

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**OZMOTİK STRES ALTINDAKİ MISIR FİDELERİNDE ABSİSİK ASİTİN  
YAPRAK KIVRILMASI ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Biyolog Asiye SEZGİN**

**HAZİRAN 2015**

**TRABZON**



**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**OZMOTİK STRES ALTINDAKİ MISIR FİDELERİNDE ABSİSİK ASİTİN YAPRAK  
KIVRILMASI ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Asiye SEZGİN**

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

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 27 / 04 / 2015**

**Tezin Savunma Tarihi : 02 / 06 / 2015**

**Tez Danışmanı : Prof. Dr. Asım KADIOĞLU**

**Trabzon 2015**

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**Biyoloji Anabilim Dalında  
Asiye SEZGİN Tarafından Hazırlanan**

**OZMOTİK STRES ALTINDAKİ MİSİR FİDELERİNDE ABSİSİK ASİTİN YAPRAK  
KIVRILMASI ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**başlıklı bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulunun 28 / 04 / 2015 gün ve 1600 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 : Doç. Dr. Nuran DURMUŞ**

*A. Kadioğlu*

*R. Terzi*

*N. Durmuş*

**Prof. Dr. Sadettin KORKMAZ**

**Enstitü Müdürü**

## ÖNSÖZ

"Ozmotik Stres Altındaki Mısır Fidelerinde Absisik Asitin Yaprak Kıvrılması Üzerine Etkisinin Araştırılması" adlı bu çalışma, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda "Yüksek Lisans Tezi" olarak araştırılmıştır.

Yüksek lisans tez danışmanlığımı üstlenerek, gerek konu seçimi, gerekse çalışmalarımın yürütülmesi sırasında ilgisini esirgemeyen sayın hocam Prof. Dr. Asım KADIOĞLU'na, teşekkür ederim.

Her zaman danıştığım da yardımcı olmaktan kaçınmayan sayın hocam Doç. Dr. Rabiye TERZİ'ye ve Doç. Dr. Neslihan SARUHAN'a, ayrıca tez jürimde yer alan Doç. Dr. Nuran DURMUŞ'a, çalışmalarım sırasında metot öğrenmemde yardımcı olan sayın Doç. Dr. Aykut SAĞLAM ve Arş.Gör.Mehmet DEMİRALAY' a, Arş.Gör. Fuat YETİŞSİN'e, poliamin ölçümlerinde laboratuvar imkanlarını bize sunan Eczacılık Fakültesi'nden Doç. Dr. Ahmet YAŞAR ve ekibine, her zaman yanımda olan ve bana yardımcı olan değerli arkadaşım Cansu HACISALİHOĞLU'na, tüm bölüm arkadaşlarıma, sonsuz hoşgörülerinden dolayı benden destek ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen kıymetli aileme çok teşekkür ederim.

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından 111T511 no' lu proje ile desteklenmiştir.

Asiye SEZGİN  
Trabzon 2015

## **TEZ ETİK BEYANNAMESİ**

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Ozmotik Stres Altındaki Mısır Fidelerinde Absisik Asitin Yaprak Kıvrılması Üzerine Etkisinin Araştırılması” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Prof. Dr. Asım KADIOĞLU' un sorumluluğunda tamamladığımı, verileri/örnekleri kendim topladığımı, deneyleri/analizleri ilgili laboratuarlarda yaptığımı/yaptırdığımı, 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. 02/06/2015

Asiye SEZGİN

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ.....	III
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET .....	VI
SUMMARY .....	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	VIII
TABLolar DİZİNİ.....	IX
SEMBOLLER DİZİNİ .....	X
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Stres ve Stres Çeşitleri.....	3
1.3. Kuraklık ve Kuraklık Stresi.....	5
1.4. Ozmotik Stres .....	7
1.5. Yaprak Kıvrılması .....	7
1.6. Lipid Peroksidasyonu .....	9
1.7. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	9
1.8. Stres Koşullarında Ozmolitlerin Biyosentezi.....	10
1.8.1. Şekerler. ....	10
1.8.2. Prolin .....	11
1.8.3. Poliaminler .....	12
1.9. Absisik Asitin Yapısı .....	13
1.10. Kuraklığın Absisik Asit ile İlişkisi.....	14
1.10.1. Absisik Asit Biyosentezi,Katabolizması ve Taşınımı .....	14
1.10.2 Absisik Asit ve Sinyal İletimi .....	16
1.11. Mısır Hakkında Genel Bilgiler .....	19
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR .....	21
2.1. Bitkilerin Büyütülmesi .....	21
2.2. Ozmotik Stres Aktında Dıştan Uygulanan ABA ve ABA Sentez İnhibitörü Fluridon (FLU) Konsantrasyonlarından Yaprak Kıvrılma Derecesine Göre Etkin Konsantrasyonların Belirlenmesi .....	21

2.3.	Analiz ve Ölçümler .....	22
2.3.1.	Yaprak Kıvrılma Derecesi ve Süresinin Ölçülmesi .....	22
2.3.2.	İçsel ABA Tayini .....	22
2.3.3.	Yaprak Su Potansiyeli Ölçümü .....	22
2.3.4.	Stoma İletkenliği Ölçümü .....	23
2.3.5.	Toplam Çözünebilir Şeker Tayini .....	23
2.3.6.	Prolin Tayini.....	23
2.3.7.	Poliamin Tayini .....	24
2.3.8.	Lipid Peroksidasyonu Tayini .....	24
2.3.9.	Hidrojen Peroksit (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) Tayini .....	25
2.3.10.	İstatistik Analizler .....	25
3.	BULGULAR .....	26
3.1.	Dıştan Uygulanan Farklı ABA ve FLU Konsantrasyonlarının Ozmotik Stres Ortamında Yaprak Kıvrılma Derecesi Üzerine Etkisi.....	26
3.2.	Etkin ABA ve FLU Muamelelerinin Ozmotik Stres Ortamında Yaprak Kıvrılma Derecesi ve Süresi Üzerine Etkisi.....	27
3.3.	ABA İçeriği .....	28
3.4.	Su Potansiyeli .....	28
3.5.	Stoma İletkenliği .....	29
3.6.	Toplam Çözünebilir Şeker Miktarı .....	30
3.7.	Prolin Miktarı .....	31
3.8.	Poliamin İçeriği .....	31
3.9.	Lipid Peroksidasyonu .....	32
3.10.	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> İçeriği .....	33
4.	TARTIŞMA .....	35
5.	SONUÇ .....	40
6.	ÖNERİLER .....	41
7.	KAYNAKLAR.....	42

ÖZGEÇMİŞ

Yüksek Lisans Tezi

ÖZET

OZMOTİK STRES ALTINDAKİ MISIR FİDELERİNDE ABSİSİK ASİTİN YAPRAK  
KIVRILMASI ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Asiye SEZGİN

Karadeniz Teknik Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı  
Danışman: Prof. Dr. Asım KADIOĞLU  
2015, 59 Sayfa

Bu çalışmada ozmotik stres altındaki mısır fidelerinde (Akpınar) absisik asitin (ABA) yaprak kıvrılması üzerine etkisini araştırmak için ozmotik koşullarda fidelere dıştan ABA ve ABA biyosentez inhibitörü fluridon (FLU) uygulamalarıyla yaprak kıvrılma derecesi, stoma iletkenliği, yaprak su potansiyeli, lipid peroksidasyonu, içsel hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve ABA içeriği değişimleri belirlendi. Ayrıca şeker, prolin ve poliamin gibi ozmolit içeriğindeki değişimler saptandı. Ozmotik stres koşullarında ABA uygulamasının (250  $\mu$ M) yaprak kıvrılmasını geciktirdiği, kıvrılma derecesini (%), stoma iletkenliği, içsel  $H_2O_2$  içeriğini ve prolin miktarını azalttığı, yaprak su potansiyeli arttırdığı ve membran hasarını iyileştirdiği, içsel ABA, poliamin ve toplam şeker içeriğinin ise artmasını teşvik ettiği kaydedildi. Bu durumun aksine; FLU uygulamasının, yaprak kıvrılmasını daha erken başlattığı ve kıvrılma derecesini, stoma iletkenliğini, membran hasarını ve  $H_2O_2$  içeriğini arttırdığı, su potansiyelini ise azalttığı görüldü. Ayrıca, stres koşulları altında FLU uygulamasının, prolin içeriğini değiştirmedeği, içsel ABA, poliamin ve toplam şeker içeriğini ise azalttığı belirlendi. Elde edilen bulgulara göre, kuraklık stresine maruz kalan mısır fidelerine ABA uygulamasının yaprak su durumunun koruduğu, bazı ozmolitleri, içsel ABA içeriğini arttırdığı ve lipid peroksidasyonunu, içsel  $H_2O_2$  içeriğini azalttığı; böylece kuraklık hasarlarının olumsuz etkilerini yatıştırmada önemli bir rolü olan 250  $\mu$ M ABA'nın yaprak kıvrılmasını geciktirdiği sonucuna varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Kuraklık stresi, Yaprak kıvrılması, ABA uygulaması,  $H_2O_2$ , Ozmolit, Mısır.



Master Thesis

SUMMARY

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF ABSCISIC ACID ON LEAF ROLLING in  
MAIZE SEEDLINGS UNDER OSMOTIC STRESS

Asiye SEZGİN

Karadeniz Technical University  
The Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Biology Graduate Program  
Supervisor: Prof. Asım KADIOĞLU  
2015, 59 Pages

In this study, to investigate the effect of abscisic acid (ABA) on leaf rolling in maize seedlings (Akpınar) under osmotic stress, changes in degree of leaf rolling, stomatal conductance, leaf water potential, lipid peroxidation, endogeneous hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) and ABA content changes were determined with application of ABA and ABA biosynthesis inhibitor fluridone (FLU) to the seedlings. Changes in osmolyte such as sugar, proline, polyamine contents were also determined. It was recorded that under osmotic stress application of ABA (250 µM) delayed leaf rolling, decreased degree of rolling (%), stomatal conductance, endogeneous H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content and proline level, alleviated membrane damage, increased leaf water potential, induced to increase the endogeneous ABA, polyamine, total sugar content. On the other hand, it was determined that application of FLU started earlier leaf rolling and increased the degree of leaf rolling, stomatal conductance, membrane damage and endogeneous H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content but decreased the water potential. Furthermore, under stress conditions, application of FLU didn't effect proline content, while endogeneous ABA, polyamine and total sugar contents increased. As a consequence of these results, the application of ABA to maize seedlings exposed to drought stress conserved water statute in the seedlings, increased some osmolites, endogeneous ABA content and decreased lipid peroxidation, endogeneous H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content; by this way, it was concluded that 250 µM ABA which has an important role of alleviating negative effects of drought stress can delay leaf rolling.

**Key Words:** Drought stress, Leaf rolling, ABA application, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Osmolyte, Maize.

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b><u>Sayfa No</u></b>
Şekil 1. Başlıca çevresel stres tipleri.....	4
Şekil 2. Bitkilerde prolinin çok yönlü fonksiyonları.....	12
Şekil 3. ABA'nın yapısı .....	14
Şekil 4. ABA Biyosentezi ve Katabolizması .....	16
Şekil 5. Stres koşullarında ABA-bağımlı ve ABA-bağımsız yollarda gen ifadesinin düzenlenmesi.....	18
Şekil 6. ABA ve FLU muamelelerinin ozmotik stres ortamında ABA içeriği üzerine etkisi .....	28
Şekil 7. ABA ve FLU muamelelerinin ozmotik stres ortamında yaprak su potansiyeli üzerine etkisi.....	29
Şekil 8. ABA ve FLU muamelelerinin ozmotik stres ortamında stoma iletkenliği üzerine etkisi .....	30
Şekil 9. ABA ve FLU muamelelerinin ozmotik stres ortamında toplam çözülebilir şeker miktarı üzerine etkisi .....	30
Şekil 10. ABA ve FLU muamelelerinin ozmotik stres ortamında prolin miktarı üzerine etkisi .....	31
Şekil 11. ABA ve FLU muamelelerinin ozmotik stres ortamında poliamin içeriği üzerine etkisi .....	32
Şekil 12. ABA ve FLU muamelelerinin ozmotik stres ortamında lipid peroksidasyonu üzerine etkisi .....	33
Şekil 13. ABA ve FLU muamelelerinin ozmotik stres ortamında içsel H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> içeriği üzerine etkisi .....	34

## TABLULAR DİZİNİ

	<b><u>Sayfa No</u></b>
Tablo 1. Dıştan uygulanan farklı ABA konsantrasyonlarının ozmotik stres altında yaprak kıvrılma derecesi (%) ve MDA içeriği üzerine etkisi .....	26
Tablo 2. Dıştan uygulanan farklı FLU konsantrasyonlarının ozmotik stres altında yaprak kıvrılma derecesi (%) üzerine etkisi.....	27
Tablo 3. Dıştan uygulanan ABA ve FLU muamelelerin ozmotik stres altında yaprak kıvrılma derecesi ve süresi üzerine etkisi.....	27

## KISALTMALAR DİZİNİ

ABA	: Absisik Asit
ABA1	: ABA biyosentez geni
ABA-GE	: ABA- $\beta$ -D-glukozil ester
ABC	: ATP bağlayıcı kaset
ADC	: Arginin dekarboksilaz
AIT1	: ABA-Önemli-Taşıyıcısı 1
AREB	: ABA cevabında element bağlayıcı protein (ABA responsive element binding protein)
DREB2	: Kuraklığa cevapta element bağlayıcı (drought responsive element binding)
FLU	: Fluridon
G5SA	: Glutamil-5-semialdehit
KA	: Kuru ağırlık
MDA	: Malondialdehit
ODC	: Ornitin dekarboksilaz
P5CS	: $\Delta$ 1-pirolin-5-karboksilat sentaz
P5CS1	: P5CS izoformu
P5CS2	: P5CS izoformu
PA	: Poliamin
PEG	: Polietilen glikol
PP2C	: Protein fosfataz 2C
Put	: Putresin
PYR/PYL/RCAR	: ABA reseptörleri
ROT	: Reaktif oksijen türleri
SAMDC	: S-adenozil metionin dekarboksilaz
SnRK2	: SNF1 bağımlı protein kinaz 2
Spd	: Spermidin
Spm	: Spermin

## 1. GENEL BİLGİLER

### 1.1. Giriş

Kuraklık dünyanın genelinde dikkat çeken önemli bir konudur. Kuraklıkla ilişkili problemler iklim değişikliklerinden dolayı artmaktadır ve bunun sonucu olarak, tahıl üretimi yüksek olan alanlarda su eksikliğinden dolayı ciddi verim düşüşleri olabilmektedir (Fan vd., 2009; Farré ve Faci 2009).

Stres etmenlerinin neden olduğu zarar; bitkinin türüne, tolerans ve adaptasyon kabiliyetine bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Kadioğlu, 2011; Madhova Rao vd., 2005). Kuraklık stresine cevapta bitkiler, ani çevresel değişimlere adaptasyon sağlayan gelişmiş karmaşık fizyolojik ve kimyasal stratejilere sahiptirler (Cutler vd., 2010; Harb vd., 2010; Hirayama ve Shinozaki, 2010; Krasensky ve Jonak, 2012; Qin vd., 2011; Shi vd., 2013a,b).

Bitkilerin abiyotik streslere (kuraklık stresine, vb.) karşı tüylülük, derin kök sistemi, kalın kutikula gibi çeşitli savunma mekanizmalarına sahip oldukları bilinmesine ek olarak bazı bitkilerin kuraklık stresi altında hayatlarını devam ettirebilmek için geliştirdikleri sakınma mekanizmalarından birisi de yapraklarda transpirasyonu azaltmak için rulo şeklindeki kıvrılma cevabıdır (Bidwell, 1974; Kadioğlu ve Terzi, 2007). Bu mekanizmaya sahip olan bitkiler uzun süre canlılıklarını devam ettirebilir ve kuraklığı en az hasarla atlatabilirler (Heckathorn ve Delucia, 1991). Yaprak kıvrılma mekanizmasına sahip olan çeltik, buğday ve diğer bazı Gramineae türleri üzerinde bazı çalışmalar yapılmış ve yaprak kıvrılması ile strese tolerans arasındaki ilişki araştırılmıştır (Jones, 1979; Heckathorn ve Delucia, 1991; Ekanayake vd., 1993). Ayrıca, kuraklığa en toleranslı *Festuca arundinacea* Schreb. türlerinin belirlenmesinde yaprak kıvrılma derecesinin önemli bir özellik olduğu ileri sürülmüştür (White vd., 1992). Diğer taraftan, yaprak kıvrılma mekanizmasına sahip *Ctenanthe setosa*'da (Kadioğlu ve Turgut, 1999; Kadioğlu ve Terzi, 2007), mısırdada (Saruhan vd., 2012) yaprak kıvrılması üzerinde bazı fizyolojik ve biyokimyasal çalışmalar yapılmıştır.

Su eksikliği sırasında yaprak kıvrılması gibi morfolojik değişimlerin yanı sıra bazı fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler değişimler de meydana gelmektedir. Örneğin, su eksikliği sırasında, stomatal kapanma, terleme ve fotosentetik oranlarda azalma gibi

fizyolojik mekanizmalara (Martinez Ballesta vd., 2004; Krouma, 2010) ilave olarak protein yıkımı ve diğler azotlu bileşiklerin proteoliz sürecinde (Ezzine ve Ghorbel, 2006) oluşan organik maddelerin birikimi ile karakterize edilen ozmotik ayarlama gibi biyokimyasal olaylar gerçekleşmektedir. Ayrıca stres esnasında şaperonlar gibi bazı koruyucu maddelerin sentezi de meydana gelmektedir. Yukarıda belirtilen olaylar, hücresele seviyede sinyal iletimi harekete geçirilerek gerçekleştirilen stres cevaplarıdır. Sinyalle ilgili cevaplar, stres-cevap genlerinin kontrolünü yapan transkripsiyon faktörleri ve bitki büyüme hormonları, şeker, poliamin ve prolin gibi düzenleyici moleküllerle sağlanır (Kavi Kishor vd., 2005; Liu vd., 2007).

Bitkilerin çeşitli stres koşullarında ozmolit olarak bilinen, prolin, çözünebilir şeker ile poliamin ve glisin betain gibi aminleri biriktirdikleri bildirilmiştir (Seki vd., 2007). Prolin, su stresine maruz kalan bitkilerde çok genel ozmolitlerden birisidir. Yapılan çalışmalarda, genetik yapısı değiştirilmiş bitkilerde prolinin aşırı üretiminin sağlanması ile kuraklık stresine ve tuzluluğa tolerans sağlandığı bulunmuştur (Yoshiba vd., 1997; Kavi Kishor vd., 2005; Verbruggen ve Hermans, 2008). Prolinin abiyotik stres koşullarında birikimi, bitki türüne ve maruz kalınan stresin şiddeti ve süresine bağlı olarak değişmektedir (Delauney ve Verma, 1993; Bohnert ve Jensen, 1996). Prolinin ozmotik stres koşullarında farklı rollerinin olduğu, örneğin subseleuler yapıların, membranların ve proteinlerin stabilizasyonunu sağladığı, reaktif oksijen türlerini parçalayarak hücresele fonksiyonları muhafaza ettiği, ozmotik ayarlama ve sitozol pH'sını düzenleme gibi fonksiyonlarının olduğu kaydedilmiştir (Vanrensburg vd., 1993; Bohnert ve Shen, 1999; Seki vd., 2007).

Poliaminler biyokimyasal işleyişin bozulmasına karşı kuraklık toleransının geliştirilmesiyle ilişkilidir (Alcázar vd., 2010; Yang vd., 2007) Poliaminlerin çözünebilir ve çözünemeyen bağlı formları kuraklığa karşı önemli bir koruyucudur (Roussos and Pontikis, 2007). Daha fazla poliamin üretilmesi sonucunda poliaminler, nispeten daha serbest anyonik moleküllerle (DNA, RNA, proteinler ve membran lipidleri) ilişkiye girerler ve stres koşullarında membran sistemlerini denatürasyondan korurlar (Kramer ve Wang, 1989; Singh vd., 2002).

Çeşitli streslere cevap olarak sentezlenen şekerler, besin ve metabolit sinyal molekülü olarak görev alırlar ve böylece spesifik veya hormonlarla ilişkili olarak sinyal iletimini uyarırlar ve gen ifadesinin modifikasyonuna neden olurlar. Ayrıca içsele ozmotik

potansiyeli düzenleyerek biyomolekül ve membranların korunmasına katkıda buldukları da bilinmektedir (Seki vd., 2007).

Absisik asit (ABA) kuraklık ve tuz stresi gibi çeşitli abiyotik streslere cevapta rol oynayan bir hormondur ve bitkilerde birçok gelişim sürecine katılır (Nitsch vd., 2012). Kuraklık ve tuz etkisiyle oluşan, stresten sorumlu çok sayıda genin ekspresyonu uyarılır (Guan ve Scandalios, 1998; Zhu, 2002; Chen vd., 2005) ve bitki stres sinyalinde anahtar hormon olan ABA biriktirilir (Bartels ve Sunkar, 2005; Finkelstein, 2013). Bitkilerde su eksikliği ilk olarak kökler tarafından hissedilir ve burada üretilen ABA, bitkilerin su kaybını önlemek için yapraklara taşınarak stomaların kapanmasını düzenler (Pei vd., 2000; Sauter vd., 2001; Xiong vd., 2002). Bunların dışında ABA, antioksidan sistemi uyararak (Jiang ve Zhang, 2002a; Meinhard vd., 2002; Pastori ve Foyer, 2002) ve çeşitli ozmoprotektan moleküllerin birikimine neden olarak reaktif oksijen türlerinin uzaklaştırılmasına yardımcı olur (Lu vd., 2009; Özfıdan vd., 2013). Ayrıca dıştan uygulanan ABA'nın çeşitli bitki çeşitlerinde ozmotik strese ve tuz stresine karşı bitkileri koruduğu rapor edilmiştir (Özfıdan, 2013).

