

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**





KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünce

Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : / /

Tezin Savunma Tarihi : / /

Tez Danışmanı :

Trabzon

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

başlıklı bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulunun / / gün ve sayılı
kararıyla oluşturulan jüri tarafından yapılan sınavda
YÜKSEK LİSANS TEZİ
olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan :

Üye :

Üye :

Prof. Dr. Asim KADIOĞLU
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

"Yaprak kıvrılmasının düzenlenmesinde dehidrin seviyesi ile hidrojen peroksit ve süperoksit arasındaki ilişkinin 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 çalışmanın planlanması ve değerlendirilmesinde her türlü yardımını esirgemeyen sayın danışman hocam Prof. Dr. Rabiye TERZİ'ye teşekkür ederim.

Çalışmayı yapabilmem için her türlü laboratuvar imkanlarını kullanmamı sağlayan sayın hocam Prof. Dr. Asım KADIOĞLU'na, tez yazma sürecinde yardımını esirgemeyen sayın Doç. Dr. Neslihan SARUHAN'a, çalışmalarım sırasında materyal ve metot öğrenmemde yardımcı olan pek kıymetli sayın Doç. Dr. Aykut SAĞLAM'a, ve Doç. Dr. Mehmet DEMİRALAY'a, çalışmalarım sırasında her zaman yanımda olan ve yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşlarım Abdullah Erkam ŞAHİN, Kamil ÖZTÜRK, Asiye SEZGİN ve Cansu ALTUNTAŞ'a, manevi desteğini hep yanımda hissettiğim ve beni bu yolda hiçbir zaman yalnız bırakmayarak cesaretlendiren nişanlım Gamze EDE'ye, aldığım kararlarda arkamda her daim yanımda olan değerli aileme ve tüm bölüm arkadaşlarıma sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından 114Z253 no'lu proje ile desteklenmiştir.

Lokman Küçük

Trabzon, 2019

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum "Yaprak kıvrılmasının düzenlenmesinde dehidrin seviyesi ile hidrojen peroksit ve süperoksit arasındaki ilişkinin araştırılması" başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Prof. Dr. Rabiye TERZİ'nin sorumluluğunda tamamladığımı, verileri ve örnekleri kendim topladığımı, deneyleri ve analizleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.28/06/2019

Lokman KÜÇÜK

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ	III
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET	VII
SUMMARY	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	IX
TABLolar DİZİNİ.....	XI
KISALTMALAR VE SEMBOLLER DİZİNİ	XII
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Stres ve Stres Çeşitleri.....	4
1.3. Kuraklık Stresi.....	5
1.3.1. Kuraklık Stresine Karşı Geliştirilen Mekanizmalar	6
1.4. Yaprak Kıvrılması	7
1.5. Dehidrinler.....	9
1.6. Absisik Asit	12
1.7. Salisilik Asit	14
1.8. Reaktif Oksijen Türleri.....	15
1.8.1. Süperoksit Radikali	15
1.8.1.2. Hidrojen Peroksit.....	16
1.8.1.3. Singlet Oksijen	17
1.9. Mısırla İlgili Bilgiler	17
1.10. <i>rld1</i> Mısır Mutantı ile İlgili Bilgiler	18
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR	19
2.1. Bitkilerin Büyütülmesi	19
2.2. Farklı Dehidrin İçeriği Oluşturulup, Yaprak Kıvrılmasının İzlenmesi ve Dehidrin Seviyesinde Meydana Gelen Değişimlerin Belirlenmesi.....	19
2.3. Farklı Yaprak Kıvrılma Derecesi Oluşturulup, Dehidrin Seviyesinde Meydana Gelen Değişimlerin Belirlenmesi	20
2.4. Yaprak Kıvrılma Derecesinin Ölçülmesi	21
2.5. Protein Ekstraksiyonu.....	21

2.5.1.	SDS PAGE ve Western Blot Analizleri	22
2.6.	Süperoksit Radikalinin Belirlenmesi	22
2.7.	Hidrojen Peroksit İçeriğinin Belirlenmesi	22
2.8.	Nispi Su İçeriğinin Belirlenmesi	23
2.9.	Dehidrin Gen İfadesinin Real-Time PCR ile Belirlenmesi	23
2.10.	RNA İzolasyonu, cDNA Üretimi ve Real-Time PCR Ölçümleri	23
2.11.	İstatistik Analizler	25
3.	BULGULAR	26
3.1.	Farklı Dehidrin İçeriği Oluşturulup, Yaprak Kıvrılmasının İzlenmesi ve Dehidrin Seviyesinde Meydana Gelen Değişimlerin Belirlenmesi	26
3.2.	Farklı Yaprak Kıvrılma Derecesi Oluşturulup, Dehidrin Seviyesinde Meydana Gelen Değişimlerin Belirlenmesi	32
3.3.	Yaprak Kıvrılma Cevabında Dehidrin ile Reaktif Oksijen Türleri Arasındaki İlişkinin Belirlenmesi	35
3.3.1.	Farklı Dehidrin İçeriği Oluşturulan Bitkilerin Süperoksit İçeriğindeki Değişimler	35
3.3.2.	Farklı Yaprak Kıvrılma Derecesi Oluşturulan Bitkilerin Süperoksit İçeriğindeki Değişimler	35
3.3.3.	Farklı Dehidrin İçeriği Oluşturulan Bitkilerin Hidrojen Peroksit İçeriğindeki Değişimler	36
3.3.4.	Farklı Yaprak Kıvrılma Derecesi Oluşturulan Bitkilerin Hidrojen Peroksit İçeriğindeki Değişimler	37
3.4.	Yaprak Kıvrılma Cevabında Dehidrin ile Nispi Su İçeriği Arasındaki İlişkinin Belirlenmesi	38
3.5.	Dehidrin Gen İfadesinin Real-Time PCR ile Belirlenmesi	39
3.5.1.	Farklı Dehidrin İçeriği Oluşturulan Bitkilerin <i>DHN2</i> Nispi Gen İfade Seviyesindeki Değişimler	39
3.5.2.	Farklı Yaprak Kıvrılma Derecesi Oluşturulan Bitkilerin <i>DHN2</i> Nispi Gen İfade Seviyesindeki Değişimler	40
4.	TARTIŞMA	41
5.	SONUÇLAR	45
6.	ÖNERİLER	47
7.	KAYNAKLAR	48
ÖZGEÇMİŞ		

Yüksek Lisans Tezi

ÖZET

YAPRAK KIVRILMASININ DÜZENLENMESİNDE DEHİDRİN SEVİYESİ İLE
HİDROJEN PEROKSİT VE SÜPEROKSİT ARASINDAKİ İLİŞKİNİN
ARAŞTIRILMASI

Lokman KÜÇÜK

Karadeniz Teknik Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Rabiye TERZİ
2019, 65 Sayfa

Bu çalışmada yaprak kıvrılmasının düzenlenmesinde dehidrin seviyesi ile hidrojen peroksit ve süperoksit arasındaki ilişkinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Yaprak kıvrılması ve dehidrinler arasındaki ilişkiyi belirlemek ve yaprak kıvrılma cevabında dehidrinlerin absisik asit (ABA), salisilik asit (SA), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve süperoksit etkileşimini ortaya koymak amacıyla, öncelikle yapraklarda dehidrin içeriğini artıran veya azaltan SA, ABA ve PEG 6000 konsantrasyonu belirlendi. Ayrıca yaprakları stressiz koşullarda kıvrık mutant (*rld1*) mısır bitkileri kullanılarak ozmotik stresi boyunca yaprak kıvrılmasına paralel olarak dehidrin seviyesindeki değişimler western blot yöntemi ile belirlendi. Dehidrin (*DHN2*) geninin ifade seviyesindeki değişimler real-time PCR yöntemiyle belirlendi. Yapılan ölçümler ve analizler sonucunda ozmotik stres koşullarında düşük konsantrasyondaki (25 μ M) SA ve (100 μ M) ABA uygulamalarının dehidrin seviyesi ve nispi su içeriğini arttırdığı, *DHN2* geninin ifade seviyesini uyardığı, yaprak kıvrılma derecesi (%), H_2O_2 ve süperoksit içeriklerini ise azalttığı bulundu. Yüksek konsantrasyonda (200 μ M) SA'nın ise dehidrin seviyesi ve *DHN2* gen ifadesini baskıladığı, yaprak kıvrılma derecesi (%), H_2O_2 ve süperoksit içeriklerini arttırdığı belirlendi. Ayrıca *rld1* mutantlarında ozmotik stres koşullarında düşük konsantrasyonda SA ve ABA uygulamalarına benzer etki gözlemlendi.

Elde edilen verilere göre, yaprak kıvrılmasının büyük ölçüde hidrojen peroksit ile kontrol edildiği, dehidrin birikimine neden olduğu ve yaprak kıvrılmasının düzenlenmesinde dehidrinler ile hidrojen peroksit ve süperoksit gibi reaktif oksijen türleri arasındaki etkileşimin önemli bir rolünün olabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Ozmotik stres, Yaprak kıvrılması, Dehidrin, Mısır, Hidrojen peroksit

Master Thesis

SUMMARY

THE INVESTIGATION OF THE RELATIONSHIP BETWEEN DEHYDRINE LEVEL
AND HYDROGEN PEROXIDE AND SUPEROXIDE IN REGULATION OF LEAF
ROLLING

Lokman KÜÇÜK

Karadeniz Technical University
The Graduate of Natural and Applied Sciences
Biology Graduate Program
Supervisor: Prof. Dr. Rabiye TERZİ
2019, 65 Pages

The aim of this study was to determine the relationship between dehydrin level and hydrogen peroxide and superoxide in regulation of leaf rolling. To determine the relationship between leaf rolling and dehydrins and to reveal the interaction of dehydrins with abscisic acid (ABA), salicylic acid (SA), hydrogen peroxide (H₂O₂) and superoxide on leaf rolling response, the concentrations of salicylic acid, abscisic acid and PEG 6000 which increases or decreases dehydrin level were firstly determined. In addition, changes in dehydrin levels as parallel to leaf rolling during drought stress by using rolled-leaf mutant (*rdl1*) maize plants under stress-free conditions were determined by western blot analysis. The changes of dehydrin (*DHN2*) gene expression were detected by real-time PCR. As a result of the measurements and analyzes, it was found that low concentration of SA (25 µM) and ABA (100 µM) applications increased dehydrin level and relative water content, up-regulated *DHN2* gene expression but decreased leaf rolling degree (%), H₂O₂ and superoxide contents under osmotic stress conditions. High concentration of SA (200 µM) suppressed the level of dehydrin and *DHN2* gene expression but increased degree of leaf rolling (%), H₂O₂ and superoxide contents. It was also found that mutant *rdl1* has similar effects to low concentration SA and ABA applications under osmotic stress conditions.

According to the our data, it might be concluded that the leaf rolling is pretty much controlled via H₂O₂, which causes dehydrin accumulation and the interaction between dehydrines and reactive oxygen species such as hydrogen peroxide and superoxide may have an important role in the regulation of leaf rolling.

Key Words: Osmotic stress, Leaf rolling, Dehydrin, Maize, Hydrogen peroxide

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1. Bitkilerde stres çeşitleri	5
Şekil 2. Dehidrin protein dizilerindeki motiflerin çeşitleri ve yerleşimleri.....	11
Şekil 3. Ozmotik stres ortamında farklı konsantrasyonlarda SA ile muamele edilen mısır fidelerinin dehidrin proteinlerinin western blot analizleri (a) ve dehidrin band yoğunluklarının kontrole göre % olarak ifadesi (b).	27
Şekil 4. Ozmotik stres ortamında farklı konsantrasyonlarda SA ile muamele edilen mısır fidelerinin <i>DHN2</i> geni nispi ifade seviyesi.	28
Şekil 5. Ozmotik stres ortamında farklı konsantrasyonlarda ABA ile muamele edilen mısır fidelerinin dehidrin proteinlerinin western blot analizleri (a) ve dehidrin band yoğunluklarının kontrole göre % olarak ifadesi (b).	29
Şekil 6. Ozmotik stres ortamında farklı konsantrasyonlarda ABA ile muamele edilen mısır fidelerinin <i>DHN2</i> geni nispi ifade seviyesi	30
Şekil 7. Kontrol şartlarında ve ozmotik stres ortamında farklı uygulamalara maruz bırakılan mısır fidelerinin dehidrin proteinlerinin western blot analizleri (a) ve dehidrin band yoğunluklarının kontrole göre % olarak ifadesi (b).	31
Şekil 8. Kontrol şartlarında ve ozmotik stres ortamında farklı dehidrin içeriği oluşturulan mısır fidelerinin yaprak kıvrılma derecesi (%).....	32
Şekil 9. Mutant mısır bitkilerinin yaprak kıvrılma derecesindeki (%) değişimlerin mutant olmayan bitkilerle karşılaştırılması.	33
Şekil 10. Farklı yaprak kıvrılması oluşturulan mısır bitkilerinde western blot analizleri (a) ve Burak kontrole göre % dehidrin miktarındaki değişimler.	34
Şekil 11. Farklı dehidrin içeriği oluşturulan mısır bitkilerinde süperoksit içeriğinde meydana gelen değişimler.....	35
Şekil 12. Farklı yaprak kıvrılma derecesi oluşturulan mısır bitkilerinde süperoksit içeriğinde meydana gelen değişimler.....	36
Şekil 13. Farklı dehidrin içeriği oluşturulan mısır bitkilerinde hidrojen peroksit (H ₂ O ₂) içeriğinde meydana gelen değişimler.....	37
Şekil 14. Farklı yaprak kıvrılma derecesi oluşturulan mısır bitkilerinde hidrojen peroksit (H ₂ O ₂) içeriğinde meydana gelen değişimler.....	37

Şekil 15. Farklı dehidrin içeriği oluşturulan mısır bitkilerinde nispi su içeriğinde (%) meydana gelen değişimler.....	38
Şekil 16. Farklı yaprak kıvrılma derecesi oluşturulan mısır bitkilerinde nispi su içeriğinde (%) meydana gelen değişimler.....	39
Şekil 17. Farklı dehidrin içeriği oluşturulan mısır bitkilerinde <i>DHN2</i> nispi gen ifade seviyesinde meydana gelen değişimler.....	40
Şekil 18. Farklı yaprak kıvrılma derecesi oluşturulan mısır bitkilerinde <i>DHN2</i> nispi gen ifade seviyesinde meydana gelen değişimler.	40



TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. <i>DHN2</i> gen ifade seviyesi için RT-PCR protokolü.....	24
Tablo 2. <i>DHN2</i> genine özgü primer sekansları	24



KISALTMALAR VE SEMBOLLER DİZİNİ

ABA	: Absisik asit
ABRE	: ABA- cevap elementi
bZIP	: Basic Leucine Zipper Factor
DHN	: Dehidrin
HD-ZIPIII	: Sınıf III homodomain lösün fermuar proteinini
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
LEA	: Geç emriyogenesis proteinleri (Late Embryogenesis Abundant)
NADP	: Nikotinamid adenin dinökleotit
NSİ	: Nispi su içeriği
O ₂ ^{•-}	: Süperoksit radikali
·OH	: Hidroksil radikali
¹ O ₂	: Singlet oksijen
PEG	: Polietilen glikol
RAB	: ABA'dan sorumlu (Responsive to ABA)
<i>rd1</i>	: Yaprakları kıvrık mutant mısır türü
ROT	: Reaktif oksijen türleri
SA	: Salisilik asit
SAR	: Sistemik kazanılmış direnç
SOD	: Süperoksit dismutaz
TCA	: Trikloro asetik asit

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Stres, önemli fizyolojik ve metabolik değişimlere yol açarak bitkilerde büyüme ve gelişmeyi olumsuz yönde etkileyip, ürün kalitesi ve miktarının azalmasına, bitkinin veya organlarının ölümüne neden olabilmektedir. Doğadaki birçok abiyotik ve biyotik etmenler bitkilerde strese neden olmaktadır (Kadioğlu ve ark., 2011). Abiyotik stresler, dünya çapında bitkisel verim kaybının birincil nedeni olup, en fazla ürün elde edilen kültür bitkilerindeki ortalama ürün verimini %50'den fazla azaltmaktadır (Wang ve ark., 2004).

