasyonunda artışa, membran stabilitesinde ise azalmayla sonuçlandığı bildirilmiştir (Sairam ve Saxena, 2000).

1.5. Mısır Hakkında Genel Bilgiler

Mısır, *Poaceae* (buğdaygiller) familyasına ait monokotiledon bir bitkidir. *Poaceae* familyası içerisinde çiçeklenme biçimi bakımından diğer türlerden farklıdır. Çiçekleri monoik yapıda olup, erkek (tepe püskülü) ve dişi çiçekler (koçan) aynı bitki üzerinde fakat farklı yerlerde bulunmaktadır. Mısır, $2n=20$ kromozomlu olup diploid bir bitkidir. Bitkinin sistematikteki yeri aşağıdaki şekilde olup, mısır, geniş adaptasyon kabiliyeti nedeniyle

Dünya'nın farklı bölgelerinde kültürü yapılabilmektedir. 50° kuzey enleminden 50° güney enlemlerine, deniz seviyesi ile 3000 m ye kadar olan yüksekliklerde ve ayrıca birçok toprak tipinde tarımı yapılabilmektedir (Morris, 2002).

Mısır, geniş bir kullanım alanı olması nedeni ile diğer tahıllara göre oldukça farklı bir konuma sahiptir. İçerdiği zengin besin maddeleri ile mısır, hem insan hem de hayvan beslenmesinde kullanılır. Mısır danesinin yapısında ticari değere sahip birçok kimyasal bileşik vardır. Olgun bir mısır danesi %70-75 nişasta, % 8-10 protein ve % 4-5 yağ içerir (Earle vd., 1946). Mısır, nişasta protein ve yağ kaynağı olarak kullanılmasının dışında diğer birçok kullanım alanları (glukoz; içeceklerde ve reçel yapımında, etanol; biodizel yakıt, plastik yapımında ve bunun gibi) ile de dikkat çekmektedir. Birçok kullanım alanı nedeniyle bugün; koçan uzunluğu ve şekli, tane büyüklüğü ve şekli, dane rengi, yapısı, aroması ve lezzeti, pişirim kalitesi, endospermi, yağ, protein ve nişasta içeriği gibi birçok farklı özelliklere sahip farklı mısır çeşitleri geliştirilmiştir.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Materyalin Sağlanması, Stres ve ALA Muamelesi

Kuraklık stresine hassas (Akpınar) ve dayanıklı (Helen) olduğu bilinen iki farklı mısır (*Zea mays* L.) çeşidine ait tohumlar sırasıyla Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü ve Advanta Tohumculuk'dan temin edildi. Kullanılacak ALA miktarını belirlemek amacıyla 0,002 mM, 0,02 mM, 0,1 mM, 0,2 mM, 1 mM ve 2 mM ALA konsantrasyonları ile ön denemeler yapıldı ve ön denemeler sonucunda tohumların çimlenme oranlarına bakılarak etkili konsantrasyonun 0,02 mM ALA olduğuna karar verildi.

Tohumlar toprak içeren eşit büyüklükteki saksılara (yükseklik 14 cm, üst çap 16 cm, alt çap 11 cm) dikildi. Fideler saksılara iki günde bir su verilerek 16 saat ışık, 8 saat karanlık, 21°C sıcaklık ve 400 m⁻²s⁻¹ ışık yoğunluğuna sahip iklim odasında 25 gün büyütüldükten daha sonra fideler iki gruba ayrılarak topraktan 2 cm yükseklikte olacak biçimde gövdelerinden kesilerek hasat edildi. Birinci gruba 8 saat boyunca Hoagland besin solüsyonunda 0,02mM ön ALA uygulaması yapılırken, diğer gruba sadece Hoagland besin solüsyonu uygulaması yapıldı. Her bir grup yeniden ikiye ayrılarak, bir grup sadece Hoagland besin solüsyonunda, diğer grup ise %10 PEG6000 içeren besin solüsyonunda 1 gün bekletildi. Bitkilerden yaprak numuneleri alınarak aşağıdaki ölçümler yapıldı.

2.2. Yaprak Su Potansiyelinin Belirlenmesi

Yaprak su potansiyeli C52 termocouple psikometre cihazı ile belirlendi (Wescor, Inc., Logan, UT USA). Bitkilerin en genç yaprağının geniş yüzeyinden 6 mm çapında alınan diskler, cihazın C52 sensörüne yerleştirildi. Numunelerin yaprak su potansiyelleri belirlenmeden önce cihaz 60 dakika kalibre edildikten sonra okumalar psikometrik modunda Wescor PSYPRO su potansiyeli veri kayıt cihazı ile kaydedildi. Yaprak su potansiyel değerleri MPa olarak ifade edildi.

2.3. Nispi Su İçeriği Tayini (NSİ)

Nispi su içeriği tayini Castillo (1996)'a göre yapıldı. Bitkilerin yapraklarının taze ağırlıkları ölçüldükten sonra +4°C'de 24 saat deiyonize suda bekletilerek turgid ağırlıkları alındı. Daha sonra örnekler 65°C'ye ayarlı fırında 48 saat bekletilerek kuru ağırlıkları kaydedildi ve aşağıdaki formülde yerine koyularak nispi su içerikleri (NSİ) belirlendi.

$$\text{Nispi Su İçeriği (\%)} = (\text{Taze Ağırlık} - \text{Kuru ağırlık} / \text{Turgid ağırlık} - \text{Kuru ağırlık}) \times 100$$

2.4. Yapraklarda Kuru Ağırlık Tayini

Toplam kuru yaprak ağırlığı, 24 saat boyunca 80 °C'lik etüve bırakılan yapraklarla belirlendi. Veriler, g kuru ağırlık başına mg olarak ifade edildi.

2.5. Lipid Peroksidasyonu Tayini

Lipid peroksidasyonu Heath ve Packer (1968) tarafından belirlenen metoda göre hesaplandı. Bu metoda göre lipid peroksidasyonunun son ürünü olarak MDA'yı kabul eden tiyobarbütirik asit testi kullanıldı. 1 g bitki örneği, % 20 trikloroasetik asit ve % 0,5 tiyobarbütirik asit içeren 10 ml çözeltide homojenize edildi. Homojenat 95 °C de 30 dakika inkübe edildi ve 10 000 g de 10 dakika santrifüjlendi. 532 ve 600 nm de süpernatantın absorbans okundu, 600 nm deki spesifik olmayan absorbans çıkarıldı. Kırmızı renkli MDA-TBA kompleksinin miktarından lipid peroksidasyon değişimleri hesaplandı ($\epsilon = 155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

2.6. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Tayini

2.6.1. Enzimler İçin Ekstrakt Hazırlanması

Yapraklardan alınan numunelerden 0,5 g tartıldı ve sıvı azot içerisinde toz haline getirildi. Daha sonra 5 ml ekstraksiyon tamponu (50mM potasyum fosfat, 1 mM EDTA pH 7,0, % 1 PVPP) içerisinde ekstrakte edildi. Ekstrakt +4°C'de 20000 g'de 20 dakika santrifüj edildi. Elde edilen süpernatant enzim aktivitesinin tayini için kullanıldı.

2.6.2. Guaiakol Peroksidaz (GPX) Aktivitesinin Tayini

Guaiakol peroksidaz aktivitesi, Urbanek vd., (1991)'in yöntemine göre belirlendi. Enzim aktivitesi, 100 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7,0), 0,1 mM EDTA, 5 mM guaiakol, 15 mM H₂O₂ ve 50 µl enzim ekstraktı içeren 2 ml'lik reaksiyon karışımının 470 nm'de 1 dak. süreyle ölçülmesiyle belirlendi. Guaiakol peroksidaz (GPX) aktivitesi 26,6 mM⁻¹cm⁻¹ epsilon katsayısının kullanılmasıyla hesaplandı.

2.6.3. Katalaz (CAT) Aktivitesinin Tayini

Katalaz (CAT, EC 1.11.1.6) aktivitesi, Aebi (1983)'nin yöntemine göre belirlendi. Enzim aktivitesi, 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7,0), 30 mM H₂O₂ ve 20 µl enzim ekstraktı içeren 1 ml'lik reaksiyon karışımının 240 nm'de 5 dakika süreyle ölçülmesiyle belirlendi. Katalaz aktivitesi, H₂O₂ için 39,4 mM⁻¹cm⁻¹ epsilon katsayısının kullanılmasıyla hesaplandı.

2.6.4. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Tayini

Süperoksit dismutaz (SOD, EC 1.15.1.1) aktivitesi, Beauchamp ve Fridovich (1971) metoduna göre belirlendi. 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7,8), 0,1 mM EDTA, 13 mM metiyonin, 75 µM nitro blue tetrazolyum ve 50 µl ekstrakt ihtiva eden 1 ml reaksiyon ortamına 2 µM riboflavin ilave edilerek reaksiyon başlatılmış, bu karışım 10 dakika boyunca 375 µmol m⁻² s⁻¹ şiddetinde beyaz ışığa maruz bırakıldıktan sonra 560 nm'de

absorbans değerleri belirlendi. SOD aktivitesi, g taze ağırlık başına ünite enzim olarak ifade edildi.

2.6.5. Askorbat Peroksidaz (APX) Aktivitesinin Tayini

Askorbat peroksidaz (APX, EC 1.11.1.11) aktivitesi, 290 nm'de absorbansdaki azalışa bağlı olarak belirlendi (Nakano ve Asada, 1981). Enzim aktivitesi, 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7,0), 250 μ M ASC, 5 mM H₂O₂ ve 20 μ l enzim ekstraktı içeren 1 ml'lik reaksiyon karışımının 3 dakika boyunca 290 nm'de ölçülmesiyle belirlendi. Askorbat peroksidaz aktivitesi, 290 nm'de ASC için 2,8 mM⁻¹cm⁻¹ epsilon katsayısının kullanılmasıyla hesaplandı.

2.6.6. Glutasyon Redüktaz (GR) Aktivitesinin Tayini

Glutasyon redüktaz (GR, EC 1.6.4.2) aktivitesi spektrofotometrik olarak Foyer ve Halliwell (1976)'e göre belirlendi. Substrat olarak 0,25 mM NADPH ve 1 mM oksitlenmiş glutasyon (GSSG) kullanıldı. Yükseltgenmiş glutasyonun enzim tarafından indirgenmesi için indirgeyici faktör olarak NADPH kullanıldı. Aktivite tayini için, 200 μ l 0,5 mM EDTA içerisinde hazırlanmış 50 mM Tris-HCl (pH 7,8), 250 μ l GSSG ve 500 μ l NADPH ihtiva eden karışıma 50 μ l enzim ekstraktı ilave edildi. NADPH'm oksidasyonu 340 nm'de 5 dakika boyunca azalmanın ölçülmesiyle belirlendi. Glutasyon redüktaz aktivitesi, 6,2 mM⁻¹cm⁻¹ epsilon katsayısının kullanılmasıyla hesaplandı.

2.6.7. Monodehidroaskorbat Redüktaz (MDHAR) Aktivitesinin Tayini

Monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR, EC 1.6.5.4) aktivitesi, Hossain vd., (1984)'nin tanımladığı gibi ölçüldü. Monodehidroaskorbat (MDHA), askorbat oksidaz vasıtasıyla askorbattan oluşur. Enzim aktivitesi, 50 mM Potasyum fosfat tamponu (pH 7,8), 150 μ M NADH, 500 μ M ASC ve 100 μ l enzim ekstraktı içeren 1 ml'lik reaksiyon karışımının ölçülmesiyle belirlendi. Ölçülen değerler askorbat oksidaz (AO)'m yokluğunda elde edilen verilerden çıkarıldı. MDHAR aktivitesi, 340 nm'de NADH için 6,22 mM⁻¹cm⁻¹ epsilon katsayısının kullanılmasıyla hesaplandı.

2.7. Hidrojen Peroksit (H₂O₂) İçeriğinin Belirlenmesi

Hidrojen peroksit içeriğini belirlemek için Velikova vd., (2000) 'nin güncellenen metodu kullanıldı. Yapraklardan alınan numuneler (0,25 g), 0,1 g aktif kömür kullanılarak 3 ml %5 trikloroasetik asit içerisinde ekstre edildi. 0.75 ml KI (1 M) ve 0,5 ml 10 mM potasyum fosfat tamponu (pH:7) 0,5 ml'lik süpernatanta eklendi. Absorbans değerleri spektrofotometrede 390 nm'de ölçüldü. H₂O₂ içeriği nmol g⁻¹ taze ağırlık olarak ifade edildi.

2.8. İstatistik Analizler

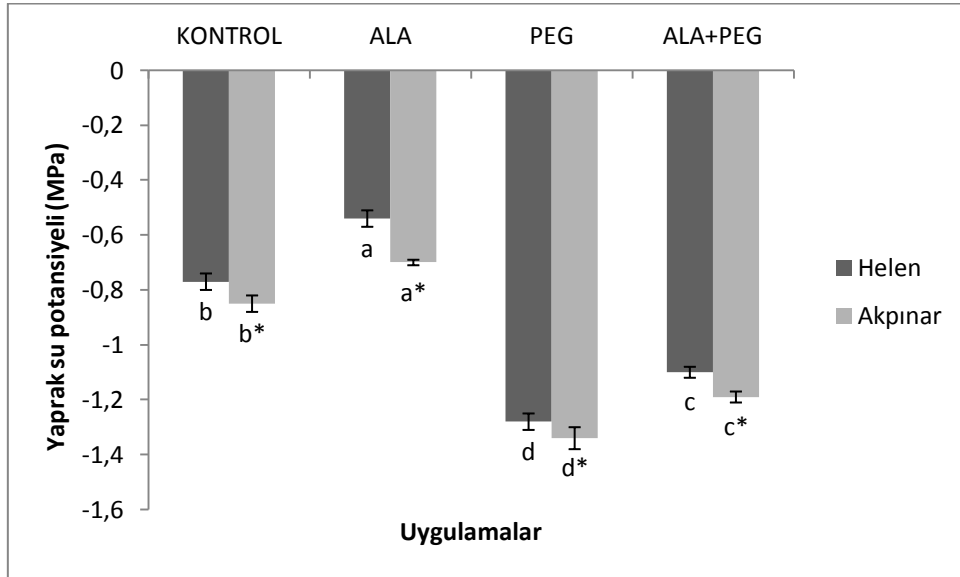
Bütün denemeler üç kez kuruldu ve bütün analizler bağımsız dört ayrı ekstraksiyon ile dört tekerrür olarak yapıldı. Elde edilen ortalamaların varyansı, %5'lik önemde (p< 0.05) Microsoft Windows versiyon 15.0 SPSS yazılımı kullanılarak Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi kullanılarak kontrol edildi.