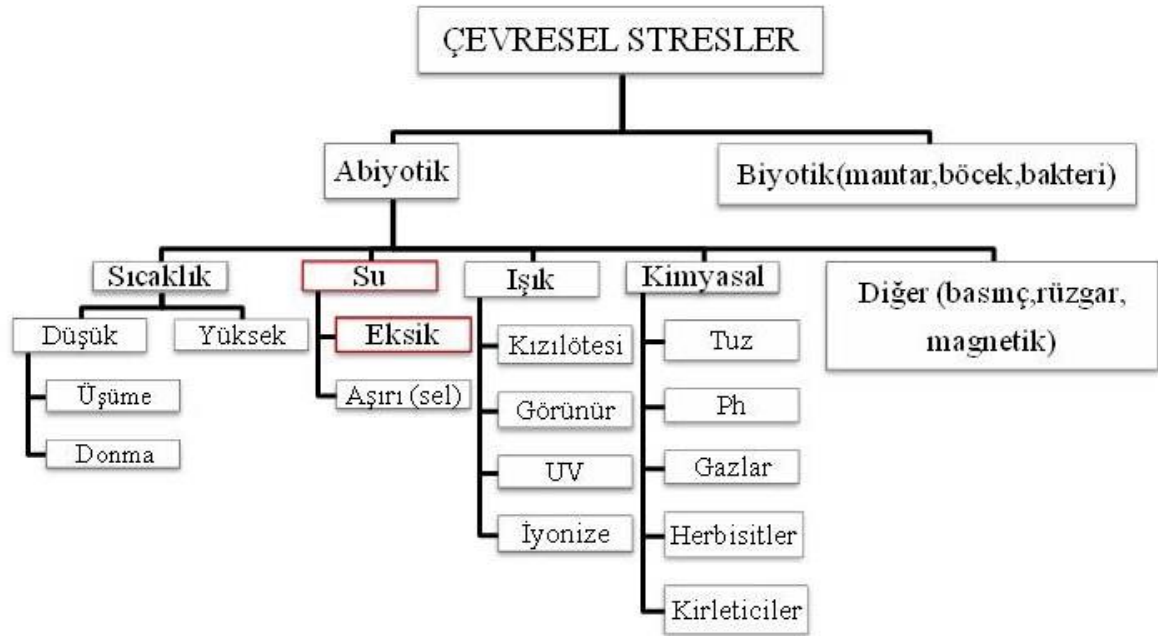
Mevcut çalışmada kuraklık stresine maruz bırakılan mısır fidelerinde dıştan ABA uygulamasının yaprak kıvrılmasını geciktirdiği tarafımızdan belirlenmiştir. Bu çalışmayla ABA'nın hangi içsel olayları etkileyerek yaprak kıvrılmasını geciktirdiğini açığa çıkarmak amaçlanmıştır. Bu nedenle bitkilerdeki su durumunu ve içsel ozmolit seviyelerini değiştiren değişik uygulamalar yapılmıştır. Bu uygulamalar sonucunda bazı sinyal ara bileşiklerinin (şekerler, prolin ve poliamin) seviyelerindeki değişimler ile stoma iletkenliği, su potansiyeli, membran hasarı, içsel H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve ABA miktarındaki değişimler belirlenmiştir. Dıştan bitkilere ABA uygulamasının bitkilerin abiyotik stres toleransını artırdığı çeşitli çalışmalarla rapor edilmiştir (Li vd., 2011; Zhou, 2014; De Souza vd., 2014; Dias vd., 2014). Ancak ozmotik stres koşulları altında ABA'nın yaprak kıvrılması üzerine etkisine dair bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle mevcut tez çalışması bu yönüyle özgündür.

## 1.2. Stres ve Stres Çeşitleri

Canlılarda normal sistemin fonksiyonlarını inhibe etme eğiliminde olan olumsuz etkiler ya da kuvvetler stres olarak tanımlanmaktadır (Kadıoğlu, 2011). Stres terimi aynı zamanda hasar meydana getirme potansiyelini de kapsar. Bir metabolizma bozukluğunun

sonucunda oluşan bu hasarlar bitkinin büyümesinde ve veriminde azalma meydana getirirler (Hale ve Orcutt, 1987).

Bitkilerin maruz kaldığı başlıca stres faktörleri, biyotik ve abiyotik olmak üzere iki kısma ayrılabilir. Bitkilerin maruz kaldığı başlıca abiyotik stres faktörleri; soğuk, sıcaklık, kuraklık, tuzluluk, su fazlalığı, radyasyon, çeşitli kimyasallar, oksidatif stres, rüzgar ve besin yetersizliğinden oluşur. Biyotik faktörler ise virüs, bakteri ve fungusları içeren patojenler, böcekler ve herbivorları içine alır (Yılmaz vd., 2011, (Şekil 1)). Abiyotik stres tiplerinin etkileri birbirleriyle ilişkilidir. Örneğin, yüksek sıcaklığa dayanıklılık, onunla birlikte meydana gelen kuraklık şartlarına dayanıklılığa bağlıdır. Diğer taraftan donmaya dayanıklılık, dokunun dehidrasyona dayanıklılığı ile önemli derecede bağlantılıdır (Kadıoğlu, 2011).



Şekil 1. Başlıca çevresel stres tipleri

Strese dayanıklılık sakınma ve tolerans olmak üzere ikiye ayrılır (Levitt, 1972). Sakınma, bitkiye dıştan uygulanan olumsuz bir faktörün etkisini stres oluşturmadan önleme yeteneğidir (Street ve Opik, 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



sakinabilir (Bidwell, 1974). Eğer bir bitki stres sonucu oluşan hasarları azaltabilme veya hiğ hasar oluşturmama özelliğinde ise bu durum tolerans olarak adlandırılır. Diğer bir deyişle tolerans dıştan uygulanan bir strese canlının dayanabilme yeteneğidir (Street ve Opik, 1984). Örneğin kuraklık toleransına sahip bitkiler protoplazma su kaybettiği zaman protoplazması yeniden su alana kadar hayatsal faaliyetlerine devam edebilirler (Hopkins, 1995).

Stres altındaki bitkiler üzerinde ęalıřma 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 koşullardan 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 (Bidwell, 1974).

### **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 geręekleşmektedir (Jones, 1992).

Dünya üzerindeki kullanılabilir alanlar stres faktörlerine göre sınıflandırıldığında doğal bir stres faktörü olan kuraklık stresi % 26'lık payıyla en büyük dilimi içermektedir. Kuraklık stresini % 20 ile mineral stresi ve % 15 ile soğuk ve don stresi takip etmektedir. Bunların dışında kalan tüm stresler % 29'luk bir pay alırken, yalnızca % 10'luk bir alan herhangi bir stres faktörüne maruz kalmamaktadır (Blum, 1986). Bu durumda 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'e (1980) göre bu mekanizmalar kuraklıktan sakınma ve kuraklığa tolerans gösterme olmak üzere iki ana başlık altında incelenebilir. Çoğu bitkide ęeřitli kuraklık sakınma mekanizmaları gelişmiştir. Stresten sakınma

mekanizmalarından ilki çöl bitkilerinde görülür. Örneğin, çölde kısa ömürlü olan bitkiler yeterli yağmur periyodu sırasında büyür ve çoğalırlar. Kuraklık periyodunda ise dormant tohumlar meydana getirirler. Diğer bir kaçınma 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 kaçınırlar (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 suyu iyi bir şekilde absorbe etmek için yaprak yüzeyinde tüy, kütikula ve stoma modifikasyonları gibi özel yapılar geliştirirler.

Stresten kaçınan 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 maruz bırakıldıktan sonra bitkinin canlılığını devam ettiren mekanizmaları kapsar. Su hasarı artarsa hücreler turgor durumlarını kaybederler ve böylece hücrelerin büyümesi sınırlandırılır. Ayrıca, hücreler içsel ozmotik potansiyellerini ayarlayarak da hücre büyüme ve gelişmesini düzenlerler (Hasegawa vd., 1984).

Kuraklık stresine karşı tolerans mekanizmalarından biri de ozmotik ayarlamadır (Kramer, 1980). Yapılan araştırmalar, ozmotik ayarlamasının bitkinin türüne, yaşına, stresin derecesine, çevresel şartlara ve strese maruz kalan bölgeye bağlı olduğunu göstermektedir (Ackerson vd., 1980). Ozmotik ayarlama, stoma açıklığının korunmasına (Ackerson vd., 1980; Ludlow vd., 1985) ve fotosentezin devam etmesine (Ackerson vd., 1980) katkı sağlar.

#### 1.4. Ozmotik Stres

Ozmotik stres kuraklık, tuzluluk veya soğuk stresinin neden olduğu en önemli abiyotik faktörlerden biridir. Genel olarak ozmotik stres bitkilerin büyümesi, gelişimi ve verimini değiştiren morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler değişimlere neden olur ve bitkilerinin büyüme ve verimini sınırlandırır. Kuraklık, tuzluluk ve soğuk stresinin uyardığı oksidatif stres genellikle birbiriyle bağlantılıdır ve bu koşullar tek başına veya kombine olarak çeşitli hücrel hasarları uyarır. Bitkilerde ozmotik stresi uyaran böyle stresler kompleks bir yapıdadır. Ozmotik stresin en önemli cevaplarından biri ABA birikimidir. ABA ozmotik stres cevaplarını uyarır. Ozmotik stres sinyalleri ABA bağımlı ve ABA bağımsız yolla gerçekleşir (Upadhyaya vd., 2013).

Ozmotik stres ayrıca oksidatif hasara da neden olur ve bitki hücrelerinde reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşmasını başlatır. Bununla beraber, bitkiler antioksidan enzimlerin aktivasyonu ve çözünebilir bileşiklerin birikimi gibi ROT'ları etkili bir şekilde temizleyerek oksidatif hasarı azaltan mekanizmalara sahiptirler. Eğer ROT üretimi bitkinin temizleyebileceği seviyeyi aşarsa, istenmeyen reaksiyonlar sonucunda tipik semptom olarak ozmotik duyarlılık kaybı, solma ve nekroz meydana gelir. Bu nedenle ROT üretimi ve temizlenmesi arasındaki denge, bitkilerin normal büyüme ve metabolizmasının sürmesi ve bitkilerde ozmotik stres toleransının gerçekleşmesi için gereklidir (Upadhyaya vd., 2013).

#### 1.5. Yaprak Kıvrılması

Yaprak kıvrılması bitkilerin stresten sakınma mekanizmalarından birisidir (Clarke, 1986). Bitkilerde yaprak kıvrılmasıyla ilişkili iki farklı tip hücre bulunmaktadır. Bunlardan biri bulliform hücreleri olup, bu hücreler bazı Gramineae türlerinin yaprak üst epidermisinde orta damar boyunca yer alırlar. Hava kabarcığı şeklinde olan bu hücreler, yaprak kıvrılması ve açılmasını kontrol etmek için su ile dolarlar. Kuraklık stresi altında, bulliform hücreleri büzülür ve bunun sonucunda yapraklar kıvrılmaya başlar. Bu şekildeki bir kıvrılma ile yaprak alanının sadece % 68'i ışığa maruz kalır ve transpirasyon da % 46-83 oranında azaltılır (Oppenheimer, 1960). Yaprak kıvrılmasıyla ilişkili diğer bir hücre hipodermis hücreleridir. *Ctenanthe setosa*'da bulliform hücreleri yerine yaprağın üst

epidermisinin altında ve yaprağın yüzeyi boyunca yer alan büyük hipodermis hücreleri yaprakların rulo şeklinde kıvrılmasına neden olurlar (Kadioğlu ve Terzi, 2007).

Kuraklık, ışık, sıcaklık ve radyasyon gibi abiyotik faktörlerden kaynaklı yaprak kıvrılması bitki organizmalarında bir sakınma mekanizması olarak kabul edilir (Kadioğlu ve Terzi, 2007). Ek olarak, böcekler ve funguslar gibi biyotik stresler de yaprak kıvrılmasına sebep olabilir (Kadioğlu vd., 2012).

Yaprak kıvrılmasına sebep olan abiyotik stres faktörlerinden biri çeltik, mısır, buğday, darı gibi çeşitli bitkilerdeki su eksikliğidir (Kadioğlu ve Terzi, 2007). Kurak ortamda yetişen bitkiler, yapraklarına gelen ışık miktarını azaltmak için yaprağın açısını değiştirirler ve böylece ışık absorpsiyonu için daha az bir yüzey alanı sağlamış olurlar. Bilindiği gibi ışık, yaprağın ısınmasına neden olur ve bu durum su kaybını artırabilir. Bu şartlar altında geliştirilen mekanizmalardan birisi yaprak yüzeyinin yansıtma özelliğindeki değişimlerdir (Oppenheimer, 1960). Örneğin, kuraklık stresi altında, küçük taneli tahıl bitkileri orta damar boyunca kıvrılmış dik yapraklar sergilerler. Bu olay, bitkiler genellikle suyu geceleyin aldıkları için günün ilerleyen saatlerinde gerçekleşir. Fakat toprak nemi azaldığı zaman, yaprak kıvrılması günün erken saatlerinde de meydana gelebilir (Kadioğlu ve Terzi, 2007). Yaprak kıvrılması bitkinin su kaybını azaltarak senesensin gecikmesine neden olması bakımından da önemlidir (Richards vd., 2002). Su stresi sırasında yaprak senesensi yerine yaprak kıvrılmasının başlaması bitkinin fotosentezi iyileştirmesine veya ciddi olarak artırmasına da olanak sağlayabilir (Knapp, 1985). Örneğin, *Andropogon gerardii*, stres esnasında su kaybı oranını yavaşlatmak için yapraklarını kıvrarak fotosentezi aktif olarak devam ettirir ve böylece kısa süreli kuraklığa dayanabilir (Richards vd., 2002).

Çoğu bitkilerde yüksek ve düşük sıcaklık yaprak kıvrılma derecesini etkileyebilir. çeltikte yaprak kıvrılması, yaprak sıcaklığı ve yaprak ozmotik potansiyeli ile korelasyon göstermektedir (Kadioğlu ve Terzi, 2007). *Rhododendron* türleri gibi bazı bitkilerde, yaprak kıvrılması düşük sıcaklıkta meydana gelir (Nilsen, 1991). Ancak çeltikte soğuk uygulaması yaprak kıvrılması cevabıyla sonuçlanır (Yan vd., 2006). Yaprak kıvrılması, aşırı güneş ışığında bitkileri ışıktan koruma mekanizması olarak da bilinir ve çoğu bitkide bulunabilir (Kao ve Forseth, 1992; Björkman ve Demmig Adams, 1993; Xu ve Wu, 1996). Örneğin aşırı güneş ışığına maruz kalan *Amomum villosum* Lour. bitkisinde meydana gelen yaprak kıvrılması bitkiyi ışığın olumsuz etkilerinden koruyan mekanizmalardan biridir ve

normal tarla koşullarında bu mekanizma etkili bir şekilde bitkiyi ışık hasarından koruyabilir (Feng vd., 2002).

### 1.6. Lipid Peroksidasyonu

Stres etkisiyle oluşan serbest radikaller bitkilerde lipid peroksidasyonunu başlatabilir (Thompson vd., 1987). Lipid peroksidasyonu oksidatif stres sonucunda oluşan malondialdehit (MDA) içeriğine bakılarak belirlenir (Irigoyen vd., 1992) ve yaprak senesensi esnasında önemli bir değişim olarak düşünülür (Dhindsa vd., 1981/82; Thompson vd., 1987). Stres altında lipidlerin oksidasyonu iki veya üç kat artabilir. Örneğin çeltik sürgünlerinde (Yordanov vd., 2000), buğday genotiplerinde (Sairam vd., 2001), yoncada (Irigoyen vd., 1992) ve şeker kamışı yapraklarındaki (Smirnoff, 1993) su stresi lipid peroksidasyonunu artırır. Diğer taraftan bazı çim bitkilerinde kuraklık esnasında MDA içeriğinin etkilenmediği de bilinir. 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 (Pastori ve Trippi, 1992; Sairam vd., 1998).

### 1.7. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

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<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de üretilir. Fotosentetik elektron transport zinciri H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin üretiminden sorumludur. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'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<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin üretildiği diğer önemli kaynaklardır (Slesak vd., 2007). Yapısında paylaşılmamış elektron

içermediğinden radikal özellik taşımaz.  $H_2O_2$ 'nin oksitleyici bir tür olarak bilinmesinin nedeni demir ve bakır gibi metal iyonlarının varlığında hidroksil radikalının 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).

### **1.8. Stres Koşullarında Osmolitlerin Biyosentezi**

Stres koşulları altında bitkiler, ozmotik dengenin sağlanması ve hücresel yapıların korunması için yaygın olarak çözünebilir şeker (fruktoz, sakkaroz ve glukoz) ve şeker alkoller (mannitol, gliserol, metillenmiş inositol), prolin, glisin betain, poliamin, gibi osmolitler biriktirirler (Borsani vd., 2003; Ashraf, 2007; Yazıcı vd., 2007).

#### **1.8.1. Şekerler**

Glukoz, fruktoz ve sakkaroz gibi çözünebilir şekerler bitki yapı ve metabolizmasında önemli fonksiyonlara sahiptirler. Şekerler nişasta ve selüloz gibi kompleks karbohidratların sentezi için substrat olmalarının yanında amino asit ve yağ asidi biyosentezi için başlangıç bileşiklerini de temin ederler. Çözünebilir şekerlerden biri olan sakkaroz sentezi sakkaroz fosfat sentaz ve sakkaroz sentaz olmak üzere iki enzim tarafından katalizlenir. sakkaroz fosfat sentaz yerleşimi bakımından fotosentetik dokularda sınırlı değildir. Aynı zamanda, olgunlaşmakta olan meyveler gibi fotosentetik olmayan dokularda da bulunurlar ve bu dokularda da aktiftirler (Huber ve Huber, 1996).

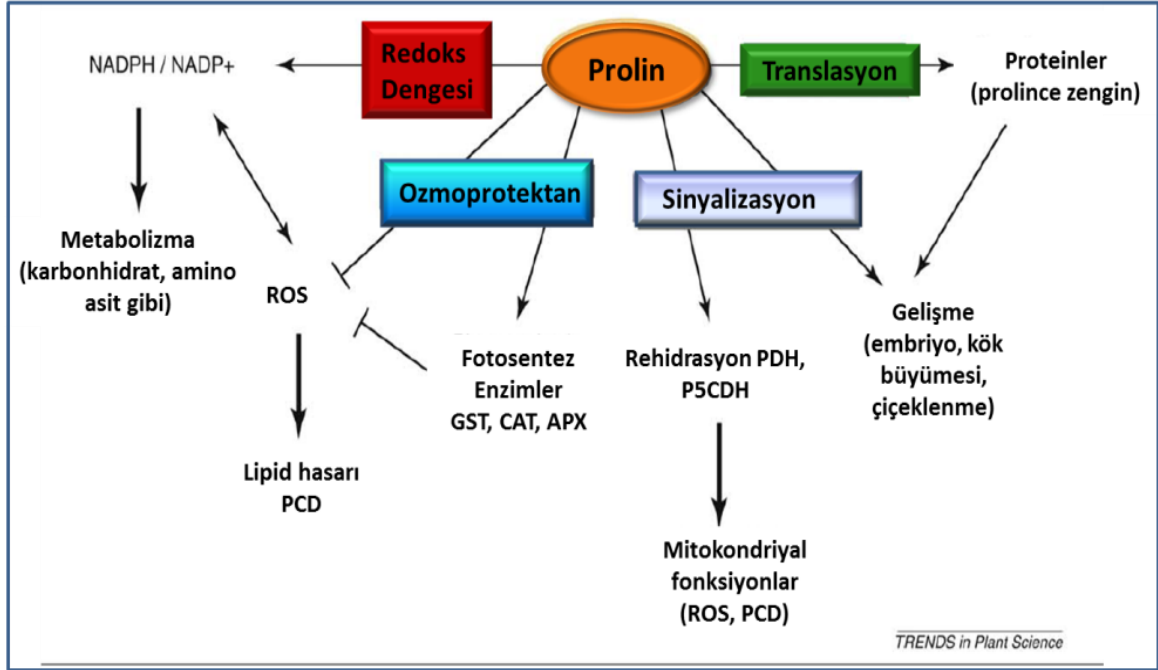
Şekerler çok çeşitli stres cevabı ile ilgilidirler ve bu cevaplarda metabolit ve sinyal molekül olarak rol oynarlar. Soğuk stresi, herbisit, yaralanma, patojen saldırısı gibi çözünebilir şekerlerin karıştığı stres durumlarında ROT dengesinde de önemli değişimler meydana gelmektedir. Çözünebilir şekerlerin ROT üreten metabolik yollara karıştığı veya bu yollarla birleştiği bilinmektedir. Çözünebilir şekerler ve ROT'lar arasındaki bu birleşen veya antagonistik ilişki transkriptom analizleriyle de günümüzde doğrulanmıştır ve şeker

sinyalinin ve şekerlerin düzenlediği gen ekspresyonunun oksidatif stresin kontrolü ile alakalı olduğu ortaya konulmuştur. Çözünebilir şekerlerin ROT'lara göre daha hayati bir rolü olduğu düşünülmektedir. Aksine çözünebilir şekerler ROT temizlenmesine katkı sağlayabilen oksidatif pentoz fosfat yolu gibi NADPH üreten metabolik yolları da beslerler (Couee vd., 2006). Patojen saldırısı, kuraklık, tuz stresi, ABA muamelesi, düşük sıcaklık veya aşırı uyarılma enerjisi gibi farklı stresler direkt veya dolaylı olarak ROT üretimine neden olurlar ve böylece adaptif stres cevabı olarak kabul edilen şeker birikimi meydana gelir (Roitsch, 1999). Şeker sinyal mekanizmasının karakterizasyonu bir glukoz sensörü olan heksokinaz üzerinde yoğunlaşmıştır (Couee vd., 2006). Sakkaroz, trehaloz ve diğer heksokinaz-bağımsız şeker algılanması ve sinyal iletimi bitkilerde oldukça karmaşıktır (Smeekens, 2000).

### 1.8.2. Prolin

Prolinin esas olarak sitoplazmada ve son yıllarda az da olsa kloroplastlarda sentezlendiği gösterilmiştir (Szekely vd., 2008). Bir ozmolit olan prolin yüksek yapılı bitkilerde glutamat veya ornitinden sentezlenir. *A. thaliana*'da glutamat yoluyla prolin biyosentezi, çift işlevli  $\Delta 1$ -pirolin-5-karboksilat sentaz (P5CS) enzimi tarafından denetlenir. P5CS enzimi glutamik asiti fosforile ederek glutamil-5-semialdehit (G5SA)'e dönüştürür. Bu enzimin P5CS1 ve P5CS2 olmak üzere iki izoformu bulunmaktadır. Prolin, G5SA'den pirolin-5-karboksilat aracılığıyla  $\Delta 1$ -pirolin-5-karboksilat-redüktaz enzimi katalizöründe sentezlenir (Delauney ve Verma, 1993). Bu reaksiyonun hızını belirleyen basamak, P5CS enziminin  $\gamma$ -glutamil kinaz aktivitesidir. Prolin katabolizması ise prolin dehidrogenaz ile parçalanır (Özfidan, 2010).

Prolin birikiminin, abiyotik streslerin olumsuz etkilerine karşı bitkilerde ozmotik ayarlamaya katkıda bulunduğu, membranların, proteinlerin ve enzimlerin kararlılığını sağladığı ve serbest radikalleri temizlediği kaydedilmiştir (Kadıoğlu ve Terzi, 2007; Türkan ve Demiral, 2009). Şekil 2'de ifade edildiği gibi, prolin birikimi stres toleransını birçok yolda etkileyebilir (Szabados ve Savoure', 2010). Yapılan çalışmalarda birçok bitki çeşidinde strese toleranslı bitkilerde hassas olanlara göre prolin miktarı fazla bulunmuştur (Ashraf, 2007). Ayrıca prolin kuraklıkta lipid peroksidasyonun önlenmesinde de rol oynamaktadır (Molinari vd., 2007).



Şekil 2. Bitkilerde prolinin çok yönlü fonksiyonları

Xiong vd. (2001), bitkilerdeki prolin birikiminin ABA'ya bağımlı veya ABA'dan bağımsız olabileceğini belirtmişlerdir. Bunun yanı sıra, bitkilerde ozmotik strese cevapta ABA birikiminin P5CS gen ekspresyonunu regule ettiği rapor edilmiştir. Ayrıca, ABA'nın tek başına bu geni uyardırmada yeterli olmadığı, kuraklık ve tuz stresi süresince ABA vasıtası ile P5CS gen uyarımında  $Ca^{+}$  iyonunun da rol oynadığı belirtilmiştir.