Abiyotik streslerden bir tanesi de kuraklık stresidir. Kuraklık stresi, dünya üzerinde tarım yapılan alanları %26'lık payla en fazla etkileyen stres türüdür. (Blum, 1986). Kuraklık stresi; bitkilerde ozmotik stresi uyardığından turgor kaybına ve bundan dolayı büyümenin azalmasına sebep olur. Kuraklık stresi durumunda hücre zarının yapısal bütünlüğü bozulabileceğinden dolayı proteinlerde aktivite kaybı görülebilir ve buna bağlı olarak fotosentez inhibisyonu, büyüme bozukluğu, metabolik bozukluklar ortaya çıkabilir (Krasensky ve Jonak, 2012). Kuraklık stresine karşı oluşturulan cevaplar; bitkinin türüne, gelişme durumuna, yaşına, genotipine, su kaybının şiddeti ve uzunluğuna, hücre tipine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Oluşturulan bu cevaplar birkaç saniye içinde gerçekleşebilir ya da dakikalar veya saatlerce sürebilir (Bray, 1997).

Kuraklık stresine karşı oluşturulan yanıtlar sakınma ve tolerans olmak üzere iki ana gruba ayrılabilir (Arora ve Mohan, 2002). Bitkilerin stres durumunda yaşamlarını devam ettirmek için geliştirdiği birçok sakınma mekanizması bulunmaktadır ve bunlardan bir tanesi de yaprakların rulo şeklinde kıvrılma yanıtıdır. (Bidwell, 1974; Kadioğlu ve Terzi, 2007). Kıvrılma yanıtıyla sakınma mekanizmasına sahip olan bitkiler canlılıklarını daha uzun süre devam ettirebilir ve kuraklıktan minimum hasarla çıkabilirler (Heckathorn ve ark., 1991). Yaprak kıvrılması çeltik, mısır ve darı gibi birçok bitkide kuraklık stresine karşı en çok gösterilen sakınma mekanizmasıdır ve bu bitkilerle yapılan çalışmalarda yaprak kıvrılması ile stres toleransı arasındaki ilişki araştırılmıştır (Jones, 1979; Heckathorn ve ark., 1991; Ekanayake ve ark., 1993; Kadioğlu ve ark., 2007). Yaprak kıvrılmasının, yaprak alanını küçülterek fotosentez hızını azalttığı, buna bağlı olarak da bitki veriminde düşüşe neden olduğu ileri sürülmüştür. Yaprak kıvrılması bir sakınma

mekanizması olmakla birlikte kıvrılmanın belli bir süre geciktirilmesinin bitki verimini arttırdığı sonucuna varılmıştır (Kadioğlu ve Terzi, 2007; Kadioğlu ve ark., 2012).

Kuraklık stresi altında bitkilerde hormonal dengelerde de birtakım değişiklikler meydana gelir. Örneğin; kuraklığa maruz kalan bitkilerdeki stomalarda absisik asit (ABA) miktarının artması sonucunda suda çözünemeyen nişasta oluşmakta ve potasyum iyonu azalmaktadır. Böylece ozmotik basıncı artan stoma hücreleri kapanmakta (Çırak ve Esenal, 2006) ve ABA'nın stomaları kapatması ile birlikte osmolit birikimi de uyarılarak yaprak kıvrılması gecikebilmektedir (Kadioğlu ve ark., 2012). Ayrıca yapılan çalışmalarda düşük konsantrasyonlardaki ABA'nın yaprak alanında yüzde azalma olarak ifade edilen kıvrılma derecesini azalttığı ve kıvrılmayı geciktirdiği rapor edilmiştir (Terzi ve ark., 2014). Bunun yanında yaprak kıvrılması üzerine yapılan çalışmalarda kuraklık stresi koşullarında dışarıdan uygulanan salisilik asidin (SA) yaprak kıvrılmasını geciktirdiği belirlenmiştir (Kadioğlu ve ark., 2011; Saruhan ve ark., 2012; Demiralay ve ark., 2013; Terzi ve ark., 2014). Ozmotik stres koşullarında bitkilerdeki SA ve ABA'nın su miktarını düzenleyerek yapraktaki kıvrılma derecesini azalttığı da rapor edilmiştir (Kadioğlu ve ark., 2011). Diğer taraftan, yaprak kıvrılmasının hidrojen peroksit (H_2O_2) sinyalizasyonu ile gerçekleştiği, stres koşullarında artan H_2O_2 'in yüksek konsantrasyonlarda kıvrılmayı artırdığı, düşük konsantrasyonlarda stres öncesi yapılan muamelelerde ise kıvrılmayı geciktirdiği bulunmuştur (Terzi ve ark., 2014).

Yaprak kıvrılmasını kontrol eden genler üzerine de bazı çalışmalar yapılmış ve yaprak kıvrılmasının çoklu genlerle kontrol edilen kompleks bir olay olduğu ortaya çıkmıştır (Kadioğlu, 2010). Kuraklık etkisiyle çok sayıda genin ifadesinin değiştiği ve stresten sorumlu çok sayıda genin ifadesinin uyarıldığı kaydedilmiştir (Guan ve Scandalios, 1998; Zhu, 2002; Chen ve ark., 2005). Örneğin; kuraklık etkisiyle yaprakları kıvrılmış olan mısır bitkilerinde yapılan mikroarray analizlerinde dehidrin genlerinin 10-250 kat arasında artış gösterdiği rapor edilmiştir (Kadioğlu, 2010). Dehidrin proteinlerinin birikiminin, soğuk iklim, soğuğa uyum (Van Zee ve ark., 1995; Rinne ve ark., 1999) donma, kuruma ve tuzluluğa tolerans ile (Tabaei-Aghdaei ve ark., 2000; Zhu ve ark., 2000; Bray, 2002) korelasyon içinde olduğu kanıtlanmıştır (Ismail ve ark., 1999; Borovskii ve ark., 2000). Dehidrinlerin farklı sıcaklık derecelerinde ve çeşitli spesifik stres koşullarında ifade oldukları belirlenmiştir (Nylander ve ark., 2001). Yapılan çalışmalarda dehidrinlerin, dehidrasyona karşı hücre yapısını dengeleme (Danyluk ve ark., 1998), soğuk-koruyucu (Bravo ve ark., 2003; Sanchez-Ballesta ve ark., 2004) ve antifriz etkisi gösterme

(Wisniewski ve ark., 1999), düşük su koşullarında enzim aktivitelerini geliştirme (Rinne ve ark., 1999) ve osmoregulator (Nylander ve ark., 2001) olarak fonksiyon gösterme gibi görevlerinin olduğu belirlenmiştir. Ayrıca stres koşullarında meydana gelen reaktif oksijen türlerinin uzaklaştırılmasında ve temizlenmesinde dehidrinlerin rolü olduğu belirlenmiştir (Hara ve ark., 2003; Sun ve ark., 2010). Örneğin; Saibi ve ark. (2015) yaptığı çalışmada dehidrin ifadesi yüksek olan bitkilerdeki reaktif oksijen türü olan hidrojen peroksidin dehidrin ifadesi az olan bitkilere göre daha az olduğunu bildirmiştir. Böylece dehidrin proteinlerinin hidrojen peroksidi baskılaması ile stresin neden olduğu oksidatif hasarı azaltarak bitkilerin, fizyolojik veya metabolik işlemlerine normal olarak devam edeceklerini belirtmişlerdir. Ancak stres koşullarında çok yüksek miktardaki hidrojen peroksit birikiminin dehidrin proteinlerinin yapısının bozulmasına ve böylece dehidrin seviyelerinin düşmesine neden olabileceği de rapor edilmiştir (Hara ve ark., 2003). Dehidrin gen ifadesinin salisilik asit ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Sun ve ark., 2006). Düşük SA'nın dehidrin gen ifade seviyesini uyardığı ve protein birikimine neden olarak su stresi hasarlarını hafiflettiği, aşırı SA'nın dehidrin birikimini baskıladığı ve oksidatif hasarı artırdığı saptanmıştır (Sun ve ark., 2006, 2009). Bu nedenle mevcut çalışmada bitkilerdeki içsel dehidrin seviyesini değiştirmek (arttırmak ve de azaltmak) için SA kullanılmış ve yaprak kıvrılması davranışları gözlemlenmiştir.

Yapılan çalışmalarda RAB (ABA'dan sorumlu, İngilizcede "responsive to ABA" ifadesinin ilk harflerinden oluşmaktadır) olarak da adlandırılan dehidrinlerin ABA ile ilişkisi olduğu gösterilmiştir (Mundy ve ark., 1988). Dehidrinlerin ABA uygulamasında dehidrasyon durumunda sentezleri artarken, düşük sıcaklık sırasında içerikleri değişmeden kaldığı (Choi ve ark., 1999), embriyo kurumasının normal safhalarında dehidrinlerin biriktiği ve seviyeleri ABA tarafından uyarıldığı belirlenmiştir (Hanin ve ark., 2011). Ayrıca yapılan çalışmalarda bazı dehidrin proteinleri soğuk derecelerde, dehidrasyon ve ABA tarafından indüklenbildiği teyit edilmiştir (Close, 1996). Bundan dolayı mevcut çalışmada dehidrin seviyesini uyarmak ve arttırmak için ABA kullanılmıştır.

Literatür bilgilerden anlaşılacağı üzere kuraklık stresi koşullarında dehidrinler ile SA ve yine dehidrinler ile ABA arasında ilişki bulunmaktadır. Fakat yaprak kıvrılma cevabı ile dehidrinler arasındaki ilişkinin belirlenmesi konusunda yapılan herhangi bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Bu nedenle mevcut çalışmada ABA ve SA uygulaması ile dehidrinlerin seviyesini değiştirilerek (arttırıp veya azaltarak) ve de mutant bitkiler kullanılarak farklı yaprak kıvrılma derecesi oluşturularak dehidrin seviyesi, yaprak

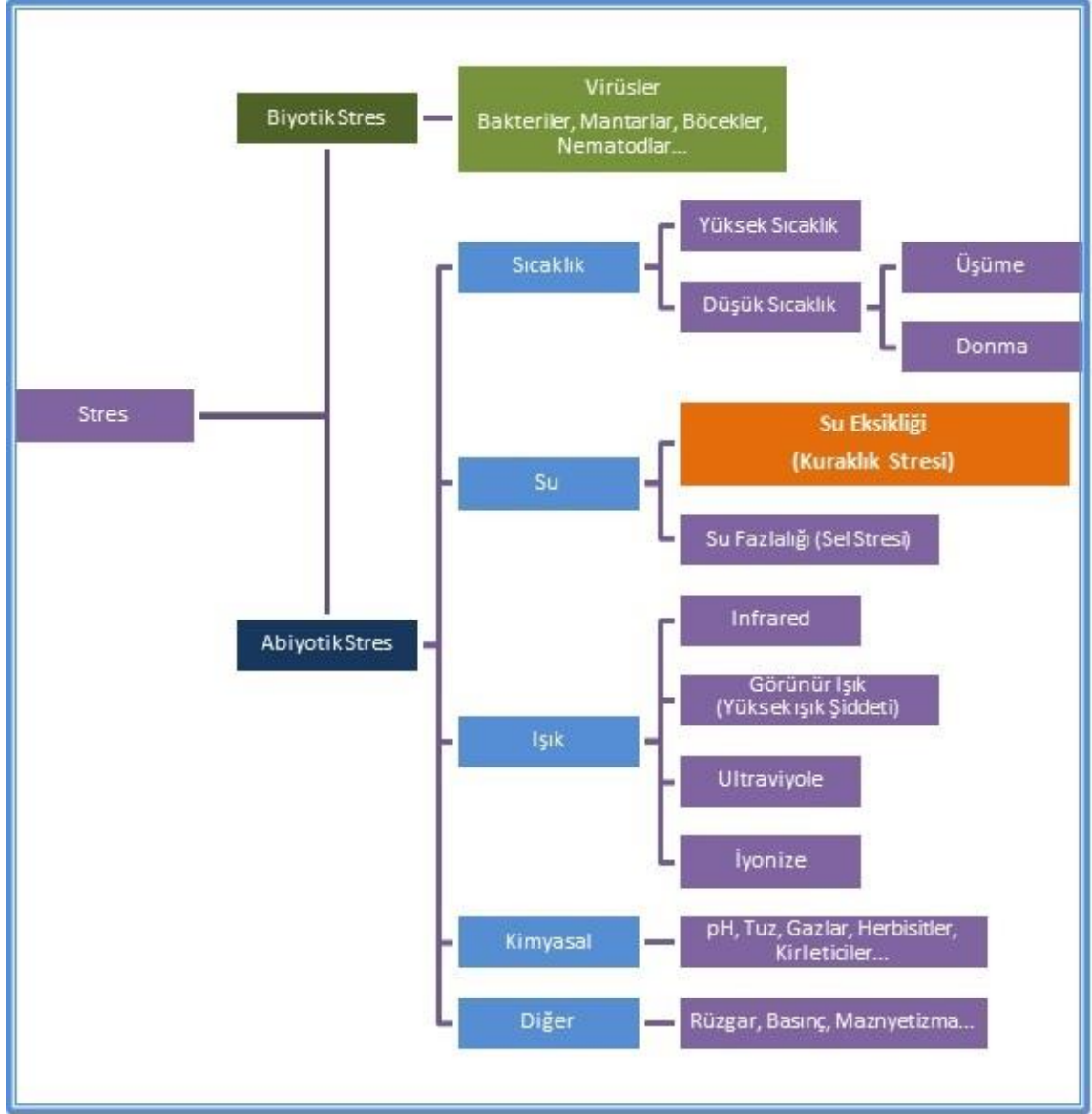
kıvrılma derecesi, su durumu, H₂O₂ ve süperoksit içeriğindeki değişimler belirlenmiştir. Böylece bu çalışmada yaprak kıvrılmasının düzenlenmesinde dehidrin seviyesi ile hidrojen peroksit ve süperoksit arasındaki ilişkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmadan elde edilen verilerle kuraklık stresi altında bitkilerde yaprak kıvrılması sırasında meydana gelen olayların daha iyi anlaşılması, kıvrılma ile ilgili bitki işlemlerini tanımlamamıza ve kuraklık tolerans mekanizması ile yaprak kıvrılması arasındaki ilişkiyi daha iyi açıklamamıza yardımcı olacaktır.

1.2. Stres ve Stres Çeşitleri

Canlılar en iyi gelişimi optimum koşullarda gerçekleştirirler. Günlük veya mevsimlik değişimler karşısında beklenmedik olumsuz koşullara sürekli veya zaman zaman maruz kalmalarıyla, gelişimlerini ve hayatta kalmalarını etkileyecek hastalıklar, hasarlar veya fizyolojik ve metabolik değişimler meydana gelebilir (Shao ve ark., 2008). Bundan dolayı canlıların normal sistem fonksiyonlarını inhibe etme eğiliminde olan olumsuz etkiler ya da kuvvetler stres olarak tanımlanmaktadır (Kadıoğlu, 2011). Bitkileri etkileyen başlıca stres faktörleri biyotik (bitkiler, mikroorganizmalar, hayvanlar ve antropogenik etkiler) ve abiyotik (radyasyon, sıcaklık, su, gazlar, mineraller vb.) stres faktörleri olmak üzere ikiye ayrılır (Şekil 1).

Bu stres faktörleri bitkinin türüne, tolerans ve adaptasyon kabiliyetine bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Dubey 1994; Madhova Rao ve ark., 2005). Bütün bu stres faktörleri sonucunda bitkilerin yaş ve kuru ağırlıkları ile bitki boyu, bitki çapı, yaprak alanı ve yaprak sayısı (Kuşvuran ve ark., 2011), transpirasyon oranını ve ürün verimini (Jaleel ve ark., 2008) olumsuz yönde etkilemektedir. Yani bütün bu faktörler bitkinin büyüme ve gelişmesini, yaşam süresini ve ürün verimini olumsuz yönde etkilerler.