3. BULGULAR

3.1. Alfa Lipoik Asit (ALA) Ön Muamelesinin Yaprak Su Potansiyeli Üzerine Etkisi

ALA ön muamelesinin kuraklık stresinin etkisini hafifletmedeki rolünü belirlemek amacıyla yaprak su potansiyelindeki değişimler araştırıldı. Ölçümler sonucunda ALA uygulamasının kuraklık stresi altında yaprak su potansiyelini iyileştirdiği gözlemlendi. Dayanıklı (Helen) ve hassas (Akpınar) mısır çeşitlerinin ikisinde de yapılan denemeler sonucunda, sonuçların benzer olduğu bulundu. PEG uygulanmış her iki çeşitte yaprak su potansiyeli kontrol bitkilerine göre istatistik olarak önemli derecede azaldı. Yine her iki çeşitte ALA ön muamelesinin su kaybını önemli derecede azalttığı belirlendi.

Kuraklık stresi altında Helen mısır yaprağının su potansiyeli -1,28 MPa iken ALA ön uygulaması yapılan bitkilerde bu değer -0,54 MPa olarak ölçüldü. Hassas mısır çeşidi olan Akpınar mısır yaprağının su potansiyeli ise kuraklık stresi altında -1,34 MPa iken ALA ön uygulaması yapılan bitkilerde bu değer -0,7 MPa olarak belirlendi (Şekil 2).



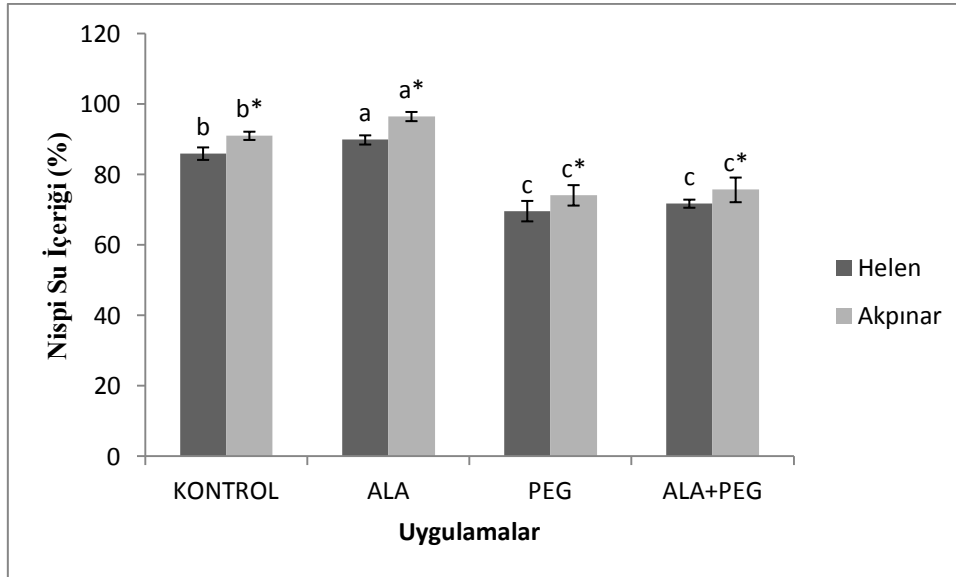
Şekil 2. ALA ön muamelesinin yaprak su potansiyeli üzerine etkisi. Kontrol; Hoagland, ALA; Hoagland + 0,02mM ALA, PEG; Hoagland+ % 10 PEG, ALA+PEG; Hoagland + % 10 PEG + 0,02mM ALA. Barlar 4 tekerrürlü olarak yapılan ölçümlerin standart sapmasını göstermektedir. Aynı harflerle gösterilen sütunlar arasındaki fark % 5 (P<0,05) seviyesinde önemsizdir.* çeşitler arasındaki önemli farkı gösterir.

3.2. Alfa Lipoik Asit (ALA) Ön Muamelesinin Nispi Su İçeriği Üzerine Etkisi

ALA ön muamelesinin kuraklık stresinin etkisini hafifletmedeki rolünü belirlemek amacıyla yaprak su içeriğindeki değişimler incelendi. Hem Helen hem de Akpınar'da yapılan analizler sonucunda, sonuçların benzer olduğu bulundu. Kuraklık stresi uygulanmış her iki çeşitte yaprak su içeriği kontrol bitkilerine göre önemli derecede azaldı. Yine her iki çeşitte ALA ön muamelesinin su kaybını azalttığı bulundu.

Helen bitkisinin kontrol grubunda yaprak su içeriği %85,91 iken ALA ön uygulaması yapılmış bitkilerde bu değer %89,8'e kadar yükseldi. Kuraklık stresine maruz bırakılan bitkilerde su içeriği %69,6'ya düşerken, stres ve ALA'nın birlikte uygulandığı bitkilerde bu değer %71,71'e kadar arttı.

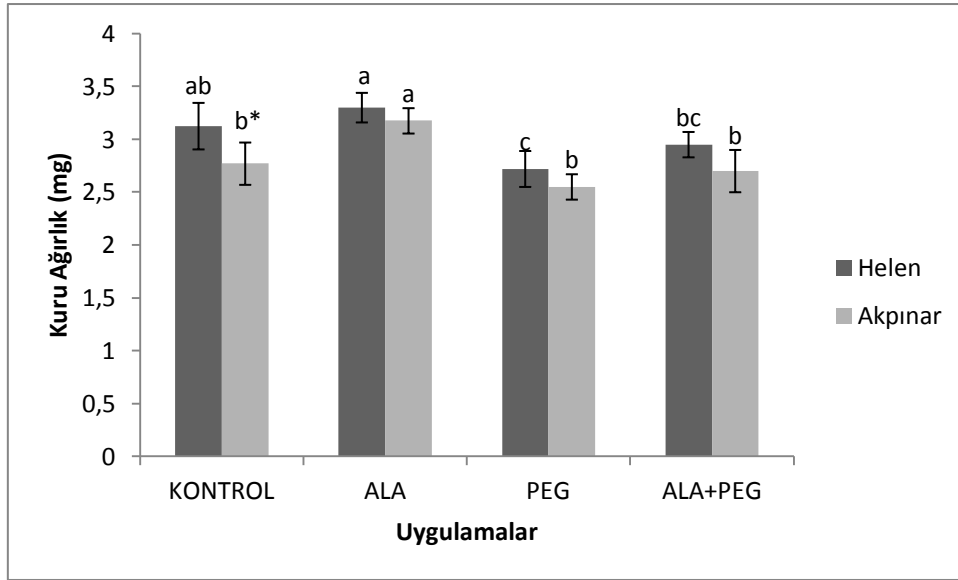
Akpınar bitkisinin kontrol grubunda yaprak su içeriği %90,97 iken ALA ön uygulaması yapılmış bitkilerde bu değer %96,44'e kadar yükseldi. Kuraklık stresine maruz bırakılan bitkilerde su içeriği %74,08'e düşerken, stres ve ALA'nın birlikte uygulandığı bitkilerde bu değer %75,63'e çıktı (Şekil 3).



Şekil 3. ALA ön muamelesinin nispi su içeriği üzerine etkisi. Kontrol; Hoagland, ALA; Hoagland + 0,02mM ALA, PEG; Hoagland+ %10 PEG, ALA+PEG; Hoagland + %10 PEG + 0,02mM ALA. Barlar 3 tekerrürlü olarak yapılan ölçümlerin standart sapmasını göstermektedir. Aynı harflerle gösterilen sütunlar arasındaki fark %5 ($P < 0,05$) seviyesinde önemsizdir. * çeşitler arasındaki önemli farkı gösterir.

3.3. Alfa Lipoik Asit (ALA) Ön Muamelesinin Kuru Ağırlık Üzerine Etkisi

ALA ön muamelesinin kuraklık stresinin etkisini hafifletmedeki rolünü belirlemek amacıyla bitkinin kuru ağırlığındaki değişimler incelendi. Hem Helen hem de Akpınar'da yapılan analizler sonucunda, sonuçların benzer olduğu bulundu. Kuraklık stresi uygulanmış Helen bitkisinde yaprak kuru ağırlığı kontrol bitkilerine göre azaldığı tespit edildi. Kuraklık stresi altındaki bitkilerin kuru ağırlığı ile ALA ön uygulaması yapılan bitkiler kıyaslandığında ALA uygulamasının bitki kuru ağırlığını arttırdığı bulundu. Kuraklık stresi altındaki bitkiler ile stres ve ALA'nın birlikte uygulandığı bitkiler kıyaslandığında ise uygulanan ALA'nın bitkilerin kuru ağırlığındaki azalmayı uyardığı gözlemlendi (Şekil 4).



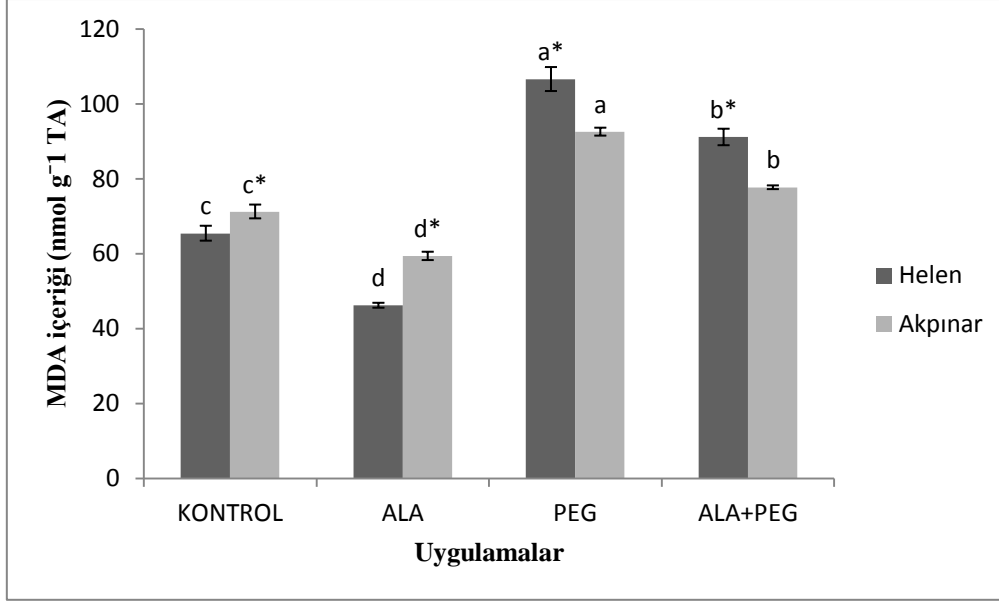
Şekil 4. ALA ön muamelesinin yaprak kuru ağırlığı üzerine etkisi. Kontrol; Hoagland, ALA; Hoagland + 0,02mM ALA, PEG; Hoagland+ %10 PEG, ALA+PEG; Hoagland + %10 PEG + 0,02mM ALA. Barlar 3 tekerrürlü olarak yapılan ölçümlerin standart sapmasını göstermektedir. Aynı harflerle gösterilen sütunlar arasındaki fark %5 ($P < 0,05$) seviyesinde önemsizdir. * çeşitler arasındaki önemli farkı gösterir.

3.4. Alfa Lipoik Asit (ALA) Ön Muamelesinin Lipid Peroksidasyonu Üzerine Etkisi

ALA ön muamelesinin kuraklık stresi koşulları altında lipid peroksidasyonu üzerine etkisi incelendi. Lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan MDA içeriği, ALA ön uygulamasında kontrole göre istatistiki olarak önemli derecede bir azalış gösterirken, PEG uygulamasında ise kontrole göre artış gösterdi.

Kuraklığa hassas ve dayanıklı mısır çeşitlerinde kuraklık periyodu boyunca lipid peroksidasyonu artarken ALA ön uygulaması yapılan bitkilerde membran hasarının önlendiği gözlenmiştir. Yapılan analizlerde dayanıklı çeşit olan Helen bitkisinde MDA içeriği kontrol bitkilerinde $65,41 \text{ nmol g}^{-1}$ taze ağırlık olarak belirlenirken ön ALA uygulamasında $46,18 \text{ nmol g}^{-1}$ taze ağırlık, PEG ve ALA+PEG uygulamalarında ise sırasıyla $106,55 \text{ nmol}$ ve $91,09 \text{ nmol g}^{-1}$ taze ağırlık olarak gözlemlendi.