### 1.8.3. Poliaminler

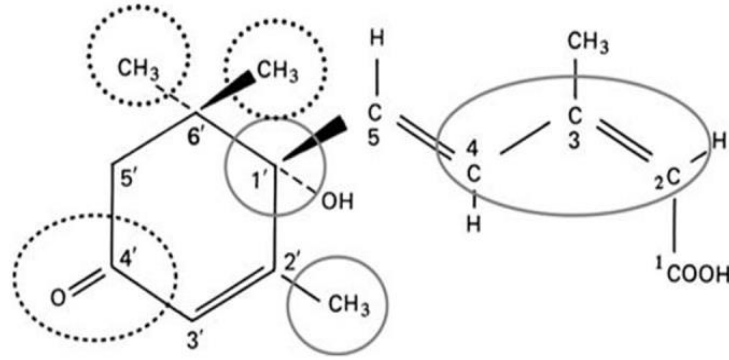
Poliaminler (PA) bütün bitki hücrelerinde bulunurlar. Bitkide büyüme ve gelişme olaylarının yanı sıra biyotik ve abiyotik stres toleransında da önemli rol oynarlar (Alcázar vd., 2010; Minocha vd., 2010). PA'lar hücre bölünmesi, DNA replikasyonu, hücre farklılaşması gibi birçok düzenleyici olayda ve sinyal iletiminde ikincil mesajcı olarak rol oynadıkları bilinmektedir (Galston ve Sawhney, 1990). Bitkilerde poliaminlerin ozmotik stres (Legocka ve Kluk, 2005), tuz stresi (Jimenez Bremont vd., 2007), asit stresi (Shen vd., 1994), ağır metal stresi (Groppa vd., 2001) ve UV radyasyonu (Lutz vd., 2005) gibi abiyotik streslerle ilgili olduğu kaydedilmiştir. Yüksek bitkilerdeki yaygın poliaminler bir diamin olan putresin (Put), triamin spermidin (Spd) ve tetramin spermin (Spm)'dir. PA'lar serbest formda bulunabileceği gibi fenolik bileşikler gibi küçük moleküllere kovalent



olarak bağlanarak çözünebilir formda veya çözünemeyen bağlı formda bulunabilirler. Çözünemeyen bağlı formdaki PA'lar genellikle nükleik asitler ve proteinler gibi makromoleküllere bağlanırlar (Gill vd., 2010). Bitkilerde PA sentezinin anahtar enzimleri arginin dekarboksilaz (ADC), ornitin dekarboksilaz (ODC) ve S-adenozil metionin dekarboksilaz (SAMDC)'dır. Putresin, arginaz ve ODC'ın katalizlediği ornitin yoluyla veya sırasıyla ADC, agmatin imino hidrolaz ve N-karbamoilputresin amidohidrolaz'ın katalizlediği üç ardışık reaksiyonla agmatin yoluyla sentezlenir. Spd ve Spm ise SAMDC'nin aktivitesiyle dekarboksile olmuş SAM'daki aminopropil gruplarının ilavesiyle sentezlenir. PA degradasyonu ise diamin oksidaz ve poliamin oksidaz tarafından katalizlenir (Kusano vd., 2008; Tavladoraki vd., 2012). PA biyosentezi, katabolizması, bağlanması, ara bileşikleri ve taşınımı birlikte PA hemoztazına katkıda bulunur. Ayrıca PA katabolizması ve ara bileşikleri özellikle H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> gibi ROT'lar üretirler. ROT'lar çeşitli sinyal kaskatlarının up veya down gidişatını (stream) harekete geçirirler. Diğer taraftan, çeşitli abiyotik stres koşullarında PA biyosentezine karışan genlerin (*ADC2*, *SPMS*, *SMADC2*) uyarıldığı kaydedilmiştir. PA biyosentezinin ana enzimi olan ADC aktivitesinin stres koşullarında uyarıldığı ve böylece PA içeriğinin de arttığı rapor edilmiştir. Ayrıca, bitkilerin stresi kontrol etme kabiliyetinin PA sentezleyebilme potansiyeli ile ilişkili olduğu da ileri sürülmüştür (Gupta vd., 2013). Yine, dıştan uygulanan PA'ların çeşitli abiyotik stres koşullarındaki kültür bitkilerinin toleransını artırdığı ve böylece verimi iyileştirdiği bilinmektedir (Zhao ve Yang, 2008; Yang vd., 2011).

### 1.9. Absisik Asit

ABA'nın cis ve trans olmak üzere iki tane geometrik izomeri vardır. ABA'nın 2 nolu karbonundaki karboksil grubunun yerleşimi ABA'nın cis ya da trans izomerlerini belirler. Doğal olarak oluşan ABA, cis formundadır. C15 atomu içeren ABA, izoprenoidler (terpenoidler) olarak bilinen metabolitlerin bir sınıfına aittir (Nambara ve Marion Poll, 2005; Özfıdan, 2010) ve ayrıca bitki gelişimi, büyümesi ve çeşitli stres koşullarına adaptasyonda en önemli bir fitohormondur (Schroeder vd., 2001a; Shinozaki ve Yamaguchi Shinozaki, 2000; Verslues vd., 2006). ABA'nın yapısı Şekil 3'de gösterilmiştir.



Şekil 3. ABA'nın yapısı (Finkelstein, 2013)

### 1.10. Kuraklığın Absisik Asit ile İlişkisi

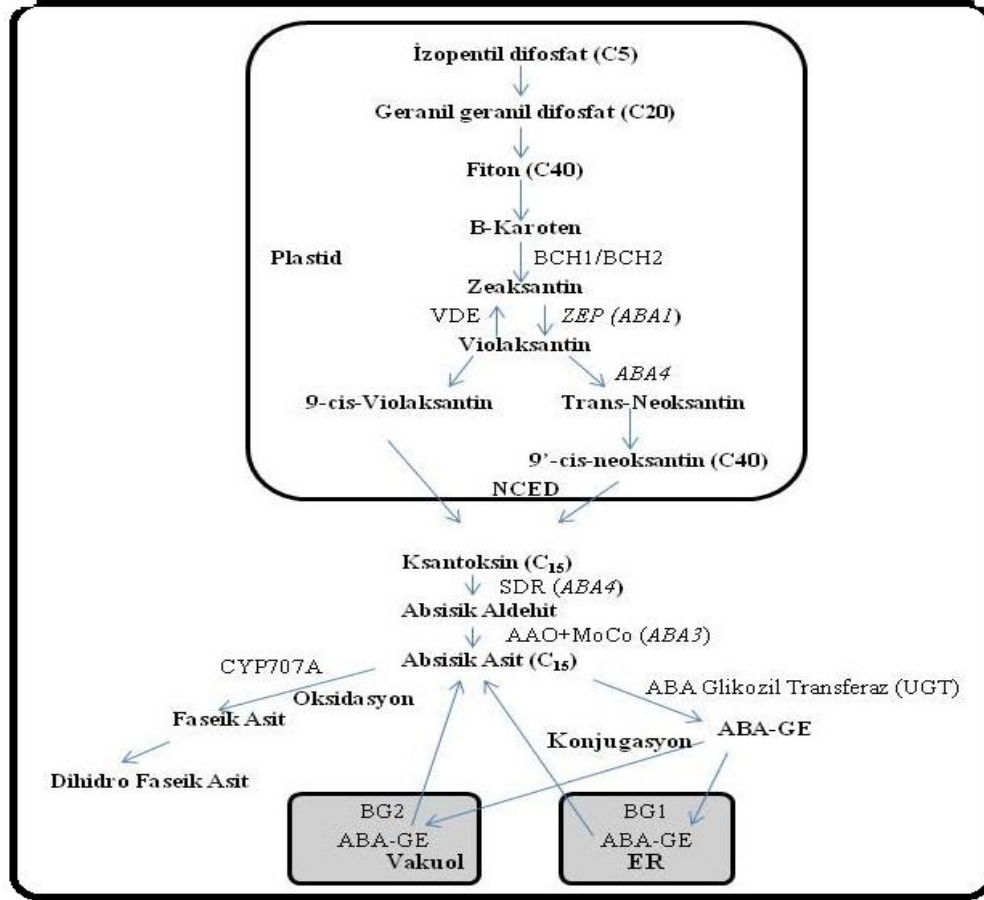
Büyüme hormonları bitkilerin stres cevaplarını düzenlemede önemli rol oynarlar (Wang vd., 2001). Bitki hormonu ABA bitkide birçok anahtar süreci düzenler ve biyotik ve abiyotik stres yanıtlarında içsel mesajcı olarak rol oynar (Adie, 2007; Fujii ve Zhu, 2009). Kuraklık stresi esnasında hücrelerdeki turgorun azalması sonucunda yaprak kıvrılmasının yanı sıra ABA gibi bazı büyüme hormonlarının seviyesi de değişir (Pierce ve Raschke, 1980; Turner vd., 1986). ABA bitkilerde su dengesini düzenleyen temel hormondur (Zhu, 2002). ABA çiçekli bitkilerde su eksikliğine (kuraklığa) cevap olarak üretilir, kuraklığa ve diğer çevresel streslere toleransla ilgili cevapların başlatılmasında önemli bir rol oynar. Dışarıdan uygulanan ABA'nın da bitkilerde stres ilişkili birçok genin ekspresyonunu uyarak strese karşı toleransı artırdığı belirtilmiştir (Xiong vd., 2002; Fediuc, 2005; Zhu, 2010). Kuraklık veya tuzluluk koşulları altında bitki ABA içeriği, gen seviyesindeki değişimler ve stoma kapanması uyarılarak önemli derecede artar, böylece bitkinin stresle başa çıkma kapasitesi de yükselir (Seki vd., 2007; Cutler vd., 2010; Kim vd., 2010).

#### 1.10.1. Absisik Asit Biyosentezi, Katabolizması ve Taşınımı

ABA'nın, kök, gövde, yaprak, meyve ve tohum dokularında mevalonik asitten sentezlendiği tespit edilmiştir. Bu dokularda ABA'nın büyük bir çoğunluğu plastidlerde sentezlenmektedir (Kadioğlu, 2011). Yüksek bitkilerde, ABA biyosentezi C40 formundaki karotenoid yapısının bir seri enzimatik basamak sayesinde ayrılması ile başlatılır (Soto vd., 2013). Violaksantin sentezi, zeaksantin epoksidaz (ZEP) enzimi ile katalizlenir (Chernys

ve Zeevaart, 2000). Bu enzimin *Arabidopsis*'te ABA1 lokusu tarafından kodlandığı bulunmuştur. Violaksantin bir C40 bileşiği olan 9'-cis-neoksantine dönüştürülerek, daha sonra C15 bileşiği olan ksantoksini oluşturmak için ortasından ikiye ayrılır. Ayrılma 9-cis epoksikarotenoid dioksigenaz (NCED) tarafından katalizlenir (Taiz ve Zeiger, 2008). Ksantoksinin absisik asit aldehite dönüşümü ise, kısa zincirli bir dehidrogenaz/redüktaz benzeri enzim olan SDR tarafından katalizlenir ve *Arabidopsis*'te ABA2 lokusu tarafından kontrol edilmektedir. Absisik asit aldehit ABA'yı oluşturur ve bu son basamak kofaktör olarak molibdene ihtiyaç duyan absisik aldehit oksidaz (AAO) tarafından katalizlenmektedir. *aba3* mutantları da AAO yokluğunda ABA sentezleyemez (Daszkowska Golec ve Szarejko, 2013; Finkelstein, 2013).

ABA sentezine ek olarak, katabolizması da ABA düzeyinin regülasyonu için önemli bir mekanizmadır. Hüresel ABA seviyesi hidroksilasyon ve konjugasyon olmak üzere iki yolla düşürülebilir (Nambara ve Marion Poll, 2005). ABA-hidroksilasyonunda, P-450 tip monoksinenaz ABA'yı oksidasyonla faseik aside katalizler (Kushiro vd., 2004; Nambara ve Marion Poll, 2005; Saito vd., 2004). ABA-konjugasyonu ise ABA'nın bir monosakkaritle kovalent bağ kurarak, inaktif ABA- $\beta$ -D-glukozil esterine (ABA-GE) dönüşmesidir. Serbest ABA sitoplazmada, ABA+GE ise vakuollerde birikmektedir (Schroeder ve Nambara, 2006). Stres tetikli ABA biyosentezi en çok vasküler dokularda meydana gelir fakat ABA cevapları uzak bekçi hücrelerinin dahil olduğu çeşitli hücrelerde ortaya çıkabilir (Kuromori vd., 2010). Böylece ABA cevapları için ABA'nın ABA üreten hücrelerden komşu hücrelere taşınması gerekir. Son zamanlarda hücreden hücreye ABA taşınımına, plazma membranına bağlı ATP bağlayıcı kaset (ABC) taşıyıcıların (Kang vd., 2010; Kuromori vd., 2010) ve düşük afiniteli nitrat taşıyıcı ailesi olmak üzere iki vasıtanın aracılık ettiği gösterilmiştir (Kanno vd., 2012). Aynı araştırmacılar, ABA-Importing Transporter 1 (AIT1) 'i de izole etmiştir.



Şekil 4. ABA Biyosentezi ve Katabolizması (Finkelstein, 2013)

### 1.10.2. Absisik Asit ve Sinyal İletimi

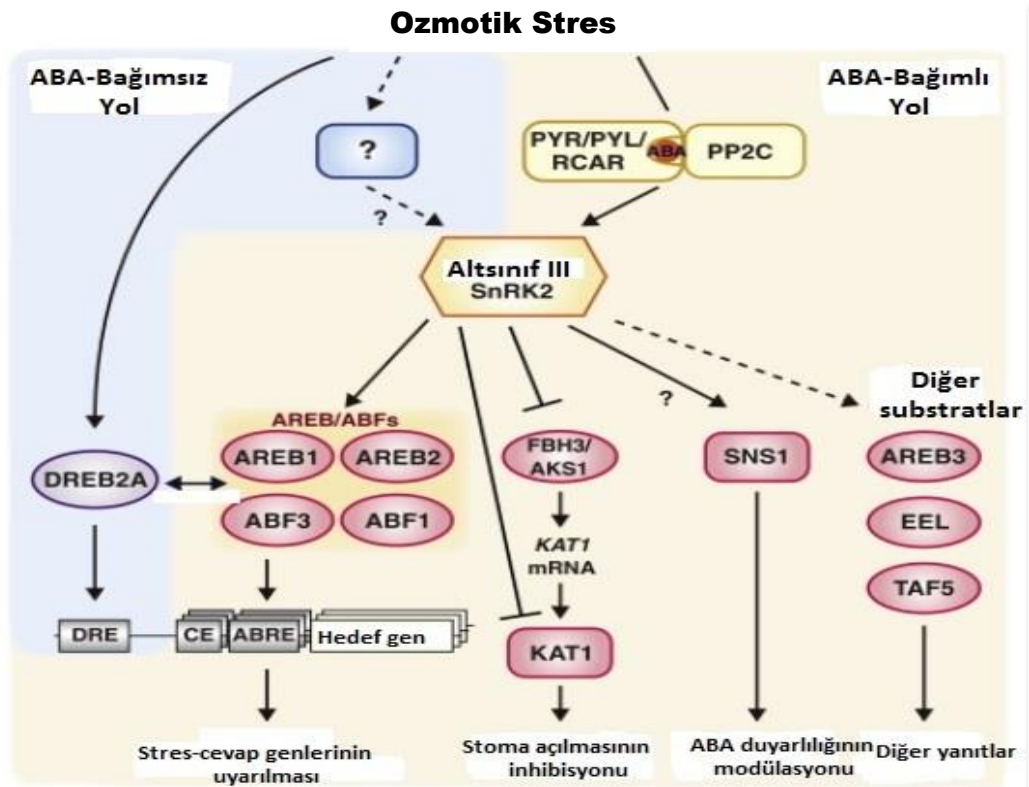
Bitkilerde ABA'nın işlevleri çok çeşitlidir. Yüksek hücrel ABA seviyesi tohumlarda depo proteinlerinin sentezi, tohum dormansinin (Finkelstein vd., 2002, 2008) uyarılması ve tohum çimlenmesinin inhibisyonuna yol açar. ABA stoma porunun kapanmasının (Hetherington, 2001; Kim vd., 2010) teşvikiyle su transpirasyonunun azalması yanı sıra lateral kök ve fide gelişimiyle (Xiong vd., 2006) de ilişkilidir. Kuraklık ve yüksek tuzluluk gibi ozmotik stres koşulları altında stresten sorumlu çok sayıda genin fonksiyonu ve toleransı tetiklenir ve bitkide stres sinyalinde anahtar hormon olan ABA biriktirilir (Bartels vd., 2005; Finkelstein, 2013) ve stresten sorumlu çok sayıda genin ekspresyonu uyarılır.

ABA'nın sinyal iletimindeki rolü ile ilgili yapılan çalışmalar, üç protein sınıfına ait proteinlerden oluşan bir merkezi sinyal modülü üzerinden gerçekleştiğini göstermektedir: Pyrabactin Resistance/Pyrabactin Resistance-like/Regulatory Component of ABA

Receptor (PYR/PYL/RCARs)'nin ABA reseptörleri olduğu, protein fosfataz 2Cs (PP2Cs)'nin negatif düzenleyici, SNF1 bağımlı protein kinaz 2'ler (SnRK2)'nin ise pozitif düzenleyici olarak rol oynadığı ileri sürülmüştür (Mustilli vd., 2002; Park vd., 2009; Schweighofer vd., 2004; Umezawa vd., 2009; Yoshida vd., 2006a). Ek olarak, *AREB* (ABA responsive element binding protein)/*ABF* (ABRE binding factor) transkripsiyon faktörleri, SnRK2'lerin kendi koruma alanlarının çok alanlı fosforilasyonu ile ABA-bağımlı bir yolla aktive edilir (Furhata vd., 2006; Uno vd., 2000; Fujii vd., 2007). *Arabidopsis*'te 10 SnRK2 belirlenmiştir ve bunlardan 9'u alt sınıf III (SnRK2s, SRK2D/SnRK2.2, SRK2E/SnRK2.6/OST1) ve SRK2I / SnRK2.3 ile ozmotik stres tarafından aktive edilirken, bir yandan da güçlü bir şekilde ABA ile uyarılır (Boudsocq vd., 2004) ve ABA-bağımlı ve ABA-bağımsız gen ekspresyonunu önemli ölçüde düzenler (Fujita vd., 2009). Üç SnRK2'ler beraber lokalize olur ve bitki hücre nükleusundaki *AREB/ABF*'ler ile etkileşime girer (Yoshida vd., 2010; Fujita vd., 2009). Üç alt sınıf III SnRK2s ozmotik stres koşulları altında, *AREB/ABF*'lerin fosforilasyonu ile ABA-cevap gen ekspresyonunu düzenler (Yoshida vd., 2014, (şekil 5)). *AREB1/ABF2*, *AREB2/ABF4* ve *ABF3*, SnRK2 alt genlerin üçte birinin sentezlenmesini düzenler (Fujita vd., 2009); bu üç *AREB/ABF*'den başka, SnRK2s' nin downstream fonksiyonlarının transkripsiyon faktörleri hakkında çok azı bilinmektedir. *Arabidopsis thaliana*' da (*Arabidopsis*) A grubu bir bZIP transkripsiyon faktörleri arasında dokuz *AREB/ABF* transkripsiyon faktörleri, bZIP domeini ve Ser/Thr kinaz fosforilasyon bölgelerini ihtiva eden dört korunmuş bölge vardır (Fujita vd., 2013). *AREB1/ABF2*, *AREB2/ABF4* ve *ABF3* genlerinin daha fazla downstreamının ekspresyonu *Arabidopsis*'in *srk2d/e/i* üçlü mutantında önemli ölçüde bozulmaktadır (Fujita vd., 2009) ve *AREB/ABF*'lerin ABA bağımlı fosforilasyonu tamamen saf dışı bırakılmaktadır (Fujii vd., 2009; Fujii vd., 2009). *Srk2d/e/i* üçlü mutantı tohum çimlenmesi, fide büyümesi, stomatal düzenleme ve ozmotik strese yanıt veren gen ekspresyonunu açısından aşırı bir ABA-duyarlı fenotipi gösterir (Fujita vd., 2009; Fujii vd., 2009; Nakashima vd., 2009).

Kurak ve tuzluluk stresi, ABA- bağımlı ve ABA- bağımsız yolağındaki, *AREB/ABF*, *MYC* (myelocytomatosis)/*MYB* (myeloblastosis), *DREB2* (drought responsive element binding) ve *NAC* (*NAM*, *ATAF1,2*, *CUC*) transkripsiyon faktörlerine ait gen ifadelerini aktive eder. Bu önemli transkripsiyon faktörleri farklı streslere cevap olarak farklı transkript düzenlenmesi gösterir ve aşırı ekspresyonu bitkilerde stresle ilgili çok sayıda genin doğrudan veya dolaylı olarak devreye girmesine sebep olur (Agarwal ve Jha, 2010).

*AREB/ABF*'ler ABA-bağımlı gen ekspresyonunda önemli fonksiyonları vardır. Benzer şekilde *DREB2* transkripsiyon faktörü ozmotik strese cevapta ABA-bağımsız gen ekspresyonunda anahtar rol oynar (Yoshida vd., 2014). Artan kuraklık, yüksek tuzluluk ve vejetatif dokulardaki ABA'nın (Fujita vd., 2005) neden olduğu *ABF3* ve *AREB1/ABF2*, *AREB2/ABF4* ekspresyonundaki artış ile uyumlu olarak, aşırı ekspresyonuyla ilgili çalışmalar, bu üç *AREB/ABF*'nin kuraklık stres şartları altında ABA sinyallenmesinin pozitif düzenleyici olduğunu göstermiştir (Fujita vd., 2005; Furihata vd., 2006). *areb1 areb2 abf3* üçlü mutantın incelenmesi (Yoshida vd., 2010) kuraklık stresine cevap sırasında ABA sinyalinde ABRE- bağımsız gen ekspresyon düzenleyicileriyle beraber ana transkripsiyon faktörü olarak 3 *AREB/ABF*'nin fonksiyonu birlikte göstermiştir (Yoshida vd., 2014). DREB2 proteinleri bitkiye özel transkripsiyon faktörleri olan *AP2/ERF* ailesinin üyeleridir. *Arabidopsis*'te 8 *DREB2s* arasında *DREB2A*, *DREB2B*, kuraklık, yüksek tuzluluk, sıcaklık tarafından büyük ölçüde teşvik edilir (Sakuma vd., 2002; Sakuma vd., 2006).



Şekil 5. Ozmotik strese cevapta ABA-bağımlı sinyal yolunun ABA-bağımsız sinyal yoluyla çapraz etkileşimi

En iyi çalışılmış ABA sinyal iletim yollarından biri, ABA'ya cevap olarak stomaların kapanmasıdır (Allen vd., 2001). ABA uygulamasıyla, arkadaş hücrelerdeki sitozolik  $Ca^{+2}$  iyon seviyesinde artış olduğu bilinmektedir. Sitozolik  $Ca^{+2}$  konsantrasyonundaki değişimler, stomaların kapanması için gereklidir (Allen vd., 2001). Birçok fitohormon sinyal iletim aşamalarında hücre içi mesajcı olarak  $Ca^{+2}$  işlev görmektedir.  $Ca^{+2}$  sinyali ABA'yı içeren yanıtlarda siklik-ADP-riboz (cADPR), inositol 1,4,5 trifosfat ( $IP_3$ ), inositol hekzafosfat ( $InsP_6$ ) veya  $H_2O_2$  gibi ikinci mesajcılar tarafından uyarılır (Schroedaer vd., 2001).