Stresle başa çıkabilmek için bitkilerin geliştirmiş oldukları iki büyük strateji vardır; bunlardan bir tanesi stresten kaçma, diğeri ise strese tolerans ya da başka bir ifade ile stres koşullarına adaptasyondur. Örneğin kuraklık stresini algılayan bitkilerde ilk olarak ortaya çıkan adaptasyon mekanizması su kaybını engellemek amacıyla stomaların daralması veya kapanmasıdır (Osakabe ve ark., 2014). Kuraklık stresinden kaçınma mekanizmasına ise dokularında su depolayarak uzun süre canlılıklarını sürdürebilen ve hayatta kalabilen sukkulent bitkiler örnek verilebilir (Salisbury, 1992).



Şekil 1. Bitkilerde stres çeşitleri (Schulze ve ark., 2005; Yılmaz ve ark., 2011).

1.3. Kuraklık Stresi

Kuraklık; meteorolojik, tarımsal, hidrolojik ve sosyo-ekonomik olmak üzere dört alt başlığa ayrılmaktadır. Kuraklık uzun bir süre yağışın normal değerlerinin altına düşmesi olarak tanımlanan meteorolojik kuraklık olarak başlar. Tarımsal kuraklık ise bitkinin ihtiyacını karşılayacak kadar suyun toprakta bulunmamasıdır. Kuraklığın etkilerinin gözle görülür hale gelmesi sosyo-ekonomik kuraklık olarak adlandırılır. Uzun süren yağışsız dönem nedeniyle nehir, göl ve yeraltı su rezervlerinde su miktarının azalması hidrolojik

kuraklığı oluştururken sosyoekonomik kuraklık diğer kuraklık çeşitlerine bağlı olarak ortaya çıkar ve ekonomik dengelerde ciddi değişimlere neden olur (Örs ve Ekinci, 2015).

Bitkinin yaşadığı ortamda su eksikliği yaşanırsa bitki yeterince su alamaz ve su kaybına maruz kalır. Su eksikliğine karşı bitkiler geri dönüşümlü veya geri dönüşümsüz yanıt oluştururlar. Bitkilerin kuraklık stresine karşı geliştirdikleri cevaplar türler arasında hatta aynı tür içinde dahi farklılıklar gösterebilir (Greenway ve Munns, 1980).

Dünyadaki ekilebilir alanlar dikkate alındığında çevresel stres faktörlerinden biri olan kuraklık büyük bir yüzdellik dilimi oluşturmaktadır ve bu nedenle kuraklık, bitki büyüme ve gelişimini azaltabilecek en önemli stres faktörü olarak bilinmektedir (Blum, 1988). Kuraklık stresi nedeniyle bitkilerde morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler seviyede değişimler meydana gelmektedir. Yaprak alanındaki indirgenme, yaprak kıvrılması, yaprak dökülmesi gibi değişimler bitkilerde morfolojik olarak gözlenebilir. Diğer taraftan, kuraklık etkisi ile bitkide fizyolojik olarak stomaların kapanması, transpirasyon ile kaybedilen su miktarının düşmesi, su kullanma etkinliğinin azalması ve ozmotik ayarlama gibi değişimler ile suda çözünebilir şeker ve aminoasit gibi maddelerin seviyesinde biyokimyasal artışlar da görülebilir. Bu maddelerin miktarındaki artışlar hücre içindeki su potansiyelini düşürerek bitkinin su almasının devam etmesini sağlayabilirler (Özer ve ark., 1997; Mitra, 2001; Farooq ve ark., 2009). Aynı zamanda bitkide strese cevap olarak çeşitli genlerin ifadesi azalırken bazı genlerin ifadesinin de uyarılır (Rorat, 2006)

Kuraklık stresi çok ciddi seviyede devam ederse metabolik olaylarda aksamalar, fotosentezde azalma meydana gelir ve bitki savunma sistemini aktive edemezse bitki ölümü gerçekleşir (Bohnert ve ark., 1996). Kuraklık stresine maruz kalan bitkiler, antioksidan savunma sistemlerinin aktivasyonu ile oksidatif stresin üstesinden gelebilirler. Fakat radikal üretimi, antioksidan savunma sisteminin kapasitesini aşacak kadar fazla olursa, o zaman bitkide meydana gelecek hasar geri dönüşümsüz olmaktadır (Özfidan, 2010).

1.3.1. Kuraklık Stresine Karşı Geliştirilen Mekanizmalar

Bitkinin büyümesini ve ürün verimini en çok etkileyen çevresel streslerden biri olan kuraklık stresine karşı bitkilerde çeşitli morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve hücresel düzeyde mekanizmalar geliştirmişlerdir. Bitkilerin kuraklığa dayanıklılıkta kullandıkları bu

mekanizmalar stresten kaçınma ve stres toleransıdır (Levitt, 1980; Laffray ve ark., 1990; Cruz ve ark., 1998). Böylece bitkiler gelişimlerini devam ettirebilir, yaşam döngülerini tamamlayabilir ve genetik potansiyellerinin tamamını kullanabilirler (Rejeb ve ark., 2014). Ayrıca stresten kaçan bitkiler, orta şiddetteki kuraklık stresi durumunda hayatta kalırken, strese toleranslı bitkiler ise koruyucu mekanizmalarını çalıştırmak suretiyle daha şiddetli kuraklık stresi durumlarında hayatta kalabilirler (Kalefetoğlu ve ark., 2005). Örneğin; kuraklığa dirençli bazı bitkilerin yapraklarının yüzeyinin kütikula ile kaplı olması, ışığa bağlı olarak yaprakların yönünün değiştirilmesi ve yapraklarının kıvrılma potansiyelinin olması (Sağlam, 2004) bitkinin kuraklık stresinden kaçınmak için geliştirdiği mekanizmalardır. Kuraklıktan kaçınma, yetersiz su durumlarında hayatta kalmak için geliştirilen önemli bir adaptasyondur. Böylece bitkinin temasta olduğu yüzeylerinde morfolojik ve kimyasal yapıdaki değişikliklerle bitki yaşamını ve üretkenliğini korur (Jenks ve ark., 2005). Kuraklığa karşı sakınma mekanizması bulduran bitkilerde geniş kök sistemi oluşmakta, stomalar kapanmakta ve daha etkili su kullanımı gerçekleşmektedir (Kuşvuran ve ark., 2011). Bitkiler dokularındaki su içeriğini koruyabilmek için, topraktan su alımı, transpirasyon yüzeyinin azalmasıyla su kaybının azaltılması, yüksek su iletim kapasitesi veya su depolaması gibi önlemler almaktadırlar (Kuşvuran, 2010).

Kuraklığa karşı tolerans mekanizmalarının en önemlileri ozmotik denge ve membran sisteminin korunmasıdır (Mullet ve Whitsitt, 1996; Costa-França ve ark., 2000). Bitkilerde kuraklık etkisiyle turgorla beraber ozmotik potansiyelde azalma meydana gelir. Su eksikliğine cevap olarak bitkiler ozmolit olarak adlandırılan çeşitli organik (şekerler, prolin, glisin-betain) veya inorganik maddeler biriktirir ve vakuolden yapraklara suyla birlikte taşınan ozmotik maddelerin miktarlarında artış sağlarlar. Örneğin; kuraklığa bağlı olarak kuraklık stresine toleranslı olan bitki çeşitlerinde apoplastik ve simplastik bölgelerde prolin miktarının arttığı belirlenmiştir (Güler ve ark., 2012).

1.4. Yaprak Kıvrılması

Işığın, yaprağın ısınmasına ve su kaybına neden olduğu bilinmektedir. Bu nedenle kuraklığın fazla olduğu yerde bulunan bitkiler, yaprakların yüzey alanını daraltıp gelen ışığın etkisini en aza indirerek, ışık absorpsiyonu için daha az bir alan oluşturup kuraklık etkisinden en az derecede etkilenmek için yaprak kıvrılma mekanizması geliştirmişlerdir (Clarke, 1986).

Yaprak kıvrılması ile fotosentez arasında bir ilişki olduğu bildirilmiştir (Corlett ve ark., 1994). *Ctenanthe setosa* bitkisinde yaprak kıvrılmasının fotosistem-II (PSII)'yi şiddetli kuraklık altındaki hasara karşı koruduğu (Nar ve ark., 2009), çeltikte ise fotosentez etkinliğini arttırıldığı bildirilmiştir (Lang ve ark., 2004). Örneğin; yaprak kıvrılmasının fotosentetik pigment içeriği üzerine etkisi kuraklık stresi altında incelenmiş ve kuraklık stresine hassas olan mısırdaki pigment içeriğinde yüksek bir düşüş olurken, toleranslı olan mısır bitkisinde ise pigment içeriği artmıştır (Chugh ve ark., 2013). Pigment konsantrasyonundaki artış, azalmış yaprak yüzeyine ve klorofillerin daha az yaprak alanına yerleştirilmesine bağlı olduğu bildirilmiştir (Tourian ve ark., 2013).

Yaprak kıvrılması birçok bitkide ortak olan morfolojik tepkidir (Begg, 1980; Ehleringer ve ark., 1980). Bitkiler yaprak kıvrılması ile radyasyon miktarını azaltabilirler ve yaprak kıvrılması yüksek ışığın olumsuz etkisine karşı koruyucu bir mekanizma olarak bitkilere fayda sağlar (Corlett ve ark., 1994). Kuraklık etkisi altında olan bir bitki yaprağını kıvrarak yaprak yüzeyine düşen yüksek seviyedeki ışığın neden olduğu yaprak sıcaklığındaki artışın oluşturacağı hasarlar kıvrılmaya bağlı olarak en aza indirilebilir (Begg, 1980). Ayrıca yaprak kıvrılması ile transpirasyon azaltılıp, yaprağın iç yüzeyindeki bölgede daha fazla nem oluşturularak strese karşı direnç kazanılır. Böylece kısıtlı olan su, bitki tarafından daha etkili bir şekilde kullanılır (Oppenheimer, 1960; Matthews ve ark., 1990).

Yaprak kıvrılmasında bulliform ve hipodermis olarak bilinen iki tip hücre görev alır. Yaprığın üst epidermisinde bulunan bulliform hücreleri; çeltik, mısır, buğday ve darı gibi bazı bitki türlerinde yaprakların rulo şeklinde kıvrılmasına neden olur. Örneğin, bu tip bir yaprak kıvrılması, çeltikte üst epidermisteki özel bulliform hücrelerinden su kaybı ile meydana gelir (O'Toole ve ark., 1980). Hipodermis hücreleri ise üst epidermisin altında bulunur ve stres koşullarına bağlı olarak bu hücreler küçüldüğünde yapraklar yine rulo şeklinde kıvrılırlar (Kadıoğlu ve ark., 2007).

Bazı bitkiler kıvrılma esnasında ozmotik ayarlama için çözünmüş şeker biriktirirler. Örneğin, *Ctenanthe setosa*'da yaprak kıvrılma derecesi arttıkça indirgeyici ve çözünmüş şeker seviyeleri artar. Stresli bitkilerin yaprakları bu türde daha düşük moleküler ağırlıklı karbonhidratlar (fruktoz, glukoz, inositol ve sukroz) biriktirme eğilimindedir (Kadıoğlu ve Turgut, 1999). Bu ozmotik ayarlama ile stomalar kıvrılma sırasında kapanmaz (Matthews ve ark., 1990) ve dolayısıyla fotosentez etkinliği yüksek bir oranla korunur (Jones ve Rawson, 1979; Ludlow, 1980). Yaprak kıvrılması, bitkilerden su kaybını azaltarak

senesensin gecikmesine etki etmesi bakımından da önemlidir (Richards ve ark., 2002). Bu sayede stres sırasında yaprak senesensinin yerine yaprak kıvrılmasının başlaması bitkinin fotosentezini en iyi şekilde gerçekleştirmesine imkan sağlar (Knapp, 1985).

Son yıllarda yapılan çalışmalar yaprak kıvrılmasının kontrol edilmesinin fotosentetik ve dane verimi açısından önemli olduğunu göstermiştir. Bundan dolayı kıvrılma derecesi birbirinden farklı genlerle kontrol edilen mutantlar üretilmiştir. Mutantlardaki genlerin farklı olayları veya proteinleri kontrol ederek kıvrılmayı sağladığı kanıtlanmıştır. Yaprakları kıvrık mutantların çoğu abaksiyal olarak kıvrılma gösteren *abaxially curls leaf 1(acl1)* ve *(acl2)* gibi kıvrık yaprak fenotipi gösterirler (Li ve ark., 2010). Çeltikte yaprak kıvrılmasından sorumlu birkaç gen de geleneksel genetik yaklaşımlarla tespit edilmiştir. Örneğin, çeltikte yaprak kıvrılmasını kontrol eden önemli bir gen olan *SLL1*'i karakterize ederek, *SLL1*'in, KANADI ailesine ait bir SHAQKYF sınıfı Myb ailesi transkripsiyon faktörünü kodladığını göstermişlerdir (Zhang ve ark., 2009). Mısırdaki, *ROLLED LEAF1 (RLD1)*, *LEAFBLADELESS (LBL1)* genlerinin adaksiyal hücre tabakasının tanımlanması için gerekli olduğu gösterilmiştir. *RLD1* geninin yaprağın yukarıya doğru kıvrılmasını kontrol ettiği ve sınıf III homodomain lösin fermuar proteinini (HD-ZIPIII) kodladığı kaydedilmiştir (Juarez ve ark., 2004). *RLD1* ve *Arabidopsis HDZIPIII* genlerinin, sürgün apikal meristeminin orta bölgesindeki ve başlangıç yaprak primordiyumu boyunca ifade edildiği gösterilmiştir. *YABBY* gen familyası üyelerinin de abaksiyal hücre dizilişinin belirlenmesiyle ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Nelson ve ark., 2002). Ayrıca transgenik bitkilerdeki yaprak kıvrılma derecesi ve süresinin, transgenik olmayan bitkilerden farklı olduğu rapor edilmiştir. Örneğin, CBF3 / DREB1A (CBF3) eksprese eden transgenik çeltik bitkileri ve ABA bağımlı ve ABA bağımsız stres yanıt yollarında işlev gören *Arabidopsis* genlerinin, daha geç yaprak kıvrılma derecesi gösterdiği kaydedilmiştir (Oh ve ark., 2005).

1.5. Dehidrinler

LEA proteinleri olgunlaşma aşamasındaki tohumda ve vejetatif organlarda soğuk ve su eksikliği gibi stres koşullarında biriken (Close, 1996), sıcaklık değişimlerinde hücredeki fizyolojik olayların sürmesi için gen ifadesini düzenleyen (Bray, 1993; Ingram, 1996; Shinozaki, 2000; Bray, 2002; Kim, 2005), embriyo gelişimi ve ABA gibi faktörler ile uyarılan protein grubudur (Dure, 1993; Close, 1996; Close, 1997; Campbell, 1997; Zhu, 1997). LEA proteinleri geç embriyogenez aşamasında tohumda fazla bulunduğundan adını

İngilizce ifadesinin (=Late Embryogenesis Abundant) baş harflerinden almakta ve Türkçede bu ifadenin karşılığı “Geç Embriyogenesis Bolluk” ifadesinin baş harflerinin kısaltması olan GEB proteinleri olarak isimlendirilmektedir (Dure ve ark., 1989; Cuming, 1999).

Dehidrinler, LEA (geç embriyogenesis bolluk D11 ailesi) 2 grup ve RAB (response to ABA, ABA’ya cevap) olarak adlandırılırlar (Mundy ve ark., 1988; Baker ve ark., 1988). Dehidrinler ilk olarak gelişen pamuk embriyolarında çalışılmıştır. Bugüne kadar 100’den fazla dehidrin proteinleri Angiospermler, Gymnospermler, Pteridofit, Bryofit, mantarlar, algler ve siyanobakteriler gibi çeşitli bitki taksonlarını içeren pek çok canlıda araştırılmıştır (Close, 1997; Campbell ve ark., 1997; Abba, 2006; Saavedra, 2006).