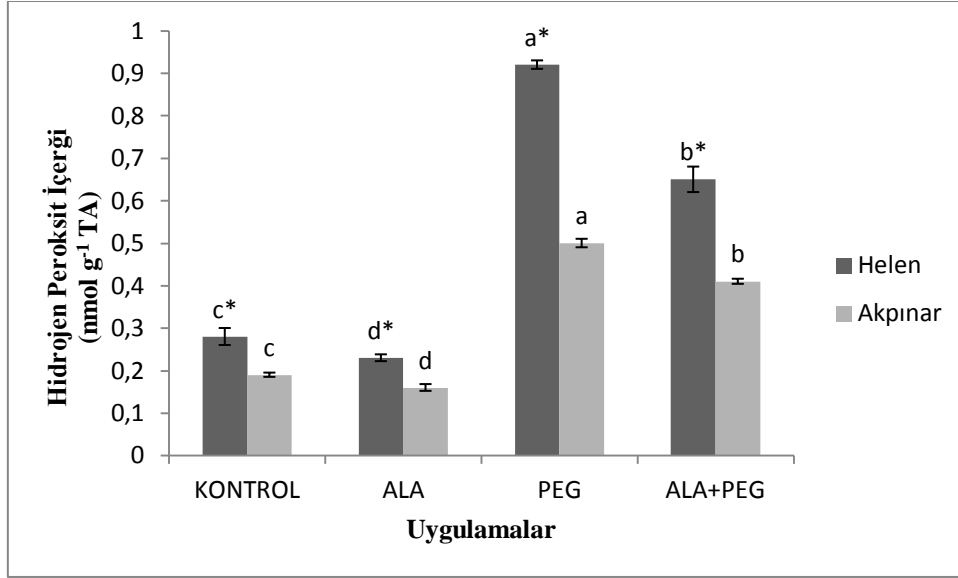
Hassas tür olan Akpınar çeşidinde ise MDA içeriği kontrol bitkilerinde $71,21 \text{ nmol g}^{-1}$ taze ağırlık olarak belirlenirken ön ALA uygulamasında $59,35 \text{ nmol g}^{-1}$ taze ağırlık, PEG ve ALA+PEG uygulamalarında ise sırasıyla $92,51 \text{ nmol}$ ve $77,67 \text{ nmol g}^{-1}$ taze ağırlık olarak gözlemlendi (Şekil 5).



Şekil 5. ALA ön muamelesinin lipid peroksidasyonu üzerine etkisi. Kontrol; Hoagland, ALA; Hoagland + 0,02mM ALA, PEG; Hoagland+ %10 PEG, ALA+PEG; Hoagland + %10 PEG + 0,02mM ALA. Barlar 3 tekerrürlü olarak yapılan ölçümlerin standart sapmasını göstermektedir. Aynı harflerle gösterilen sütunlar arasındaki fark %5 ($P < 0,05$) seviyesinde önemsizdir. * çeşitler arasındaki önemli farkı gösterir.

3.5. Alfa Lipoik Asit (ALA) Ön Muamelesinin İçsel H_2O_2 İçeriği Üzerine Etkisi

ALA ön muamelesinin kuraklık stresinin etkisini hafifletmedeki rolünü belirlemek amacıyla içsel H_2O_2 içeriğindeki değişimler incelendi. Her iki çeşitte ALA ön muamelesi, kuraklık stresi altındaki bitkilere kıyasla içsel H_2O_2 içeriğini istatistiki olarak önemli miktarda azalttı. Kuraklığa maruz bırakılan Helen bitkilerinde H_2O_2 içeriği $0,92 \text{ nmol g}^{-1}$ taze ağırlık olarak belirlenirken, ALA ön uygulaması yapılan bitkilerde bu oran $0,23 \text{ nmol g}^{-1}$ taze ağırlık olarak ölçüldü. Kuraklığa maruz bırakılan Akpınar bitkilerinde ise H_2O_2 içeriği $0,5 \text{ nmol g}^{-1}$ taze ağırlık olarak belirlenirken, ALA ön uygulaması yapılan bitkilerde H_2O_2 içeriği $0,16 \text{ nmol g}^{-1}$ taze ağırlık olarak ölçüldü (Şekil 6).



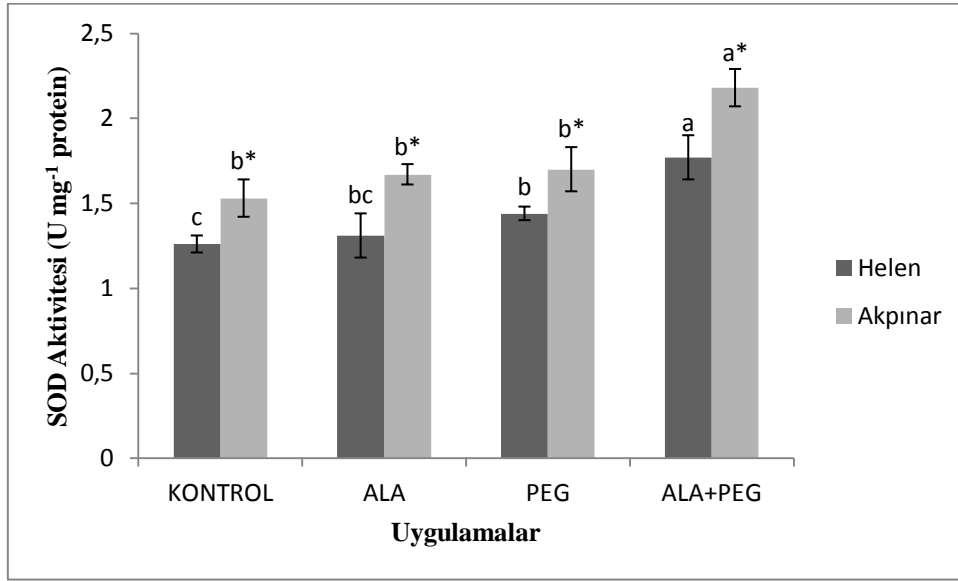
Şekil 6. ALA ön muamelesinin içsel H₂O₂ içeriği üzerine etkisi. Kontrol; Hoagland, ALA; Hoagland + 0,02mM ALA, PEG; Hoagland+ %10 PEG, ALA+PEG; Hoagland + %10 PEG + 0,02mM ALA. Barlar 3 tekerrürlü olarak yapılan ölçümlerin standart sapmasını göstermektedir. Aynı harflerle gösterilen sütunlar arasındaki fark %5 (P<0,05) seviyesinde önemsizdir. * çeşitler arasındaki önemli farkı gösterir.

3.6. Alfa Lipoik Asit (ALA) Ön Muamelesinin Süperoksit Dismutaz Aktivitesi (SOD) Üzerine Etkisi

ALA ön muamelesinin kuraklık stresinin etkisini hafifletmedeki rolünü belirlemek amacıyla süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesindeki değişimler incelendi. Her iki çeşitte kuraklık stresine maruz bırakılan bitki yapraklarındaki SOD aktivitesi ile ALA ön uygulaması yapılan bitkilerin SOD aktivitesi kıyaslandığında aktivitede önemli derecede bir azalma gözlenmedi ancak stres ve ALA'nın birlikte uygulanmasıyla SOD enzim aktivitesinde belirgin bir artış olduğu gözlemlendi (Şekil 7).

Yapılan analizlerde dayanıklı çeşit olan Helen bitkisinde SOD aktivitesi kontrol bitkilerinde mg protein başına 1,26 ünite olarak belirlenirken ön ALA uygulamasında 1,31 ünite mg⁻¹ protein, PEG ve ALA+PEG uygulamalarında ise sırasıyla 1,44 ve 1,77 ünite mg⁻¹ protein olarak gözlemlendi.

Hassas çeşit olan Akpınar çeşidinde ise SOD aktivitesi kontrol bitkilerinde mg protein başına 1,53 ünite olarak belirlenirken ön ALA uygulamasında 1,67 ünite mg⁻¹ protein, PEG ve ALA+PEG uygulamalarında ise sırasıyla 1,7 ve 2,18 ünite mg⁻¹ protein olarak gözlemlendi.



Şekil 7. ALA ön muamelesinin süperoksit dismutaz aktivitesi üzerine etkisi. Kontrol; Hoagland, ALA; Hoagland + 0,02mM ALA, PEG; Hoagland+ %10 PEG, ALA+PEG; Hoagland + %10 PEG + 0,02mM ALA. Barlar 3 tekerrürlü olarak yapılan ölçümlerin standart sapmasını göstermektedir. Aynı harflerle gösterilen sütunlar arasındaki fark %5 ($P < 0,05$) seviyesinde önemsizdir. * çeşitler arasındaki önemli farkı gösterir.

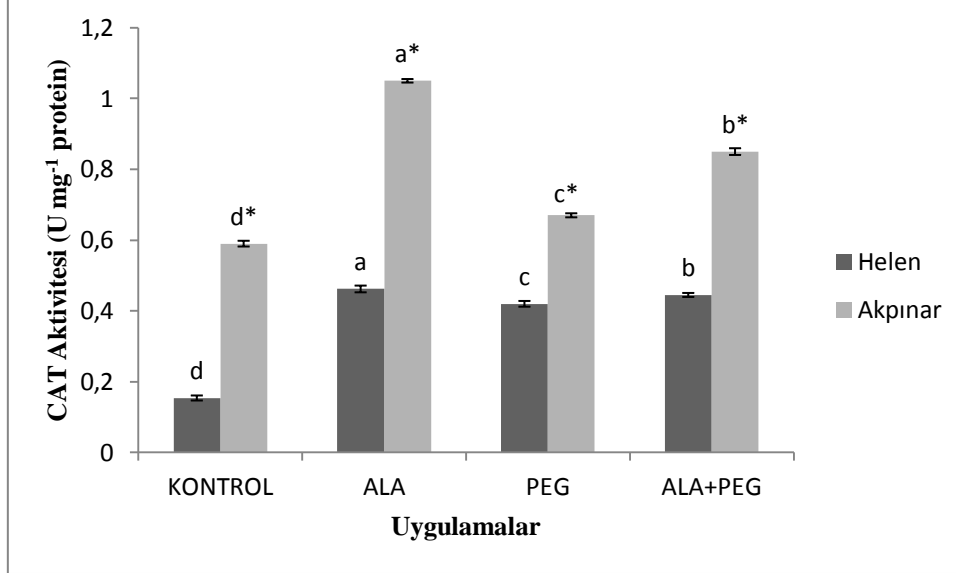
3.7. Alfa Lipoik Asit (ALA) Ön Muamelesinin Katalaz Aktivitesi (CAT) Üzerine Etkisi

ALA ön muamelesinin kuraklık stresinin etkisini hafifletmedeki rolünü belirlemek amacıyla katalaz (CAT) aktivitesindeki değişimler incelendi. CAT aktivitesi ile ilgili yapılan analiz sonuçlarına göre her iki türde de kuraklık stresine maruz bırakılan bitkilerdeki CAT aktivitesi kontrol bitkileriyle kıyaslandığında aktivitede artış gözlenmiş, ön ALA uygulamasıyla enzim aktivitesindeki artışın kuraklıktaki artıştan daha fazla olduğu gözlenmiştir (Şekil 8).

Yapılan analizlerde dayanıklı çeşit olan Helen bitkisinde CAT aktivitesi kontrol bitkilerinde mg protein başına 0,154 ünite olarak belirlenirken ön ALA uygulamasında 0,462 ünite enzim, PEG ve ALA+PEG uygulamalarında ise sırasıyla 0,42 ve 0,445 ünite mg⁻¹ protein olarak gözlemlendi.

Hassas çeşit olan Akpınar çeşidinde ise CAT aktivitesi kontrol bitkilerinde mg protein başına 0,59 ünite enzim olarak belirlenirken ön ALA uygulamasında 1,05 ünite

enzim, PEG ve ALA+PEG uygulamalarında ise sırasıyla 0,67 ve 0,85 nmol g⁻¹ ünite mg⁻¹ protein gözlemlendi.



Şekil 8. ALA ön muamelesinin katalaz aktivitesi üzerine etkisi. Kontrol; Hoagland, ALA; Hoagland + 0,02mM ALA, PEG; Hoagland+ % 10 PEG, ALA+PEG; Hoagland + % 10 PEG + 0,02mM ALA. Barlar 3 tekerrürlü olarak yapılan ölçümlerin standart sapmasını göstermektedir. Aynı harflerle gösterilen sütunlar arasındaki fark %5 (P<0,05) seviyesinde önemsizdir. * çeşitler arasındaki önemli farkı gösterir.

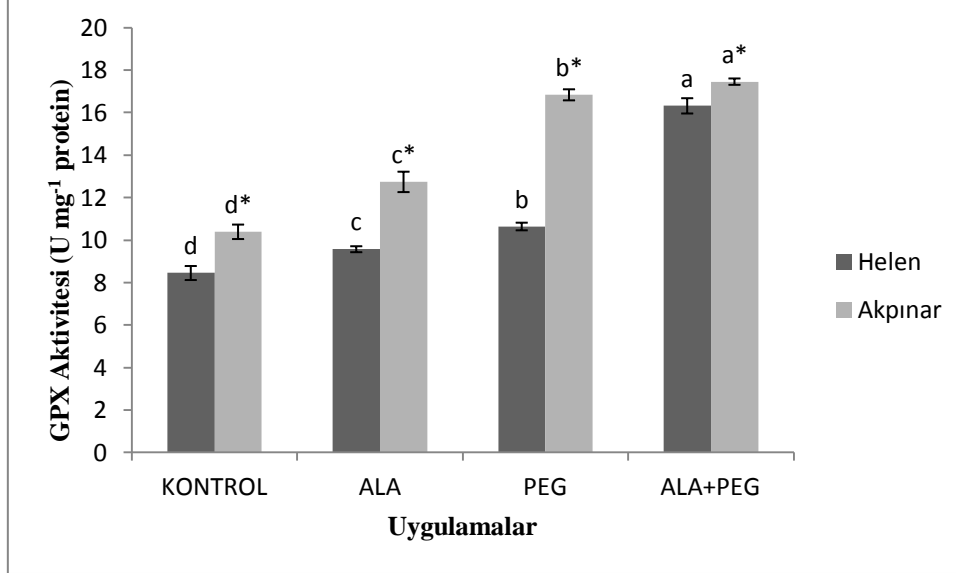
3.8. Alfa Lipoik Asit (ALA) Ön Muamelesinin Guaiakol Peroksidaz Aktivitesi (GPX) Üzerine Etkisi

ALA ön muamelesinin kuraklık stresinin etkisini hafifletmedeki rolünü belirlemek amacıyla guaiakol peroksidaz (GPX) aktivitesindeki değişimler incelendi. Her iki bitki çeşidinde yapılan analizler sonucunda kuraklık stresine maruz bırakılan bitki yapraklarındaki GPX aktivitesi ile ön ALA uygulaması yapılan bitki yapraklarındaki GPX aktivitesi kıyaslandığında aktivitede belirgin bir azalış gözlemlendi (Şekil 9).