Stres sırasında ABA biyosentezi ilk olarak köklerde artmaktadır ve daha sonra ksilem aracılığıyla kimyasal bir sinyal oluşturarak stomaların kapanmasını sağlamak üzere gövdeye taşınır (Gallé vd., 2013). ABA'nın strese karşı cevabında stoma kapanması, ozmolit birikimi, büyümenin inhibisyonu ve metabolizmanın değiştirilmesi gibi fizyolojik adaptasyonlarının yanı sıra, moleküler düzeyde gen ekspresyonunda birçok değişiklikler yaptığı ve LEA, HSP gibi koruyucu proteinlerin ve reaktif oksijen temizleyicilerin sentezini artırdığı bildirilmiştir (Huang ve Wu, 2006; Sripinyowanich vd., 2013).

Ozmotik strese cevap geninin ekspresyonu ABA-bağımlı ve ABA-bağımsız yolla düzenlenir (Yamaguchi Shinozaki ve Shinozaki, 2006). Birden fazla dokuyu etkileyen dehidrasyonla uyarılabilen genler dıştan ABA uygulamasıyla uyarılır (Yamaguchi Shinozaki ve Shinozaki, 2006). Ozmotik strese cevap olarak aktive edilen transkripsiyonel ağ işbirliği içindedir ama yalnızca ABA-bağımlı ve ABA-bağımsız yollar ile düzenlenmez. ABA-bağımlı ve ABA-bağımsız yollar arasındaki çapraz etkileşimin önemli olmasına rağmen, iki sinyal yolunun nasıl birbirlerini düzenlediğine dair bilgiler sınırlıdır (Yoshida vd., 2014). Muhtemelen 3 alt sınıf III SnRK2s ABA-bağımlı ve ABA-bağımsız sinyalinin bir noktada birleşmesine katılır (Fujita vd., 2013).

### 1.11. 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. Mısır, geniş adaptasyon kabiliyeti nedeniyle Dünya'nın farklı bölgelerinde kültürü yapılabilmektedir.  $50^\circ$  kuzey enleminden  $50^\circ$  güney enlemlerine, deniz seviyesi ile 3000 m

ye kadar olan yüksekliklerde ve ayrıca birçok toprak tipinde tarımı yapılabilir (Morris, 2002).

Mısır yaklaşık 365 kcal / 100 g arasında bir enerji yoğunluğunu tedarik eden yaklaşık % 72 nişasta, % 10 protein ve % 4 lipit ihtiva eder. Bu nedenle, mısır yüksek küresel tarım, insan beslenmesinde ve kültürel geleneklerine entegre hale gelmiştir (Nuss ve Tanumihardjo, 2010).

Mısır, yaygın bir kullanım alanı olması nedeniyle diğer tahıllara göre oldukça farklı bir yere sahiptir. İçerdiği zengin besin maddeleri ile mısır, hem insan hem de hayvan beslenmesinde kullanılabilir. Ayrıca hayvan beslenmesinde yem hammaddesi olarak kullanılması dışında, plastik, kumaş, yapıştırıcı gibi madde yapımında da kullanılır (URL-1 ve URL-2, 2014).



## 2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

### 2.1. Bitkilerin Büyütülmesi

Mısır (*Zea mays* L.) tohumları (Akpınar) Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edildi. Mısırlar 25×18×12 cm' lik saksılarda, 16 saat boyunca, 22 °C gündüz/8 saat boyunca, 18 °C gece sıcaklığında, 50–60% bağıl nemin bulunduğu toprakta, dört yapraklı aşamaya kadar (yaklaşık 3 hafta) büyütüldü. Sulamalar iki günde bir yapıldı ve her biri için 200 ml su kullanıldı.

### 2.2. Ozmotik Stres Altında Dıştan Uygulanan ABA ve ABA Sentez İnhibitörü Fluridon (FLU) Konsantrasyonlarından Yaprak Kıvrılma Derecesine Göre Etkin Konsantrasyonların Belirlenmesi

Ozmotik stres altındaki mısır fidelerinde ABA'nın yaprak kıvrılması üzerine etkisini araştırmak için, üç haftaya kadar büyütülen fideler toprak üstü kısımdan kesildi. Kesilen fideler, yaralanma hasarını ortadan kaldırmak için alüminyum folyo ile sarılı, içerisinde saf su bulunan deney tüplerinde 1 saat bekletildi. Sonrasında bitkilerin bir kısmı, % 3'lük polietilen glikol (PEG<sub>6000</sub>) ile birlikte hazırlanan ABA ( 10, 50, 100, 200, 250 µM ) ve FLU (10, 20, 30, 40 µM) konsantrasyonlarını içeren tüplere, bir kısmı kontrol grubu olarak saf su bulunduran tüplere, son grup olarak da ozmotik stres oluşturan %3'lük PEG bulunduran tüplere aktarıldı ve 12 saat bekletildi. ABA uygulamaları sonuçlarına dayanarak yaprak kıvrılmasını iyileştirici yönde etki eden (kıvrılmayı geciktiren), ABA konsantrasyonu (250 µM) ile içsel ABA içeriğini azaltan FLU (30 µM) konsantrasyonu belirlendi. Sonraki denemelerimizde 250 µM ABA (Aroca vd., 2008; De Souza, 2014), 250 µM ABA+PEG, 30 µM FLU (Popova, 1998) ve 30 µM FLU+PEG grupları ile devam edildi. Yaprak kıvrılması, su potansiyeli ve stoma iletkenliği ölçümleri 12 saatin sonunda yapıldı. Spektrofotometrik ölçümler için kullanılacak yaprak örnekleri sıvı azottan geçirildikten sonra -20 °C' de saklandı.

### 2.3. Analiz ve Ölçümler

Fidelerin yaprak kıvrılma derecelerindeki ve sürelerindeki varyasyonlar ikinci yapraklarda ölçüldü. Daha sonra, ikinci yapraklar kullanılarak, yaprak kıvrılma derecesi ve süresinin ölçülmesi, su potansiyeli, stoma iletkenliği, lipid peroksidasyonu, hidrojen peroksit, ABA içeriği, toplam şeker, prolin içeriği, poliamin içeriği gibi parametrelerdeki değişimler belirlendi.

#### 2.3.1. Yaprak Kıvrılma Derecesi ve Süresinin Ölçülmesi

Bitkilerin su durumunun bir göstergesi olan yaprak kıvrılmasının düzeyi Premachandra vd. (1993)'e yaprak eni ölçülerek yaprağın enindeki yüzde azalma olarak hesaplandı ve yaprak kıvrılma derecesi (%) olarak ifade edildi.

Uygulamalar arasındaki kıvrılma davranışlarındaki varyasyonları belirlemek için, yaprakların ilk kıvrılmaya başladıkları süre ile uygulama süresinin sonundaki yaprak kıvrılma dereceleri (%) kaydedildi.

#### 2.3.2. İçsel ABA Tayini

100 mg taze yaprak örneği 3 saat liyofilize edildi. Liyofilize örnekler, MilliQ (Su/doku oranı ratio 50:1, v/w) içerisinde 16 saat boyunca 4 °C'de ekstre edildi. Kantitatif ABA analizleri Phytodetek ABA ELISA kiti ile gerçekleştirildi. ( $\pm$ ) cis-trans ABA (Sigma, St. Louis), standart olarak kullanıldı. Sonuçlar gram kuru ağırlık (KA) başına pmol olarak ifade edildi.

#### 2.3.3. Yaprak Su potansiyeli Ölçümü

Yaprak su potansiyelleri, Savage ve Cass'a (1984) göre su potansiyel sistem (Psypro P2-132 Water Potential System) kullanılarak ölçüldü.

### 2.3.4. Stoma İletkenliği Ölçümü

Stoma iletkenliği, difüzyon porometresi vasıtası (AP4 Delta T) ile Cohen vd. (1987)'e göre ölçüldü.

### 2.3.5. Toplam Şeker Tayini

Kuru yaprak örneği (0.2 g), 5 ml % 70 etanol ile homojenize edildikten sonra, homojenat 80 °C de 3 dk kaynatıldı. Homojenat oda sıcaklığına kadar soğutuldu ve 10.000 g de 5 dk santrifüj edildi. Spektrofotometrik tayin için 100 µl süpernatant üzerine 900 µl saf su ilave edilerek seyreltildi. Bu karışımın üzerine 1 ml % 5 fenol ilave edildi ve karıştırıcı ile karıştırıldı. Aynı karışım üzerine 5 ml % 96 sülfürik asit ilave edilerek tekrar karıştırıldı. Karışımı içeren tüpler oda sıcaklığına kadar soğutuldu ve absorbansları 490 nm'de ölçüldü. Standart glukoz konsantrasyonu 20 µg/ml olarak hazırlandı ve yukarıdaki işlemlerden geçirildikten sonra absorbansı ölçüldü (Dubois, 1956). Sonuçlar 100 gram KA başına mg olarak ifade edildi.

### 2.3.6. Prolin Tayini

Kurutulmuş numunelerden (0,2 g) alınarak 10 ml % 3'lük sülfosalisilik asit ile homojenizasyonun ardından filtre edildi. Süzüntü 22 °C'de 5.000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Süpernatant kısımlarından 1 ml alınarak üzerine 1 ml asetik asit ve 1 ml ninhidrin konuldu. Ninhidrin, asetik asit ve orto-fosforik asit kullanılarak hazırlandı. Daha sonra tüplere konulan örnekler 1 saat 100 °C'de su banyosunda tutuldu ve reaksiyon buzda sonlandırıldı. Soğuyan örneklerin üzerine 3 ml toluen eklenerek, vorteksle karıştırıldı. Ağzı kapaklı tüplere alınan örnekler 4.000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrası pipetle üst faz sarsılmadan küvete alındı ve 520 nm'de spektrofotometrede okundu (Bates vd., 1973). Sonuçlar gram KA başına µg olarak ifade edildi.

### 2.3.7. Poliamin Tayini

Poliamin içeriği Flores ve Galston (1982) metoduna göre ölçüldü. Taze yaprak dokusu (5 g) 15 ml 0.4 M perklorik asit ile homojenize edildi. Homojenat, 4 °C de 3.000 g de 10 dk santrifüj edildi. Süpernatant toplandı, üzerine 0,4 M perklorik asit ilave edildi ve santrifüjlendi. Süpernatantlar birleştirildi ve son hacim perklorik asit ile 25 ml'e tamamlandı. Süpernatant Whatmann filtre kağıdı ile süzüldü. Süpernatantın 1 ml'si üzerine 200 µl 1 M NaOH ve 300 µl sodyum hidrojen karbonat ilave edildi ve karışım 30 saniye vorteksle karıştırıldı. Bu karışımın üzerine 2 ml dansil klorit ilave edildi. Karışım 40 °C sıcaklığında 45 dk inkübe edildi. Reaksiyon 100 µl % 25 amonyum hidroksit ile durduruldu. Karışım 30 dk oda sıcaklığında bekledikten sonra hacim asetronitril ile 5 ml'e tamamlandı. Bu karışım 2500 g' de 5 dk santrifüj edildi. Süpernatant 0.22 µm'lik filtrelerden geçirildi ve HPLC'ye yüklendi. Poliamin içeriği UV/VIS detektör ile okundu. Çözücü miktarları amonyum asetat: asetronitril (65:35 v/v), akış hızı 0.70 ml dk<sup>-1</sup> ve 50 °C biçiminde olacak şekilde kullanıldı. 20 µl ekstre, C18 (4.6 × 250 mm) kolonuna enjekte edildi ve 254 nm dalga boyunda belirleme yapıldı. Piklerin alanları kaydedildi ve bir bilgisayar yazılımı ile putresin spermin ve spermidin konsantrasyonları hesaplandı. Sonuçlar gram KA başına µg olarak ifade edildi.

### 2.3.8. Lipid Peroksidasyonu Tayini

Lipid peroksidasyon seviyesi, lipid peroksidasyonun bir ürünü olan malondialdehid içeriğine dayanarak Heath ve Packer (1968) metodunu takip edilerek ölçüldü. Her bir numuneden 0,5 gr alınarak 10 ml % 0,1 trikloro asetik asit (TCA) içerisinde homojenize edildi. Homojenat 15.000 g de 5 dk santrifüj edildi. Süpernatantın 1 ml'sine 4 ml, % 20 TCA içerisinde hazırlanmış % 0,5 tiobarbiturik asit ilave edildi. Karışım 95 °C'de 30 dk ısıtıldı ve sonra hızlı bir şekilde buz banyosunda soğutuldu. 10.000 g de 10 dk santrifüjden sonra süpernatantın absorbansı 532 nm'de kaydedildi. 600 nm'de spesifik olmayan absorpsiyon için okunan değer hesaptan çıkarıldı. Elde edilen sonuç, formülde ( $A = E \cdot c \cdot l$ ) yerine konularak malondialdehit (MDA) konsantrasyonu hesaplandı. ( $A: A_{532} - A_{600}$ , E: Absorpsiyon katsayısı, 155mmol<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>, c: MDA konsantrasyonu)

### **2.3.9. Hidrojen Peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) İçeriğinin Belirlenmesi**

Velikova vd. (2000) tarafından geliştirilen metot kullanılarak gerçekleştirildi. Bunun için TCA içerisinde aktif kömür ile ezilen yaprak numunelerinden elde edilen ekstre, santrifüj edildikten sonra süpernatanttan 1 ml alınarak üzerine 10 mM potasyum fosfat tamponu ve 1 M potasyum iyodür (KI) ilave edildi. Daha sonra 390 nm’de absorbanları okundu. Sonuçlar gram KA başına mol olarak ifade edildi.

### **2.3.10. İstatistik Analizler**

Üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilen ekstraksiyon ve analizlerin sonucunda elde edilen verilerin varyans analizi Statistical Package for Social Sciences (SPSS for Windows 16.0) paket programı içerisinde yer alan Duncan oklu Karşılaştırma Testi’ne göre belirlendi.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Dıştan Uygulanan Farklı ABA ve FLU Konsantrasyonlarının Ozmotik Stres Altında Yaprak Kıvrılma Derecesi Üzerine Etkisi

Kuraklığa maruz bırakılan mısır fidelerine uygulanan farklı ABA konsantrasyonlarının 12 saat sonunda fidelerdeki yaprak kıvrılma derecesindeki değişimler kaydedilerek, değerlendirildi. Uygulama yapılan ABA konsantrasyonları ( 10, 50, 100, 200, 250  $\mu\text{M}$ ) içinde 250  $\mu\text{M}$  ABA'nın PEG grubuna göre yaprak kıvrılma derecesini azalttığı bulundu. Bitkide kuraklık stresinin etkisini görmek için MDA içeriğine bakıldı ve kıvrılmayı geciktiren uygun ABA konsantrasyonunun MDA içeriği açısından da iyileştirici etkisi olduğu belirlenmiş oldu (Tablo 1). Bundan sonraki çalışmalarda 250  $\mu\text{M}$  ABA kullanılmıştır.

Tablo 1. Dıştan uygulanan farklı ABA konsantrasyonlarının ozmotik stres altında yaprak kıvrılma derecesi (%) ve MDA içeriği üzerine etkisi

Muameleler	Kıvrılma Derecesi (%)	MDA İçeriği ( $\text{nmol g}^{-1}$ (TA))
%3 PEG	54 $\pm$ 4	9,28 $\pm$ 0,08
10 $\mu\text{M}$ ABA+PEG	43,56 $\pm$ 2,7	8,79 $\pm$ 0,2
50 $\mu\text{M}$ ABA+PEG	21,11 $\pm$ 1,6	7,86 $\pm$ 0,3
100 $\mu\text{M}$ ABA+PEG	23,80 $\pm$ 2	8,08 $\pm$ 0,2
200 $\mu\text{M}$ ABA+PEG	27,42 $\pm$ 2,5	7,8 $\pm$ 0,1
<b>250 <math>\mu\text{M}</math> ABA+PEG</b>	<b>16,6<math>\pm</math>6</b>	<b>5,65<math>\pm</math>0,1</b>

Tez çalışmasında kullanılan FLU'nun 12 saat sonunda kuraklık stresi altında yaprak kıvrılma derecelerine bakıldığında 30  $\mu\text{M}$ 'ın diğer konsantrasyonlara (10, 20, 40  $\mu\text{M}$ ) göre yaprak kıvrılma derecesini daha fazla artırdığı gözlemlendi. Böylece bundan sonraki çalışmalarımızda 30  $\mu\text{M}$  FLU kullanılmıştır.

Tablo 2. Dıştan uygulanan farklı FLU konsantrasyonlarının ozmotik stres altında yaprak kıvrılma derecesi (%) üzerine etkisi

Muameleler	Kıvrılma Derecesi (%)
%3 PEG	54±4
10 µM FLU+PEG	39,96±3
20 µM FLU+PEG	64,68±2
<b>30 µM FLU+PEG</b>	<b>77,28±2</b>
40 µM FLU+PEG	52,36±3

### 3.2. Etkin ABA ve FLU Muamelelerinin Ozmotik Stres Ortamında Yaprak Kıvrılma Derecesi ve Süresi Üzerine Etkisi

ABA ve FLU muamelelerinin yaprak kıvrılma derecesi ve süresi üzerine etkisi Tablo 3'de sunuldu. Stressiz koşullarda, ABA ve FLU uygulamalarının yaprak kıvrılmasına neden olmadığı gözlemlendi. Ozmotik stres ile birlikte ABA uygulamasının (ABA+PEG), PEG grubuna göre ölçülebilir yaprak kıvrılmasını daha geç başlattığı ve kıvrılmanın daha az olduğu belirlendi. Ozmotik stres ile birlikte FLU uygulaması (FLU+PEG) ise PEG grubu bitkilere göre yaprak kıvrılmasını daha erken başlattığı ve kıvrılmanın daha fazla olduğu gözlemlendi.

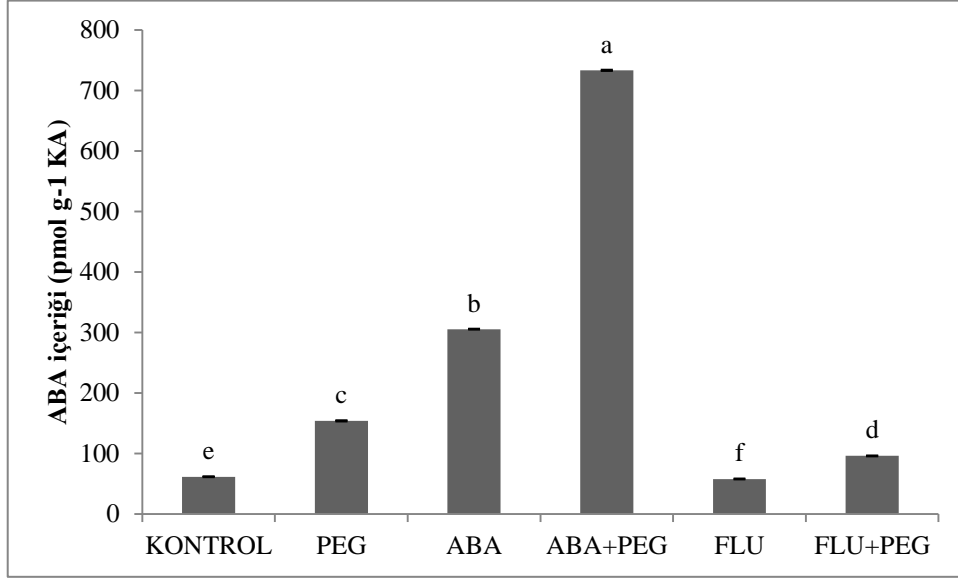
Tablo 3. ABA ve FLU muamelelerinin ozmotik stres ortamında yaprak kıvrılma derecesi ve süresi üzerine etkisi

Muameleler	Ölçülebilir kıvrılma için geçen süre (dakika)	Kıvrılma derecesi (%) (12. saat)
KONTROL (Saf Su)	- *	0
%3 PEG	120±15	54±4
250 µM ABA	- *	0
250 µM ABA +PEG	200±7	16±6
30 µM FLU	- *	0
30 µM FLU +PEG	68±12	77±2

\* Ölçülebilir kıvrılma yok ±: standart sapma

### 3.3. ABA İçeriği

Stresli ve stressiz koşullarda dıştan ABA uygulamasının içsel ABA içeriğini önemli seviyede artırdığı belirlendi. Stresli veya stressiz koşullarda dıştan FLU uygulamasının ABA içeriğini önemli seviyede azalttığı belirlendi (Şekil 6).



Şekil 6. ABA ve FLU muamelelerinin ozmotik stres ortamında ABA içeriği üzerine etkisi (Barlar standart sapmayı göstermektedir (n=4). Aynı harfle gösterilen sütunlar arasındaki fark %5 (P<0.05) seviyesinde önemsizdir.)

### 3.4. Su Potansiyeli

Stresli ve stressiz koşullarda ABA muamelesinin su potansiyelini iyileştirdiği saptandı.

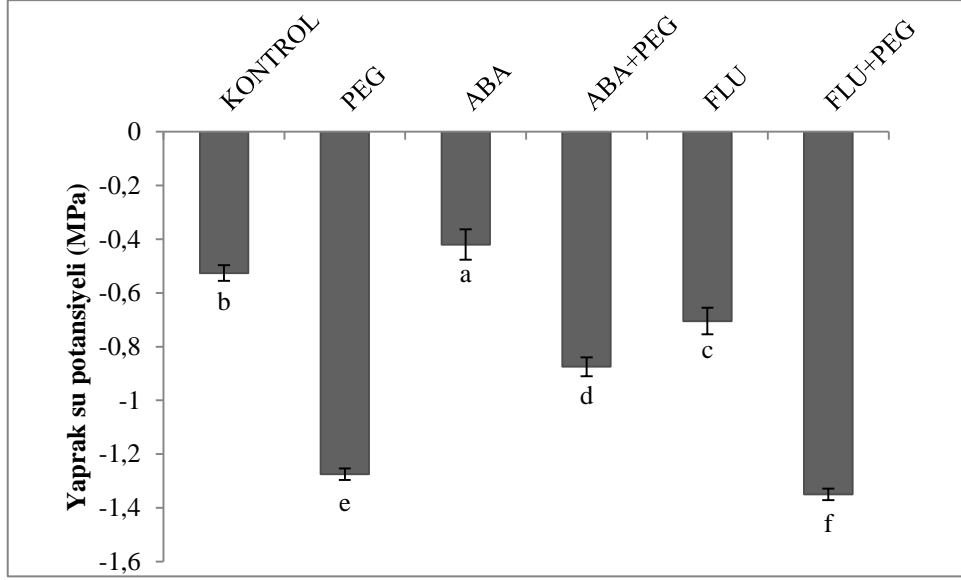
Stresli ve stressiz koşullarda FLU uygulamasının ise su potansiyelini iyileştirici yönde bir etki göstermediği belirlendi (Şekil 7).

Elde edilen verilerin bitkilerin su durumunun bir göstergesi olan yaprak kıvrılma derecesi (%) ile uygunluk içerisinde olduğu görüldü. PEG grubu ile karşılaştırıldığında, ABA+PEG grubu bitkilerde su potansiyelinde iyileşme gözlemlendiğinden, yaprak kıvrılmasının da azaldığı gözlemlendi.