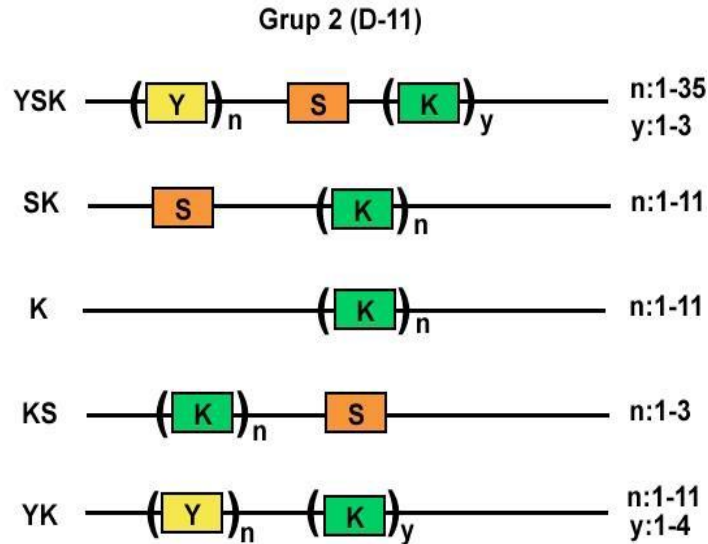
Dehidrinlerin büyüklüğü 82-648 aminoasit arasında değişir ve çözülmüş proteinlerin %1-5’i oranında birikebilirler (Close, 1996). Dehidrin proteinin büyüklüğünün 9-200 kDa arasında olduğu, moleküler ağırlığının ise 5.3-66.3 kDa (ortalama 18.3 kDa) arasında değiştiği SDS ile tespit edilmiştir (Ouilet ve ark., 1993; Close, 1996; Sarhan ve ark., 1997; Shih ve ark., 2008). Moleküler ağırlığındaki bu farklılığın nedeninin ise tekrarlı K segmentlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Dehidrinlerin, nükleusta, sitoplazmada, plazma membranında, mitokondri ve vakuollerde buldukları tespit edilmiştir (Sarhan ve ark., 1997; Danyluk ve ark., 1998; Heyen ve ark., 2002; Borovskii ve ark., 2002). Ayrıca hücre içi organellerin endomembranlarının içinde ve etrafında yer aldıkları da görülmüştür (Close ve ark., 1993). Dehidrinler bitki dokularında, tohum olgunlaşması ve çeşitli çevresel faktörlerden indüklenen osmotik streslerin neden olduğu hücrel dehidrasyonlarda biriktikleri tespit edilmiştir (Close, 1996). Örneğin; strese maruz bırakılan çeltikteki dehidrin proteinin (PMA80) yüksek miktarda biriktiği gözlenmiştir (Cheng ve ark., 2002). Ayrıca dehidrinlerin, bitkilerde genellikle gelişme döneminde farklı dokularda farklı çeşit ve miktarlarda bulunduğu belirtilmiştir. Örneğin; *Arabidopsis*’te RAB18 ve mısırdaki RAB17 (DHN1; YSK) dehidrin proteinlerinin olgun tohum içindeki endosperm ve embriyodaki bölgelerde dağınık halde buldukları gösterilmiştir (Lang ve ark., 1992; Goday ve ark., 1994). Glisince zengin olan dehidrinler hiperosmotik durumlarda hidrofilik proteinlerin birikimi ile adaptasyon özelliklerini korumuşlardır (Garay-Arroyo, 2000).

Dehidrinler, K - S - Y - Φ (Fi segmenti) segmentleri olarak isimlendirilen korunmuş 4 segment içerirler (Close, 1996). Dehidrinlerin yapısal özelliklerini belirlemek için, lizince zengin korunmuş K segmenti (EKKGIMDKIKEKLP), serin bakımından zengin S

segmenti (SSSSSSS) ve daha az miktarda bulunan Y segmenti (V/T]DEYGNP) baz alınır. Ayrıca K segmentlerinin arasında bulunan polar aminoasitlerce zengin olan Fi segmentleri de yer almaktadır (Close, 1996, 1997; Hughes ve ark., 1989). Dehidrinler, en az bir K segmenti (EKKGIMDKIKEKLP) bulundurlar. K segmenti genel olarak proteinin karboksil ucunda bulunmakta ve amfipatik sarmal yapı oluşturma özelliğine sahiptir. K segmentinin sarmal yapısı hücre zarı ve proteinler ile etkileşimde bulunulmasını sağlamaktadır (Koag ve ark., 2009; Hughes ve ark., 2011). S segmenti, fosforilasyon aracılığıyla değişime uğrayabilir ve protein konformasyonunda iyon bağlama aktivitesinde düzenleyici bir görev alabileceği düşünülmektedir (Jensen ve ark., 1998; Alsheikh ve ark., 2005). Y segmenti (DEYGNP) amino ucuna yakın bölgede yer almaktadır ve çeşitli organizmalarda şaperon proteinlerinin nükleotid bağlanma bölgelerindeki motiflerle kısmi aminoasit benzerliği göstermektedir (Close, 1996).

K, S, Y ve Fi segmentlerinin kombinasyonlarına bağlı olarak dehidrinler 5 alt sınıfa ayrılmıştır. Bunlar: YnSKy, SKn, Kn, YnKy, KnS şeklindedir (Şekil 2), (Campbell vd, 1997). Her motif farklı koşullar altında dehidrasyon stresine yanıt vermektedir. YnSKy motifi ABA ve dehidrasyona yanıt gösterirken, Kn ve YnKy motifleri düşük sıcaklığa; SKn tuzluluk, düşük sıcaklık, kuraklık veya yaralanma gibi etkilere; KnS ise kuraklık ve düşük sıcaklığa yanıt vermektedir (Rorat, 2006).



Şekil 2. Dehidrin protein dizilerindeki motiflerin çeşitleri ve yerleşimleri (n, y; tekrarlanma sayısı).

Dehidrin geni, konstitütif olarak sentezlenen (Bravo ve ark., 1999; Nylander ve ark., 2001) özellikle tuz, kuruma ve soğuk stresinde, absisik asit uygulamasında, hücrel dehidrasyon durumlarında (Shinozaki ve ark., 1996; Bray, 1997; Richard ve ark., 2000), stomaların kapanma modifikasyonlarında (Cornic, 2000), osmotik dengede (Hare, 1998) gen ekspresyonunun düzenlenmesinde (Ingram, 1996) görev alan LEA protein ailesinin bir üyesidir (Close, 1996; Campbell, 1997; Close, 1997; Allagulova, 2003; Rorat, 2006).

Dehidrin (*DHN*) genlerinin; tuzluluk, dehidrasyon ve düşük sıcaklık (Ingram ve ark., 1996; Wang ve ark., 2003) gibi abiyotik stres koşullarında, bitki stres cevabında önemli rol oynadığı belirtilmektedir. Dehidrin proteinlerinin birikiminin, soğuk iklim, soğuğa uyum, donma, kuruma ve tuzluluğa tolerans ile pozitif korelasyon içinde olduğu değişik bitki türleri ile yapılan çalışmalar ile kanıtlanmıştır (Pelah ve ark., 1997). Örneğin; Kore arpasında yapılan çalışmada DHN3 ve DHN4 proteinleri ile kuraklık arasında yüksek oranda pozitif korelasyonun olduğu gösterilmiştir (Park ve ark., 2006).

Dehidrinlerin dehidrasyona karşı hücre yapısını dengeleme (Danyluk ve ark., 1998), soğuk-koruyucu (Bravo ve ark., 2003; Sanchez-Ballesta ve ark., 2004) ve antifriz etkisi gösterme (Wisniewski ve ark., 1999), düşük su koşulları altında enzim aktivitelerini geliştirme (Rinne ve ark., 1999) ve osmoregulator (Nylander ve ark., 2001) ya da radikal uzaklaştırıcı (Hara ve ark., 2003; Sun ve ark., 2010), veziküllerin ve endomembran yapılarının korunmasında, kalsiyum gibi iyonların ayrılmasında, moleküler şaperonlar gibi davranarak iyonların suya bağlanmasında ya da yer değiştirmesinde (Close, 1996; Heyen ve ark., 2002; Koag ve ark., 2003), bitki hücrelerinin dehidrasyonun zararlı etkilerine karşı korunmasında (Bray, 1993; Ingram ve ark., 1996), kurumaya dirençte, su kaybından kaynaklanan hücrel yapının korunmasında, katlanmamış proteinlerin renaturasyonunda fonksiyon gösterme (Bray, 1993; Cuming, 1999; Bray, 2000) gibi görevleri bulunmaktadır.

1.6. Absisik Asit

Bitkisel hormonlar, bitkinin belirli noktalarında düşük konsantrasyonlarda sentezlenen ve bitkinin diğer kısımlarına taşınarak işlevlerini gösteren kimyasal maddelerdir. Bitkisel hormonlar olumsuz şartlara karşı bitkilerin savunma mekanizmasını geliştirmesini sağlamada ve çevresel değişikliklerin algılanmasında önemli rol oynarlar (Öktüren ve Sönmez, 2005). Bitki hormonlarından birisi olan absisik asit (ABA) bitkinin

her dokusunda bulunmakla birlikte en fazla yeşil yapraklarda bulunmaktadır (Baktır, 2010).

Abiyotik stres faktörleri bitkilerde absisik asit biyosentezi ve birikimine neden olmaktadır (Borsani, 2003). Yapılan çalışmalarda ABA'nın kuraklık (Iuchi ve ark., 2001) soğuk (Kumar ve ark., 2008), donma (Zhou ve ark., 2006), ağır metal (Hsu ve ark., 2006) ve tuz stresi (Etehadnia ve ark., 2008; Özfıdan ve ark., 2013) gibi abiyotik streslere karşı koruyucu olduğu belirtilmiştir.

Bir bitki hormonu olan ABA kuraklık stresi sırasında stomaların kapanmasını uyarır (Hartung ve ark. 2002) ve böylece transpirasyonu engeller (Kacar ve ark., 2006). Çevresel streslerde yapraktaki ABA seviyesi 50 kat artmaktadır (Bressan, 2008). Köklerde sentezlenen ve transpirasyonla bekçi hücrelerine taşınan ABA, bekçi hücrelerindeki hipotetik ABA reseptörüne bağlanarak, kuraklık stresi koşullarında stomaların kapanmasını sağlar (Teiz ve ark., 1998). Bu durum büyüyen bitkilerde CO₂'nin alımının azalmasına neden olur ve fotosentetik verim düşer (Stuhlfauth ve ark., 1990). Ayrıca kuraklık stresi altında fotosentez mekanizmasının düzenlenmesinde etkin rol oynadığını bilinmektedir (Anjum ve ark., 2011; Dolferus, 2014). Ayrıca dışarıdan uygulanan ABA'nın bitkilerde stres ilişkili genlerin seviyesini uyararak strese karşı toleransı artırdığı belirtilmiştir (Xiong ve ark., 2002; Fediuc, 2005; Zhu, 2010).

ABA kuraklık stresi sırasında gen ifade değişikliklerinde ve metabolizmanın yeniden düzenlenmesinde önemli rol oynar (Shanker ve ark., 2014). ABA seviyesindeki artışlar genlerin ifade edilmesini indüklemeye, koruyucu proteinleri biriktirmeye, antioksidan seviyesini arttırma ve enerji tüketim yollarını baskılama gibi değişikliklere de yol açmaktadır (Bartels ve ark., 2005; Taiz ve ark., 2010). Kuraklık koşullarında gen anlatımını düzenleyen transkripsiyon faktörlerinden birisi olan *bZIP* gen ailesine sahip proteinler ABA birikimi ile aktive olurlar ve gen aktarımını ABRE'lere (ABA-cevap elementi) bağlanarak düzenlerler (Bhargava ve ark., 2013; Dolferus, 2014). Kuraklık stresinde bazı genler hızlı bir cevap oluştururken, diğerleri ise ABA birikiminden sonra yavaş olarak indüklenirler. Bulgular, kuraklık stresinin başlangıç sinyali ile genlerin ifadeleri arasında ABA-bağımlı ve ABA-bağımsız sinyal iletim yolu olduğunu göstermektedir (Shinozaki, 1996). Bunun yanında köklerden K⁺ alınımı ve birikimi, Ca⁺²'un sitoplazmada birikimi de ABA tarafından teşvik edilmektedir (Borsani, 2003). Örneğin; *Vicia faba*'ya dışarıdan ABA uygulanmasıyla bekçi hücrelerinin protoplastlarında 1,4,5- inositol trifosfat (IP3) miktarı artmaktadır (Xiong ve ark., 2001). Bekçi

hücrelerindeki IP₃, sitoplazmada Ca⁺² artışını sağlayarak stomaların kapanmasını tetikler (Sanders ve ark., 1999). Sitoplazmik Ca⁺² artışı osmotik stresle indüklenen genlerin ifadelerini tetikleyebilir (Wu ve ark., 1997).

Ayrıca absisik asit, bitkilerde tohum dormansisi, çimlenmesi, olgunlaşması, çiçeklenme, senesens ve vejetatif gelişme gibi çeşitli biyolojik süreçlerde ve çeşitli genlerin ifadesi gibi abiyotik stres cevaplarında rol oynar (Kuhn ve Schroeder, 2003; Umezawa ve ark., 2011; Finkelstein, 2013).

1.7. Salisilik Asit

Salisilik asit (SA), bitkilerde çeşitli çevresel streslere karşı bitki cevabının tetiklenmesinde önemli rolü olan sinyal bir hormondur. SA genel olarak bir hidroksil grubu veya bu grubun işlevsel türevini bulunduran ve aromatik bir halka içeren bitki fenoliklerinin bir grubudur (Özeker, 2005). SA'nın oksitativ hasara karşı koruyucu etkisiyle çok çeşitli streslere karşı bitki toleransını arttırdığı bildirilmiştir (Hayat ve ark., 2007). SA uygulaması bitki toleransını, SA'in konsantrasyonuna, zamana ve bitkinin türüne bağlı olarak farklı etkilemektedir (Hakimi ve ark., 2011; Sahar ve ark., 2011; Ghasemzadeh ve ark., 2012; Agamy ve ark., 2013). Yapılan çalışmalarda SA'nın, kuraklık, tuz, soğuk, ısı, ultraviyole (Hua ve ark., 2008) ve hastalık direnci gibi abiyotik ve biyotik streslere verilen bitki tepkilerindeki rolü gösterilmiştir. Örneğin; SA'nın, buğday fidelerinin su eksikliğinde (Bezrukova ve ark., 2001), çeltik ve salatalık fidelerinin tuzluluk derecelerine karşı direnci arttırdığı (Shim ve ark., 2003), domates ve fasulyenin sıcak ve soğuk toleransını (Senaratna ve ark., 2000; Wang ve ark., 2006), çeltiğin ağır metallerin zararlı etkilerine karşı toleransını (Mishra ve ark., 1999) ve antioksidan enzim aktivitesini (Szepesi ve ark., 2005) arttırdığı konusunda veriler elde edilmiştir. Ayrıca bir çilek türü ile yapılan çalışmada, farklı yoğunluklarda salisilik asit uygulamasının, membran geçirgenliğini azalttığı (Qing-Moo ve ark., 2007), protein, prolin ve toplam klorofil miktarını artırdığı saptanmıştır (Tohma, 2007).