Yapılan analizlerde dayanıklı çeşit olan Helen bitkisinde GPX aktivitesi kontrol bitkilerinde mg protein başına 0,154 ünite enzim olarak belirlenirken ön ALA uygulamasında 0,462 ünite enzim, PEG ve ALA+PEG uygulamalarında ise sırasıyla 0,42 ve 0,445 ünite mg⁻¹ protein olarak gözlemlendi.

Hassas çeşit olan Akpınar çeşidinde ise GPX aktivitesi kontrol bitkilerinde mg protein başına 0,59 ünite enzim olarak belirlenirken ön ALA uygulamasında 1,05 ünite

enzim, PEG ve ALA+PEG uygulamalarında ise sırasıyla 0,67 ve 0,85 ünite mg^{-1} protein olarak gözlemlendi.



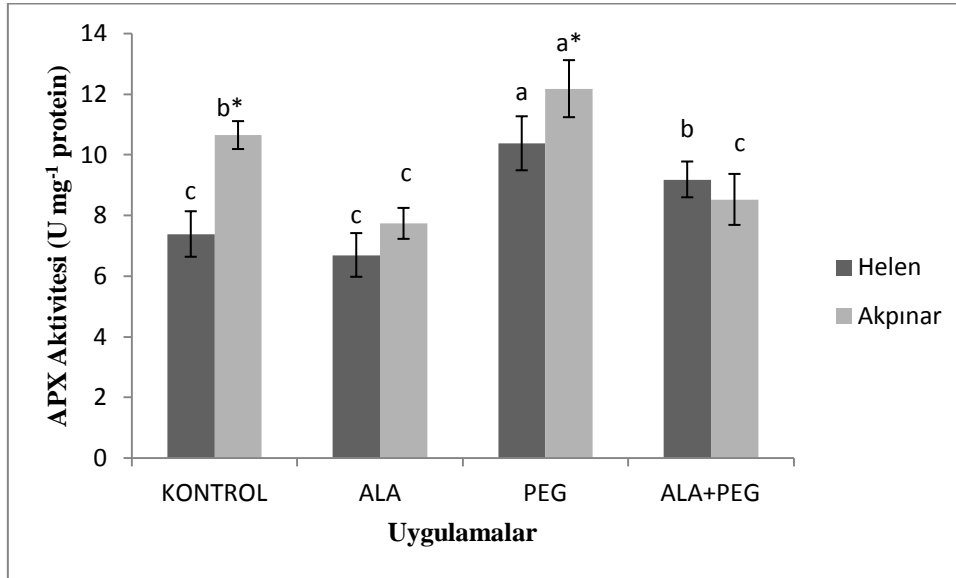
Şekil 9. ALA ön muamelesinin guaiakol peroksidaz aktivitesi üzerine etkisi. Kontrol; Hoagland, ALA; Hoagland + 0,02mM ALA, PEG; Hoagland+ %10 PEG, ALA+PEG; Hoagland + %10 PEG + 0,02mM ALA. Barlar 3 tekerrürlü olarak yapılan ölçümlerin standart sapmasını göstermektedir. Aynı harflerle gösterilen sütunlar arasındaki fark %5 ($P < 0,05$) seviyesinde önemsizdir. * çeşitler arasındaki önemli farkı gösterir.

3.9. Alfa Lipoik Asit (ALA) Ön Muamelesinin Askorbat Peroksidaz Aktivitesi (APX) Üzerine Etkisi

ALA ön muamelesinin kuraklık stresinin etkisini hafifletmedeki rolünü belirlemek amacıyla askorbat peroksidaz (APX) aktivitesindeki değişimler incelendi. Yapılan analizler sonucunda her iki çeşitte, kuraklık stresine maruz bırakılan bitkilerin APX aktivitesi ile ALA ön uygulamasının yapıldığı bitkilerin APX aktivitesi kıyaslandığında aktivitede önemli bir azalış olduğu görüldü. Kuraklık stresi altında artan aktivitenin, stres ve ALA'nın birlikte uygulanmasıyla önemli derecede azaldığı gözlemlendi (Şekil 10).

Yapılan analizlerde dayanıklı çeşit olan Helen bitkisinde APX aktivitesi kontrol bitkilerinde mg protein başına 7,38 ünite olarak belirlenirken ön ALA uygulamasında 6,69 ünite enzim, PEG ve ALA+PEG uygulamalarında ise sırasıyla 10,37 ve 9,18 ünite mg^{-1} protein olarak gözlemlendi.

Hassas çeşit olan Akpınar çeşidinde ise APX aktivitesi kontrol bitkilerinde mg protein başına 10,64 ünite enzim olarak belirlenirken ön ALA uygulamasında 7,73 ünite enzim, PEG ve ALA+PEG uygulamalarında ise sırasıyla 12,17 ve 8,52 ünite mg^{-1} protein olarak gözlemlendi.



Şekil 10. ALA ön muamelesinin askorbat peroksidaz aktivitesi üzerine etkisi. Kontrol; Hoagland, ALA; Hoagland + 0,02mM ALA, PEG; Hoagland+ %10 PEG, ALA+PEG; Hoagland + %10 PEG + 0,02mM ALA. Barlar 3 tekerrürlü olarak yapılan ölçümlerin standart sapmasını göstermektedir. Aynı harflerle gösterilen sütunlar arasındaki fark %5 ($P < 0,05$) seviyesinde önemsizdir. * çeşitler arasındaki önemli farkı gösterir.

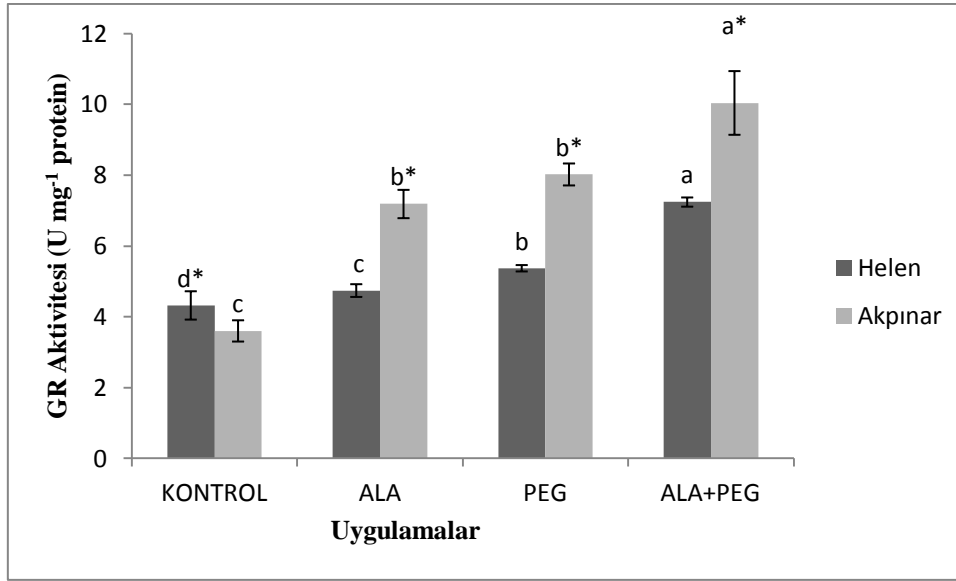
3.10. Alfa Lipoik Asit (ALA) Ön Muamelesinin Glutasyon Redüktaz (GR) Üzerine Etkisi

ALA ön muamelesinin kuraklık stresinin etkisini hafifletmedeki rolünü belirlemek amacıyla glutasyon redüktaz (GR) aktivitesindeki değişimler incelendi. Yapılan analizler sonucunda her iki çeşitte, kuraklık stresine maruz bırakılan bitkilerin GR aktivitesi ile ALA ön muamelesi uygulanmış bitkilerin GR aktivitesi kıyaslandığında aktivitede azalış gözlemlenmiştir. Kuraklık stresi altında azalan GR aktivitesinin, stres ve ALA'nın birlikte uygulanmasıyla önemli derecede arttığı gözlemlendi (Şekil 11).

Yapılan analizlerde dayanıklı çeşit olan Helen bitkisinde GR aktivitesi kontrol bitkilerinde mg protein başına 4,32 ünite enzim olarak belirlenirken ön ALA

uygulamasında 4,74 ünite enzim, PEG ve ALA+PEG uygulamalarında ise sırasıyla 5,37 ve 7,24 ünite mg^{-1} protein olarak gözlemlendi.

Hassas çeşit olan Akpınar çeşidinde ise GR aktivitesi kontrol bitkilerinde mg protein başına 3,6 ünite enzim olarak belirlenirken ön ALA uygulamasında 7,18 ünite enzim, PEG ve ALA+PEG uygulamalarında ise sırasıyla 8,02 ve 10,04 ünite mg^{-1} protein olarak gözlemlendi.



Şekil 11. ALA ön muamelesinin glutatyon redüktaz aktivitesi üzerine etkisi. Kontrol; Hoagland, ALA; Hoagland + 0,02mM ALA, PEG; Hoagland+ %10 PEG, ALA+PEG; Hoagland + %10 PEG + 0,02mM ALA. Barlar 3 tekerrürlü olarak yapılan ölçümlerin standart sapmasını göstermektedir. Aynı harflerle gösterilen sütunlar arasındaki fark %5 ($P < 0,05$) seviyesinde önemsizdir. * çeşitler arasındaki önemli farkı gösterir.

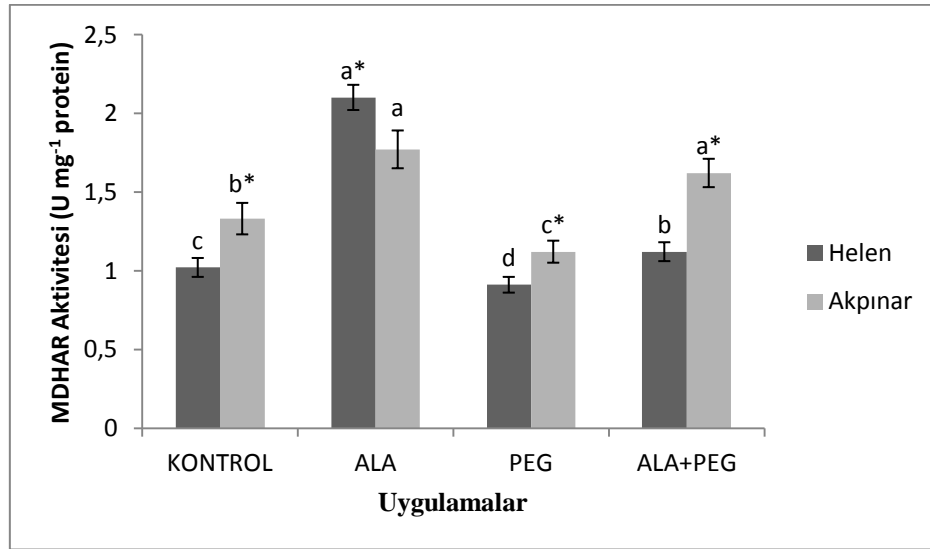
3.11. Alfa Lipoik Asit (ALA) Ön Muamelesinin Monodehidroaskorbat Redüktaz (MDHAR) Üzerine Etkisi

ALA ön muamelesinin kuraklık stresinin etkisini hafifletmedeki rolünü belirlemek amacıyla monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR) aktivitesindeki değişimler incelendi. Yapılan analizler sonucunda, kuraklık stresine maruz bırakılan bitkilerin MDHAR aktivitesi ile ALA ön muamelesi uygulanmış bitkilerin MDHAR aktiviteleri kıyaslandığında aktivitede belirgin bir artış gözlemlendi. Stres ve ALA'nın birlikte

uygulandığı bitkiler ile kuraklık stresi altındaki bitkiler kıyaslandığında MDHAR aktivitesinin ALA uygulamasıyla önemli derecede arttığı gözlemlendi (Şekil 12).

Yapılan analizlerde Helen çeşidinde MDHAR aktivitesi kontrol bitkilerinde mg protein başına 1,02 ünite enzim olarak belirlenirken ön ALA uygulamasında 2,1 ünite enzim, PEG ve ALA+PEG uygulamalarında ise sırasıyla 0,91 ve 1,12 ünite mg^{-1} protein olarak gözlemlendi.

Hassas çeşit olan Akpınar çeşidinde ise MDHAR aktivitesi kontrol bitkilerinde mg protein başına 1,33 ünite enzim olarak belirlenirken ön ALA uygulamasında 1,77 ünite enzim, PEG ve ALA+PEG uygulamalarında ise sırasıyla 1,12 ve 1,62 ünite mg^{-1} protein olarak gözlemlendi.



Şekil 12. ALA ön muamelesinin monodehidroaskorbat redüktaz aktivitesi üzerine etkisi. Kontrol; Hoagland, ALA; Hoagland + 0,02mM ALA, PEG; Hoagland+ %10 PEG, ALA+PEG; Hoagland + %10 PEG + 0,02mM ALA. Barlar 3 tekerrürlü olarak yapılan ölçümlerin standart sapmasını göstermektedir. Aynı harflerle gösterilen sütunlar arasındaki fark %5 ($P < 0,05$) seviyesinde önemsizdir. * çeşitler arasındaki önemli farkı gösterir.