Stressiz koşullarda FLU uygulamasının, kontrole göre su potansiyelini azalttığı PEG ile birlikte uygulanan FLU'nun su potansiyelini PEG grubuna göre daha fazla azalttığı



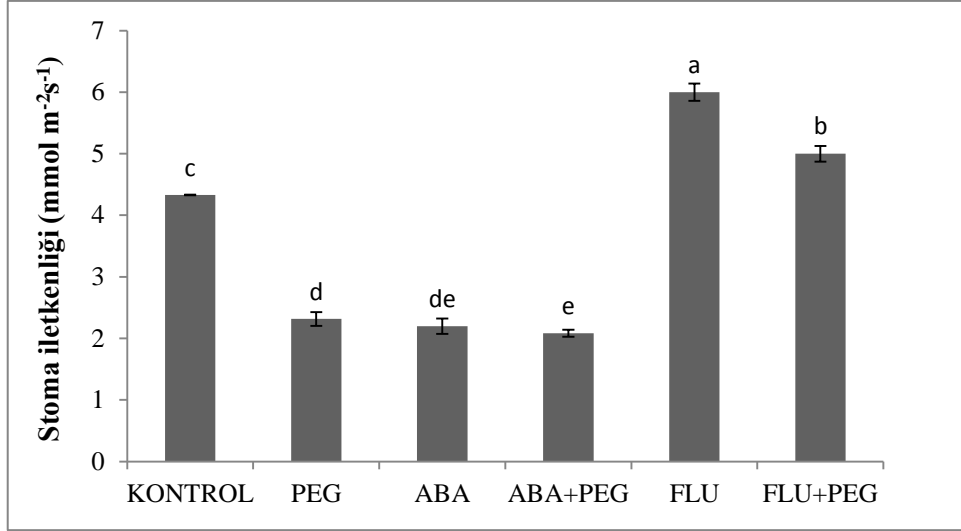
gözlemlendi. PEG grubu ile karşılaştırıldığında, FLU+PEG grubu bitkilerde su potansiyeli daha fazla azaldığından, yaprak kıvrılma derecesinin de daha fazla olduğu ve kıvrılmanın daha erken başladığı gözlemlendi.



Şekil 7. ABA ve FLU muamelelerinin ozmotik stres ortamında yaprak su potansiyeli üzerine etkisi (Barlar standart sapmayı göstermektedir (n=4). Aynı harfle gösterilen sütunlar arasındaki fark %5 ( $P<0.05$ ) seviyesinde önemsizdir.)

### 3.5. Stoma İletkenliği

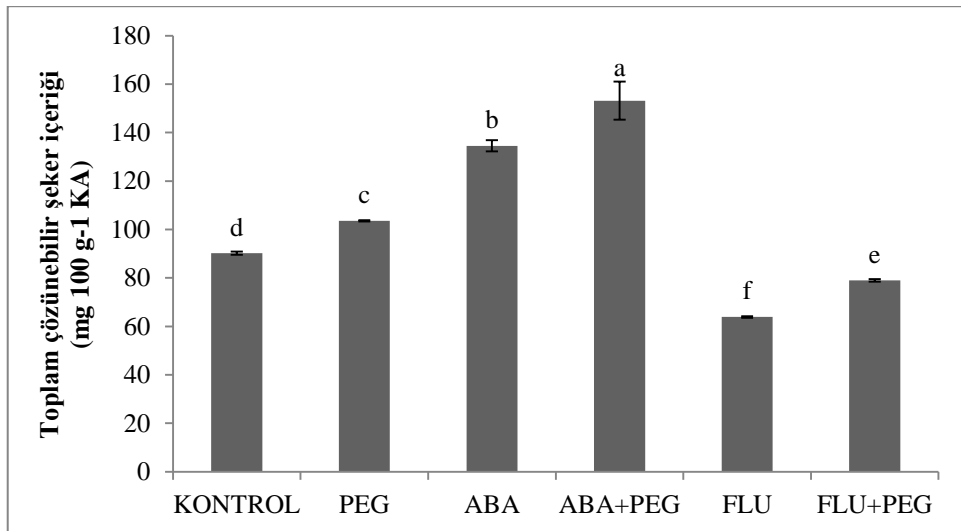
Ozmotik stres koşullarında stomatal iletkenliğin kontrole göre azaldığı belirlendi. Benzer şekilde, stresli ve stressiz koşullarda ABA uygulamasının stomatal iletkenliği kontrollerine göre azalttığı görüldü. Stressiz koşullarda FLU muamelesinin ise kontrole göre stoma iletkenliğini artırdığı saptandı. FLU+PEG grubunda da PEG grubuna göre stoma iletkenliğin arttığı gözlemlendi (Şekil 8).



Şekil 8. ABA ve FLU muamelelerinin ozmotik stres ortamında stoma iletkenliği üzerine etkisi (Barlar standart sapmayı göstermektedir (n=4). Aynı harfle gösterilen sütunlar arasındaki fark %5 (P<0.05) seviyesinde önemsizdir.)

### 3.6. Toplam Çözünbilir Şeker Miktarı

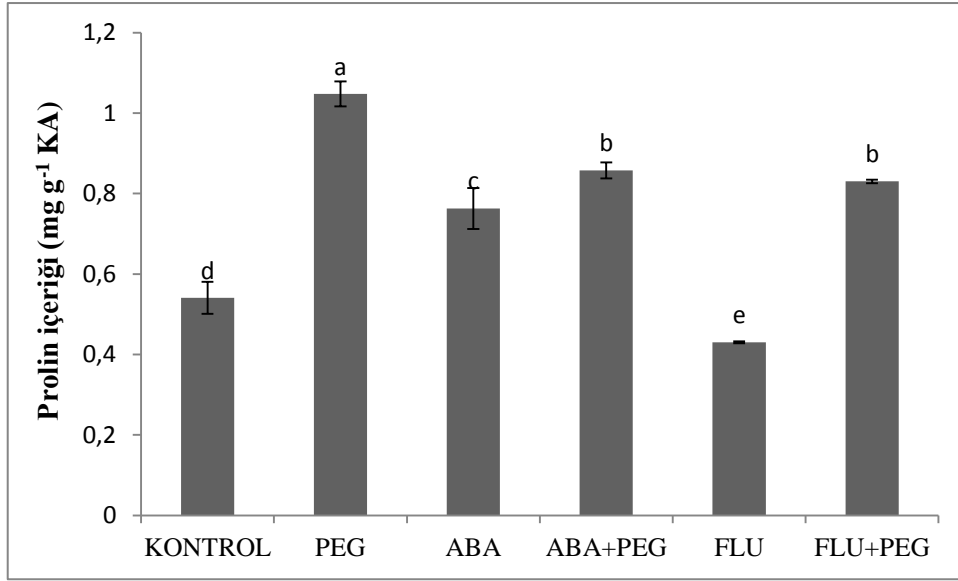
Dıştan ABA uygulamasının stresli ve stressiz koşullarda toplam çözünbilir şeker içeriğini artırdığı belirlendi. FLU uygulamasının ise toplam çözünbilir şeker içeriğini stresli ve stressiz koşullarda önemli seviyede azalttığı belirlendi (Şekil 9).



Şekil 9. ABA ve FLU muamelelerinin ozmotik stres ortamında toplam çözünbilir şeker miktarı üzerine etkisi (Barlar standart sapmayı göstermektedir (n=4). Aynı harfle gösterilen sütunlar arasındaki fark %5 (P<0.05) seviyesinde önemsizdir.)

### 3.7. Prolin Miktarı

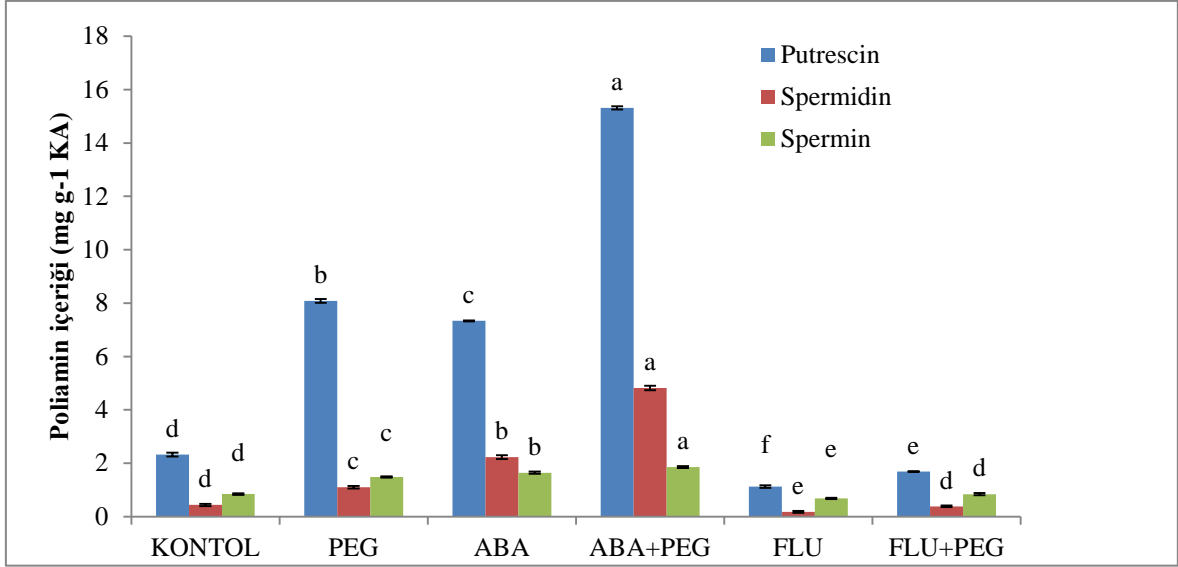
Stressiz koşullarda ABA uygulaması kontrole göre prolin içeriğini artırırken stres koşullarında uygulanan ABA'nın PEG grubuna göre prolin içeriğini düşürdüğü gözlemlendi. Prolin miktarının, FLU muamelesiyle kontrole göre istatistiki olarak önemli seviyede azaldığı görüldü. Benzer şekilde, FLU+PEG uygulanan bitkilerde prolin içeriğinin PEG uygulanan bitkilere göre azaldığı bulundu (Şekil 10).



Şekil 10. ABA ve FLU muamelelerinin ozmotik stres ortamında prolin miktarı üzerine etkisi (Barlar standart sapmayı göstermektedir (n=4). Aynı harfle gösterilen sütunlar arasındaki fark %5 (P<0.05) seviyesinde önemsizdir.)

### 3.8. Poliamin İçeriği

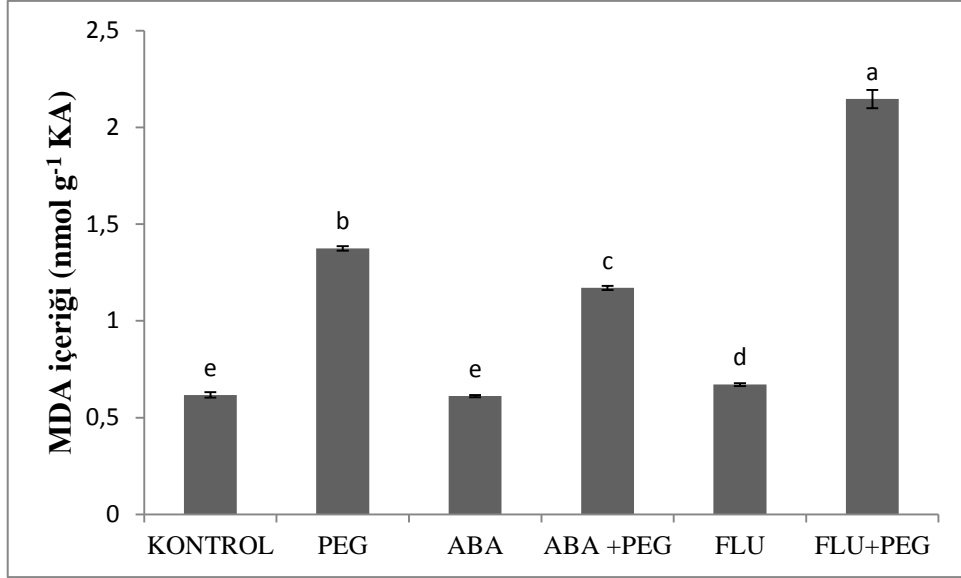
Stresli ve stressiz koşullar altında putrescin içeriğinin, spermidin ve spermin içeriğine göre daha fazla olduğu belirlendi. ABA uygulamasının stresli ve stressiz koşullarda putrescin, spermidin ve spermin içeriğini artırdığı belirlendi. Diğer yandan gerek stresli gerekse de stressiz koşullarda FLU uygulamasının putrescin, spermidin ve spermin içeriğini azalttığı belirlendi (Şekil 11).



Şekil 11. ABA ve FLU muamelelerinin ozmotik stres ortamında poliamin içeriği üzerine etkisi (Barlar standart sapmayı göstermektedir (n=4). Aynı harfle gösterilen sütunlar arasındaki fark %5 ( $P<0.05$ ) seviyesinde önemsizdir.)

### 3.9. Lipid Peroksidasyonu

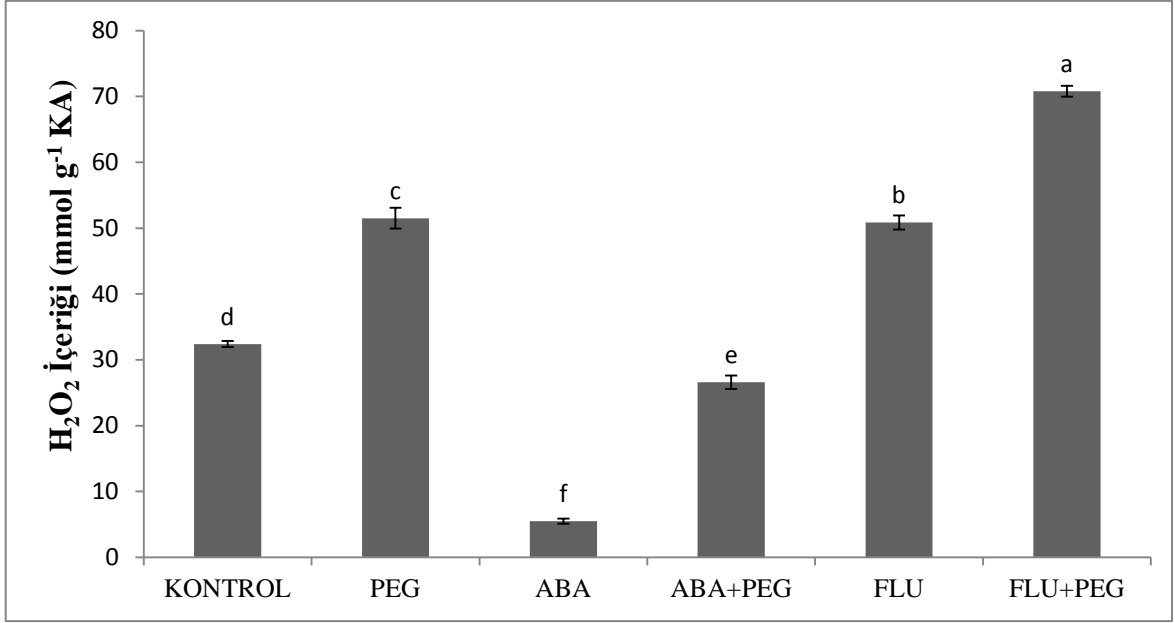
ABA uygulamasının ozmotik stres koşullarında membran hasarını azaltarak iyileştirici yönde etki ettiği tespit edildi. Ozmotik stres koşullarında FLU uygulamasında ise membran hasarını PEG grubuna kıyasla daha fazla uyarıldığı saptandı (Şekil 12).



Şekil 12. ABA ve FLU muamelelerinin ozmotik stres ortamında lipid peroksidasyonu üzerine etkisi (Barlar standart sapmayı göstermektedir (n=4). Aynı harfle gösterilen sütunlar arasındaki fark %5 (P<0.05) seviyesinde önemsizdir.)

### 3.10. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> İçeriği

Elde edilen verilere göre, içsel hidrojen peroksit içeriğinin stresli ve stressiz koşullarda ABA uygulamasıyla azaldığı gözlemlendi. Diğer yandan, içsel hidrojen peroksit içeriğinin FLU uygulamasıyla kontrole göre arttığı bulundu. Benzer şekilde FLU+PEG uygulamasının PEG grubu bitkilere göre içsel H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeriğini artırdığı belirlendi (Şekil 13).



Şekil 13. ABA ve FLU muamelelerinin ozmotik stres ortamında içsel hidrojen peroksit içeriği üzerine etkisi (Barlar standart sapmayı göstermektedir (n=4). Aynı harfle gösterilen sütunlar arasındaki fark %5 (P<0.05) seviyesinde önemsizdir.)

#### 4. TARTIŞMA

Ozmotik stres altındaki mısır fidelerinde absisik asitin yaprak kıvrılması üzerine etkisinin araştırılması adlı bu tezde kuraklık stresi altında yaprak kıvrılma derecesini (%) azaltan ABA konsantrasyonu ve ABA biyosentezini inhibe eden fluridon konsantrasyonu belirlenerek, su potansiyeli ve stoma iletkenliğindeki değişimlerle, MDA, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ABA ve ozmolit içeriğindeki değişimler belirlenmiştir.

Çeşitli stres faktörleri altındaki bitkilerde yaprak kıvrılma derecesi (%) ölçülerek bu stres faktörlerinin kıvrılma üzerindeki etkisi belirlenmiştir (O" Toole vd., 1979; Clarke, 1986; Fernandez ve Castrillo, 1999). Daha önceki çalışmalarda örneğin Turgut ve Kadioğlu'nun (1998) yaptığı bir çalışmada kuraklık stresine maruz kalan *C.setosa* 'nın yapraklarını kıvrıdığı ve kuraklık süresi arttıkça kıvrılma derecesinin (%) de arttığı bildirilmiştir. Yaprak kıvrılmasına baktığımız kuraklığa maruz kalmış mısır fidelerinde yaprak kıvrılması saptanmıştır ve dıştan ABA uygulamasıyla kıvrılma süresinin uzadığı ve kıvrılma derecesin azaldığı bulunmuştur. Literatürde dıştan uygulanan ABA ile yaprak kıvrılması arasında yapılan bir çalışmaya rastlanılmamasına rağmen, bitkilere dıştan uygulanan bazı maddelerin araştırmamızdaki bulgulara benzer etkiler gösterdiği rapor edilmiştir. Örneğin brassinolidlerin yaprak kıvrılmasını geciktirdiği kaydedilmiştir (Cutler vd., 1991). Ayrıca dıştan salisilik asit uygulamasının uzun dönemdeki kuraklık stresini hafiflettiği ve antioksidan sistemi teşvik ederek yaprak kıvrılmasını geciktirdiği rapor edilmiştir (Kadioğlu vd., 2011). Benzer bir diğer çalışmada da, Saruhan vd. (2012) mısır genotiplerinde salisilik asit ön muamelesinin kuraklık toleransını tetiklediğini ve antioksidan sistemi uyararak yaprak kıvrılmasını geciktirdiğini bulmuştur. Ayrıca, yapılan bir başka çalışmada kullanılan Batem 56-55 (kuraklığa toleranslı) ve Batem 51-52 (kuraklığa duyarlı) adlı mısır çeşitlerinin, kuraklık koşullarında yaprak kıvrılması cevapları karşılaştırılmıştır. Kuraklığa toleranslı olan Batem 56-55 yaprakları, Batem 51-52'den iki gün sonra kıvrılmıştır (Sağlam vd., 2014). Bu çalışmada, dıştan uygulanan ABA' nın hem stresli hem de stressiz ortamda içsel ABA içeriğinin belirgin bir şekilde arttığı bulunmuştur. Pospíšilová vd. (2005) de su stresi altında ABA ön muamelesi ile mısır fidelerinde içsel ABA seviyesinde artış olduğunu rapor etmişlerdir; toleranslı buğday kültürlerinin da yüksek ABA içeriğine sahip olduğu bulunmuştur (Nayyar ve Walia, 2004). Arpa (Popova, 1998), marul (Yoshioka vd., 1998), *Cotinus coggygria* fideleri (Li

vd., 2011) buğday kültürleri (Bano vd., 2012) ve karaağaç (Dias vd., 2014) ile yapılan çalışmalarda da kuraklık stresi altında içsel ABA seviyesinin arttığı bulunmuştur. Yapraklarda ABA içeriğinin su stresi ile birlikte arttığı, tekrar sulama sonucunda ABA artışının durduğu ve stres öncesi seviyeye geri döndüğü kaydedilmiştir (Zeevaart, 1980; Bray, 1988). Dıştan uygulanan ABA'nın ise çeşitli çevresel streslere karşı bitkinin uyumla ilgili cevaplarını artırdığı belirlenmiştir (Bartels vd., 1990).

Çalışmamızda FLU kullanarak mısır fidelerinin kuraklığa toleransını iyileştirmesinde ABA'nın fizyolojik rolü anlaşılmıştır. ABA biyosentez inhibitörü olan FLU, fiton desaturazın (terpenoid yolunun primer reaksiyonunun katalizlenmesinde gerekli enzim olup, ABA biyosentezinde yaygın metabolik yön verici) aktivasyonunu inhibe eder (Jiang ve Zhang, 2004; Perales vd., 2005). FLU'nun içsel ABA içeriğini azalttığı bulunarak, denemelerimizde negatif kontrol olarak kullanılmıştır.

ABA'nın kıvrılmayı geciktirmede su durumunu ve ozmolit içeriğindeki değişimlerle ilişkili olabileceği düşünülerek, yaprak su potansiyeli, stoma iletkenliği ve ozmolit (toplam şeker, prolin, poliamin) içeriği gibi parametrelere bakılmıştır. Su stresinden etkilenen ve bitkinin su durumunu gösteren önemli bir parametre yaprak su potansiyelidir ( $\Psi$ ). Yaprak su potansiyelinin kuraklık stresi için iyi bir indikatör olduğu bilinmektedir (Shaw vd., 2002). Yapılan çalışmada, yaprak su potansiyelinin ozmotik stres koşullarında azaldığı ve buna paralel olarak yaprak kıvrılmasının arttığı gözlenmiştir. Stresli ve stressiz koşullarda dıştan ABA uygulamasının, yaprak su potansiyelini artırdığı bulunmuştur. Benzer şekilde kuraklık stresi altındaki çeltik kültürlerinde yapılan bir çalışmada yaprak su potansiyelinin -0.5 MPa'dan -2 MPa'a kadar düştüğü rapor edilmiştir (Sharma ve Dubey, 2005). Yine buğdayda yapılan bir çalışmada kuraklık stresinin yaprak su potansiyelini kontrol bitkilerinde -0.63 MPa'dan -2 MPa'a düşüştüğü kaydedilmiştir (Siddique vd., 2000).

Stoma iletkenliği de kuraklık stresi için iyi bir indikatördür. Bilindiği gibi ABA su stresinde fazla üretilir (Wilkinson, 2002) ve ozmotik düzenlenme, iyon taşınımı ve stoma kapanması ile ilişkilidir (Liang, 1997; Kim, 2010). Çalışmamızda kuraklık stresi altında dıştan uygulanan ABA'nın su durumunu korumak için stomaları kapattığı bulunmuştur. Mevcut çalışmaya benzer olarak *Cotinus coggygia* fideleri (Li vd., 2011) ve karaağaçta Dias (2014) yapılan çalışmalarda, kuraklık stresi altında stomaların kapanmasıyla stomatal iletkenliğin azaldığı ancak ABA uygulaması ile gs değerlerinin daha da azaldığı bulunmuştur.