Salisilik asit, bitki büyümesinin düzenlenmesinde, gelişiminde ve diğer organizmalarla etkileşiminde temel rol oynar (Harborne, 1980). Salisilik asit erken çiçeklenmeyi teşvik edici (Lee ve Skoog, 1965; Martinez ve ark., 2004), bazı bitkilerin tozlaşma ve döllenenmesinde (Tang, 1987), kök oluşumunu uyarma (Kling ve Meyer, 1983),

normal koşullarda çimlenmeyi geciktirme veya tohum canlılığını arttırma (Xie ve ark., 2007; Lee ve ark., 2010) gibi bitki büyümesini ve gelişmesini etkileyen içsel bir bitki büyüme düzenleyicisidir (Hayat ve ark., 2010). Salisilik asit bitki büyüme ve gelişmesinin yanı sıra fotosentez, stomatal düzenleme, solunum, senesens ve iyon alımında da önemli rol oynamaktadır (Vicente ve Plasencia, 2011). Ayrıca farklı patojenlere karşı bitkilerde "sistemik kazanılmış direnç"i (SAR) ortaya çıkardığı (Aktaş, 2001; Metraux, 2001) ve patojenlere karşı direnç kazanmanın en belirgin işareti olan PR1 proteinlerinin oluşumunu sağlayarak hastalıklara karşı direnç kazandırdığı rapor edilmiştir (Tomoya ve ark., 1998).

Tuz stresine maruz kalan bitkilere salisilik asit uygulandığında, bitkilerde protein içeriğinin önemli derecede arttığı (Tohma ve ark., 2011), fotosentetik etkinliğin geliştiği (Noreen ve Ashraf, 2008), membran bütünlüğü ve fotosentetik pigmentlerin içeriğinin korunduğu (Khodary, 2004; Çanakçı ve ark., 2004) kanıtlanmıştır. Ayrıca inorganik iyonların konsantrasyonunu değiştirdiği belirlenmiştir. Örneğin; mısırda tuz stresi altında SA uygulanmasına bağlı olarak N, Mg⁺², Fe⁺², Cu⁺² ve Mn⁺² birikim miktarı artarken Na⁺ ve Cl⁻ miktarı azalmıştır (Gunes ve ark., 2005). Bunun yanında stres altındaki bitkilerde SA, kök apikal meristeminde hücre bölünmesinin ilerlemesini ve verimliliğin artmasını sağlamıştır (Shakirova ve ark., 2003). SA uygulamasıyla prolin miktarının artışına bağlı olarak antioksidan enzimlerin aktiviteleri de artmış ve böylece tuz stresine tolerans da artmıştır (Yusuf ve ark., 2008).

1.8. Reaktif Oksijen Türleri

1.8.1. Süperoksit Radikali

Bitkiler çevresel strese maruz kaldığında, süperoksit (O₂^{•-}), hidrojen peroksit (H₂O₂), hidroksil radikali ([•]OH) ve singlet oksijen (¹O₂) gibi reaktif oksijen türleri üretmektedirler. Süperoksit radikali (O₂⁻), oksijen molekülüne bir elektron ilavesiyle meydana gelir. Genellikle mitokondri ve kloroplastta elektron taşınım sırasında oluştuğu gibi birçok organelde de üretilmektedir (Apse, 2002). Süperoksit kloroplastlarda fotosistem I (PS-I) ve fotosistem II (PS-II)'de üretilmesinin yanında (Elstner ve ark., 1994) moleküler oksijenin ferredoksin tarafından indirgenmesiyle de meydana gelmektedir (Mehlar, 1951). Mitokondri iç zarında yerleşmiş oksidatif fosforilasyon zinciri bileşenleri büyük oranda

indirgendiğinde süperoksit üretimi artmaktadır. Peroksizomlarda da normal metabolizma sonucu süperoksit radikalleri oluşmaktadır. Ayrıca ketokolaminler, hidrokinonlar, redükte flavinler, tiyoller ve tetrahidrofolatlar gibi moleküllerin oksijen varlığında oksitlenerek süperoksitleri oluştururlar. Bunun yanında birçok enzimin katalitik etkisiyle de süperoksit oluşmaktadır (Murray ve ark., 1996). Süperoksit radikali hem oksitleyici hemde indirgeyici özelliğe sahiptir. Süperoksit radikali sitokrom c ile reaksiyonunda indirgeyici, epinefrin oksidasyonunda ise oksitleyici özelliği göstermektedir (Akkuş, 1995). Süperoksit etkin derecede reaktif olmamasına rağmen, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve ardından hidroksil ($\cdot OH$) oluşturarak daha reaktif hale gelmektedir. Süperoksit radikali lipid peroksidasyonu, membran hasarı, DNA ve RNA hasarı, protein hasarı, geçirgenlikte artış, hücrel toksisite ve mitokondriyal hasara sebep olmaktadır (Mojojić, 2004). Bazı çevresel stres koşullarında stomaların kapanmasına bağlı olarak biriken süperoksit radikalleri kloroplastlarda fotoinhibisyon ve fotooksidasyona neden olur (Hsu ve ark., 2003; Yang ve ark., 2007). Süperoksit anyonu süperoksit dismutaz (SOD) enzimiyle dismutasyona girerek hidrojen peroksit (H_2O_2) ve oksijene (O_2) dönüştürülmektedir (Halliwell, 1984; Mittova ve ark., 2002).

1.8.1.2. Hidrojen Peroksit

Hidrojen peroksit (H_2O_2), moleküler oksijenin iki elektron alması veya süperoksidin bir elektron almasıyla oluşabildiği gibi süperoksidin enzimatik olmayan ya da SOD enziminin dismutasyonu sonucunda oluşmaktadır. Ayrıca oksidaz enzimlerinin aktiviteleri sonucunda da oluşabilmektedir (Murray ve ark., 1996; Torres ve ark., 2005). Fotosentez ve solunumda rol alan pek çok reaksiyon hidrojen peroksit üretiminde görev almaktadır. H_2O_2 peroksizomlarda, glikolat, yağ asitleri ve diğer substratların oksidasyonu ile da üretilebilmektedir (Dat ve ark., 2000). Hidrojen peroksidin yapısında eşleşmemiş elektron bulunmaz. Bu yüzden radikal değildir, ancak biyolojik membranları geçerek hücrelere kolayca difüze olabilir (Halliwell, 1994). ROT olarak ifade edilmesinin nedeni özellikle demir ve geçiş metalleri varlığında fenton reaksiyonu sonucu; süperoksit ile en reaktif ve hasar verici hidroksil ($\cdot OH$) radikalini oluşturmasıdır (Halliwell ve ark., 2000). Hidrojen peroksit, Calvin döngüsünün enzimlerinin oksidasyonuna sebep olarak fotosentezi engellemektedir. Hidrojen peroksidin oksitleyici özelliği ile oluşan reaktif formlar lipid peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilir. Bundan dolayı hidrojen peroksidin

biyolojik membranlardan hemen uzaklaştırılması gerekmektedir. Antioksidan enzimlerden olan katalaz ve peroksidaz biyolojik membranlardan hidrojen peroksidi uzaklaştırırlar (Zhu, 2005).

1.8.1.3. Singlet Oksijen

Oksijenin güçlü oksidatif formu olarak tanımlanan singlet oksijen (1O_2); moleküler oksijenin (O_2) yüksek enerjiyle çiftleşmemiş elektronlarından birinin ters dönmesi ile oluşur (Foyer, 1994). Özellikle bitkilerde singlet oksijen (1O_2) fotosentez reaksiyonlarında meydana gelmektedir. Örneğin; stres koşullarında bitkilerde fotosentetik elektron taşınımı sırasında elektronlar ferrodoksin aracılığıyla $NADP^+$ yerine oksijene verilerek süperoksit oluşturulur (Malkin ve ark., 2000). Singlet oksijen (1O_2), elektron taşıma sisteminde oksijenin fazladan enerji alarak oluştuğu gibi pigmentlerin oksijenli ortamda ışık absorblamasıyla veya hidroperoksitlerin metallerle yıkımı gibi kimyasal ve fotokimyasal yollarla da üretilmektedir (Wright ve ark., 2002). 1O_2 'nin ortaklaşmamış elektronu olmadığı için radikal özellik göstermez fakat oldukça reaktif bir türdür (Akkuş, 1995). Delta ve sigma olmak üzere iki formu bulunan singlet oksijen karbon-karbon çift bağlarıyla reaksiyona girerler. Karotenoitler, fiziksel veya kimyasal olarak singlet oksijeni baskırlar ve singlet oksijen molekülünü süpürme özelliği gösterirler.

1.9. Mısırla İlgili Bilgiler

Poaceae (buğdaygiller) familyasından olup monokotiledon bir bitkidir. Bir yıllık otsu bir bitki olan mısır yetiştiği bölgeye göre 1,5-3 metre boya ulaşabilmektedir. Mısır yaprakları yaprağın ucuna doğru gidildikçe sivrilerek, uzun ince bir mızrak şeklini alır. Yaprakların kenarları bütün, dalgalı, ortasında büyük bir ana damar ve ona paralel olan çok sayıda sağlı, sollu yan damarlar yer alır. Erkek ve dişi çiçekleri ayrı ayrı fakat aynı bitkide yer aldığından monoik bir bitkidir. Dişi çiçekleri koçandan çıkan püsküllerdir. Meyvesine kısaca mısır koçanı denir ve bu koçan üzerinde 100-200 adet mısır tohumu dizilmiştir (URL-1).

Mısır bitkisinin Anayurdu Güney Amerika olup, Amerika Kıtası'nın keşfinden sonra Avrupa'ya, oradan da Afrika Anakarası ve Mısır üzerinden ülkemize getirilmiştir. Mısır

için Türkiye'nin iklimi oldukça uygundur ve özellikle ülkemizde Karadeniz ve Akdeniz Bölgesinde geniş bir alanda yetiştirilmektedir. Mısır koçanları toplanıp kurutulularak nişasta veya bitkisel yağ elde edilmesi için kullanılır. Mısır bitkisinin taneleri, yüksek oranda nişasta ile doymamış yağ asitleri, A vitamini ve sterollerini içerir. Mısır püskülleri ise kurutulularak glikoz ve maltoz gibi şekerler, steroller, reçine, potasyum tuzları ve uçucu yağ içeren ilaç yapımında kullanılır. Mısır tanelerinden elde edilen mısırözü yağının, sıvı bitkisel bir yemeklik yağ olarak, damar sertliğini önlediği bilinmektedir. Bunun yanında besleyici değerinden dolayı mısır taneleri hayvanlar için de yem sanayisinde kullanılmaktadır. Tanelerinden un elde edilmekte ve günümüzde kullanımı yaygınlaşmaktadır (URL-1).

1.10. *rld1* Mısır Mutantı ile İlgili Bilgiler

Mısır yapraklarının dorsoventral (adaksiyal/abaksiyal) polaritesi meristemde oluşturulur ve yaprağın düzgün büyümesini ve modellemesini koordine etmek için organ gelişimi boyunca sürdürülür. Leaf rolled 1 (*rld1*) adaksiyal/üst yaprak yüzeyinin tanımlanması için gereklidir. Adaksiyal/abaksiyal polaritenin tanımlanması, gelişmekte olan primordiyumun üst ve alt alanları içindeki farklı hücre tiplerinin farklılaşmasına yol açar. Bu durumda *rld1* geninin yaprağın yukarıya doğru kıvrılmasını kontrol ettiği ve sınıf III homodomain lösün fermuar proteinini (HD-ZIPIII) kodladığı kaydedilmiştir (Juarez ve ark., 2004). *rld1* HD-ZIPIII genleri, SAM'ın (shoot apical meristem-sürgün apikal meristemi) orta bölgesinde ve başlangıç yaprak primordiyumunda ifade edilir. Mısırdaki bu polar ifade modeli, miRNA166 veya miRNA165'in abaksiyal ifadesi ile kurulur ve bu durum HD-ZIPIII transkriptlerine kapsamlı tamamlayıcılık sağlar ve bunların bölünmelerini yönlendirir. *rld1* mutantlarının *Arabidopsis* mutantları olan *phabulosa*, *kanadi* ve *YABBY* familyası mutantlarıyla benzer fenotipik özellikler gösterdiği ve stressiz koşullarda yapraklarının kıvrık olduğu rapor edilmiştir (Juarez ve ark., 2004).

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Bitkilerin Büyütülmesi

Mısır (*Zea mays* L.) tohumu (Burak çeşidi) Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden ve *rld1* mutant (normal koşullarda yaprakları kıvrık mutant-*rld1*) tohumu Mısır Genetik Dayanışma Stok Merkezi'nden (Amerika) temin edildi. Beşer adet tohumlar 25×18×12 cm'lik toprak içeren saksılara ekilerek bitki büyütme odasında kontrollü koşullarda (16 saat 22 °C gündüz, 8 saat 18 °C gece sıcaklığında, %50–60 bağıl nemde) dört yapraklı aşamaya kadar (yaklaşık 3-4 hafta) büyütüldü. Bu süre zarfında saksı başına iki günde bir 200 ml su verildi. Dört yapraklı aşamaya gelen bitkiler toprak üstü kısımlarından kesilerek içerisinde saf su bulunan cam tüplere aktararak 1 saat bekletildi.

2.2. Farklı Dehidrin İçeriği Oluşturulup, Yaprak Kıvrılmasının İzlenmesi ve Dehidrin Seviyesinde Meydana Gelen Değişimlerin Belirlenmesi

Yaprak kıvrılması ve dehidrinler arasındaki ilişkiyi belirlemek ve yaprak kıvrılma cevabında dehidrinlerin absisik asit (ABA), salisilik asit (SA) ve hidrojen peroksit ve süperoksit gibi reaktif oksijen türleri ile etkileşimini ortaya koymak amacıyla, öncelikle yapraklarda dehidrin içeriğini artıran salisilik asit (düşük seviyede), absisik asit ve PEG 6000 konsantrasyonu belirlendi. Bunun için literatürdeki bilgilere göre dehidrin içeriğini en fazla artıran 0-200 µM SA (Sun ve ark. 2009) ve 0-150 µM ABA (Zhang ve ark., 2008) ile (-0,5 MPa)-(-0,6 MPa) PEG 6000 (Sun ve ark. 2006) bitkilere uygulandı. Yüksek konsantrasyonda SA uygulamaları (200-1000 µM) sonucu dehidrin içeriğini en fazla azaltan konsantrasyon belirlendi. Dehidrin içerikleri western blot yöntemiyle saptandı. Daha sonra bu etkili konsantrasyonlar kullanılarak bitkiler 8 gruba ayrıldı ve yaprak kıvrılma derecesi (%) ölçüldü.

Farklı dehidrin içeriği oluşturulan bitkiler aşağıdaki gibi gruplandırıldı.

- Birinci grup: Mutant olmayan bitkiler toplam 12 saat saf suda bekletildi (Terzi ve ark., 2014) ve bu uygulamalar “Kontrol” grubu olarak adlandırıldı.

- İkinci grup: Mutant olmayan bitkiler 6 saat saf suda bekletildikten sonra 6 saat PEG 6000 ihtiva eden çözelti içerisinde tutuldu ve bu uygulamalar “PEG” olarak adlandırıldı.
- Üçüncü grup: Mutant olmayan bitkiler dehidrin içeriğini artıran düşük seviyedeki SA (25 μM) ön muamelesine 6 saat maruz bırakıldıktan sonra 6 saat saf suda bekletildi ve bu uygulamalar “25 μM SA” grubu olarak adlandırıldı.
- Dördüncü grup: Mutant olmayan bitkiler dehidrin içeriğini artıran düşük seviyedeki SA (25 μM) ön muamelesine 6 saat maruz bırakıldıktan sonra 6 saat PEG 6000 içeren çözelti içerisinde bekletildi ve bu uygulamalar “25 μM SA+PEG” olarak adlandırıldı.
- Beşinci grup: Mutant olmayan bitkiler dehidrin içeriğini azaltan yüksek seviyedeki SA (200 μM) ön muamelesine 6 saat maruz bırakıldıktan sonra 6 saat saf suda bekletildi ve bu uygulamalar “200 μM SA” grubu olarak adlandırıldı.
- Altıncı grup: Mutant olmayan bitkiler dehidrin içeriğini azaltan yüksek seviyedeki SA (200 μM) ön muamelesine 6 saat maruz bırakıldıktan sonra 6 saat PEG 6000 içeren çözelti içerisinde bekletildi ve bu uygulamalar “200 μM SA+PEG” olarak adlandırıldı.
- Yedinci grup: Mutant olmayan bitkiler dehidrin içeriğini artıran ABA (100 μM) ön muamelesine 6 saat maruz bırakıldıktan sonra 6 saat saf suda bekletildi ve bu uygulamalar “ABA” grubu olarak adlandırıldı.
- Sekizinci grup: Mutant olmayan bitkiler dehidrin içeriğini artıran ABA (100 μM) ön muamelesine 6 saat maruz bırakıldıktan sonra 6 saat PEG 6000 içeren çözelti içerisinde bekletildi ve bu uygulamalar “ABA+PEG” olarak adlandırıldı.