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada *Zea mays*'ın iki farklı çeşidine dışarıdan uygulanan alfa lipoik asit'in bitkileri kuraklık stresine karşı korumadaki rolünü anlamak için bitki yapraklarının su içeriği, su potansiyeli, yaprak kuru ağırlığı, MDA, H₂O₂ ve antioksidan enzim aktivitelerindeki değişimler araştırılmıştır.

Stres etkisini hafifletmek için bitkilere dıştan hidrojen peroksit, glutatyon, salisilik asit, askorbat, prolin gibi çeşitli maddelerin uygulandığı bilinmektedir. Örneğin salisilik asit abiyotik stres olan kuraklık stresi şartlarında bitkilerin toleransını arttırmaktadır. Nitekim kuraklık stresiyle ilgili yapılan çalışmalarda, dıştan salisilik asit uygulamalarının fasulye ve domates bitkilerinde (Senaratna vd., 2000), buğday fidelerinde (Bezrukova vd., 2001) kuraklığa toleransı arttırdığı bildirilmiştir. Dışarıdan salisilik asit uygulanan mısır bitkilerinde kuraklık şartları altında su kaybının azaldığı ve antioksidan sistemin uyarıldığı bildirilmiştir (Saruhan vd., 2012).

Yaprak su potansiyelinin bitkilerin su stresine cevabını ölçmek için iyi bir parametre olduğu bilinmektedir (Singh vd., 1990). Birçok stres koşulunda olduğu gibi kuraklık stresine gösterilen tepkilerden birisi de yaprak su içeriğinde görülen azalmadır (Lopez vd., 2002). Bitkilerin kuraklık koşullarına erken dönemde verdiği cevapların başında; stomaların kapatılması, transpirasyon yoluyla su kaybının azaltılması gelmektedir (Mahajan ve Tuteja, 2005). Kuraklığın, bitkilerin yaprak su içeriğinde bir azalmayla sonuçlandığı, kuraklık stresinin başlaması sonucunda, topraktan su alınımının azaldığı değişik araştırmacılar tarafından elde edilen sonuçlarla bildirilmiştir (Cornic 2000; Fu ve Huang, 2001; Egert ve Tevini, 2002; Liu ve Stützel, 2002; Tambussi vd., 2002; Anyia ve Herzog, 2004; Bloch vd., 2006; Cuevas vd., 2006; Praxedes vd., 2006). Örneğin mısır bitkisinde yapılan bir çalışmada kontrol bitkilerinin yapraklarındaki su içeriği değişmezken kuraklığa maruz bırakılanlarda kuraklığın 3. gününden sonra azalmaya başladığı belirlenmiştir (Foyer vd., 1998). Yaprak su içeriği azaldığında, bitki hücreleri turgorunu kaybederek büzülme ve ozmotik dengeyi koruyucu mekanizmalarını devreye sokarak hücre hacminin korunmasını kontrol altına almaya çalışmaktadır (Çırak ve Esenal, 2003). Yine mısırdaki yapılan bir çalışmada, 100 mM NaCl uygulamasında nispi su içeriğinin stres koşullarında düştüğünü ve kontrol bitkilerinde ise en yüksek değerlere ulaştığı ifade edilmiştir (Yakit ve Tuna, 2006). Yaptığımız mevcut çalışmada mısır (*Zea mays*) bitkisinin

iki farklı çeşidinde de (Helen ve Akpınar) yaprak su içeriği incelenmiş ve ALA ön uygulamasının her iki çeşitte de su kaybını azalttığı görülmüştür. Yaprak su potansiyelinde de benzer sonuçlar elde edilmiştir. Çalışmamızda kuraklık stresinin mısır bitkisindeki su içeriğini azaltma etkisi, ALA ön muamelesi ile engellenmiş ve böylece dıştan uygulanan ALA uygulamalarının mısır bitkisinde dehidrasyon sakınma mekanizmasını harekete geçirerek kuraklık stresinin zararlı etkilerini indirgediği belirlenmiştir.

Bitkilerde strese tepkinin biyokimyasal belirteçlerinden biri lipid peroksidasyonudur. Membran lipidlerinin peroksidasyonu ve proteinlerin –SH gruplarının oksidasyonu, oksidatif stresin bir göstergesi olarak dikkate alınır (Sharma and Dubey, 2005). Yapılan bir çalışma ile Sairam vd. (1998), kuraklık stresinde yetistirilen buğday çeşitlerinde H₂O₂ birikimi ile lipid peroksidasyonunun artmış olduğu göstermişlerdir. Mevcut çalışmada Helen ve Akpınar isimli iki farklı mısır çeşidinde lipid peroksidasyonu ölçülmüş ve kuraklık stresi altında artan peroksidasyona rağmen 0,02 mM ALA ön muamelesinin lipid peroksidasyonunu azalttığı gözlenmiştir. Diğer bir deyişle, kuraklık stresi MDA miktarında önemli derecede artışa neden olmuş ve ALA uygulamasıyla oluşan MDA miktarında önemli derecede düşüş gözlenmiştir. Bu sonuçlar, kuraklık stresindeki mısır bitkilerinde, ALA ön muamelesinin kuraklık stresine karşı iyileşme sağladığını göstermektedir.

Bitkilerde herhangi bir çevresel stres altında reaktif oksijen türleri (ROS) üretiminin uyarıldığı bilinmektedir (Sgherri vd., 1996). ROS'ların sitotoksik etkilerinden hücre ve hücre alt yapılarını korumada ve bitkinin çevresel streslere dayanıklılığında antioksidan enzimlerdeki değişimlerin etkili olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte bitkinin strese dayanıklılığı, ROS üretimi ve hücrenin antioksidan yeteneğiyle denge halindedir (Pastori ve Trippi, 1993). Ayrıca yapılan çalışmalar incelendiğinde nohutta kuraklık stresi sırasında H₂O₂ konsantrasyonunun arttığına ilişkin çalışmalar bulunmaktadır (Gunes vd., 2006; 2007). Bu nedenle mevcut çalışmada her iki çeşit *Zea mays* bitkilerinde H₂O₂ içeriği ölçülmüş ve kuraklık stresi altında artan H₂O₂ içeriğinin ön ALA uygulaması ile azaldığı gözlenmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda, ALA ön muamelesinin H₂O₂ içeriğini stres boyunca azalttığı görülmüştür. Diğer bir deyişle, ön ALA uygulaması ile azalan H₂O₂ içeriğinin kuraklık toleransı ile ilişkisi olduğu, ALA'nın kuraklığa tolerans sağladığı gözlenmiştir.

Kuraklık stresi sonucunda oluşan serbest oksijen radikallerini zararsız bileşiklere dönüştüren antioksidan madde miktarları ve antioksidan enzim aktiviteleri, bitkilerin

oksidatif strese karşı en önemli tolerans mekanizmalarıdır (Akashi vd., 2001; Fang vd., 2002). Mısırdaki yapılan bir çalışmada, antioksidan enzimlerin, bitkileri kuraklık stresine karşı korumada rol oynadığı, kuraklık stresi sırasında reaktif oksijen türlerinin birikiminin ve antioksidan enzim aktivitelerinin arttığı, dışarıdan uygulanan askorbik asit etkisi ile ROS birikimi ve antioksidan enzim aktiviteleri azaltılarak kuraklık stresine karşı bitkilerin daha dirençli hale geldiği bildirilmiştir (Dolatabadian vd., 2009). Bu nedenle mevcut çalışmada antioksidan sisteme ait belirli enzimlerin (SOD, CAT, GPX, APX, GR, MDHAR) aktiviteleri ölçülmüştür. Yapılan çalışmalarda; SOD'ların ifadesindeki artışların biyotik ve abiyotik strese bağlı oluşan oksidatif stresle başa çıkmada ve bitkilerin stres koşulları altında canlılığı sürdürmesine katkı sağlamada önemli rolleri olduğu ileri sürülmüştür. Örneğin çalışmamıza benzer şekilde, nohut ve domates gibi birçok bitkide kuraklık koşullarında gerçekleştirilen çalışmalarda SOD aktivitesinde artışlar meydana geldiği gözlenmiştir (Harinasut vd., 2003; Attia vd., 2009). Mevcut çalışmada ön ALA uygulaması ile SOD aktivitesi düşmüş, kuraklık stresine ALA'nın birlikte verilmesi ile önemli derecede arttığı gözlenmiştir.

Katalaz, stres koşulları altında oluşan zararlı H_2O_2 'in H_2O ve O_2 'ya direkt olarak dönüşümünü sağlayarak hücreleri strese karşı korumada görevli en önemli enzimatik antioksidanlardan biridir. Yüksek bitkilerde tanımlanmış çok sayıda katalaz izozimi; *Hordeum vulgare*'de (arpa), *H. annuus* L.'ta (ayçiçeği), *Brassica oleracea* L. 'da (karnabahar) ve *Z. mays* L.'da (mısır) çalışılmıştır ve elde edilen veriler neticesinde enzimin farklı stres koşulları ve farklı bitkilerde değişik düzeylerde koruma sağladığı gözlenmiştir (Azevedo vd., 1998). Pamukta yapılan bir çalışmada dışarıdan uygulanan prolinin, katalaz enzim aktivitesini artırarak bitkinin kuraklık stresine karşı daha dirençli hale geldiği bildirilmiştir (Aktaş vd., 2009). Mevcut çalışmada CAT aktivitesi sonuçlarına baktığımızda her iki çeşitte de kuraklık stresindeki bitkiler ile ön ALA uygulaması yapılan bitkiler kıyaslandığında, ön ALA uygulamasının enzim aktivitesini arttırdığı görülmüştür. MDHAR enzim aktivitesi sonuçlarına bakıldığında ise benzer şekilde, kuraklık stresindeki bitkiler ile ön ALA uygulaması yapılmış bitkiler kıyaslandığında, ön ALA uygulamasının enzim aktivitesini arttırdığı gözlenmiştir.

Askorbat peroksidaz yüksek bitkiler gibi birçok organizmada ROS'a karşı gerçekleştirilen savunmada önemli role sahip olduğu düşünülen enzimatik antioksidanlardandır. APX, H_2O_2 'ye karşı CAT'a kıyasla daha yüksek bir affiniteye sahiptir. Yapılmış olan çalışmalarda *Ceratophyllum demersum* L. (tilki kuyruğu), *Brassica*

juncea L. Czern. (hardal), *Triticum aestivum* L. (buğday), *Vigna mungo* L. (siyah mercimek) ve *Phaseolus vulgaris* L. (fasulye) gibi birçok organizmada stres koşulları altında APX enzim aktivitesinde ve gen ekspresyonunda artışlar olduğu gözlenmiş ve bu artışların stres savunmasıyla ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (Beauchamp vd., 1971; Mobin vd., 2007; Polidoros vd., 2007). Sairam ve Saxena (2000), üç buğday çeşidinde kuraklık stresi toleransında antioksidan sistemlerin rolünü araştırdıkları çalışmalarında kuraklık stresinin askorbat peroksidaz aktivitesini önemli şekilde arttığını bildirmişlerdir. Literatürde de olduğu gibi, yaptığımız analizler sonucu kuraklık stresi sırasında APX aktivitesinin arttığı belirlenmiştir. Bununla beraber, ön ALA muamelesi yapılan bitkilerde APX enzim aktivitesinde önemli ölçüde düşüş gözlenmiştir. Çalışmamıza benzer şekilde kurak koşullardaki mısır bitkilerinde askorbat uygulamasının antioksidan enzim aktivitelerini azalttığı ileri sürülmüştür (Dolatabadian vd., 2009). Bu bilgiler ışığında, mevcut çalışmada ALA'nın ROS'ları temizlemek için diğer antioksidan enzimleri (GPX, CAT ve GR gibi) kullandığını ifade edebiliriz.

GPX'ler H₂O₂, organik ve lipit hidroperoksitlerin miktarını azaltan çeşitli izozimleri olan geniş bir ailedir ve oksidatif strese karşı bitkileri korumada görevlidirler. *Capsicum annuum* L. (biber), *Pisum sativum* (bezelye) ve *L. esculentum* (domates) başta olmak üzere pek çok bitkide stres koşulları altında GPX'in koruyucu bir rolü olduğu bulunmuştur (Dixit vd., 2001, Leisinger vd., 2001). Mevcut çalışmada GPX aktivitesi sonuçlarına baktığımızda her iki çeşitte de kuraklık stresi sırasında artan GPX aktivitesi ön ALA uygulaması ile daha fazla artmıştır. Antioksidan sistemde rol olan bir diğer enzim olan glutatyon redüktaz aktivitesine baktığımızda ise benzer şekilde kuraklık sırasında artan GR aktivitesi, ön ALA uygulaması ile daha fazla artmıştır.

Literatür çalışmalarımızda, kurak koşullardaki bitkilere dışarıdan ALA uygulanarak antioksidan enzim aktivitesindeki değişimlerin incelendiği herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bununla beraber Ebrahimian vd. (2012) kuraklık stresi altındaki ayçiçeği bitkisine askorbik asit uygulamasının bitkinin strese olan direncini arttırdığını ileri sürmekle beraber antioksidan enzim aktivitelerindeki değişimleri araştırmamışlardır. Kumar vd. (2013), lipofilik bir antioksidan olan alfa tokoferol uygulamasının sıcaklık stresi altında yetiştirilen buğday fidelerinde SOD, CAT, APX VE GR gibi antioksidan enzim aktivitelerini sıcaklık stresine göre daha fazla arttırdığını kaydetmişlerdir.