ABA stres proteinleri, prolin, şeker alkoller, çözülebilir karbohidrat ve glisin betain sentezindeki değişimleri uyarabilmektedir (Bagniewska Zadworna vd., 2007). Karbohidrat metabolizması kuraklık stresiyle güçlü bir şekilde etkilenir. Su stresine maruz bırakılan bitkiler, şeker ve polioller ve rafinoz ailesi oligosakkaritler gibi şeker türevlerini biriktirirler (Valliyodan ve Nguyen, 2006; Toldi vd., 2009). Bu ozmolitlerin birikmesi hücredeki su dengesinin devamlılığını sağlayarak bitkilerin dehidrasyona toleransına yardım ederler (Choluj vd., 2008; Costa vd., 2008). Bu çalışmada da olduğu gibi kuraklık dışında ABA'nın da şeker birikimini tetiklediği bulunmuştur. Benzer bir çalışmayla Pattanagul (2011), kuraklık stresi altında ABA uygulamasının pirinç fidelerinde şeker birikimini tetiklediği bulmuştur.

Stres tetikli şeker birikimi birçok türde rapor edilmiş ve kuraklık toleransında önemli rol oynadığına inanılmaktadır. Soya fasülyesinde (Adejare ve Umebese, 2008; Lobato vd., 2008) su eksikliği altında toplam çözülebilir karbohidrat, sukroz, kahve (*Coffea canephora* Pierre var. *kouillou*) yapraklarında (Praxedes vd., 2006) kuraklığa cevap olarak hekzos ve sukrozda artış meydana geldiği tespit edilmiştir. Şeker birikimi, iyonların destabilizesinin zararlı etkilerine karşı membran ve enzimleri korumanın yanı sıra ozmotik dengeyi devam ettirmede yardımcı olabilmektedir (Farooq vd., 2009a). Dahası dıştan ABA uygulamasıyla bile şeker birikimi tetiklenir (Pattanagul, 2011).

Prolin birikimi hem ABA-bağımlı hem de ABA-bağımsız sinyal yoluna aracılık ettiği görülmektedir (Hare vd., 1999). Mevcut çalışmamızda kuraklık stresi altında, dıştan ABA uygulamasıyla yapraklardaki prolin içeriğine bakılmıştır ve ABA uygulamasının ABA uygulanmayan grupla karşılaştırıldığında prolin içeriğinde azalış olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızdan farklı olarak ABA'nın, strese sokulmuş bitkilerde prolin üretimini sağlamaktan sorumlu olduğu öne sürülmüştür (Makela vd., 2003) ve prolin üretimine dıştan ABA uygulamasının etkisi incelenmiştir. ABA, *Brassica rapa* yaprak disklerindeki osmo-tetikli prolin birikimiyle doğrudan ilişkili olduğu (Trotel Aziz vd., 2003) ve su eksikliğinde ABA'nın prolin sentezine aracılık ettiğine (Costa vd., 2011) literatürde rastlanmıştır. Bunun aksine, McDonnell vd. (1983), dıştan ABA uygulamasıyla *Spinacia* veya *Pennisetum* fidelerinde prolin birikimine hiçbir etki olmadığı bildirilmiştir.,

Yapılan çalışmada, putresin, spermidin ve spermin gibi yaygın poliamin içeriklerinin de stres koşullarında ve ABA+PEG muamelesi yapılan bitkilerde arttığı belirlenmiştir. Aynı zamanda FLU uygulamasıyla azaldığı da bulunmuştur. Literatürde rastlanan bir çalışmada, Shevyakova'nın (2013) tuz stresi altında (100 µM NaCl) fasulye fidelerinin

yapraklarında yaptığı çalışmada, ABA uygulamasıyla putresinin, spermidin, spermin içeriğinin arttığı bulunmuştur.

Kuraklık stresi altındaki bitkilerin stres durumunu anlamak için, MDA ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeriğindeki değişimlere bakıldı. Malondialdehit (MDA) miktarı membran lipid peroksidasyonu derecesinin bir göstergesi olarak kullanılmaktadır (Masia, 2003). Mevcut tez çalışmasında, kuraklık stresi altında ABA uygulaması yapılan fidelerdeki lipid peroksidasyonunun kuraklığa göre azaldığı belirlenmiştir. Benzer şekilde litaretürde yapılan bazı çalışmalarda, kuraklık stresi altında mısır hibritlerinde (De Souza vd., 2014), çay bitkisinde (Zhou, 2014) oksidatif stresin bir göstergesi olarak MDA seviyesinde önemli bir artışın olduğu, ABA uygulamasıyla membran lipid peroksidasyonunun azaldığı bulunmuştur. Dias vd. (2014)' ın karaağaçta yapılan bir çalışmada, kuraklık stresinin oksidatif stresi tetiklediği ancak ABA ön muamelesi ile antioksidan sistemi uyarılarak oksidatif membran hasarının engellendiği ve kuraklık toleransının arttığı ileri sürülmüştür. ABA ön muamelesinin ROT' ları temizlediğinden dolayı membran hasarını engellediği, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> deki düşüşün de bunun bir göstergesi olduğu kaydedilmiştir (Alscher vd., 2002). Literatür bilgilerine dayanılarak, bitkilerde ozmotik stress koşullarında iyileştirici etki yapabilen ABA konsantrasyonunun yaprak kıvrılmasının gözlenmesiyle ve lipid peroksidasyonu iyileştirici etkisinin bulunmasıyla belirlenebileceğini söyleyebiliriz. FLU'nun lipid kompozisyonunu etkilediği de kaydedilmiştir (Lem vd., 1981). Bu çalışmada FLU uygulamasıyla MDA içeriğinin arttığı bulunmuştur. Elde edilen bulgulara benzer olarak, Popova (1998), arpa bitkisine uyguladığı FLU'nun kuraklıkta daha çok MDA içeriğini artırdığını rapor etmiştir. Ayrıca soğuk stresi altında çeltik kültürlerinde yapılan bir çalışmada, soğuk stresinin MDA içeriğini artırdığı, ABA uygulamasıyla zararın azaltıldığı ve FLU uygulamasıyla MDA içeriğinin tekrar yükseldiği gözlemlenmiştir (Wang vd., 2013).

Çeşitli abiyotik stresler, bitkilerde protein, lipid, DNA hasarına sebebiyet veren ROT'ların aşırı üretimine neden olur (Gill ve Tuteja, 2010). Bu çalışmada kuraklık stresi altında ABA uygulamasının ROT' ları temizlemesine örnek olarak içsel H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeriğini azalttığı bulunmuştur. Buna benzer bir başka çalışma olarak, *Zea mays* De Souza vd. (2014) ve karaağaçta Dias (2014) yapılan çalışmalarda su stresi altında artan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ' i azaltmak için dıştan ABA kullanılmıştır. Soğuk stresi altında yapılan bir başka çalışmada ise çeltik kültürlerinde, soğuk stresi altında da H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeriğinin arttığı, ABA uygulamasıyla bu içeriğin azaldığı ve FLU uygulamasıyla H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeriğinin kuraklık stresine

göre arttığı (Wang vd., 2013) literatürde tespit edilmiştir. Diğer taraftan, *Arabidopsis*'te bekçi hücrelerine ABA uygulamasının stoma kapanmasına sebep olan bir H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> artışını tetiklediği gösterilmiştir (Desikan, 2004).

Yapılan bir diğer çalışmada farklı olarak, potasyum eksikliği altında ABA biyosentez inhibitörü olarak tungstat (Tu) kullanarak ABA içeriğinde ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeriğinde azalış olduğu, ABA uygulamasıyla H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeriğinin arttığı bulunmuştur (Liu vd., 2012). ABA'nın ayrıca *Vicia faba*'nın (Zhang vd., 2001) bekçi hücrelerinde ve su stresine maruz kalmış mısır fidelerinde (Jiang ve Zhang, 2002b) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretimini tetiklemede etkili olduğu gösterilmiştir. Furlan vd. (2012) de Liu vd. (2012) gibi fındık (*Arachis hypogaea*) üzerinde yaptıkları çalışmalarda benzer sonuçları kaydetmişlerdir. Bu nedenle ABA uygulamasının stres hasarlarını iyileştirici etkisinin konsantrasyon bağımlı olduğunu söylemek mümkündür.

Kurak koşullar altında çeşitli konsantrasyonlarda dıştan ABA uygulamaları sonrası yaprak kıvrılma dereceleri ölçülerek, stres oluşturmeyen, aynı zamanda yaprak kıvrılma derecesini azaltan ve yaprak kıvrılma zamanını geciktiren ABA konsantrasyonu belirlenmiştir. Bununla beraber içsel ABA içeriği ölçülerek, dıştan ABA uygulamasının ABA içeriğini arttırdığı bulunmuştur. Bunun yanı sıra çalışmamızda ABA biyosentez inhibitörü olarak kullanılan FLU uygulamasının içsel ABA içeriğinin azalttığı belirlenerek, ABA için negatif bir kontrol olduğuna karar verilmiştir. ABA'nın yaprak kıvrılmasını nasıl geciktirdiği sorusu üzerine stoma iletkenliği, yaprak su potansiyeli ve içsel ozmolit değişimleri belirlenmiştir. Bunun sonucunda dıştan uygulanan ABA'nın stoma iletkenliğini azaltarak ve yaprak su potansiyelini artırarak su durumunu koruduğu, toplam şeker içeriği ve poliamin içeriğini artırarak yaprak kıvrılmasını geciktirdiği düşünülmektedir. Bu süreçte bitkinin stres durumunu anlamak için lipid peroksidasyonuna ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içeriği belirlenmiştir. Kuraklık koşullar altında dıştan ABA uygulamasının MDA içeriğini ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> azalttığı tespit edilerek, yaprak kıvrılmasını geciktiren ABA konsantrasyonun iyileştirici bir etkisi olduğu bulunmuştur. Sonuç olarak ABA'nın su durumunu koruyarak, ozmolitlerin ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin karıştığı sinyal yolunu etkileyerek yaprak kıvrılmasını kontrol ettiği düşünülmektedir. Dıştan ABA ve FLU uygulamasının yaprak kıvrılması üzerine yapılan bir çalışmanın literatürde bulunmamış olduğundan bu tez çalışmasının literatürdeki bu boşluğu doldurması açısından değerli olduğu düşünülmektedir.

## 5. SONUÇLAR

Yapılan çalışma sonucunda;

1. Mısır fidelerine dıştan uygulanan ABA'nın 12 saat boyunca etkilerine bakılarak kıvrılmayı geciktiren ve kıvrılma derecesini azaltan ABA konsantrasyonunun 250  $\mu\text{M}$  olduğu, ABA biyosentez inhibitörü fluridonun ise en kısa zamanda daha fazla kıvrılmaya neden olan etkin konsantrasyonunun 30  $\mu\text{M}$  olduğu bulunmuştur.
2. Yapraklardaki içsel ABA seviyesinin stresli ve stressiz koşullarda ABA uygulamalarıyla arttığı, FLU uygulamasıyla ise ciddi şekilde azaldığı gözlenmiştir.
3. Ozmotik stres koşullarında dıştan uygulanan 250  $\mu\text{M}$  ABA konsantrasyonunun su potansiyelini iyileştirdiği, 30  $\mu\text{M}$  FLU uygulamasının ise su potansiyelini azalttığı bulunmuştur.
4. Stres altında ABA uygulamasının stoma iletkenliğini azalttığı, FLU uygulamasının ise ABA'yı inhibe ederek stoma iletkenliği artırdığı belirlenmiştir.
5. Ozmotik stres koşullarında, ABA uygulamasıyla prolin içeriğinde azalış gözlenirken, toplam şeker ve poliamin içeriğinde artış gözlenmiştir fakat ozmotik stres altında FLU uygulaması, FLU uygulanmayan grupla karşılaştırıldığında, prolin, toplam şeker ve poliamin içeriğinde azalış tespit edilmiştir.
6. Ozmotik stres sırasında bitkilerde malondialdehit (MDA) içeriğinde önemli derecede artışın olduğu belirlenmiştir. Bu artışın dıştan ABA uygulaması ile azaldığı fakat FLU uygulamasıyla arttığı bulunmuştur.
7. Stres sırasında yapraktaki içsel  $\text{H}_2\text{O}_2$  içeriğinde artış olduğu gözlenmiştir. Bu artışın ABA uygulaması ile azaldığı FLU uygulamasıyla arttığı belirlenmiştir.

## 6. ÖNERİLER

Bitkilerin kuraklık stresi altında hayatlarını sürdürebilmek için geliştirdikleri sakınma mekanizmalarından biri yaprakların rulo şeklinde kıvrılmasıdır. Bu mekanizmalara sahip olan şanslı bitkiler uzun bir süre canlılıklarını devam ettirebilir ve kuraklıktan en az hasarla çıkabilirler. Özellikle dünyada geniş olarak tarımı yapılan ve bu mekanizmaya sahip çeltik, mısır, buğday gibi bitkiler için bu çalışmalar büyük önem arz etmektedir.

Bu sebeple kıvrılma mekanizmasının bütün yönleri ile bilinmesi gerekir. Yapılan çalışma ile kuraklık stresine maruz kalan mısır fidelerinin dıştan ABA uygulamasıyla kuraklık stresi etkilerini yaprak kıvrılmasını geciktirerek önemli derecede azalttığı belirlenmiştir. Ekonomik olarak önemli ve yaprak kıvrılma mekanizmasına sahip mısır bitkisinde kıvrılma mekanizmasını aydınlatmaya yönelik olan bu çalışmadan elde edilen bilgiler, benzer mekanizmalara sahip bitkiler için kullanılabilir olmasından dolayı, mevcut çalışmanın uygulanabilir özelliği bulunmaktadır. Diğer taraftan elde ettiğimiz bulgular ışığında, kuraklık koşulları altında ABA'nın uyardığı sinyal yollarının aydınlatılması kıvrılma mekanizmanın nasıl kontrol edildiğinin anlaşılmasına katkı sağlayacaktır.

Bundan sonraki süreçte ozmotik stres altında ABA uygulamasıyla, antioksidan sistemdeki enzimlere ve bu enzimlerin gen ifadeleriyle ilişkilerine bakılması, ABA sentezinden sorumlu absisik aldehit oksidaz enzimin gen ifadesine, prolin metabolizmasında rol oynayan  $\Delta^1$ -piroline-5-karboksilat sentaz (P5CS) ve prolin dehidrogenaz enzimlerinin gen ifadelerine, poliamin metabolik enzimlerinden arginin dekarboksilaz, S-adenozil metionin dekarboksilaz ve poliamin oksidaz enzimlerinin gen ifadelerine ve ayrıca sukroz sentaz enziminin gen ifadesine bakılması önerilmektedir.

## 7. KAYNAKLAR

- Ackerson, R.C., Kreig, D.R. ve Sung, F.J.M., 1980. Leaf Conductance and Osmoregulation of Field Grown Sorghum Genotypes, Crop Science, 20, 10-14.
- Adejare, F.B. ve Umebese, C.E., 2008. Water Stress Induces Cultivar Dependent Changes in Stomatal Complex, Yield and Osmotic Adjustments in *Glicine max* L., International Journal of Agricultural Research, 3, 287-295.
- Adie, B.A., Pérez Pérez, J., Pérez Pérez, M.M., Godoy, M., Sánchez Serrano, J.J., Schmelz, E.A. ve Solano, R., 2007. ABA is an Essential Signal for Plant Resistance to Pathogens Affecting JA Biosynthesis and the Activation of Defenses in Arabidopsis, Plant Cell, 19, 1665–1681.
- Agarwal, P. ve Jha, B., 2010. Transcription Factors in Plants and ABA Dependent and Independent Abiotic Stress Signalling, Biologia Plantarum, 54, 201–212.
- Alcázar, R., Planas, J., Saxena, T., Zarza, X., Bortolotti, C., Cuevas, J., Bitrián, M., Tiburcio, A.F. ve Altabella, T., 2010. Putrescine Accumulation Confers Drought Tolerance in Transgenic Arabidopsis Plants Over-expressing the Homologous Arginine Decarboxylase 2 Gene, Plant Physiology and Biochemistry, 48, 547–52.
- Alcázar, R., Altabella, T., Marco, F., Bortolotti, C., Reymond, M., Koncz, C., Carrasco, P. ve Tiburcio, A.F., 2010. Polyamines: Molecules with Regulatory Functions in Plant Abiotic Stress Tolerance, Planta, 231, 1237-1249.
- Allen, G.J., Chu, S.P., Harrington, C.L., Schumacher, K., Hoffmann, T., Tank, Y.Y., Grill, E. ve Schroeder, J.I., 2001. A Defined Range of Guard Cell Calcium Oscillation Parameters Encodes Stomatal Movements, Nature, 411, 1053-1057.
- Alscher, R.G., Ertürk, N. ve Heath, L.S., 2002. Role of Superoxide Dismutases (SODs) in Controlling Oxidative Stress in Plants, Journal of Experimental Botany, 53, 1331–1341.
- Aroca, R., Del Mar Alguacil, M., Vernieri, P. ve Ruiz Lozano, J.M., 2008. Plant Responses to Drought Stress and Exogenous ABA Application are Modulated Differently by Mycorrhization in Tomato and an ABA-Deficient Mutant (*Sitiens*), Microbial Ecology, 56, 704–19.
- 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, Journal of Agronomy and Crop Science, 186, 111-118.
- Ashraf, M. ve Foolad, M.R., 2007. Roles of Glycine Betaine and Proline in Improving Plant Abiotic Stress Resistance, Environmental And Experimental Botany, 59, 206–216.

- Bagniewska Zadworna, A., Zenkteler, E., Czaczyk, K. ve Osinska, M., 2007. The Effect of Dehydration with or without Abscisic Acid Pretreatment on Buds Regeneration from *Polypodium vulgare* L. Rhizomes, Acta Physiologica, 29, 47-56.
- Bano, A., Ullah, F. ve Nosheen, A., 2012. Role of Abscisic Acid and Drought Stress on the Activities of Antioxidant Enzymes in Wheat, Plant Soil Environment, 58, 181–185.
- Bartels, D., Schneider, K., Terstappen, G., Piatkowski, D. ve Salamini, F., 1990. Molecular Cloning of ABA-Modulated Genes from The Resurrection Plant *Craterostigma plantagineum* Which are Induced During Desiccation, Planta, 181, 27-34.
- Bartels, D. ve Sunkar, R., 2005. Drought and Salt Tolerance in Plants. Critical Reviews in Plant Sciences, 24, 23-58.
- Bates, L.S., Waldren, R.P. ve Teare, I.D., 1973. Rapid Determination of Free Proline for Water Stress Studies, Plant and Soil, 39, 205–207.
- Bidwell, R.G.S., 1974. Plant Physiology , Macmillan Publishing Com. Inc., New York, 643.
- Björkman, O. ve Demmig Adams, B., 1993. Regulation of Photosynthetic Light Energy Capture, Conversion and Dissipation in Leaves of Higher Plants, Ecophysiology of Photosynthesis, Shulze, E.D. ve Caldwell, M.M., Editörler, Springer-Verlag, Berlin, 17-47.
- Blum, A., 1986. Plant Breeding for Stress Environments, Bocaaton: CRC Press, USA, 1-223.
- Bohnert, H.J. ve Jensen, R., 1996. Strategies for Engineering Water-Stress Tolerance Plants, Trends in Biotechnology, 14, 89-97.
- Bohnert, H.J., Shen, B., 1999. Transformation and Compatible Solutes, Scientia Horticulturae, 78, 237-60.
- Borsani, O., Valpuesta, V. ve Botella, M.A., 2003. Developing Salt Tolerant Plants in a New Century: A Molecular Biology Approach, Plant Cell Tissue and Organ Culture, 73, 101–115.
- Boudsocq, M., Barbier Brygoo, H. ve Lauriere, C., 2004. Identification of Nine Sucrose Nonfermenting 1-Related Protein Kinases 2 Activated by Hyperosmotic and Saline Stresses in *Arabidopsis thaliana*, The Journal of Biological Chemistry, 279, 41758-41766.
- Bray, E.A., 1988. Drought and ABA-Induced Changes in Polypeptide and mRNA Accumulation in Tomato Leaves, Plant Physiology, 88, 1210–14.
- Chen, Z., Hong, X., Zhang, H., Wang, Y., Li, X., Zhu, J. ve Gong, Z., 2005. Disruption of the Cellulose Synthase Gene, AtCesA8/IRX1, Enhances Drought and Osmotic Stress Tolerance in Arabidopsis, The Plant Journal, 43, 273–283.

- Chernys, J.T. ve Zeevaart, J.A.D., 2000. Characterization of the 9-Cis-Epoxy-carotenoid Dioxygenase Gene Family and the Regulation of Abscisic Acid Biosynthesis in Avocado, Plant Physiology, 124, 343-354.
- Choluj, D., Karwowska, R., Ciszewska, A. ve Jasinska, M., 2008. Influence of Long-Term Drought Stress on Osmolyte Accumulation in Sugar Beet (*Beta vulgaris* L.) Plants, Acta Physiologiae Plantarum, 30, 679-687.
- Clarke, J.M., 1986. Effect of Leaf Rolling on Leaf Water Loss in *Triticum* spp., Canadian Journal of Plant Science, 66, 885-891.
- Cohen, Y., Moreshet, S. ve Fuchs, M., 1987. Changes in Hydraulic Conductance of Citrus Trees Following A Reduction in Wetted Soil Volume, Plant Cell and Environment, 10, 53-57.
- Costa, R.C.L., Lobato, A.K.S., Neto, C.F.O., Maia, P.S.P., Alves, G.A.R. ve Laughinghouse, H.D., 2008. Biochemical and Physiological Responses in Two *Vigna unguiculata* (L.) Walp Cultivars under Water Stress, The Journal of Agronomy, 7, 98-101.
- Costa, R.C.L., Lobato, A.K.S., Silveira, J.A.G. ve Laughinghouse, H.D., 2011. ABA-Mediated Proline Synthesis in Cowpea Leaves Exposed to Water Deficiency and Rehydration, Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 35, 309-317.
- Couee, I., Sulmon, C., Gouesbet, G. ve El Amrani, A., 2006. Involvement of Soluble Sugars In Reactive Oxygen Species Balance and Responses to Oxidative Stress in Plants, Journal Of Experimental Botany, 57, 449-59.
- Cutler, H.G., Yokuta, T. ve Adam, G., 1991. Brassinosteroids: Chemistry, Bioactivity, and Applications, ACS Symposium Series 474, American Chemical Society, Washington DC.
- Cutler, S.R., Rodriguez, P.L., Finkelstein, R.R. ve Abrams, S.R., 2010. Abscisic acid: Emergence of a Core Signaling Network, Annual Review of Plant Biology, 61, 651-679.
- Daszkowska Golec, A. ve Iwona Szarejko, I., 2013. The Molecular Basis of ABA Mediated Plant Response to Drought, Abiotic Stress, Plant Responses and Applications in Agriculture, Dr. Kouros Vahdati (Ed.), ISBN: 978-953-51-1024-8, InTech, DOI: 10.5772/53128.
- De Souza, T.C., Magalhaés, P.C., De Castro, E.M., Carneiro, N.P., Padilha, F.A. ve Ju'nior, C.C.G., 2014. ABA Application to Maize Hybrids Contrasting for Drought Tolerance: Changes in Water Parameters and in Antioxidant Enzyme Activity, Plant Growth Regulation, 73, 205-217.
- Delauney, A.J. ve Verma, D.P.S., 1993. Proline Biosynthesis and Osmoregulation in Plants, Plant Journal, 4, 215-23.