Yukarıda ifade edilen bu uygulamalarla, farklı dehidrin seviyeleri oluşturulup dehidrinlerle içsel reaktif oksijen türleri arasındaki etkileşim ile dehidrin ve yaprak kıvrılması arasındaki ilişki belirlenmiştir.

2.3. Farklı Yaprak Kıvrılma Derecesi Oluşturulup, Dehidrin Seviyesinde Meydana Gelen Değişimlerin Belirlenmesi

Normal koşullarda yaprakları kıvrık mutant (*rolledleaf1*, *rdl1*) ve mutant olmayan bitkiler yukarıda belirtilen şekilde yetiştirildi ve ardından bitkiler 4 gruba ayrıldı.

- Birinci grup: Mutant olmayan bitkiler toplam 12 saat saf suda bekletildi ve “Kontrol” grubu olarak adlandırıldı
- İkinci grup: Mutant olmayan bitkiler 6 saat saf suda bekletildikten sonra 6 saat PEG 6000 ihtiva eden çözelti içerisinde tutuldu ve bu uygulamalar “PEG” olarak adlandırıldı.
- Üçüncü grup: *rld1* mutant bitkiler toplam 12 saat saf suda bekletildi ve bu uygulamalar “*rld1* Kontrol” grubu olarak adlandırıldı.
- Dördüncü grup: *rld1* mutant bitkiler 6 saat saf suda bekletildikten sonra 6 saat PEG 6000 ihtiva eden çözelti içerisinde tutuldu ve bu uygulamalar “*rld1* PEG” olarak adlandırıldı.

Bu uygulamalarla farklı yaprak kıvrılma dereceleri oluşturulup kıvrılma cevabında dehidrinlerle reaktif oksijen türleri arasındaki etkileşim ile dehidrin ve yaprak kıvrılması arasındaki ilişki belirlendi.

Yukarıda belirtilen tüm bitki gruplarında aşağıdaki analizler yapıldı.

2. 4. Yaprak Kıvrılma Derecesinin Ölçülmesi

Yaprak kıvrılma derecesi Kadioğlu ve Terzi (2007)’ye göre belirlendi. Yaprakların kıvrılmasından önce ve sonra yaprakların orta kısımlarının eni ölçüldü. Yaprak kıvrılma derecesi, kıvrılma sonucunda yaprak enindeki % azalma olarak ifade edildi.

2.5. Protein Ekstraksiyonu

Protein ekstraksiyonu için, 0,05 g yaprak sıvı azotta dondurularak homojenizatörde parçalandı. Her bir örnek için protein ekstraksiyon tamponu (PEB, Agrisera AS08 300) 500 µl olacak şekilde kullanıldı ve ekstrakt 4 °C’de 10000 g’de 10 dakika santrifüj edildi. Ardından süpernatant yeni bir tüpe aktarılıp -20 °C’de saklandı. Süpernatanttaki protein konsantrasyonu standart olarak bovin serum albuminin kullanılmasıyla Bradford’a (1976) göre belirlendi. Protein tayini için, hazırlanan ekstraktlardan numune başına 10 µl örnek, 190 µl distile su ve 1000 µl Coomassie Brilliant Blue G250 boyar maddesi kullanıldı ve daha sonra boyar maddesi ile proteinlerin oluşturduğu kompleks 595 nm’de ölçüldü. Protein miktarları standart grafik yardımıyla mg protein/g taze ağırlık olarak hesaplandı.

2.5.1. SDS PAGE ve Western Blot Analizleri

SDS PAGE ve dehidrin western blot analizleri için, 20 µg/20µl total protein ile protein moleküler ağırlık standardı (Western C protein standart, Bio-Rad) poliakrilamid jele yüklendi (Mini Protein %4-20 protein jel Bio-Rad, 4568095). Jel 80 mA'de 30-40 dk elektroforez tamponunda yürütüldü. Jelde yürütülmüş proteinler, PVDF membrana (Transblot Turbo Transfer Paket, Bio Rad 1704156) blotlama cihazı (Trans Blot Turbo Sistem, Bio Rad 1704155) ile aktarıldı. Immun belirleme için blotlanmış membran, 1 saat süreyle blotlama solüsyonuna (%5 yağsız kuru süt, 24,8 mM Tris, pH 7,4, 150 mM NaCl, 2,7 mM KCl ve %0,5 Tween 20 (TTBS) alındı. Membran sallayıcıda 10 dakika boyunca 5 dakika aralıklar ile 2 kez TTBS ile yıkandı. Ardından 1 gece boyunca poliklonal tavşan anti dehidrin primer antikoru (Agrisera AS07 206) ile inkübe edildi. TTBS ile 10 dakika süresince 5 dakika aralıklar ile 2 kez yıkamanın ardından membran, alkalın fosfataz bağlı keçi anti rabbit immunoglobulin G (IgG) poliklonal antikoru (Sigma A4187) ile 4 saat muamele edildi. Beş dakikalık 2 yıkamanın ardından, ortama 5- BCIP/NBT içeren alkalın fosfataz substrat (Bio Rad 1706432) solüsyonu eklendi ve reaksiyon için yaklaşık olarak 15 dakika beklendi. Membran su ile yıkandı ve görüntüleme sistemi ile resimlendi (ChemiDoc MP sistem, Bio Rad) ve kullanılan markere göre miktarları tespit edildi (Image Lab 5.1 Bio Rad).

2.6. Süperoksit Radikalinin Belirlenmesi

Süperoksit oluşumu spektrofotometrik olarak Frahry ve Schopfer (2001)'e göre gerçekleştirildi. Bu metotta tetrazolyum tuzu XTT'nin NADPH ya da NADH tarafından indirgenmesi 470 nm'de 25 dakika boyunca takip edilerek süperoksit radikali belirlendi.

2.7. Hidrojen Peroksit İçeriğinin Belirlenmesi

Yaprak örneklerinden 0,1 gr tartılıp sıvı azotta dondurduktan sonra homojenizatörde 5 dakika parçalandı. Üzerine 1800 µl trikloroasetik asit (TCA) koyarak 5 dakika hemojenize edildi. Ardından 4 °C'de 10000 g'de 15 dakikasantrifüj edilerek süpernatantlar alındı. Süpernatanttan 0,5 ml alınarak üzerine 0,5 ml 10 mM potasyum fosfat (pH 7,0) ve

0,75 ml 1 M KI ilave edildi ve spektrofotometrede 390 nm’de ölçüldü. H₂O₂ içeriği $\mu\text{mol g}^{-1}$ taze ağırlık olarak ifade edildi.

2.8. Nispi Su İçeriğinin Belirlenmesi

Yaprak numunelerinin nispi su içeriğini (NSİ) belirlemek için yaprak taze ağırlıkları (TA) kaydedildi. Ardından yaprak numuneleri +4°C’de deiyonize su içerisine alındı ve 24 saat tutularak turgid (TuA) ağırlıkları belirlendi (Castillo 1996). Daha sonra örnekler 65°C’ye ayarlanmış etüv içerisine bırakılarak 48 saat sonunda kuru ağırlıkları (KA) kaydedildi. NSİ ölçümü için elde edilen değerler aşağıda belirtilen formülde yerine yazılarak hesaplama yapıldı.

$$\text{NSİ (\%)} = (\text{TA}-\text{KA}/\text{TuA}-\text{KA})\times 100$$

2.9. Dehidrin Gen İfadesinin Real-Time PCR ile Belirlenmesi

Dehidrin nispi gen ifadesi belirlenecek genler için gerekli primerler, NCBI veri tabanındaki gen sekansları esas alınarak Primer 3 Plus Programı ile primer dizaynı yapıldı (<http://primer3plus.com>). Baz sırası düzenlenen primerler yine aynı web sitesi ve aynı programla blast yapıldı ve primerlerin eşleşme oranları incelendi. Primerlerin dehidrin geni için uygun bölgelerle bağlantı yapabileceği doğrulandı. Gen ifadesi çalışmalarında referans gen olduğu bilinen *AKTIN 1* geni için ayrıca primer dizaynı yapıldı.

2.10. RNA İzolasyonu, cDNA Üretimi ve Real-Time PCR Ölçümleri

Taze ya da -80 °C’de donmuş bitki örneklerinden 0,1 g kadar alındı ve toplam RNA izolasyonu bu örnekler kullanılarak gerçekleştirildi. Bu örnekler üzerine sıvı azot döküldü ve ardından örnekler bir doku homojenizatörü yardımıyla parçalandı. Daha sonra, toplam RNA izolasyon kiti (Pure Link RNA Mini Kit 121830018A, Ambion Applied Life Tech.) aracılığıyla ve satıcı firmanın belirttiği prosedüre uygun olarak toplam RNA izolasyonu işlemleri tamamlandı. RNA eldesinin miktarını ve saflığını belirlemek için nanodrop spektrofotometre (Thermo Scientific, Nanodrop 2000, Amerika) kullanılarak ölçüm

yapıldı. Bu elde edilen RNA örneklerinden cDNA sentezi yapılana kadar örnekler -80 °C’de bekletildi. Elde edilen RNA örneklerinden her bir bitki numunesi için cDNA (2000 ng) elde edildi. cDNA sentezinin gerçekleştirilmesi için kit (High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit 4368814, Applied Biosystems) kullanıldı. Elde edilen cDNA’lar daha sonra yapılacak olan Real Time PCR analizleri için -20 °C’de bekletildi. Elde edilen cDNA kalıpları ile Real Time PCR işlemleri gerçekleştirildi. Gen ifadesi ölçümü için örnekler üzerine 5X HOT FIREPol Eva Green qPCR Supermix (08-36-00008, Solis Biodyne) ilave edildi ve CFX Connect Real Time PCR System (BioRad) laboratuvar cihazı ile okuma yapıldı. Real Time PCR işlemleri Solis Biodyne firmasının önerdiği işlem basamakları düzenlenerek; 95 °C’de 12 dakika, 95 °C’de 15 saniye 45 döngü, 60,0 °C’de 30 saniye, 72,0 °C’de 30 saniye, erime eğrisi için 65,0 °C’den 95 °C’ye 0,5 °C’lik artışlarla yapıldı. Her örneğe ait biyolojik tekrarlar 3 tekrür olacak şekilde istatistik analiz yapıldı. Gen ifadesi çalışmalarında referans gen olduğu bilinen *AKT1N 1* genine özel primerlerle yukarıda belirtilen paralel işlemler yapıldı.

Tablo 1. *DHN2* gen ifade seviyesi için RT-PCR protokolü

Adım	Sıcaklık	Süre	Döngü
Başlangıç Aktivasyonu	95 °C	12 dakika	1
Denaturasyon	95 °C	15 saniye	44
Bağlanma	60 °C	30 saniye	
Uzama	72 °C	30 saniye	
Plate Okuma	-	-	
Erime Eğrisi İşlemleri	65 °C -95 °C arası yarım °C’lik artışlar ve 5 saniye arayla plate okuması		-

Tablo 2. *DHN2* genine özgü primer sekansları

Gen Adı	NCBI Erişim No	Primer Adı ve Sekansı
<i>AKT1N 1</i>	NM_001155179.1	ACT1Zm_F: “GAAGATCACCCCTGTGCTGCT” ACT1Zm_R: “ACCAGTTGTTTCGCCCACTAG”
<i>DHN2</i>	NM_001154006.1	DHRNZm_F: “GAAGGTAGCTAGCGTTGGCA” DHRNZm_R: “ACCACGTCCTACACAAGCAG”

2.11. İstatistiki Analizler

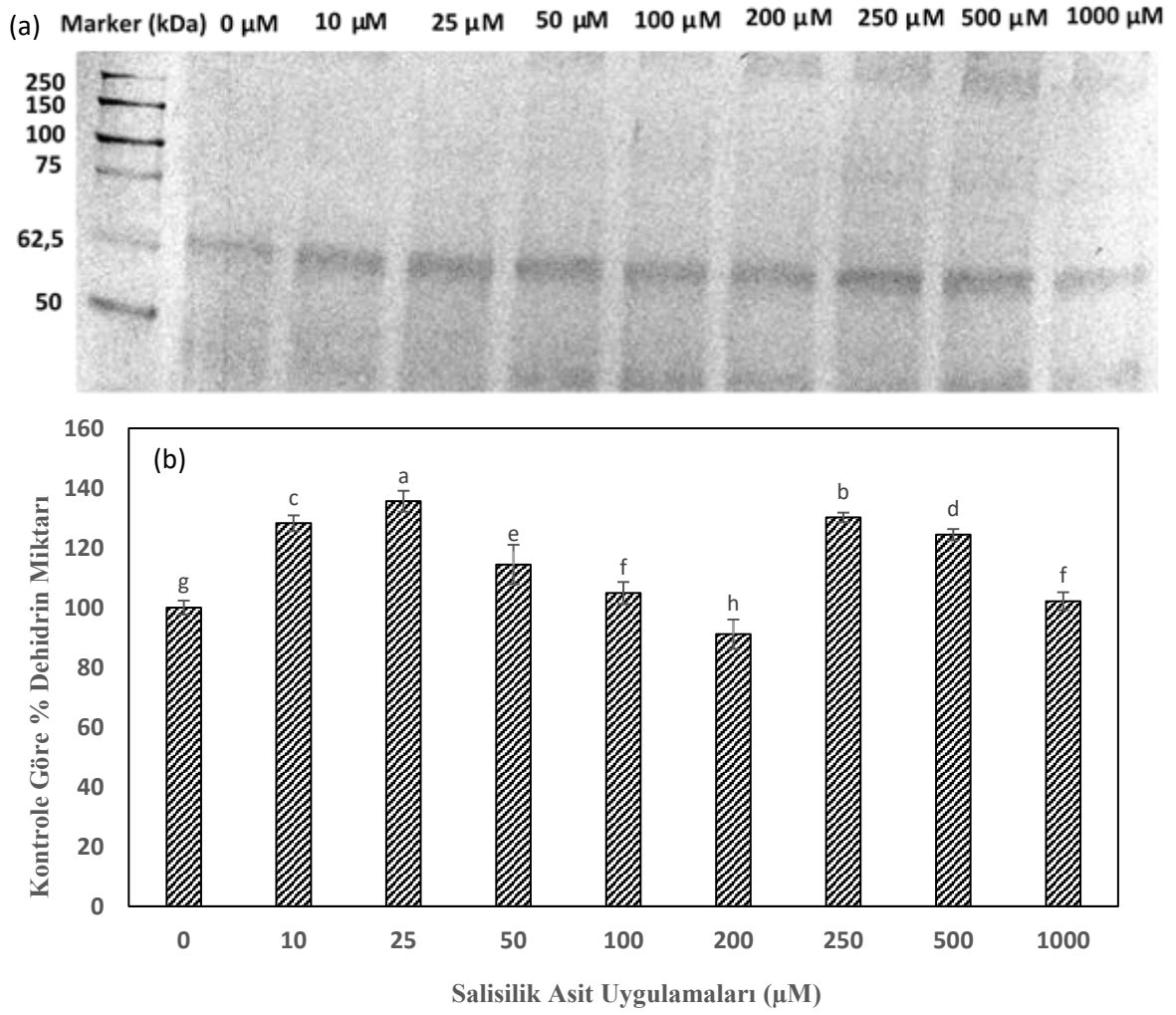
Denemeler, tesadüf parseller deneme deseni planında kurulacak olup, 3 paralel ve en az 5 tekrarlı olarak yapıldı. Uygulamalara bağılı olarak yapılan örnekleme ve ekstraksiyonlar sonucu elde edilen veriler, Windows tabanlı, lisanslı bir paket program olan Statistic Package for Social Sciences (SPSS) ile bilgisayar ortamında ANOVA varyans analiz testleri ile değerlendirildi.