Sonuç olarak mevcut çalışmada, *Zea mays* bitkisinde kuraklık stresi koşulları altında ALA ön muamelesinin, yaprak su potansiyeli, yaprak su içeriği, yaprak kuru ağırlığı, lipid

peroksidasyonu, antioksidan enzim aktiviteleri ve H_2O_2 içeriğinde önemli derecede değişikliğe neden olduğu bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda ön ALA uygulamasının stresli ve stressiz koşullarda bitki gelişimini olumlu etkilediğı gösterildi. Stres durumunda her iki çeşitte de ön ALA uygulamasının antioksidan sistemi uyardığı, H_2O_2 birikimini ve lipid peroksidasyonunu azalttığı ve böylece membran hasarının önlendiğı ve su durumunu iyileştirdiğı sonucuna varılmıştır.

5. SONUÇLAR

Yapmış olduğumuz bu çalışma sonucunda;

- 1) Mısır (*Zea mays* L.) bitkisinin iki farklı çeşidinde kuraklık stresinin etkisiyle bitkilerde büyüme ve gelişme parametrelerinden olan nispi su içeriğinin ve yaprak kuru ağırlığının azaldığı görülmüştür. Ön ALA uygulaması ile bitkilerin nispi su içeriğinin ve yaprak kuru ağırlığının arttığı belirlenmiştir.
- 2) Stres periyodu sırasında yaprak su potansiyelinde önemli derecede bir azalma olduğu fakat ön ALA uygulamasıyla yaprak su potansiyelindeki bu azalmanın önlendiği tespit edilmiştir.
- 3) Lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan MDA içeriğinin, stres koşulları altında önemli derecede arttığı gözlenirken ön ALA uygulamasıyla MDA içeriğinin istatistikî olarak önemli derecede azaldığı gözlenmiştir.
- 4) Kuraklık periyodu boyunca içsel H_2O_2 içeriğinin arttığı ancak ön ALA uygulamasıyla içsel H_2O_2 içeriğinin önemli derecede azaldığı bulunmuştur.
- 5) Her iki çeşitte de kuraklık stresine maruz bırakılan bitki yapraklarındaki SOD, GR ve GPX aktiviteleri artarken, ön ALA uygulaması yapılan bitkilerde kuraklık stresi altında SOD, GR ve GPX aktivitelerinin daha fazla arttığı saptanmıştır.
- 6) Stres periyodu sırasında CAT ve MDHAR aktivitelerinde önemli derecede bir azalma olduğu, ön ALA uygulamasıyla CAT ve MDHAR aktivitelerinin kuraklık stresi altında arttığı kaydedilmiştir.
- 7) Kısaca bu çalışmada, kuraklık stresine maruz kalan mısır (*Zea mays* L.) çeşitlerinde ALA ön uygulamasının antioksidan enzim aktivitelerindeki ve yaprak su potansiyelindeki artışı uyardığı, nispi su içeriğini, yaprak kuru ağırlığını ve lipid peroksidasyonunu azalttığı ve böylece kuraklık stresini hafifletmede rolünün olabileceği belirlenmiştir.

6. ÖNERİLER

Tüm dünyada, bitkiler elverişsiz çevre şartlarından olumsuz etkilenmektedir. Bitkiler üzerinde olumsuz etkileri olan çevresel streslerden biri kuraklık stresidir. Hidrojen peroksit, glutatyon, salisilik asit, askorbat ve prolin gibi çeşitli maddelerin kuraklık stresinin etkilerini hafifletmede rolü olduğu ispatlanmıştır. Benzer şekilde, mevcut çalışmada ALA ön uygulamasının kuraklık stresi etkilerini önemli derecede azalttığı belirlenmiştir. Özellikle dünyada geniş olarak tarımı yapılan mısır bitkisi için bu çalışmalar daha büyük önem arz etmektedir. Elde edilen veriler doğrultusunda, ALA'nın stres koşullarında bitkileri iyileştirmeyi sağlamak amacıyla tarımda kullanılabileceği, böylece kuraklık stresine maruz kalma durumunda bu bitkilere ALA uygulamak suretiyle mısır üretimindeki ekonomik kayıpların önlenebileceği söylenebilir.

Mevcut çalışmamızda antioksidan enzim aktivitelerinde meydana gelen bir takım değişimler gözlenmiştir. Bu değişimlerin daha ayrıntılı olarak incelenebilmesi ve moleküler düzeyde araştırılması sonuçların birçok veriyle desteklenmesi açısından yarar sağlayabilir.

Çalışmada elde edilen sonuçların değerlendirilmesi noktasında ileriye dönük katkıların artırılabilmesi için dışarıdan uygulanan ALA'nın bitki tarafından ne kadar alındığını belirlemek üzere içsel ALA seviyesi HPLC yöntemi ile araştırılabilir.

7. KAYNAKLAR

- Ackerson, R.C., Kreig, D.R. ve Sung, F.J.M., 1980. Leaf Conductance and Osmoregulation of Field Grown Sorghum Genotypes, Crop Sci., 20, 10-14.
- Akashi, K., Miyake, C. ve Yokota, A., 2001. Citrulline, A Novel Compatible Solute in Drought-Tolerant Wild Watermelon Leaves, is an Efficient Hydroxyl Radical Scavenger, FEBS Lett., 508, 438-442.
- Alexieva V., Sergiev I., Mapelli S. ve Karanov, E., 2001. The Effect of Drought Ultraviolet Radiation on Growth and Stress Markers in Pea and Wheat, Plant. Cell and Environ., 24, 12, 1337-1344.
- Ali, Q., Ashraf, M. ve Athar, H., 2007. Exogenously Applied Proline at Different Growthstages Enhances Growth of Two Maize Cultivars Grown Under Water Deficite Conditions, Pakistan J. Bot., 39, 1133-1144.
- Anyia, A.O. ve Herzog, H., 2004. Water-use Efficiency, Leaf Area and Leaf Gas Exchange of Cowpeas Under Mid-season Drought, Eur. J. Agron., 20, 327-339.
- Aono, M., Saji, H., Fujiyama, S. ve Sugita, M., 1995. Decrease in Activity of Glutathione Reductase Enhances Paraquat Sensitivity in Transgenic *Nicotiana tabacum*, Plant Physiol., 107, 645-648.
- Arora, A. ve Mohan, J., 2002. Expression of Dwarfing Genes Under Nitrogen and Moisture Stress in Wheat (*Triticum* spp): Dry Matter Partitioning, Root Growth and Leaf Nitrogen, J. Agronon. Crop Sci., 186, 111-118.
- Arrigoni, O., 1994. Ascorbate System in Plant Development, J. Bioenerg. Biomembr., 26, 407-419.
- Arrigoni, O., Dipierro, S. ve Borracino, G., 1981. Ascorbate Free Radical Reductase: A Key Enzyme of The Ascorbic Acid System, FEBS Lett., 125, 242-244.
- Asada, K., 1992. Ascorbate Peroxidase-Hydrogen Peroxide Scavenging Enzyme in Plants, Physiol. Plant., 85, 235-241.
- Attia, H., Karray, N. ve Lachaa, M., 2009. Light Interacts With Salt Stress in Regulating Superoxide Dismutase Gene Expression in *Arabidopsis*, Plant Sci., 177, 161-167.
- Azevedo, R.A., Alas, R.M., Smith, R.J. ve Lea, P.A., 1998. Response of Antioxidant Enzymes to Transfer From Elevated Carbon Dioxide to Air and Ozone Fumigation, in Leaves and Roots of Wild-type and Catalase-Deficient Mutant of Barley, Physiol. Plant., 104, 280-92.
- Beauchamp, C. ve Fridovich, I., 1971. Superoxide Dismutase: Improved Assays and An Assay Applicable to Acrylamide Gels, Anal. Biochem., 44, 276-87.

- Bezrukova, M.V., Sakhabutdinova, R., Fathutdinova, R.A., Kyldiarova, I. ve Shakirova, F., 2001. The Role of Hormonal Changes in Protective Action of Salicylic Acid on Growth of Wheat Seedlings Under Water Deficit, Agrochemiya (Russ), 2, 51-54.
- Bidwell, R.G.S., 1974. Plant Physiology, Giles, McMillan Co., New York.
- Bloch, D., Hoffmann, C.M. ve Marländer, B., 2006. Impact of Water Supply on Photosynthesis, Water Use and Carbon Isotope Discrimination of Sugar Beet Genotypes, Eur. J. Agron., 24, 218-225.
- Bowditch, M. ve Donaldson, R., 1990. Ascorbate Free-Radical Reduction by Glyoxysomal Membranes, Plant Physiol., 94, 531-537.
- Bowler, C., Van Maontague, M. ve Inze, D., 1992. Superoxide Dismutase and Stress Tolerance, Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 43, 83-116.
- Bray, E.A., 1997. Plants Responses to Water Deficit, Trends Plants Sci., 2, 48-54.
- Cakmak, I., Strbac, D. ve Marschner, H., 1993. Activities of Hydrogen Peroxide-Scavenging Enzymes in Germinating Wheat Seeds, J. Exp. Bot., 44, 127-132.
- Campbell, M.K., 1991. Biochemistry, Harcourt Brace Jovanovich College Publishers, Fort Worth, USA.
- Chatterjee, J. ve Chatterjee, C., 2000. Phytotoxicity of Cobalt, Chromium and Copper in Cauliflower, Environmental Pollution, 109, 1, 69-74.
- Chaudiere, J. ve Ferrari-Iliou, R., 1999. Intracellular Antioxidants from Chemical to Biochemical Mechanisms, Food Chem. Toxicol., 37, 949-962.
- Chen, G.X. ve Asada, K., 1989. Ascorbate Peroxidase in Tea Leaves: Occurrence of Two Isozymes and The Differences in Their Enzymatic Properties, Plant Cell Physiol., 30, 987-998.
- Chen, J., Jiang, H., Hsieh, E., Chen, H., Chien, C., Hsieh, H. ve Lin, T., 2012. Drought and Salt Stress Tolerance of an Arabidopsis Glutathione S-Transferase U17 Knockout Mutant are Attributed to the Combined Effect of Glutathione and Abscisic Acid, Plant Physiology, 158, 340-351.
- Cornic, G., 2000. Drought Stress Inhibits Photosynthesis by Decreasing Stomatal Aperture-not by Affecting ATP Synthesis, Trends Plant Sci., 1, 21-26.
- Creissen, G., Broadbent, P., Stevens, R., Wellburn, A.R. ve Mullineaux, P.M., 1996. Manipulation of Glutathione Metabolism in Transgenic Plants, J. Biochem., 24, 465-472.

- Creissen, G., Edwards, E.A. ve Mullineaux, P.M., 1994. Glutathione Reductase and Ascorbate Peroxidase, In: Causes of Photooxidative Stress and Amelioration of Defence Systems in Plants, Foyer, C.H., Ed., Mullineaux, P.M., CRC Press, Boca Raton, 343-364.
- Cuevas, E., Baeza, P. ve Lissarrague, J.R., 2006. Variation in Stomatal Behaviour and Gas Exchange Between Mid-Morning and Mid-Afternoon of North-South Oriented Grapevines (*Vitis vinifera* L. cv. tempranillo) at Different Levels of Soil Water Availability, Sci. Hortic., 108, 173-180.
- Çırak, C. ve Esendal, E., 2003. Soyada Kuraklık Stresi. OMÜ Zir. Fak. Dergisi, 21, 2, 231-237.
- Çırak, C. ve Esendal, E., 2006. Soyada Kuraklık Stresi, OMÜ Zir. Fak. Dergisi, 21, 231-237.
- Dalton, D.A., Harus, F.J., Russell, S.A. ve Evans, H.J., 1987. Purification, Protection and Distribution of Ascorbate Peroxidase in Legumen Root Nodules, Plant Physiol., 83, 789-794.
- Dixit, V., Pandey, V. ve Shyam, R., 2001. Differential Oxidative Responses to Cadmium in Roots and Leaves of Pea (*Pisum sativum* L cv. Azad), J. Exp. Bot., 52, 1101-9.
- Dolatabadian, A., Modarres Sanavy, S.A.M. ve Sharifi M., 2009. Alleviation of Water Deficit Stress Effects by Foliar Application of Ascorbic Acid on Zea mays L, J. Agron. Crop Sci., 195, 347-355.
- Drake, R.B., Gonzales-Meler, M.A. ve Long, S.P., 1997. More Efficient Plants: A Consequence of Rising Atmospheric CO₂, Annual Rev.Plant.Physiol.Mol.Biol., 48, 607-637.
- Earle, F.R., Curtis, J.J. ve Hubbard, J.E., 1946. Composition of the Component Parts of The Kernel, Cereal Chem., 23, 504-511.
- Ebrahimian, E. ve Bybordi, A., 2012. Influence of Ascorbic Acid Foliar Application on Chlorophyll, Flavonoids, Anthocyanin and Soluble Sugar Contents of Sunflower Under Conditions of Water Deficit Stres, J. Food Agr. Environ., 10, 1026-1030.
- Edwards, E.A., Enard, C., Creissen, G.P. ve Mullineaux, P.M., 1994. Synthesis and Properties of Glutathione Reductase in Stressed Peas, Planta, 192, 137-143.
- Egert, M. ve Tevini, M., 2002. Influence of Drought on Physiological Parameters Symptomatic for Oxidative Stress in Leaves of Chives (*Allium schoenoprasum*), Environ. Exp. Bot., 48, 43-49.
- Ejaz, B., Sajid, Z.A. ve Aftab, F., 2012. Effect of Exogenous Application of Ascorbic acid on Antioxidant Enzyme Activities, Proline Contents, and Growth Parameters of Saccharum spp. Hybrid cv. HSF-240 Under Salt Stres, Turk. J. Biol., 36, 630-640.