- Desikan, R., Cheung, M.K., Bright, J., Henson, D., Hancock, J. ve Neill, S., 2004. ABA, Hydrogen Peroxide and Nitric Oxide Signalling in Stomatal Guard Cells, Journal of Experimental Botany, 55, 205-212.
- Dhindsa, R.S., Plumb Dhindsa, P. ve Thorpe, T.A., 1981/82. Leaf Senescence Correlated with Increased Levels of Membrane Permeability and Lipid Peroxidation, and Decreased Levels of Superoxide Dismutase and Catalase, Journal of Experimental Botany, 32, 93-101.
- Dias, M.C., Oliveira, H., Costa, A. ve Santos, C., 2014. Improving Elms Performance under Drought Stress: The Pretreatment with Abscisic Acid, Environmental and Experimental Botany, 100, 64– 73.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. ve Smith, F., 1956. Calorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances, Analytical Chemistry, 28, 350-56.
- Ekanayake, I.J., De Datta, S.K. ve Steponkus, P.L., 1993. Effect of Water Deficit Stress on Diffusive Resistance, Transpiration, and Spikelet Desiccation of Rice (*Oryza sativa* L.), Annals of Botany, 72, 73-80.
- Ezzine, M. ve Ghorbel, M.H., 2006. Physiological and Biochemical Responses Resulting from Nitrite Accumulation in Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Ibiza F1), Journal Plant Physiology, 163, 1032-1039.
- Fan, X.W., Li, F.M., Song, L., Xiong, Y.C., An, L.Z., Jia, Y. ve Fang, X.W., 2009. Defense Strategy of Old and Modern Spring Wheat Varieties during Soil Drying, Physiologia Plantarum, 136, 310–323.
- Farooq, M., Wahid, A., Lee, D.J., Ito, O. ve Siddique, K.H.M., 2009a. Advance in Drought Resistance of Rice, Critical Reviews in Plant Sciences, 28, 197-217.
- Farré, I. ve Faci, J.M., 2009. Deficit Irrigation in Maize for Reducing Agricultural Water Use in a Mediterranean Environment, Agricultural Water Management , 96, 383–394.
- Fediuc, E., Lips, S.H. ve Erdei, L., 2005. O-acetylserine (Thiol) Lyase Activity in Phragmites and Typha Plants Under Cadmium and NaCl Stress Conditions and The Involvement of ABA in The Stress Response, Journal of Plant Physiology, 162, 865-872.
- Feng, Y.L., Cao, K.F. ve Feng, Z.L., 2002. Thermal Dissipation, Leaf Rolling and Inactivation of PS II Reaction Centres in *Amomum villosum*, Journal of Tropical Ecology, 18, 865-872.
- Fernandez, D. ve Castrillo, M., 1999. Maize Leaf Rolling Initiation, Photosynthetica, 37, 493-497.
- Finkelstein, R. R., Gampala, S. S. L. ve Rock, C. D., 2002. Abscisic Acid Signaling in Seeds and Seedlings, The Plant Cell Online, 14, 15–45.

- Finkelstein, R., Reeves, W., Ariizumi, T. ve Steber, C., 2008. Molecular Aspects of Seed Dormancy, Annual Review of Plant Biology, 59, 387–415.
- Finkelstein, R., 2013. Abscisic Acid Synthesis and Response. *Arabidopsis Book*, 11:e0166 <http://dx.doi.org/10.1199/tab.0166>.
- Flores, H.E. ve Galston, A.W., 1982. Analysis of Polyamines in Higher Plants by High Performance Liquid Chromatography, Plant Physiology, 69, 701-706.
- Fu, J. ve Huang, B., 2001. Involvement of Antioxidants and Lipid Peroxidation in the Adaptation of Two Cool-Season Grasses to Localized Drought Stress, Environmental and Experimental Botany, 45, 105-114.
- Fujii, H., Verslues, P.E. ve Zhu, J.K., 2007. Identification of Two Protein Kinases Required for Abscisic Acid Regulation of Seed Germination, Root Growth, and Gene Expression in *Arabidopsis*, Plant Cell, 19, 485-494.
- Fujii, H. ve Zhu, J.K., 2009. Arabidopsis Mutant Deficient in Three Abscisic Acid-Activated Protein Kinases Reveals Critical Roles in Growth, Reproduction and Stress, Proceedings of the National Academy of Sciences, U.S.A., 106, 8380–8385.
- Fujii, H., Chinnusamy, V., Rodrigues, A., Rubio, S., Antoni, R., Park, S.Y., Cutler, S.R., Sheen, J., Rodriguez, P.L. ve Zhu, J.K., 2009. In Vitro Reconstitution of an Abscisic Acid Signalling Pathway, Nature, 462, 660-664.
- Fujita, Y., Fujita, M., Satoh, R., Maruyama, K., Parvez, M.M., Seki, M., Hiratsu, K., Ohme Takagi, M., Shinozaki, K. ve Yamaguchi Shinozaki, K., 2005. AREB1 is a Transcription Activator of Novel ABRE-dependent ABA Signaling That Enhances Drought Stress Tolerance in *Arabidopsis*, Plant Cell, 17, 3470-3488.
- Fujita, Y., Nakashima, K., Yoshida, T., Katagiri, T., Kidokoro, S., Kanamori, N., Umezawa, T., Fujita, M., Maruyama, K. ve Ishiyama, K., Kobayashi M., Nakasone S., Yamada K., Ito T, Shinozaki K. ve Yamaguchi Shinozaki K., 2009. Three SnRK2 Protein Kinases are the Main Positive Regulators of Abscisic Acid Signaling in Response to Water Stress in *Arabidopsis*, Plant Cell Physiology, 50, 2123-2132.
- Fujita, Y., Yoshida, T. ve Yamaguchi Shinozaki, K., 2013. Pivotal Role of the AREB/ABF-SnRK2 Pathway in ABRE-mediated Transcription in Response to Osmotic Stress in Plants, Physiologia Plantarum, 147, 15-27.
- Furiihata, T., Maruyama, K., Fujita, Y., Umezawa, T., Yoshida, R., Shinozaki, K. ve Yamaguchi Shinozaki, K., 2006. Abscisic Acid-dependent Multi Site Phosphorylation Regulates the Activity of a Transcription Activator AREB1, Proceedings of the National Academy of Sciences, U.S.A, 103, 1988-1993.
- Furlan, A., Llanes, A., Luna, V. ve Castro, S., 2012. Abscisic Acid Mediates Hydrogen Peroxide Production in Peanut Induced by Water Stress, Biologia Plantarum, 57, 555-558.

- Gallé, A., Csiszár, J., Benyó, D., Laskay, G., Leviczky, T., Erdei, L. ve Tari, I., 2013. Isohydic and Anisohydic Strategies of Wheat Genotypes under Osmotic Stress: Biosynthesis and Function of ABA in Stress Responses, Journal of Plant Physiology, 170, 1389–1399.
- Galston, A.W. ve Sawhney, R. K., 1990. Polyamines in Plant Physiology, Plant Physiology, 94, 406–410.
- Gill, S. S. ve Tuteja, N., 2010. Reactive Oxygen Species and Antioxidant Machinery in Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants, Plant Physiology and Biochemistry, 48, 909–930.
- Gill, S.S. ve Tuteja, N., 2010. Polyamines and Abiotic Stress Tolerance in Plants, Plant Signaling & Behavior, 5, 26-33.
- Groppa, M.D., Tomaro, M.L. ve Benavides, M.P., 2001. Polyamines as Protectors Against Cadmium or Copper-Induced Oxidative Damage in Sunflower Leaf Discs, Plant Science, 161, 481-488.
- Guan, L. ve Scandalios, J.G., 1998. Two Structurally Similar Maize Cytosolic Superoxide Dismutase Genes, *Sod4* and *Sod4A*, Respond Differentially to Abscisic Acid and High Osmoticum, Plant Physiology, 117, 217–24.
- Hale, M.G. ve Orcutt, D.M., 1987. The Physiology of under Stress, John Wiley and Sons, Inc., New York, USA.
- Halliwell, B., 1984. Toxic Effects of Oxigen on Plant Tissues, In: Chloroplast Metabolism, The Structure And Function of Chloroplasts in Green Leaf Cells, Halliwell, B., Ed., Oxford Press, Oxford, 180-206.
- Harb, A., Krishnan, A., Ambavaram, M.M.R. ve Pereira, A., 2010. Molecular and Physiological Analysis of Drought Stress in *Arabidopsis* Reveals Early Responses Leading to Acclimation in Plant Growth, Plant Physiology, 154, 1254-1271.
- Hare, P.D., Cress, W.A. ve Staden, J., 1999. Proline Synthesis and Degradation: A Model System for Elucidating Stress Related Signal Transduction, The Journal of Experimental Botany, 50, 413–434.
- Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., Handa, S. ve Handa, A.K., 1984. Cellular Mechanisms of Tolerance to Water Stress, Horticultural Science, 19, 371-377.
- Heath, R.L. ve Packer, L., 1968. Photoperoxidation in Isolated Chloroplast. I. Kinetics and Stoichiometry of Fatty Acid Peroxidation, Archives of Biochemistry and Biophysics, 125, 189–98.
- Heckathorn, S.A. ve Delucia, E.H., 1991. Effect of Leaf Rolling on Gas Exchange and Leaf Temperature of *Andropogon gerardii* and *Spartina pectinata*, Botanical Gazette, 152, 263-68.
- Hetherington, A.M., 2001. Guard Cell Signaling, Cell, 107, 711–4.

- Hirayama, T. ve Shinozaki, K., 2010. Research on Plant Abiotic Stress Responses in the Post-Genomeera: Past, Present and Future, The Plant Journal, 61, 1041-1052.
- Holbrook, N.M., Shashidhar, V.R., James, R.A. ve Munns, R., 2002. Stomatal Control in Tomato with ABA-Deficient Roots: Response of Grafted Plants to Soil Drying, The Journal of Experimental Botany, 53, 1503–1514.
- Hopkins, W.G., 1995. Introduction to Plant Physiology, The University of Western Ontario, John Wiley and Sons, Inc., Canada, 423-443.
- Huang, M. ve Wu, W., 2006. Genome-Wide in Silico Identification and Experimental Confirmation of Abscisic Acid-Regulated Genes in Arabidopsis, Plant Science, 170, 986–993.
- Huber, S.C. ve Huber, J.L., 1996. Role and Regulation of Sucrose-Phosphate Synthase in Higher Plants, Annual Review Of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 47, 431-444.
- Irigoyen, J.J., Emerich, D.W. ve Sacher-Diaz, M., 1992. Alfalfa Leaf Senescence Induced by Drought Stress: Photosynthesis, Hydrogen Peroxide Metabolism, Lipid Peroxidation and Etylene Evolution, Physiologia Plantarum, 84, 67-72.
- Jiang, M. ve Zhang, J., 2002a. Involvement of Plasma-Membrane NADPH Oxidase in Abscisic Acid and Water Stress-Induced Antioxidant Defense in Leaves of Maize Seedlings, Planta, 215, 1022-30.
- Jiang, M. ve Zhang, J., 2002b. Water Stress-Induced Abscisic Acid Accumulation Triggers The Increased Generation of Reactive Oxygen Species and up-Regulates The Activities of Antioxidant Enzymes in Maize Leaves, The Journal of Experimental Botany, 53, 2401- 2410.
- Jiang, M. Y. ve Zhang, J. H., 2004. Abscisic Acid and Antioxidant Defense in Plant Cells, Acta Botanica Sinica, 46, 1–9.
- Jimenez-Bremont, J.F., Ruiz, O.A. ve Rodriguez-Kessler, M., 2007. Modulation of Spermidine and Spermine Levels in Maize Seedlings Subjected to Long-Term Salt Stress, Plant Physiology and Biochemistry, 45, 812–821.
- Jones, H.G., 1979. Visual Estimation of Plant Water Status in Cereals, Journal of Agricultural Sciences, 92, 83-89.
- Jones, H.G., 1992. Plants and Microclimate. Cambridge: Cambridge University Press.
- Kadioğlu, A. ve Turgut, R., 1999. Some Biochemical Changes During Leaf Rolling in *Ctenanthesetosa* (Marantaceae), Acta Physiologiae Plantarum, 21, 209-14.
- Kadioğlu, A. ve Terzi, R., 2007. A Dehydration Avoidance Mechanism: Leaf Rolling, The Newyork Botanical Garden, Botanical Review, 73, 290-302.
- Kadioğlu, A., 2011. Bitki Fizyolojisi, ISBN: 978-605-4361-06-9, Beşinci Baskı, Gündüz Ofset Matbaacılık, Trabzon.

- Kadioğlu, A., Saruhan, N., Sağlam, A., Terzi, R. ve Acet, T., 2011. Exogenous Salicylic Acid Alleviates Effects of Long Term Drought Stress and Delays Leaf Rolling by Inducing Antioxidant System, Plant Growth Regulation, 64, 27-37.
- Kadioğlu, A., Terzi, R., Saruhan, N. ve Sağlam, A., 2012. Current Advances in the Investigation of Leaf Rolling Caused by Biotic and Abiotic Stress Factors, Plant Science, 182, 42-48.
- Kang, J., Hwang, J.U., Lee, M., Kim, Y.Y., Assmann, S.M., Martinoia, E. ve Lee, Y., 2010. PDR-Type ABC Transporter Mediates Cellular Uptake of The Phytohormone Abscisic Acid, Proceedings of The National Academy of Sciences, USA, 107, 2355–60.
- Kanno, Y., Hanada, A., Chiba, Y., Ichikawa, T., Nakazawa, M., Matsui, M., Koshihara, T., Kamiya, Y. ve Seo, M., 2012. Identification of an Abscisic Acid Transporter by Functional Screening Using The Receptor Complex as a Sensor, Proceedings of The National Academy of Sciences, USA, 109, 9653–8.
- Kao, W.Y. ve Forseth, I.N., 1992. Diurnal Leaf Movement, Chlorophyll Fluorescence and Carbon Assimilation in Soybean Grown under Different Nitrogen and Water Availabilities, Plant Cell and Environment, 15, 703-710.
- Kavi Kishor, P.B., Sangam, S., Amrutha, R.N., Sri Laxmi, P., Naidu, K.R., Rao, K. R. S. S., Sreenath, Rao., Reddy, K.J., Theriappan, P. ve Sreenivasulu, N., 2005. Regulation of Proline Biosynthesis, Degradation, Uptake and Transport in Higher Plants: Its Implications in Plant Growth and Abiotic Stress Tolerance, Current Science, 88, 424-38.
- Kim, T.H., Bohmer, M., Hu, H.H., Nishimura, N. ve Schroeder, J.I., 2010. Guard Cell Signal Transduction Network: Advances in Understanding Abscisic Acid, CO<sub>2</sub>, and Ca<sup>2+</sup> Signaling, Annual Review of Plant Biology, 61, 561–591.
- Knapp, A.K., 1985. Effect of Fire and Drought on The Ecophysiology of *Andropogon gerardii* and *Panicum virgatum* in a Tallgrass Prairie, Ecology, 66, 1309-1320.
- Kramer, P.J., 1980. Water Relations in Plants, New York, Academic Press.
- Kramer, G.F. ve Wang, C.Y., 1989. Correlation of Reduced Chilling Injury with Increased Spermine and Spermidine Levels in Zucchini Squash, Physiologia Plantarum, 76, 479-84.
- Krasensky, J. ve Jonak, C., 2012. Drought, Salt and Temperatures Tress-Induced Metabolic Rearrangements and Regulatory Networks, The Journal of Experimental Botany, 63, 1593-1608.
- Krouma, A., 2010. Plant Water Relations and Photosynthetic Activity in Three Tunisian Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Genotypes Subjected to Drought, Turkish Journal of Agricultural and Forestry, 34, 257-264.

- Kuromori, T., Miyaji, T., Yabuuchi, H., Shimizu, H., Sugimoto, E., Kamiya, A., Moriyama, Y. ve Shinozaki, K., 2010. ABC Transporter Atabcg25 is Involved in Abscisic Acid Transport and Responses, Proceedings of The National Academy of Sciences, USA, 107, 2361–6.
- Kusano, T., Berberich, T., Tateda, C. ve Takahashi, Y., 2008. Polyamines: Essential Factors for Growth and Survival, Planta, 228, 367-381.
- Legocka, J. ve Kluk, A., 2005. Effect of Salt and Osmotic Stress on Changes in Polyamine Content and Arginine Decarboxylase Activity in *Lupinus luteus* Seedlings, Journal of Plant Physiology, 162, 662–668.
- Lem, N.W. ve Williams, J.P., 1981. Desaturation of Fatty Acids Associated with Monogalactosyl Diacylglycerol: The Effect of SAN 6706 and SAN 9785, Plant Physiology, 68, 944-949.
- Liu, C.H., Chao, Y.Y. ve Kao, C.H., 2012. Abscisic Acid is an Inducer of Hydrogen Peroxide Production in Leaves of Rice Seedlings Grown under Potassium Deficiency, Botanical Studies, 53, 229-237.
- Li, Y., Zhao, H., Duan, B., Korpelainen, H. ve Li, C., 2011. Effect of Drought and ABA on Growth, Photosynthesis and Antioxidant System of *Cotinus coggygria* Seedlings under Two Different Light Conditions, Environmental and Experimental Botany, 71 107–113.
- Liang, J., Zhang, J. ve Wong, M.H., 1997. Can Stomatal Closure Caused by Xylem ABA Explain The Inhibition of Leaf Photosynthesis under Soil Drying?, Photosynthesis Research, 51, 149–159.
- Liu, X., Bai, X., Wang, X. ve Chu, C., 2007. OsWRKY71, a Rice transcription Factor, is Involved in Rice Defense Response, Journal Plant Physiology, 164, 969–979
- Lobato, A.K.S., Neto, C.F.O., Costa, R.C.L., Filho, B.G.S., Cruz, F.J.R. ve Laughinghouse, H.D., 2008. Biochemical and Physiological Behavior of *Vigna unguiculata* (L.) Walp under Water Stress during the Vegetative Phase, Asian Journal Plant Science, 7, 44-49.
- Lu, S., Su W., Li, H. ve Guo, Z., 2009. Abscisic Acid Improves Drought Tolerance of Triploid Bermudagrass and Involves H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Induced and NO-Induced Antioxidant Enzyme Activities, Plant Physiology and Biochemistry, 47, 132–138.
- 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, Australian Journal of Plant Physiology, 12, 131-149.
- Lutz, C., Navakoudis, E., Seidlitz, H.K. ve Kotzabasis, K., 2005. Simulated Solar Irradiation with Enhanced UV-B Adjust Plastid- and Thylakoid-Associated Polyamine Changes for UV-B Protection, Biochimica Et Biophysica Acta, 1710, 24–33.

- Madhova Rao, K.V., Raghavendra, A.S. ve Janardhan Reddy, K., 2005. Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants, Springer, Netherlands, 345.
- Makela, P., Munns, R., Colmer, T.D. ve Peltonen Sainio, P., 2003. Growth of Tomato and an ABA-Deficient Mutant (Sitiens) under Saline Conditions, Physiologia Plantarum, 117, 58–63.
- Martinez Ballesta, M.C., Martinez, V. ve Carvajal, M., 2004. Osmotic Adjustment, Water Relations and Gas Exchange in Pepper Plants Grown under NaCl or KCl, Environmental and Experimental Botany, 52, 161-174.
- Maruyama, K., Yoshida, T., Ishiyama, K., Kobayashi, M., Shinozaki, K. ve Yamaguchi Shinozaki, K., 2009. Three *Arabidopsis* Snrk2 Protein Kinases, SRK2D/Snrk2.2, SRK2E/Snrk2.6/OST1 and SRK2I/Snrk2.3, Involved in ABA Signaling are Essential for The Control of Seed Development and Dormancy, Plant Cell Physiology, 50, 1345-1363.
- Masia, A., 2003. Physiological Effects of Oxidative Stress in Relation to Ethylene in Postharvest Produce, Postharvest Oxidative Stress in Horticultural Crops, Hodges, D.M. Ed., Food Products Press, Newyork, 165–197.
- Mcdonnell, E.M., Coughlan, S.J. ve Wyn Jones, R.G., 1983. Differential Effects of abscisic Acid on Glycine Betaine and Proline Accumulation in Three Plant Species, Zeitschrift Fur Pflanzenphysiologie, 109, 207–213.
- Meinhard, M., Rodriguez, P.L. ve Gril, E., 2002. The Sensitivity of Ab12 to Hydrogen Peroxide Links The Abscisic Acid-Response Regulator To Redox Signaling, Planta, 214, 775-82.
- Minocha, R., Long, S., Thangavel, P., Minocha, S.C., Eagar, C. ve Driscoll, C.T., 2010. Elevation Dependent Sensitivity of Northern Hardwoods to Ca-Addition at Hubbardbrook Experimental Forest, Forest Ecology And Managament, 260, 2115-2124.
- Molinari, H.B.C., Marur, C.J., Daros, E., De Campos, M.K.F., De Carvalho, J.F.R.P., Filho, J.C.B., Pereira, L.F.P. ve Vieira, L.G.E., 2007. Evaluation of the Stress-Inducible Production of Proline in Transgenic Sugarcane (*Saccharum* Spp.): Osmotic Adjustment, Chlorophyll Fluorescence and Oxidative Stress, Physiologia Plantarum, 130, 218-229.
- Morris, M.L., 2002. Impacts of International Maize Breeding Research in Developing Countries. Mexico, DF, CIMMYT, 1966-1998.
- 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, African Journal of Biotechnology, 1, 23-38.

- Mustilli, A.C., Merlot, S., Vavasseur, A., Fenzi, F. ve Giraudat, J., 2002. *Arabidopsis* OST1 Protein Kinase Mediates The Regulation of Stomatal Aperture by Abscisic Acid and Acts Upstream of Reactive Oxygen Species Production, Plant Cell, 14, 3089–99.
- Nakashima, K., Fujita, Y., Kanamori, N., Katagiri, T., Umezawa, T., Kidokoro, S., Nambara, E. ve Marion Poll A., 2005. Abscisic Acid Biosynthesis and Catabolism, Annual Review of Plant Biology, 56,165–85.
- Nayyar, H. ve Walia, D.P., 2004. Genotypic Variation in Wheat in Response to Water Stress and Abscisic Acid-Induced Accumulation of Osmolytes in Developing Grains, Journal of Agronomy and Crop Science, 190, 39–45.
- Nilsen, E.T., 1991. The Relationship Between Freezing Tolerance and Thermotropic Leaf movement in Five Rhododendron Species, Oecologia, 87, 63–71.
- Nitsch, L., Kohlen, W., Oplaat, C., Charnikhova, T., Cristescu, S., Michieli, P., Wolters Arts, M., Bouwmeester, H., Mariani, C., Vriezen, W.H. ve Rieu, I., 2012. ABA Deficiency Results in Reduced Plant and Fruit Size in Tomato, Journal of Plant Physiology, 169, 878-883.
- Nuss, E.T. ve Tanumihardjo, S.A., 2010. Maize: A Paramount Staple Crop in The Context of Global Nutrition, Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 9, 417–36.
- Oppenheimer, H.R., 1960. Plant Water Relationships in Arid and Semi-Arid Conditions, UK, UNESCO, 105- 138.
- O'Toole, J.C., Cruz, R.T. ve Singh, T.N., 1979. Leaf Rolling and Transpiration, Plant Science Letters, 16, 111-114.
- Özfidan, C., 2010. Ekzojen ABA Uygulamasının Kuraklık Stresi Altındaki Yabani ve ABA- Eksik Arabidopsis Mutantları Üzerindeki Biyokimyasal Ve Fizyolojik Etkilerinin Araştırılması, Doktora Tezi Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Özfidan, C., Türkan, İ., Sekmen, A.H. ve Seçkin, B., 2013. Time Course Analysis of ABA and Non-Ionic Osmotic Stress-Induced Changes in Water Status, Chlorophyll Fluorescence and Osmotic Adjustment in *Arabidopsis thaliana* Wild-Type (Columbia) and ABA-Deficient Mutant (Aba2), Environmental and Experimental Botany, 86, 4451.
- Park, S.Y., Fung, P., Nishimura, N., Jensen, D.R., Fujii, H., Zhao, Y., Lumba, S., Santiago, J., Rodrigues, A., Chow, T.F., Alfred, S.E., Bonetta, D., Finkelstein, R., Provart, N.J., Desveaux, D., Rodriguez, P.L., McCourt, P., Zhu, J.K., Schroeder, J.I., Volkman, B.F. ve Cutler, S.R., 2009. Abscisic Acid Inhibits Type 2C Protein Phosphatases via the PYR/PYL Family of START Proteins, Science, 324, 1068–71.