3. BULGULAR

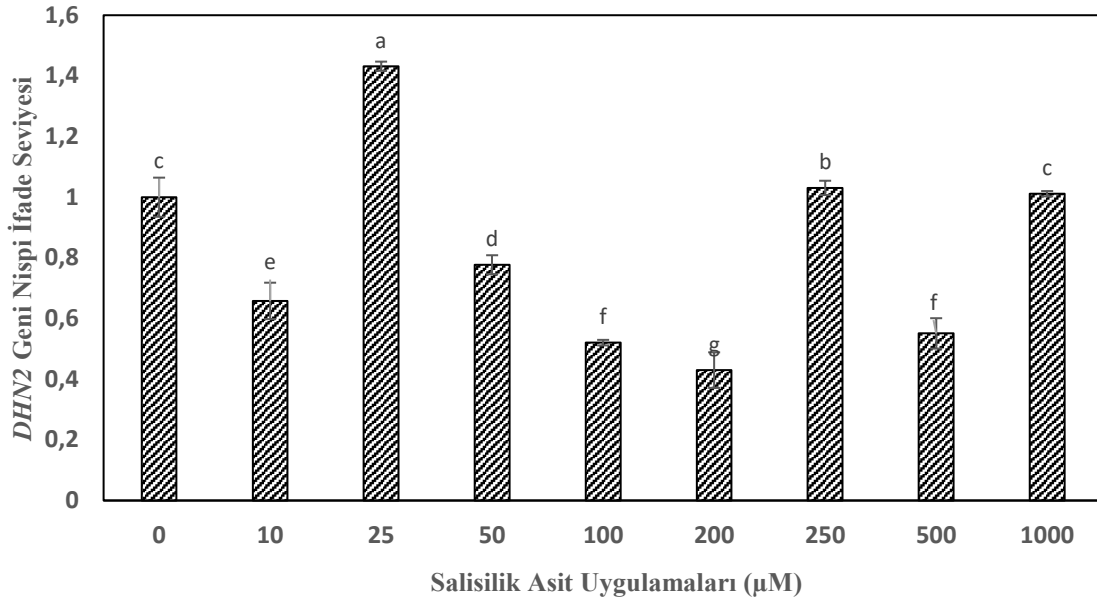
3.1. Farklı Dehidrin İçeriği Oluşturulup, Yaprak Kıvrılmasının İzlenmesi ve Dehidrin Seviyesinde Meydana Gelen Değişimlerin Belirlenmesi

Farklı dehidrin içeriği oluşturulup yaprak kıvrılmasının izlenmesi ve dehidrin seviyesinde meydana gelen değişimleri belirlemek amacıyla fideler 9 farklı konsantrasyonda hazırlanmış olan salisilik asit (SA) solüsyonlarına (0, 10, 25, 50, 100, 200, 250, 500 ve 1000 μM) 6 saat maruz bırakıldıktan sonra 6 saat kuraklık stresi (%5 PEG 6000) uygulandı. Farklı konsantrasyonlarda SA uygulamalarından sonra western blot yöntemiyle dehidrin seviyelerinde meydana gelen değişimler değerlendirildi. Farklı konsantrasyonlarda SA ile muamele edilen fidelerde dehidrin seviyesinin değiştiği saptandı. PEG uygulanan fidelerle kıyaslandığında (SA ön muamelesiz; kontrol) dehidrin protein seviyesinin en fazla 25 μM SA uygulanan fidelerde arttığı, 200 μM SA uygulanan fidelerde azaldığı sonucuna varıldı (şekil 3).



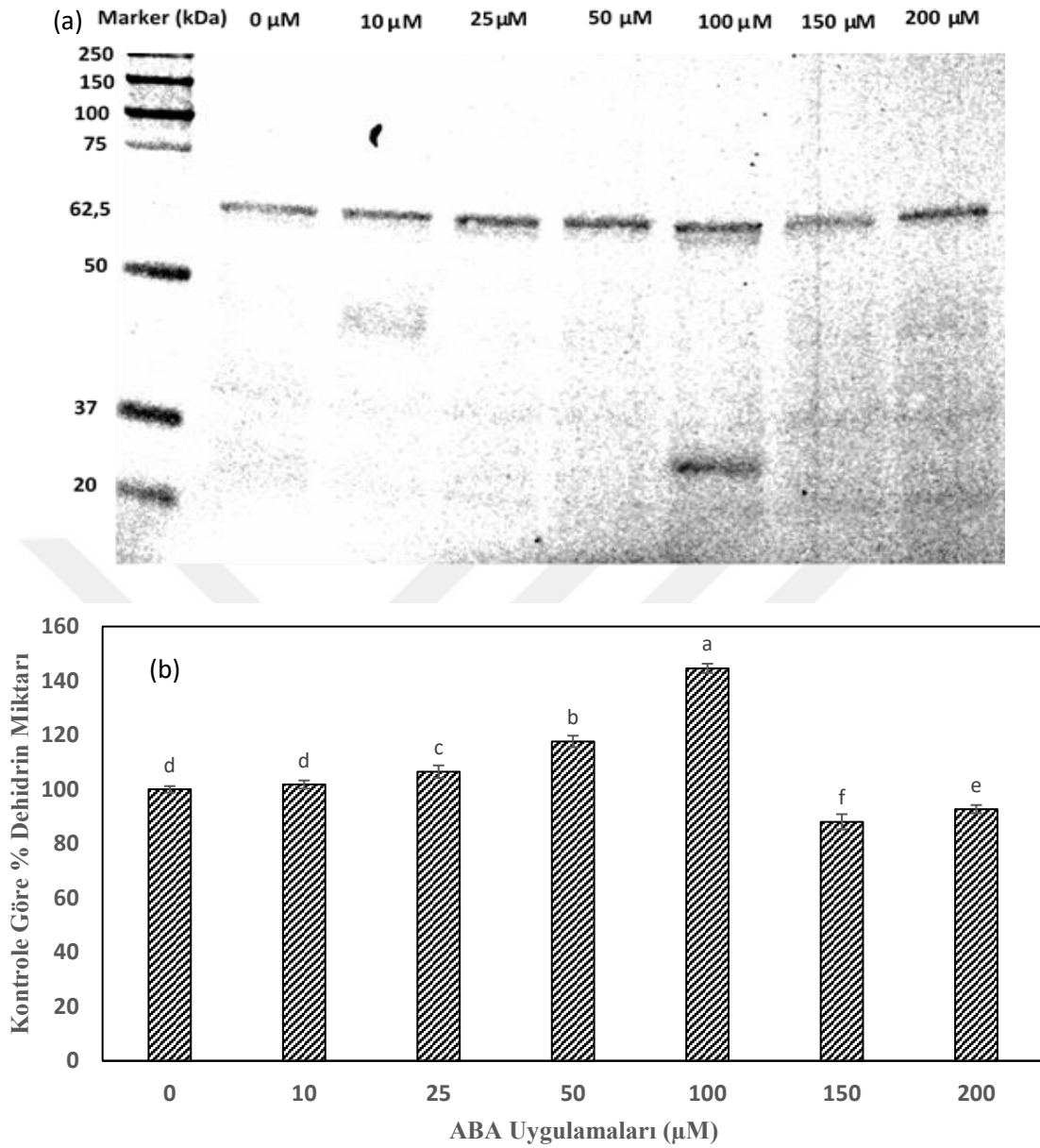
Şekil 3. Osmotik stres ortamında farklı konsantrasyonlarda SA ile muamele edilen mısır fidelerinin dehidrin proteinlerinin western blot analizleri (a) ve dehidrin band yoğunluklarının kontrole göre % olarak ifadesi (b).

Dehidrin seviyesindeki değişimi kesin olarak belirlemek için yukarıda ifade edildiği gibi dehidrin gen ifadesi real time-PCR ile ölçüldü ve elde edilen verilerin western blot sonuçlarını destekler nitelikte olduğu görüldü (Şekil 4). Bu nedenle bundan sonraki çalışmalarda dehidrin seviyesini artıran konsantrasyon olarak 25 μ M SA, azaltan konsantrasyon olarak 200 μ M SA kullanılmasına karar verildi.



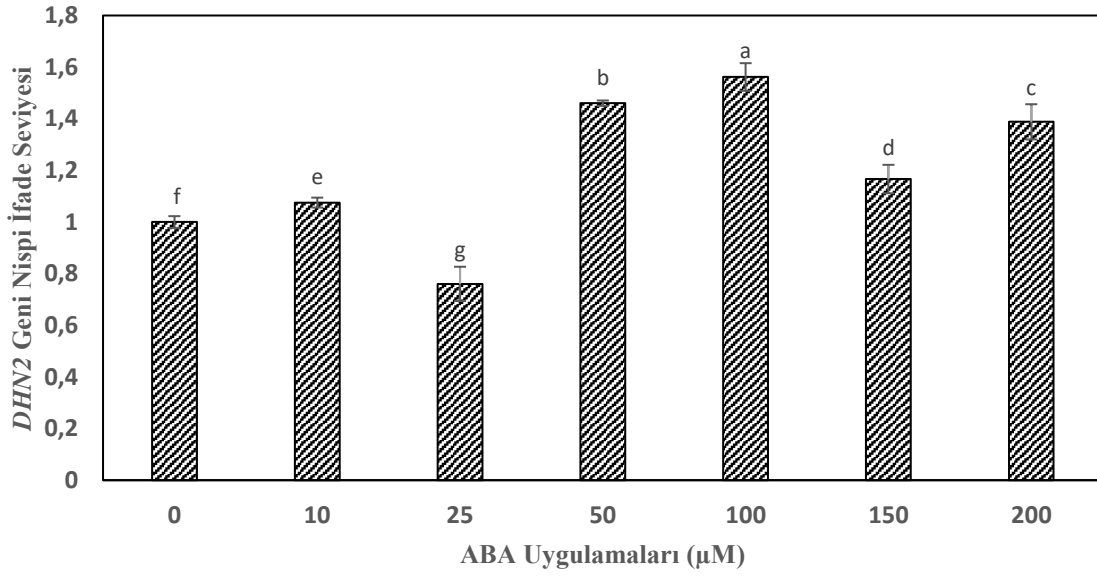
Şekil 4. Ozmotik stres ortamında farklı konsantrasyonlarda SA ile muamele edilen mısır fidelerinin *DHN2* geni nispi ifade seviyesi.

Benzer şekilde dehidrin içeriğini artıran absisik asit (ABA) konsantrasyonunu belirlemek amacıyla fideler 7 farklı konsantrasyonda hazırlanmış olan ABA solüsyonlarına (0, 10, 25, 50, 100, 150 ve 200 µM) 6 saat maruz bırakıldıktan sonra 6 saat kuraklık stresi (%5 PEG 6000) uygulandı. Farklı konsantrasyonlarda ABA uygulamalarından sonra western blot yöntemiyle dehidrin seviyelerinde meydana gelen değişimler değerlendirildi. PEG uygulanan fidelerle kıyaslandığında (ABA ön muamelesiz; kontrol) dehidrin protein seviyesinin en fazla 100 µM ABA uygulanan fidelerde arttığı sonucuna varıldı (Şekil 5).



Şekil 5. Ozmotik stres ortamında farklı konsantrasyonlarda ABA ile muamele edilen mısır fidelerinin dehidrin proteinlerinin western blot analizleri (a) ve dehidrin band yoğunluklarının kontrole göre % olarak ifadesi (b).

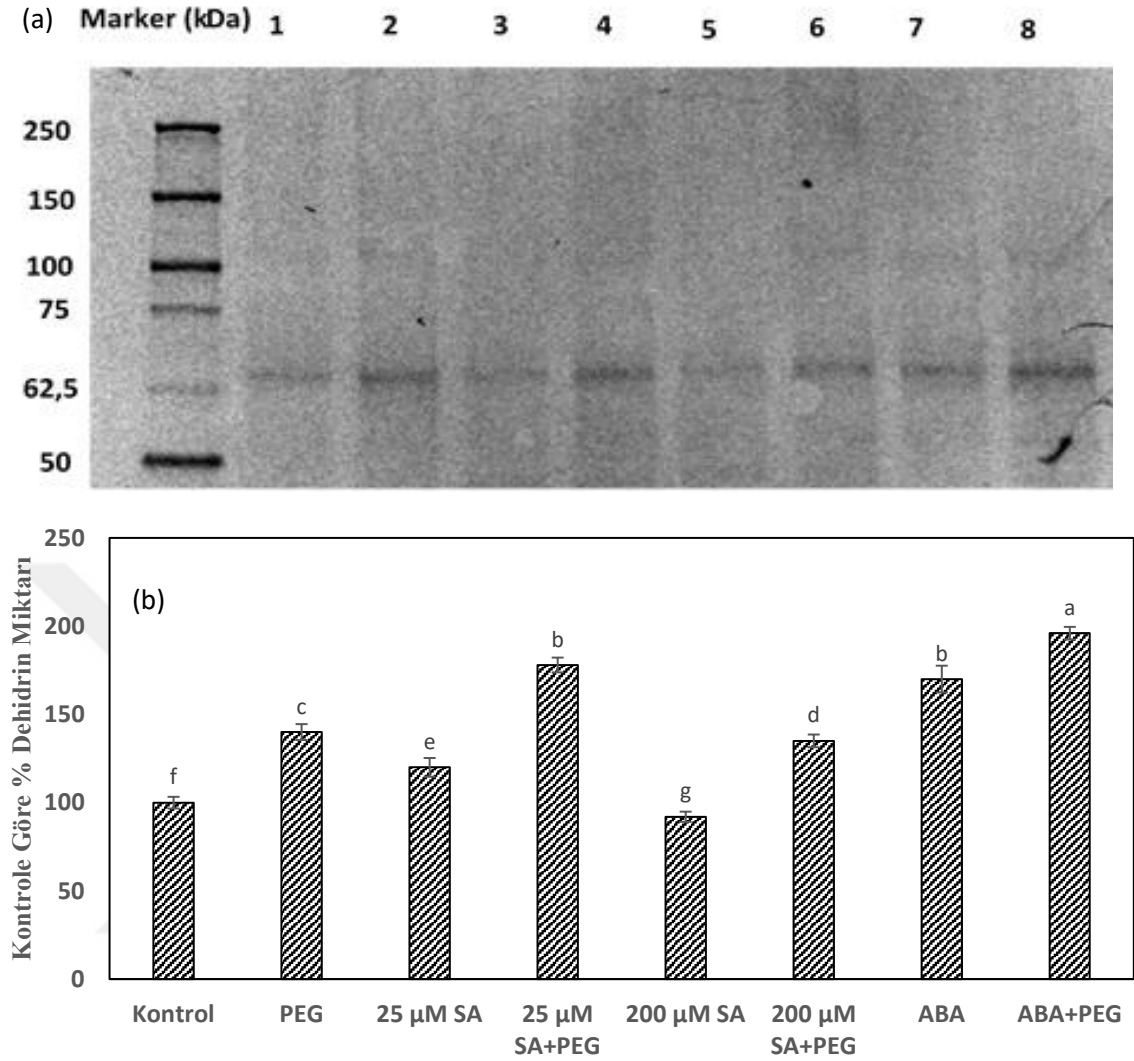
Ayrıca dehidrin geni nispi ifade seviyesinde meydana gelen değişimlerin western blot sonuçlarını destekler nitelikte olduğu saptandı (Şekil 6). Bu nedenle dehidrin seviyesini artıran konsantrasyon olarak 100 μM ABA kullanılmasına karar verildi.