- Elstner, E.F., 1987. Metabolism of Activated Oxygen Species, In: The Biochemistry of Plants, D.D. Davies, Ed., Academic Press, USA, 253-315.
- Fang, Y.Z., Yang, S. ve Wu, G., 2002. Free Radicals, Antioxidants and Nutrients in Relation to Health, Acta Nutrition Sinica, 25, 337-343.
- Feierabend, J., Schaan, C. ve Hertwig, B., 1992. Photoinactivation of Catalase Occurs Under Both High and Low Temperature Stress Conditions and Accompanies Photoinhibition of Photosystem II, Plant Physiol., 100, 1554-1561.
- Flower, D.J. ve Ludlow, M., 1986. Contribution of Osmotic Adjustment to the Dehydration Tolerance of Water Stressed Pigeonpea (*Cajanus cajan* L.) Millsp. Leaves, Plant Cell Environ., 9, 33-40.
- Foyer, C.H., Valadier, M., H., Migge, A. ve Becker, T., W., 1998. Drought-Induced Effects on Nitrate Reductase Activity and mRNA and on the Coordination of Nitrogen and Carbon Metabolites in Maize Leaves, Plant Physiol., 117, 283-292.
- Foyer, C.H., Descouvieres, P. ve Kunert, K.J., 1994. Protection Against Oxygen Radicals: An Important Mechanism Studied in Transgenic Plants, Plant Cell Environ., 17, 507-523.
- Fridovich, L., 1986. Biological Effect of Superoxide Radical, Arch. Biochem. Biophys., 247, 1-11.
- Fu, J. ve Huang, B., 2001. Involvement of Antioxidants and Lipid Peroxidation in The Adaptation of Two Cool-Season Grasses to Localized Drought Stress, Environ. Exp. Bot., 45, 105-114.
- Gaspar, T., Penel, C., Hagege, D. ve Greppin, H., 1991. Peroxidases in Plant Growth Differentiation and Development Processes, Univ. M. Curie-Sklodowska, Lublin, Poland and Univ., Geneva, Switzerland.
- Giorio, P., Sorrentino, G. ve d'Andria, R., 1999. Stomatal Behaviour, Leaf Water Status and Photosynthetic Response in Field-Grown Olive Trees Under Water Deficit, Environ. Exp. Bot., 42, 95-104.
- Grzesiak, M.T., Rzepka, A., Hura, T., Hura, K. ve Skoczowski, A., 2007. Changes in Response to Drought Stress of Triticale and Maize Genotypes Differing in Drought Tolerance, Photosynthetica, 45, 280-287.
- Gunes, A., Pilbeam, D.J., Inal, A., Bagci, E.G. ve Coban, S., 2007. Influence of Silicon on Antioxidant Mechanisms and Lipid Peroxidation in Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Cultivars Under Drought Stress, J. Plant Interac., 2, 2, 105-113.
- Gunes, A., Soylemezoglu, G., Inal, A., Bagci, E.G., Coban, S. ve Sahin, O. 2006. Antioxidant and Stomatal Responses of Grapevine (*Vitis vinifera* L.) to Boron Toxicity, Sci. Hort., 110, 279-284.

- Guoth, A., Tari, I., Galle, A., Csiszar, J., Pecsvaradi, A., Cseuz, L. ve Erdei, L., 2009. Comparison of the Drought Stress Responses of Tolerant and Sensitive Wheat Cultivars during Grain Filling: Changes in Flag Leaf Photosynthetic Activity, ABA Levels and Grain Yield, J. Plant Growth Reg., 28,167–176.
- Hale, M.G. ve Orcutt, D.M., 1987. *The Physiology of Under Stress*, John Wiley and Sons, New York, USA.
- Halliwell, B. ve Gutteridge, J.M.C., 1989. *Free Radicals in Biology and Medicine*, Oxford, Clarendon Press.
- Halliwell, B., 1984. Toxic Effects of Oxygen on Plant Tissues, In: *Chloroplast Metabolism, The Structure and Function of Chloroplasts in Green Leaf Cells*, Halliwell, B., Ed., Oxford Press, Oxford, 180-206.
- Handa, S., Bressan, R.A., Handa, A.K., Carpita, N.C. ve Hasegawa, P.M., 1983. Solutes Contributing to Osmotic Adjustment in Cultured Plant Cells Adapted to Water Stress, Plant Physiol., 73, 834-843.
- Harinasut, P., Poonsopa, D., Roengmongkol, K. ve Charoensataporn R., 2003. Salinity Effects on Antioxidant Enzymes in Mulberry Cultivar, Sci Asia, 29. 109-13.
- Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., Handa, S. ve Handa, A.K., 1984. Cellular Mechanisms of Tolerance to Water Stress, Hort. Sci., 19, 371-377.
- Hopkins, W.G., 1995. *Introduction to Plant Physiology*, The University of Western Ontario, John Wiley and Sons Inc., 423-443.
- Hossain, M.A, Nakano, Y. ve Asada, K., 1984. Monodehydroascorbate Reductase in Spinach Chloroplasts and Its Participation in Regeneration of Ascorbate For Scavenging Hydrogen Peroxide, Plant Cell Physiol., 25, 385-395.
- Hossain, M,A ve Asada K., 1984. Purification of Dehydroascorbate Reductase from Spinach and Its Characterization As A Thiol Enzyme, Plant Cell Physiol., 25, 85-92.
- Irigoyen, J.J., Emerich, D.W. ve Sanchez- Diaz, M., 1992. Alfaalfa Leaf Senescence Induced by Drought Stress: Photosynthesis, Hidrogen Peroxide Metabolism, Lipid Peroxidation and Ethylene Evolution, Physiol Plant., 84, 67-72.
- Jimenez, A., Hernandez, J.A., del Rio ve Sevilla, F., 1997. Reactive Oxygen Intermediates in Plant-Microbe Interactions: Who is Who in Powdery Mildew Resistance?, Planta, 216, 891-902.
- Jones, H.G., 1992. *Plants and Microclimate*, Cambridge University Press, Cambridge.
- Jones, M.M. ve Turner, N.C., 1978. Osmotic Adjustment in Leaves of Sorghum in Response to Water Deficit, Plant Physiol., 122-126.

- Jung, S., 2004. Variation in Antioxidant Metabolism of Young and Mature Leaves of *Arabidopsis thaliana* Subjected to Drought, Plant Sci., 166, 459-466.
- Kadioğlu, A., 2011. Bitki Fizyolojisi, Gündüz Ofset Matbaacılık, Trabzon.
- Kalefetoğlu, T. ve Ekmekçi, Y., 2005. The Effect of Drought on Plants and Tolerance Mechanisms, G. U. J. Sci., 18,4, 723- 740.
- Kaynaş, K., Kaynaş, K., Öz, F. ve Burak, M., 1995. Değişik Anaçlar Üzerine Aşılı Bazı Elma Çeşitlerinin Kurağa Dayanımları. Türkiye II. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Eylül, Adana, Bildiriler Kitabı, I:1,5.
- Kessler, B., 1961. Nucleic Acids As Factors in Drought Resistance of Higher Plants, Recent Advan. Bot., 1153-1159.
- Kow, Y.W., Smyth, D.A. ve Gibbs, M., 1982a. Oxidation of Reduced Pyridine Nucleotide By A System Using Ascorbate and Hydrogen Peroxide from Plant and Algae, Plant. Physiol., 69, 72-76.
- Kow, Y.W., Smyth, D.A. ve Gibbs, M., 1982b. Oxidation of NAD(P)H in A Constituted Spinach Chloroplast Preparation Using Ascorbate and Hydrogen Peroxide, Plant Physiol., 69, 740-741.
- Kozłowski, T.T.ve Pallardy, S.G., 1997. Physiology of Woody Plants, Academic Press, San Diego.
- Kramer, P.J., 1980. Water Relations in Plants, Academic Press, New York.
- Kumar, S., Singh, R. ve Nayyar, H., 2013. Alpha-tocopherol Application Modulates The Response of Wheat Seedlings to Elevated Temperatures by Miligation of Stres Injury and Enhancement of Antioxidant, J. Plant Growth Regul., 32, 307-314.
- Lawlor, D.W. ve Cornic, G., 2002. Photosynthetic Carbon Assimilation and Associated Metabolism in Relation to Water Deficits in Higher Plants, Plant Cell Environ., 25, 275-294.
- Lawlor, D.W., 2002. Limitation of Photosynthesis in Water Stressed Leaves: Stomata vs. Metabolism and The Role of ATP, Ann. Bot., 89, 1-15.
- Lazaridou, M. ve Koutroubas, S.D., 2004. Drought Effect on Water Use Efficiency of Berseem Clover at Various Growth Stages, [http://www.cropscience.org.au](http://www.cropsscience.org.au).
- Leisinger, U., Rufenacht, K., Fischer, B., Pesaro, M., Spengler, A. ve Zehnder, A.J.B., 2001. The Glutathione Peroxidase Homologous Gene From *Chlamydomonas reinhardtii* is Transcriptionally Up-Regulated by Singlet Oxygen, Plant Mol Biol, 46, 395-408.

- Leport, L., Turner, N.C., French, R.J., Barr, M.D., Duda, R., Davies, S.L., Tennant, D. ve Siddique, K.H.M., 1999. Physiological Responses of Chickpea Genotypes to Terminal Drought in a Mediterranean-type Environment, European J. of Agron., 11, 279-291.
- Lewitt, J., 1980. Responses of Plants to Environmental Stresses, Academic Press, New York.
- Liu, F. ve Stützel, H., 2002. Leaf Water Relations of Vegetable Amaranth (*Amaranthus* spp.) In Response to Soil Drying, Eur. J. Agron., 16, 137-150.
- Lopez, C.M.L., Takahashi, H. ve Yamazaki, S., 2002. Plant-Water Relations of Kidney Bean Plants Treated with NaCl and Foliarly Applied Glycinebetaine, J. Agron. Crop Sci., 188, 73-80.
- Ludlow, M.M., Fisher, M.J. ve Wilson, J.R., 1985. Stomatal Adjustment to Water Deficits in Three Tropical Grasses and A Tropical Legumen Grown in Controlled Conditions and in the Field, Aust. J. Plant Physiol., 12, 131-149.
- Maggio, A., De Pascale, S., Ruggiero, C. ve Barbieri, G., 2005. Physiological Response of Field-Grown Cabbage to Salinity and Drought Stress, Eur. J. Agron., 23, 57-67.
- Mahajan, S. ve Tuteja, N., 2005. Cold, Salinity and Drought stresses: An Overview, Archives of Biochem. Biophys., 444, 139-158.
- Mann, C. ve Kleilis, D., 1938. Homocuprein and Heptacuprein, Copper Protein Compounds of Blood and Liver in Mammals, Proc. R. Soc., London, 126, 303-315.
- Matthews, R.B., 1951. The Oxidation of Reduced Diphosphopyridine Nucleotide in Green Peas, J. Biol.Chem., 189, 695-704.
- McKersie, B.D. ve Lehsem, Y., 1994. Stress and Stress Coping in Cultivated Plants, Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
- Mehlhorn, H, Lelandais, M, Korth, H.G. ve Foyer, C.H., 1996. Comparison of Ascorbate-Dependent Peroxidase Activity in Horseradish Peroxidase Types I and II and in Leaf Extracts, FEBS Letts., 378, 203-206.
- Mehlhorn, H., Cottam, D.A., Lucas, P.W. ve Wellburn, A.R., 1987. Induction of Ascorbate Peroxidase and Glutathione Reductase Activities by Interactions of Mixtures of Air Pollutants, Free Radical Res. Commun., 3, 193-197.
- Meister A., 1983. Selective Modification of Glutathione Metabolism, Science, 220, 472-477.
- Meldrum, N.U. ve Tarr, H.L.A., 1935. The Reduction of Glutathione by the Warburg Christian System, Biochem. J., 29, 108-115.

- Miyake, C. ve Asada, K., 1992. Tylakoid Bound Ascorbate Peroxidase in Spinach Chloroplasts and Photoreduction of Its Primary Oxidation Product Monodehydroascorbate Radicals in the Tylakoids, Plant Cell Physiol., 33, 541-553.
- Miyake, C. ve Asada, K., 1996. Inactivation Mechanism of Ascorbate Peroxidase at Low Concentrations of Ascorbate, Hydrogen Peroxide Decomposes Compound I of Ascorbate Peroxidase, Plant Cell Physiol., 37, 423-430.
- Mobin, M. ve Khan, N.A., 2007. Photosynthetic Activity, Pigment Composition and Anti-Oxidative Response of Two Mustard (*Brassica juncea*) Cultivars Differing in Photosynthetic Capacity Subjected to Cadmium Stres, J. Plant Physiol., 164, 601-10.
- Mohsenzadeh, S., Malboobi, M.A., Razavi, K. ve Farrahi-Aschtiani, S., 2006. Physiological and Molecular Responses of *Aeluropus lagopoides* (Poaceae) to Water Deficit, Environ. Exp. Bot., 56, 314-322.
- Morris, M.L., 2002. Impacts of International Maize Breeding Research in Developing Countries, 1966-98. DF:CIMMYT, Mexico.
- Mundree, S.G., Baker, B., Mowla, S., Peters, S., Marais, S., Willigen, C.V., Govender, K., Maredza, A., Muyanga, S., Farrant, J.M. ve Thomson, J.A., 2002. Physiological and Molecular Insights into Drought Tolerance, Afr. J. Biotechnol., 1, 23-38.
- Nakano, Y. ve Asada, Y., 1987. Purification of Ascorbate Peroxidase from Spinach Chloroplasts: Its Inactivation in Ascorbat Depleted Medium and Reactivation by Monodehydroascorbate Radical, Plant Cell Physiol., 28, 131-135.
- Navari-izzo, F. ve Quartacci, M.F., 2001. Phytoremediation of Metals: Mechanisms against Oxidative Stress, Minerva Biotechnol., 13, 73-8.
- Navari-izzo, F., Quartacci, M.F. ve Sgherri, C., 2002. Lipoic Acid: A Unique Antioxidant in The Detoxification of Activated Oxygen Species, Plant Physiol. Bioch., 40, 463-70.
- Ogawa, K., Kanematsu, S. ve Asada, K., 1997. Generation of Superoxide Anion and Localization of Cu-Zn Superoxide Dismutase in the Vascular Tissue of Spinach Hypocotyls: Their Association With Lignification, Plant Cell Physiol., 38, 1118-1126.
- Packer, L., Tritschler, H.J. ve Wessel, K., 1997. Neuroprotection by The Metabolic Antioxidant Alpha-Lipoic Acid, Free Radical Bio. Med., 22, 359-78.
- Packer, L., Witt, E.H. ve Tritschler, H.J., 1995. Alpha-Lipoic Acid as A Biological Antioxidant, Free Radical Bio. Med., 19, 227-50.
- Padurariu, C., Harovitz, T., Paltineau, R. ve Negomi, V., 1969. On the Relationship Between Soil Moisture and Osmotic Potential in Maize and Sugar Beet Plants, Physiol. Plantarum, 22, 850-860.