- Pastori, G.M. ve Trippi, V.S., 1992. Oxidative Stress Induces High Rate of Glutathione Reductase Synthesis in a Drought Resistant Maize Strain, Plant and Cell Physiology, 33, 957-961.
- Pastori, G.M. ve Foyer, C.H., 2002. Common Components, Networks, and Pathways of Cross-Tolerance to Stress. The Central Role of "Redox" and Abscisic Acid-Mediated Controls, Plant Physiology, 129, 460-68.
- Pattanagul, W., 2011. Exogenous Abscisic Acid Enhances Sugar Accumulation in Rice (*Oryza sativa* L.) under Drought Stress, Asian Journal of Plant Sciences, 10, 212-219.
- Pei, Z.M., Murata, Y., Benning, G., Tomine, S., Klüsener, B., Allen, G.J., Grill, E. ve Schroeder, J.I., 2000. Calcium Channels Activated by Hydrogen Peroxide Mediate Abscisic Acid Signaling in Guard Cells, Nature, 406, 731-734.
- Perales, L., Arbona, V., Aurelio, G.C., Cornejo, M.J. ve Sanz, A., 2005. A Relationship Between Tolerance to Dehydration of Rice Cell Lines and Ability for ABA Synthesis under Stress, Plant Physiology And Biochemistry , 43, 786-792.
- Pierce, M.L. ve Raschke, K., 1980. Correlation Between Loss of Turgor and Accumulation of Abscisic Acid in Detached Leaves, Planta, 148, 174-182.
- Popova, L.P., 1998. Fluridone and Light Affected Chloroplast Ultrastructure and ABA Accumulation in Drought-Stressed Barley, Plant Physiology and Biochemistry, 36, 313-319.
- Pospíšilová, J., Vágner, M., Malbeck, J., Travníčková, A. ve Bátková, P., 2005. Interactions Between Abscisic Acid and Cytokinins during Water Stress and Subsequent Rehydration, Biologia Plantarum, 49, 533-540.
- Praxedes, S.C., Damatta, F.M., Loureiro, M.E., Ferrao, M.A.G. ve Cordeiro, A.T., 2006. Effects of Long-Term Soil Drought on Photosynthesis and Carbohydrate Metabolism in Mature Robusta Coffe (*Coffea canephora* Pierre Var. *Kouillou*) Leaves. Environmental and Experimental Botany, 56, 263-273.
- Premachandra, G.S., Saneoka, H., Fujita, K. ve Ogata, S., 1993. Water Stress and Potassium Fertilization in Field Grown Maize (*Zea Mays* L.): Effects On Leaf Water Relations And Leaf Rolling, Agronomy And Crop Science, 170, 195-201.
- Qin, F., Shinozaki, K. ve Yamaguchi-Shinozaki, K., 2011. Achievements and Challenges in Understanding Plant Abiotic Stress Responses and Tolerance, Plant Cell Physiology, 52, 1569-1582.
- Richards, R.A., Rebetzke, G.J., Condon, A.G. ve Van Herwaarden, A.F., 2002. Breeding Opportunities for Increasing The Efficiency of Water Use and Crop Yield in Temperate Cereals, Crop Science, 42, 111-121.
- Roitsch, T., 1999. Source Sink Regulation by Sugar and Stress, Current Opinion in Plant Biology, 2, 198-206.

- Roussos, P.A. ve Pontikis, C.A., 2007. Changes of Free, Soluble Conjugated and Bound Polyaminiters of Jojoba Explants under Sodium Chloride Salinity in vitro, Journal of Plant Physiology, 164, 895–903.
- Sağlam, A., Kadioğlu, A., Demiralay, M. ve Terzi, R., 2014. Leaf Rolling Reduces Photosynthetic Loss in Maize under Severe Drought, Acta Botanica Croatica, 73, 315–332.
- Sairam, R.K., Deshmukh, P.S. ve Saxena, D.C., 1998. Role of Antioxidant Systems in Wheat Cultivars Tolerance to Water Stress, Biologia Plantarum, 41, 387-394.
- Sairam, R.K., Chandrasekhar, V. ve Srivastava, G.C., 2001. Comparison of Hexaploid and Tetraploid Wheat Cultivars in Their Responses to Water Stress, Biologia Plantarum, 44, 89-94.
- Saito, S., Hirai, N., Matsumoto, C., Ohigashi, H., Ohta, D., Sakata, K. ve Mizutani, M., 2004. *Arabidopsis* CYP707A S Encode (+) - Abscisic Acid 8'-Hydroxylase, A Key Enzyme in The Oxidative Catabolism of Abscisic Acid, Plant Physiology, 134, 1439–49.
- Sakuma, Y., Liu, Q., Dubouzet, J.G., Abe, H., Shinozaki, K. ve Yamaguchi Shinozaki, K., 2002. DNA-Binding Specificity of The ERF/AP2 Domain of *Arabidopsis* Drebs, Transcription Factors Involved in Dehydration- and Cold-Inducible Gene Expression, Biochemical and Biophysical Research Communications, 290, 998-1009.
- Sakuma, Y., Maruyama, K., Qin, F., Osakabe, Y., Shinozaki, K. ve Yamaguchi Shinozaki, K., 2006. Dual Function of an *Arabidopsis* Transcription Factor DREB2A in Water-Stress-Responsive and Heat-Stress-Responsive Gene Expression, Proceedings of The National Academy of Sciences, U.S.A, 103, 18822-18827.
- Saruhan, N., Sağlam, A. ve Kadioğlu A., 2012. Salicylic Acid Pretreatment Induces Drought Tolerance and Delays Leaf Rolling by Inducing Antioxidant Systems in Maize Genotypes, Acta Physiologiae Plantarum, Springer.
- Sauter, A., Davies, W.J. ve Hartung, W., 2001. The Long-Distance Abscisic Acid Signal in The Droughted Plant: The Fate of The Hormone on Its Way from Root to Shoot, Journal of Experimental Botany, 52, 1991–1997.
- Savage, M.J. ve Cass, A., 1984. Psychrometric Field Measurement of Water Potential Changes Following Leaf Excision, Plant Physiology, 74, 96-98.
- Schroeder, J. ve Nambara, E., 2006. A Quick Release Mechanism for Abscisic Acid, Cell, 126, 1023-1025.
- Schroeder, J., Allen, G., Hugouvieux, V., Kwak, J. ve Waner, D., 2001. Guard Cell Signal Transduction, Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 52, 627-658.
- Schroeder, J.I., Kwak, J.M. ve Allen, G.J., 2001a. Guard Cell Abscisic Acid Signalling and Engineering Drought Hardiness in Plants, Nature, 410,327–30.

- Schweighofer, A., Hirt, H. ve Meskiene, I., 2004. Plant PP2C Phosphatases: Emerging Functions in Stress Signaling, Trends in Plant Science, 9,236–43.
- Seki, M., Umezawa, T., Urano, K. ve Shinozaki, K., 2007. Regulatory Metabolic Networks in Drought Stress Responses, Current Opinion in Plant Biology, 10, 296–302.
- Sharma, P. ve Dubey, R.S., 2005. Drought Induced Oxidative Stress and Enhances the Activities of Antioxidant Enzymes in Growing Rice Seedlings, Plant Growth Regulation, 46, 209-221.
- Shaw, B., Thomas, T.H. ve Cooke, D.T., 2002. Responses of Sugar Beet (*Beta vulgaris*) to Drought and Nutrient Deficiency Stress, Plant Growth Regulation, 37, 77-83.
- Shen, H.J., Xie, Y. ve Li, R., 1994. Effects of Acid Stress on Polyamine Levels, Ions Efflux, Protective Enzymes and Macromolecular Synthesis in Cereal Leaves, Plant Growth Regulation, 14, 1–5.
- Shevyakovaa, N. I., Musatenkob, L. I., Stetsenkoa, L. A., Vedenichevab, N. P., Voitenkob, L. P., Sytnikb, K. M. ve Kuznetsova, Vl. V., 2013. Effects of Abscisic Acid on The Contents of Polyamines and Proline in Common Bean Plants under Salt Stress, Russian Journal of Plant Physiology, 60, 200–211.
- Shi, H., Ye, T. ve Chan, Z., 2013a. Exogenous Application of Hydrogen Sulfide Donor Sodium Hydro Sulfide Enhanced Multiple Abiotic Stress Tolerance in Bermuda Grass (*Cynodondactylon(L).Pers.*), Plant Physiology and Biochemistry, 71, 226-234.
- Shinozaki, K. ve Yamaguchi Shinozaki, K., 2000. Molecular Responses to Dehydration and Low Temperature: Differences and Cross-Talk Between Two Stress Signaling Pathways, Current Opinion in Plant Biology, 3, 217–23.
- Siddique, M.R.B., Hamid, A. ve Islam, M.S., 2000. Drought Stress Effects on Water Relations of Wheat, Botanical Bulletin Academia Sinica, 41, 35-39.
- Singh, D.B., Varma, S. ve Mishra, S.N., 2002. Putrescine Effect on Nitrate Reductase Activity, Organic Nitrogen, Protein, And Growth İn Heavy Metal And Salinity Stressed Mustard Seedlings, Biologia Plantarum, 45, 605-08.
- 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 Biochimica Polonica, 54, 39-50.
- Smeekens, S., 2000. Sugar-Induced Signal Transduction in Plants, Annual Review Of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 51, 49-81.
- Smirnoff, N., 1993. The Role of Active Oxygen in The Response of Plants to Water Deficit and Desiccation, New Phytologist, 125, 27-58.

- Soto, A., Ruiz, K.B., Ravaglia, D., Costa, G. ve Torrigiani, P., 2013. ABA may Promote or Delay Peach Fruit Ripening Through Modulation of Ripening and Hormone-Related Gene Expression Depending on the Developmental Stage, Plant Physiology and Biochemistry, 64, 11-24.
- Sripinyowanich, S., Klomsakul, P., Boonburapong, B., Bangyeekhun, T., Asami, T., Gu, H., Buaboocha, T. ve Chadchawan, S., 2013. Exogenous ABA Induces Salt Tolerance in Indica Rice (*Oryza Sativa* L.): The Role of *Osp5cs1* and *Osp5cr* Gene Expression During Salt Stress, Environmental and Experimental Botany, 86, 94–105.
- Street, H.E. ve Opik, H., 1984. The Physiology of Flowering Plants: Their Growth and Development. Third Edition. Baltimore.
- Szabados, L. ve Savoure, A., 2010. Proline: A Multifunctional Amino Acid, Trends in Plant Science, 15, 89-97.
- Szekely, G., Abraham, E. ve Cseplo, A., 2008. Duplicated P5CS Genes of Arabidopsis Play Distinct Roles in Stress Regulation and Developmental Control of Proline Biosynthesis, The Plant Journal, 53, 11-28.
- Taiz, L. ve Zeiger, E., 2008. Bitki Fizyolojisi, Palme Yayıncılık, Ankara.
- Tavladoraki, P., Cona, A., Federico, R., Tempera, G., Viceconte, N., Saccoccio, S., Battaglia, V., Toninello, A. ve Agostinelli, E., 2012. Polyamine Catabolism: Target For antiproliferative Therapies in Animals and Stress Tolerance Strategies in Plants, Amino Acids, 42, 411-426.
- Thompson, J.E., Ledge, R.L. ve Barber, R.F., 1987. The Role of Free Radicals in Senescence and Wounding, New Phytologist, 105, 317-344.
- Toldi, O., Tuba, Z. ve Scott, P., 2009. Vegetative Desiccation Tolerance: Is It a Goldmine for Bioengineering Crops?, Plant Science, 176, 187-199.
- Trotel Aziz, P., Niogret, M.F., Deleu, C., Bouchereau, A., Aziz, A. ve Larher, F.R., 2003. The Control of Proline Consumption by Absciscic Acid during Osmotic Stress Recovery of Canola Leaf Discs. Physiolgia Plantarum, 117, 213–221.
- Turgut, R. ve Kadioğlu, A., 1998. The Effect of Drought, Temperature and Irradiation on Leaf Rolling in *Ctenanthe sesota*, Biologia Plantarum, 41, 629-663.
- Turkan, İ. ve Demiral, T., 2009. Recent Developments in Understanding Salinity Tolerance, Environmental and Experimental Botany, 67, 2–9.
- Turner, L.B. ve Stewart, G.R., 1986. The Effect of Water-Stress upon Polyamine Levels in Barley (*Hordeum vulgare* L.) Leaves, Journal of Experimental Botany, 37, 170-177.

- Umezawa, T., Sugiyama, N., Mizoguchi, M., Hayashi, S., Myouga, F., Yamaguchi-Shinozaki, K., Ishihama, Y., Hirayama, T. ve Shinozaki, K., 2009. Type 2C Protein Phosphatases Directly Regulate Abscisic Acid-Activated Protein Kinases in *Arabidopsis*, Proceedings of The National Academy of Sciences, U.S.A, 106, 17588–93.
- Uno, Y., Furihata, T., Abe, H., Yoshida, R., Shinozaki, K. ve Yamaguchi Shinozaki, K., 2000. Arabidopsis Basic Leucine Zipper Transcription Factors Involved in An Abscisic Acid-Dependent Signal Transduction Pathway under Drought and High-Salinity Conditions, Proceedings of The National Academy of Sciences, U.S.A, 97, 11632-11637.
- Upadhyaya, H., Sahoo, L. ve Panda, S.K., 2013. Molecular Physiology of Osmotic Stress in Plants, *Molecular Stress Physiology of Plants*, Rout, G.R. ve Das, A.B., Editörler, 179-1925, Springer, U.S.A.
- URL-1, <http://en.wikipedia.org/wiki/Maize>. 22 Kasım 2014.
- URL-2, <http://www.iita.org/maize>. 22 Kasım 2014.
- Valliyodan, B. ve Nguyen, H. T., 2006. Understanding Regulatory Networks and Engineering for Enhanced Drought Tolerance in Plants, Current Opinion in Plant Biology, 9, 189-195.
- Vanrensburg, L., Kruger, G.H.J. ve Kruger, H. 1993. Proline Accumulation as Drought-Tolerance Selection Criterion - Its Relationship to Membrane Integrity and Chloroplast Ultra Structure in *Nicotiana tabacum* L., Journal of Plant Physiology, 141, 188-194.
- Velikova, V., Yordanov, I. ve Edreva, A., 2000. Oxidative Stress and Some Antioxidant Systems in Acid Rain-Treated Bean Plants, Protective Role of Exogenous Polyamines, Plant Science, 151, 59–66.
- Verbruggen, N. ve Hermans, C., 2008. Proline Accumulation in Plants: A Review, *Amino Acids*, 35, 753-759.
- Verslues, P.E., Agarwal, M., Katiyar-Agarwal, S., Zhu, J. ve Zhu, J.K., 2006. Methods and Concepts in Quantifying Resistance to Drought, Salt and Freezing, Abiotic Stresses That Affect Plant Water Status, The Plant Journal, 45, 23–39.
- Wang, Y., Mopper, S. ve Hasenstein, K.H., 2001. Effects of Salinity on Endogenous ABA, IAA, JA, and SA in *Iris hexagona*, Journal of Chemical Ecology, 27, 327-342.
- Wang, G.J., Miao, W., Wang, J.Y., Ma, D.R., Li, J.Q. ve Chen, W.F., 2013. Effects of Exogenous Abscisic Acid on Antioxidant System in Weedy and Cultivated Rice with Different Chilling Sensitivity under Chilling Stress, Journal of Agronomy and Crop Science, ISSN 0931-2250.
- White, R.H., Engelke, M.C. ve Morton, S.J., 1992. Competitive Turgor Maintenance in Tall Fescue, Crop Science, 32, 251-56.

- Wilkinson, S. ve Davies, W.J., 2002. ABA-Based Chemical Signalling: The Co-Ordination Of Responses To Stress in Plants, Plant Cell & Environment, 25, 195–210.
- Xiong, L., Gong, Z., Rock, C.D., Subramanian, S., Guo, Y., Xu, W., Galbraith, D. ve Zhu, J.K., 2001. Modulation of Abscisic Acid Signal Transduction and Biosynthesis by an Sm-Like Protein in Arabidopsis, Developmental Cell, 1, 771-81.
- Xiong, L. ve Zhu, J.K., 2002. Molecular and Genetics Aspects of Plant Responses to Osmotic Stress, Plant Cell & Environment, 25, 131-139.
- Xiong, L., Schumaker, K.S. ve Zhu, J.K., 2002. Cell Signaling during Cold, Drought and Salt Stress, The Plant Cell, 14, 165-183.
- Xiong, L., Wang, R.G., Mao, G. ve Koczan, J.M.I., 2006. Identification of Drought Tolerance Determinants by Genetic Analysis of Root Response to Drought Stress and Abscisic Acid, Plant Physiology, 142, 1065–74.
- Xu, D.Q. ve Wu, S., 1996. Three Phases of Dark-Recovery Course From Photoinhibition Resolved by the Chlorophyll Fluorescence Analysis in Soybean Leaves under Field Conditions, Photosynthetica, 32, 417-423.
- Yamaguchi Shinozaki, K. ve Shinozaki, K., 2006. Transcriptional Regulatory networks in Cellular Responses and Tolerance to Dehydration and Cold Stresses, Annual Review of Plant Biology, 57, 781-803.
- Yan, S.P., Zhang, Q.Y., Tang, Z.C., Su, W.A. ve Sun, W.N., 2006. Comparative Proteomic analysis Provides New Insight into Chilling Stress Responses in Rice, Molecular and Cellular Proteomics, 5, 484–496.
- Yang, H.Y., Shi, G.X., Qiao, X.Q. ve Tian, X.L., 2011. Exogenous Spermidine and Spermine Enhance Cadmium Tolerance of *Potamogeton malaiianus*, Russian Journal of Plant Physiology, 58, 622-628.
- Yang, J.C., Zhang, J.H., Liu, K., Wang, Z.Q. ve Liu, L.J., 2007. Involvement of Polyamines in the Drought Resistance of Rice, The Journal of Experimental Botany, 58, 1545–55.
- Yazıcı, I., Turkan, İ., Sekmen, A.H. ve Demiral, T., 2007. Salinity Tolerance of Purslane (*Portulaca Oleracea* L.) is Achieved by Enhanced Antioxidative System, Lower Level of Lipid Peroxidation and Proline Accumulation, Environmental and Experimental Botany, 61, 49-57.
- Yılmaz, E., Tuna, L.A. ve Bürün, B., 2011. Bitkilerin Tuz Stresi Etkilerine Karşı Geliştirdikleri Tolerans Stratejileri, Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, ISSN 1305-1385, 7.1, 47–66.
- Yordanov, I., Velikova, V. ve Tsonev, T., 2000. Plant Responses to Drought, Acclimation, and Stress Tolerance, Photosynthetica, 38, 171-186.

- Yoshihara, Y., Kiyosue, T., Nakashima, K., Yamaguchi Shinozaki, K. ve Shinozaki, K., 1997. Regulation of Levels of Proline as an Osmolyte in Plants under Water Stress, Plant and Cell Physiology, 38, 1095-1102.
- Yoshida, R., Umezawa, T., Mizoguchi, T., Takahashi, S., Takahashi, F. ve Shinozaki, K., 2006a. The Regulatory Domain of SRK2E/OST1/Snrk2.6 Interacts with ABI1 and Integrates Abscisic Acid (ABA) and Osmotic Stress Signals Controlling Stomatal Closure in Arabidopsis, The Journal of Biological Chemistry, 281, 5310–8.
- Yoshida, T., Fujita, Y., Sayama, H., Kidokoro, S., Maruyama, K., Mizoi, J., Shinozaki, K. ve Yamaguchi Shinozaki, K., 2010. AREB1, AREB2, and ABF3 are Master Transcription Factors That Cooperatively Regulate ABRE-Dependent ABA Signaling Involved in Drought Stress Tolerance and Require ABA for Full Activation, The Plant Journal, 61, 672-685.
- Yoshida, T., Mogami, J. ve Yamaguchi-Shinozaki, K., 2014. ABA-Dependent and ABA-Independent Signaling in Response to Osmotic Stress in Plants, Current Opinion in Plant Biology, 21, 133–139.
- Yoshioka, T., Endo, T. ve Satoh, S., 1998. Restoration of Seed Germination at Supraoptimal Temperatures by Fluridone, an Inhibitor of Abscisic Acid Biosynthesis, Plant Cell Physiology, 39, 307-312
- Zhang, X., Zhang, L., Dong, F., Gao, J., Galbraith, D.W. ve Song, C.P., 2001. Hydrogen Peroxide is Involved in Abscisic Acid-Induced Stomatal Closure in *Vicia faba*, Plant Physiology, 126, 1438-1448.
- Zhao, H. ve Yang, H., 2008. Exogenous Polyamines Alleviate the Lipid Peroxidation Induced by Cadmium Chloride Stress in *Malus hupehensis* Rehd., Scientia Horticulturae, 116, 442–447.
- Zhou, L., Xu, H., Mischke S., Meinhardt, L.M., Zhang, D., Zhu, X., Li, X. ve Fang, W., 2014. Exogenous Abscisic Acid Significantly Affects Proteome in Tea Plant (*Camellia sinensis*) Exposed to Drought Stress, Horticulture Research, 1, 14029.
- Zhu, J.K., 2002. Salt and Drought Stress Signal Transduction in Plants, Annual Reviews of Plant Biology, 53, 247–73.
- Zhu, Q., Zhang, J., Gao, X., Tong, J., Xiao, L., Li, W. ve Zhang, H., 2010. The Arabidopsis AP2/ERF Transcription Factor RAP2.6 Participates in ABA, Salt and Osmotic Stress Responses, Gene, 457, 1–12.

## ÖZGEÇMİŞ

Asiye SEZGİN 1 Mayıs 1991' de Trabzon'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Yomra'da tamamladı. 2007 yılında KTÜ Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nü kazandı. 2012 yılında KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda Prof. Dr. Asım KADIOĞLU danışmanlığında Yüksek Lisans eğitimine başladı. 2015 yılında Yüksek Lisansını tamamladı. Yabancı dili İngilizcedir.