- Pastori, G.M. ve Trippi, V.S., 1992. Oxidative Stress Induces High Rate of Glutathione Reductase Synthesis in A Drought Resistant Maize Strain, Plant Cell Physiol., 33, 957-961.
- Pastori, G.M. ve Trippi, V.S., 1993. Antioxidative Protection in A Drought-Resistant Maize Strain during Leaf Senescence, Physiol. Plant., 87, 227-231.
- Patykowski, J. ve Urbanek, H., 2003. Activity of Enzymes Related to H₂O₂ Generation and Metabolism in Leaf Apoplastic Fraction of Tomato Leaves Infected With *Botrytis cinerea*, J. Phytopathol., 151, 153-161.
- Pinheiro, H.A., DaMatta, F.M., Chaves, A.R.M., Fontes, E.P.B. ve Loureiro, M.E., 2004. Drought Tolerance in Relation to Protection Against Oxidative Stress in Clones of *Coffea canephora* Subjected to Long-Term Drought, Plant Sci., 167, 1307-1314.
- Polidoros, N.A. ve Scandalios, J.G., 1999. Role of Hydrogen Peroxide and Different Classes of Antioxidants in The Regulation of Catalase and Glutathione S-transferase Gene Expression In Maize (*Zea mays* L.), Physiol. Plant., 106, 112-20.
- Polle, A., Chakrabarti, K., Chakrabarti, S., Seifert, F., Schramel, P. ve Rennenberg, H., 1992. Antioxidants and Manganese Deficiency in Needles of Norway Spruce (*Picea abies* L.) Trees. Plant Physiol., 99, 1084-9.
- Praxedes, S.C., DaMatta, F.M., Loureiro, M.E., Ferrão, M.A.G. ve Cordeiro, AT., 2006. Effects of Long-Term Soil Drought on Photosynthesis and Carbohydrate Metabolism in Mature Robusta Coffee (*Coffea canephora* Pierre var. kouillou) Leaves, Environ. Exp. Bot., 56, 263-273.
- Premachandra, G.S., Saneoka, H., Fujita, K. ve Ogata, S., 1992. Osmotic Adjustment and Stomatal Response to Water Deficits in Maize, J. Exp. Botany., 43, 1451-1456.
- Pugnaire, F. I., Endoliz, L.S. ve Pardos, J. 1994. Handbook of Plant and Crop Stress. Marcel Dekker, New York, 247.
- Ramachandra R.A., Chaitanya, K.V., Jutur, P.P. ve Sumithra, K., 2004. Differential Antioxidative Responses to Water Stress Among Five Mulberry (*Morus alba* L.) Cultivars, Environ. Exp. Bot., 52, 33-42.
- Rosegrant, M. ve Cline, W.S.A., 2003. Global Food Security: Challenges and Policies, Science, 302, 1917-1919.
- Rosegrant, M.W., Paisner, M.S., Meijer S. ve Witcover J., 2001. Global Food Projections to 2020. Emerging Trends and Alternative Futures, International Food Policy Research Institute (IFPRI) , Washington, DC.
- Sağlam, A., 2011. Kurak Koşullardaki Mısır Bitkilerinde Yaprak Kıvrılması Sırasında Fotosentetik Aygıtta Değişimlerin Araştırılması, Doktora Tezi. K.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon

- Sairam, R.K., Chandrasekhar, V. ve Srivastava, G.C., 2001. Comparison of Hexaploid and Tetraploid Wheat Cultivars in Their Responses to Water Stress, Biol. Plant., 44, 89-94.
- Sairam, R.K., Deshmukh, P.S. ve Saxena, D.C., 1998. Role of Antioxidant Systems in Wheat Genotypes Tolerance to Water Stress, Biol.Plant., 41, 387-394.
- Sairam, R.K. ve Saxena, D.C., 2000. Oxidative Stress and Antioksidants in Wheat Genotypes: Possible Mechanism of Water Stress Tolerance, J. Agron. Crop Sci., 184, 55-61.
- Sairam, R.K., Deshmuk, P.S. ve Shukla, D.S., 1997. Tolerance of Drought and Temperature Stress in Relation to Increased Antioxidant Enzyme Activity in Wheat, J. Agron. Crop Sci., 178, 171-178.
- Salisbury, F.D. ve Ross, C.W., 1992. Plant Physiology, Wadsworth Publishing Co., California.
- Sano, S., Miyake, C., Mkami, M. ve Asada, K., 1995. Molecular Characterization Monodehydroascorbate Radical Reductase from Cucumber Highly Expressed in *Escherichia coli*, J. Biol. Chem., 270, 21354-21361.
- Saruhan, N., Saglam, A. ve Kadioglu, A., 2012. Salicylic Acid Pretreatment Induces Drought Tolerance and Delays Leaf Rolling by Inducing Antioxidant Systems in Maize Genotypes, Acta Physiol. Plant., 34, 97-106.
- Scruton, N.S., Berry, A. ve Perham, R.N., 1990. Redesign of the Coenzyme Specificity of A Dehydrogenase by Protein Engineering, Nature, 343, 38-43.
- Senaratna, T., Touchell, D., Bunn, E. ve Dixon, K., 2000. Acetyl Salicylic Acid (Aspirin) and Salicylic Acid Induce Multiple Stress Tolerance in Bean and Tomato Plants, Plant Growth Regul., 30, 157-161.
- Sgherri, C.L.M. ve Navari-Izzo, F., 1995. Sunflower Seedlings Subjected to Increasing Water Deficit Stress: Oxidative Stress and Defence Mechanisms, Physiol. Plant., 93, 25-30.
- Sgherri, C.L.M., Maffei, M. ve Navari-Izzo, F., 2000. Antioxidative Enzymes in Wheat Subjected to Increasing Water Deficit and Rewatering, J. Plant Physiol., 157, 273-279.
- Sgherri, C.L.M., Pinzino, C. ve Navari-Izzo, F., 1996. Sunflower Seedlings Subjected to Increasing Water Stress by Water Deficit: Changes in O₂⁻ Production Related to the Composition of Thylakoid Membranes, Physiol. Plant., 96, 446-452.
- Sharma, P. ve Dubey, R.S., 2005. Drought Induced Oxidative Stress and Enhances The Activities of Antioxidant Enzymes in Growing Rice Seedlings, Plant Growth Regul., 46, 209-221.

- Singh, M., Srivastava, J.P. ve Kumar, A., 1990. Effect of Water Potential Components in Wheat Genotypes, Indian, J. Plant Physiol., 33, 312-317.
- Sivaramakrishnan, S., Patell, V.Z., Flower, D.J. ve Peacock, J.M., 1988. Proline Accumulation and Nitrate Reductase Activity in Contrasting Sorghum Lines during Mid-Season Drought Stress, Physiol. Plant., 74, 418-426.
- Slesak, I., Libik, M., Karpinska, B., Karpinski, S. ve Miszalski, Z., 2007. The Role of Hydrogen Peroxide in Regulation of Plant Metabolism and Cellular Signalling in Response to Environmental Stresses, Acta Biochim. Pol., 54, 39-50.
- Smirnoff, N., 1993. The Role of Active Oxygen in the Response of Plants to Water Deficit and Desiccation, New Phytol., 125, 27-58.
- Smirnoff, N., 1998. Plant Resistance to Environmental Stresses, Curr. Opin. Biotechnol., 9, 214-219.
- Srivalli, B., Sharma, G. ve Khanna-Chopra, R., 2003. Antioxidative Defences System in Upland Rice Cultivar Subjected to Increasing Intensity of Water Stress Followed by Recovery, Physiol. Plant., 119, 503-512.
- Streb, P., Michael-Knauf, A. ve Feierabend, J., 1993. Preferential Photoinactivation of Catalase and Photoinhibition of Photosystem II are Common Early Symptoms under Various Osmotic and Chemical Stress Conditions, Physiol. Plant., 88, 590-598.
- Street, H.E. ve Öpik, H., 1984. The Physiology of Flowering Plants: Their Growth and Development, Third Edition, Baltimore.
- Tambussi, E.A., Bartoli, C.G., Beltrano, J., Guiamet, J.J. ve Araus, J.L., 2000. Oxidative Damage to Tylakoid Proteins in Water-Stressed Leaves of Wheat (*Triticum aestivum*), Physiol. Plant., 108, 398-404.
- Tambussi, E.A., Casadesus, J., Munne-Bosch, S. ve Araus, J.L., 2002. Photoprotection in Water-Stressed Plants of Durum Wheat (*Triticum turgidum* var. durum): Changes in Chlorophyll Fluorescence Spectral Signature and Photosynthetic Pigments, Fund. Plant Biol., 29, 35-44.
- Tanyolaç, D., Ekmekçi, Y. ve Ünalın, Ş., 2007. Changes in Photochemical and Antioxidant Enzyme Activities in Maize (*Zea mays* L.) Leaves Exposed to Excess Copper, Chemosphere, 67, 89-98.
- Tarin, J.J., Brincs, J. ve Cano, A., 1998, Serbest Radikaller, Antioksidantlar ve İnfertilite İle Klinik İlişkiler, Hum.Reprod., 13,9, 2371-6.
- Taylor, N.L., Day, D.A. ve Millar, A.H., 2004. Targets of Stress-Induced Oxidative Damage in Plant Mitochondria and Their Impact on Cell Carbon/Nitrogen Metabolism, J. Exp. Bot., 55, 1-10.

- Thompson, J.E., Ledge, R.L. ve Barber, R.F., 1987. The Role of Free Radicals in Senescence and Wounding, New Phytol., 105, 317-344.
- Tsuji, W., Ali, M.E.K., Inanaga, S. ve Sugimoto, Y., 2003. Growth and Gas Exchange of Three Sorghum Cultivars Under drought Stress, Biomed. Life Sci., 46, 4, 583-587.
- Turner, N.C., Begg, J.E. ve Tonnet, M.L., 1978. Osmotic Adjustment of Sorghum and Sunflower Crops in Response to Water Deficits and Its Influence on the Water Potential at Which Stomata Close, Aust. J. Plant Physiol., 5, 597-608.
- Turner, N.C., O'Toole, J.C., Cruz, R.T., Nambuco, O.S. ve Ahmad, S., 1986. Responses of Seven Diverse Rice Cultivars to Water Deficits. I. Stress Development, Canopy Temperature, Leaf Rolling and Growth, Field Crop Res., 13, 257-271.
- URL-1, http://biyoloji.ataturkfenlisesi.com/ders_notlari/bitkilerde-stres.html. 6 Kasım 2013.
- Yakit, S. ve Tuna, A.L., 2006. Tuz Stresi Altındaki Mısır Bitkisinde (*Zea mays* L.) Stres Parametreleri Üzerine Ca, Mg ve K'nın Etkileri, Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 19, 59-67.
- Yamamuchi, N., Yamawaki, K. ve Ueda, Y., 1984. Subcellular Localization of Redox Enzymes Involving Ascorbic Acid in Cucumber Fruit, J. Jpn. Soc. Horti. Sci., 53, 347-353.
- Yılmaz, S. ve Bahçecioğlu, İ.H., 2000. Karbontetraklorür ile Siroz Oluşturmuş Ratlarda Lipid Peroksidasyonu, Antioksidant Enzim ve Pirüvat Kinaz Aktiviteleri, Türk J. Vet Anim. Sci., 24, 25-28.
- Yıldız-Aktas, L., Dagnon, S., Gurel, A. ve Gesheva, E., Edreva, A., 2009. Drought Tolerance in Cotton: Involvement of Nonenzymatic ROS-Scavenging Compounds, J. Agron. Crop Sci., 195, 247-253.
- Yordanov, L., Velikova, V. ve Tsonev, T., 2000. Plant Responses to Drought, Acclimation and Stress Tolerance, Photosynthetica, 38, 171-186.
- Zhang, J., Cui, S., Li, J. ve Kirkham, M.B., 1995. Protoplasmic Factors, Antioxidant Responses, and Chilling Resistance in Maize, Plant Physiol. Biochem., 33, 567-575.

ÖZGEÇMİŞ

Funda Gül Güven, 01.04.1986 tarihinde Trabzon'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Trabzon'da tamamladı. Lise eğitimini 2000-2003 yılları arasında Trabzon Lisesi'nde tamamladı. 2004-2005 yılında Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde başladığı lisans öğreniminden 2008 yılında tamamladı. 2009-2010 eğitim öğretim yılında K.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü Biyoloji Anabilim dalında yüksek lisans eğitimine başladı. 2012-2013 tarihleri arasında Almanya-Darmstadt Teknik Üniversitesinde Erasmus öğrencisi olarak bulundu. Şuanda K.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü Anabilim dalında yüksek lisans öğrencisi olarak öğrenimine devam etmektedir. Almanca ve İngilizce bilmektedir.