Şekil 6. Ozmotik stres ortamında farklı konsantrasyonlarda ABA ile muamele edilen mısır fidelerinin *DHN2* geni nispi ifade seviyesi. Sütunlar üzerindeki barlar standart sapmayı göstermektedir (n=3). Aynı harfle gösterilen sütunlar arasındaki fark %5 ($P<0.05$) seviyesinde önemsizdir.

Yapılan bu çalışmalar sonucunda dehidrin seviyesini artıran SA ve ABA ile dehidrin seviyesini azaltan SA konsantrasyonları belirlendi. Daha sonra ise materyal ve yöntemler bölümünde açıklandığı şekilde bitkiler 8 gruba ayrıldı ve western blot yöntemiyle dehidrin seviyesinde meydana gelen değişimlere paralel olarak fidelerin yaprak kıvrılma dereceleri ölçüldü.

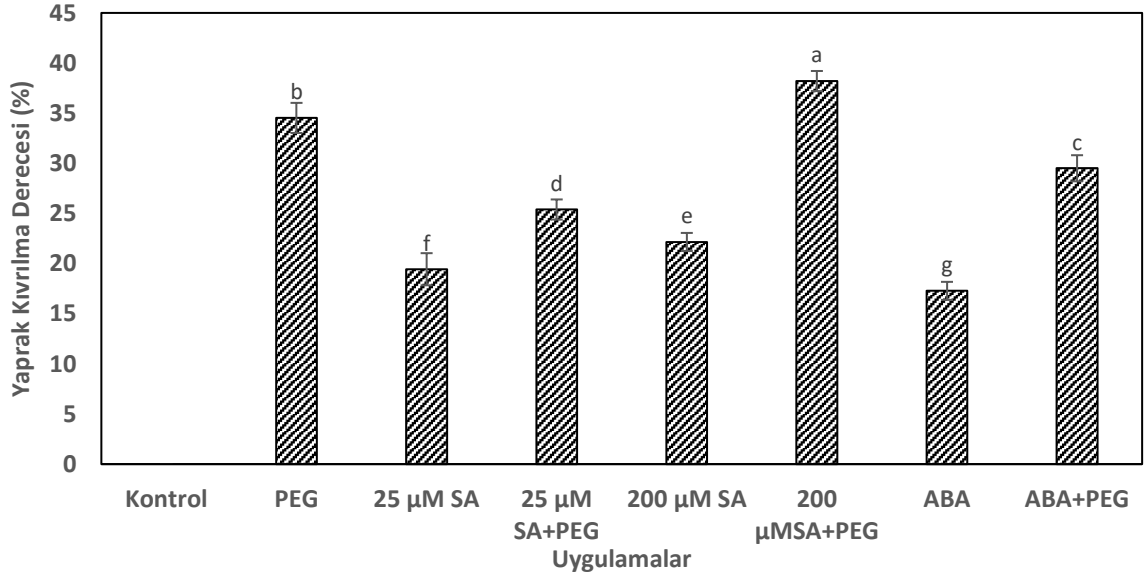
Western blot analizleri kontrol grubuyla kıyaslandığında tüm uygulamalarda dehidrin seviyesinde önemli farklılıkların olduğunu gösterdi. Densitometri (dehidrin band yoğunluğu) verilerine göre kontrolle kıyaslandığında en önemli farklılığın 100 µM ABA uygulanan ve ozmotik strese maruz kalan fidelerde olduğu kaydedildi. 25 µM SA uygulanan fidelerde de dehidrin seviyesinin arttığı bulundu. Yine sadece PEG uygulanan fidelerde dehidrin seviyesinin arttığı fakat bu artışın 100 µM ABA ve 25 µM SA uygulamalarındaki kadar fazla olmadığı tespit edildi. Diğer taraftan 200 µM uygulanan SA'nın dehidrinleri baskıladığı belirlendi (Şekil 7).



Şekil 7. Kontrol şartlarında ve ozmotik stres ortamında farklı uygulamalara maruz bırakılan mısır fidelerinin dehidrin proteinlerinin western blot analizleri (a) ve dehidrin band yoğunluklarının kontrole göre % olarak ifadesi (b).

Yukarıdaki uygulamalara paralel olarak ozmotik stres ortamında yaprak kıvrılma derecesi de değerlendirildi. Kontrol (saf su) grubu bitkilerinde yaprak kıvrılması gözlenmezken, diğer grup bitkilerde kıvrılmanın olduğu belirlendi. PEG uygulanan fidelerde kontrole kıyaslandığında yaprak kıvrılma derecesinin arttığı bulundu. Ozmotik stres koşullarında 25 µM SA ve 100 µM ABA uygulamalarından sonra PEG grubuyla kıyaslandığında kıvrılma derecesinin azaldığı, 200 µM SA uygulamasından sonra ise kıvrılmanın arttığı bulundu. PEG uygulanan fidelerde yaprak kıvrılma derecesi %34,53 olarak ölçülürken, 25 µM SA ve 100 µM ABA uygulanan gruplarda %25,4 ve %29,51, 200 µM SA uygulanan grupta ise bu değer %38,21 olduğu kaydedildi (Şekil 8). Bu

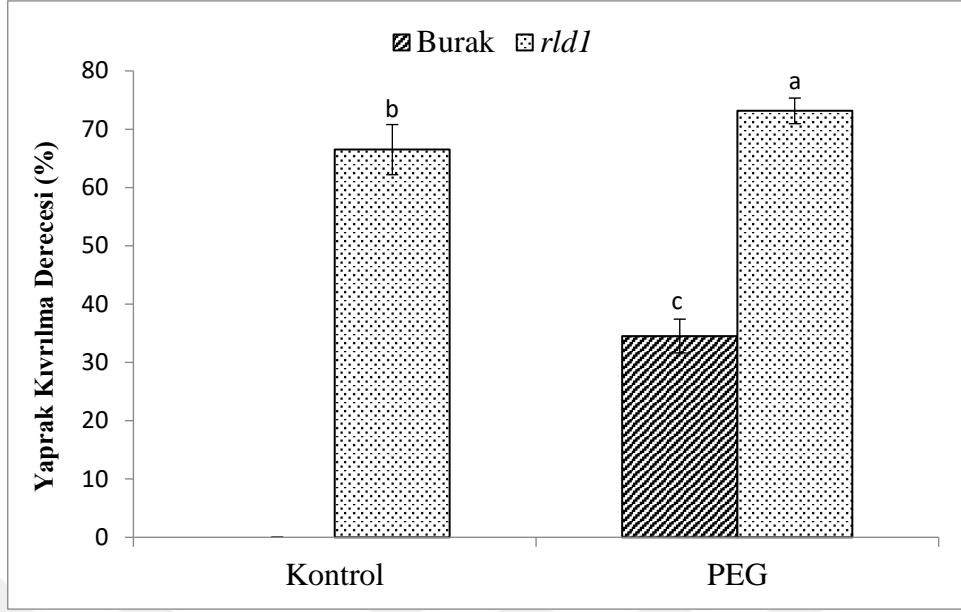
sonuçlar SA ve ABA aracılığıyla artan dehidrin içeriğinin yaprak kıvrılmasını azalttığını gösterdi.



Şekil 8. Kontrol şartlarında ve ozmotik stres ortamında farklı dehidrin içeriği oluşturulan mısır fidelerinin yaprak kıvrılma derecesi (%).

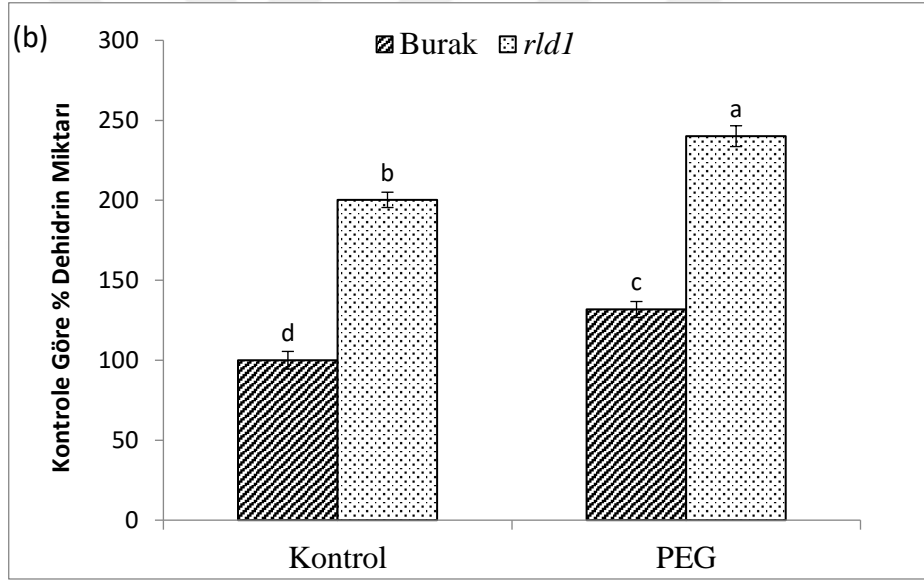
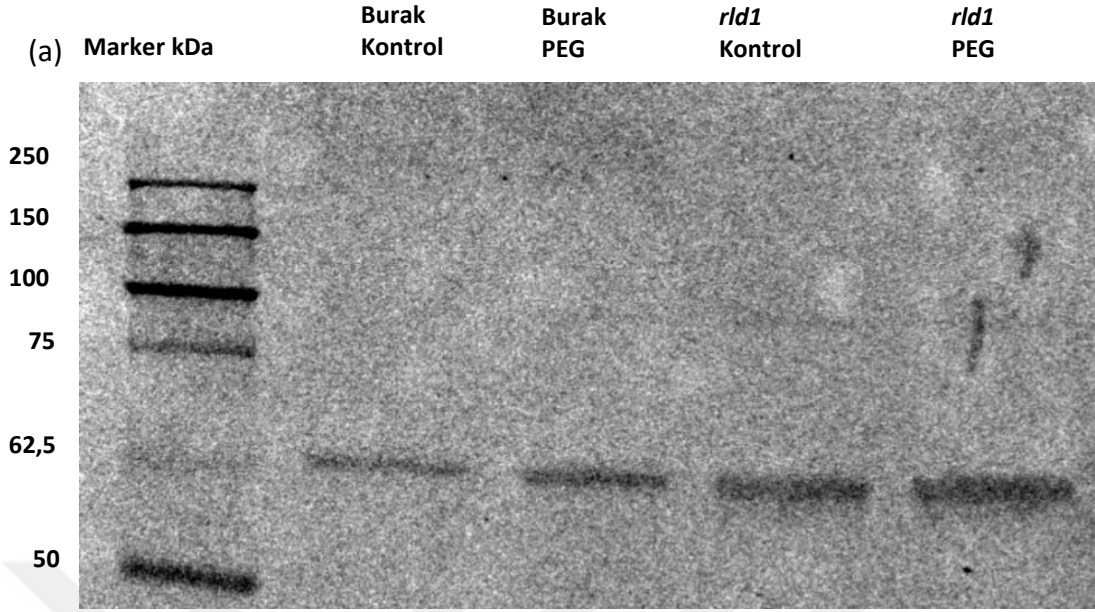
3.2. Farklı Yaprak Kıvrılma Derecesi Oluşturulup, Dehidrin Seviyesinde Meydana Gelen Değişimlerin Belirlenmesi

Farklı yaprak kıvrılma derecesi oluşturulup, dehidrin seviyesinde meydana gelen değişimleri belirlemek için materyal ve yöntemler bölümünde açıklandığı şekilde bitkiler 4 gruba ayrıldı ve ilk olarak yaprak kıvrılma derecesi değerlendirildi. Burak Kontrol (saf su) grubu bitkilerinde yaprak kıvrılması gözlenmezken, *rd1* Kontrol grubunda %66,50 kıvrılmanın olduğu belirlendi. Burak PEG grubu bitkilerde 12 saat sonunda yaprak kıvrılma derecesi %34,53 olarak ölçülürken, bu değerin *rd1* PEG grubunda %73,15 olduğu belirlendi (Şekil 9).



Şekil 9. Mutant mısır bitkilerinin yaprak kıvrılma derecesindeki (%) değişimlerin mutant olmayan bitkilerle karşılaştırılması.

Western blot analizleri Burak Kontrol grubuyla kıyaslandığında tüm uygulamalarda dehidrin seviyesinde önemli farklılıkların olduğunu gösterdi. Yaprak kıvrılma derecesinin artışına paralel olarak dehidrin seviyesinin arttığı kaydedildi. Densitometri (dehidrin band yoğunluğu) verilerine göre Burak Kontrol ile kıyaslandığında en fazla dehidrin içeriğinin *rld1* PEG fidelerinde yani % yaprak kıvrılma derecesi en fazla olan fidelerde olduğu görüldü (Şekil 10).

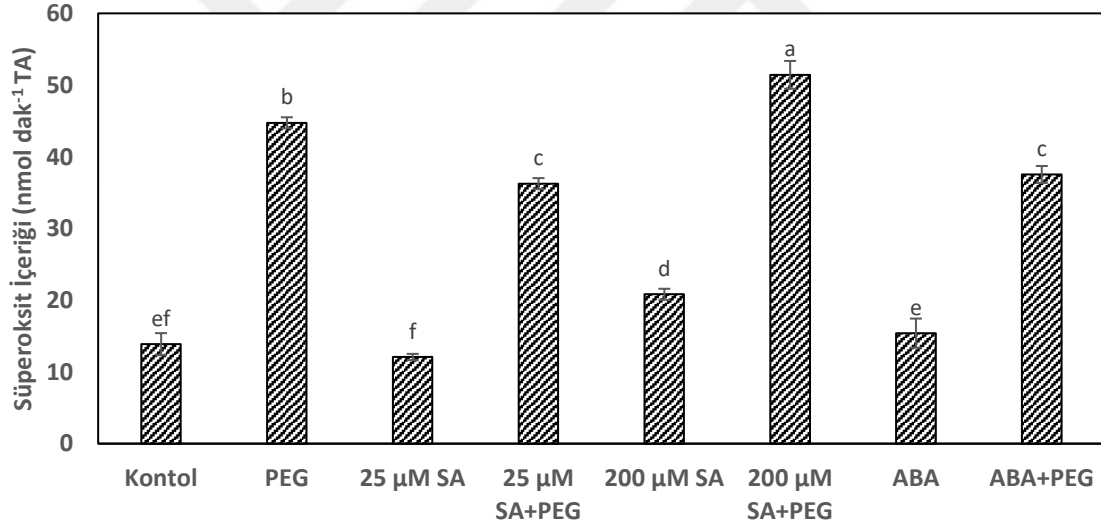


Şekil 10. Farklı yaprak kıvrılması oluşturulan mısır bitkilerinde western blot analizleri (a) ve Burak kontrolüne göre % dehidrin miktarındaki değişimler.

3.3. Yaprak Kıvrılma Cevabında Dehidrin ile Reaktif Oksijen Türleri Arasındaki İlişkinin Belirlenmesi

3.3.1. Farklı Dehidrin İçeriği Oluşturulan Bitkilerin Süperoksit İçeriğindeki Değişimler

Dehidrin ile reaktif oksijen türleri arasındaki ilişkiyi belirlemek için süperoksit radikalinde meydana gelen değişimler saptandı. Elde edilen bulgulara göre, stressiz koşullarda 25 μM SA ve 100 μM ABA uygulanan bitkilerde süperoksit içeriğinin değişmediği, 200 μM SA uygulamasından sonra arttığı bulundu. Ozmotik stres koşullarında PEG uygulanan bitkilerle kıyaslandığında 25 μM SA ve 100 μM ABA uygulamalarından sonra süperoksit içeriğinin azaldığı, 200 μM SA uygulamasından sonra ise arttığı belirlendi (Şekil 11).

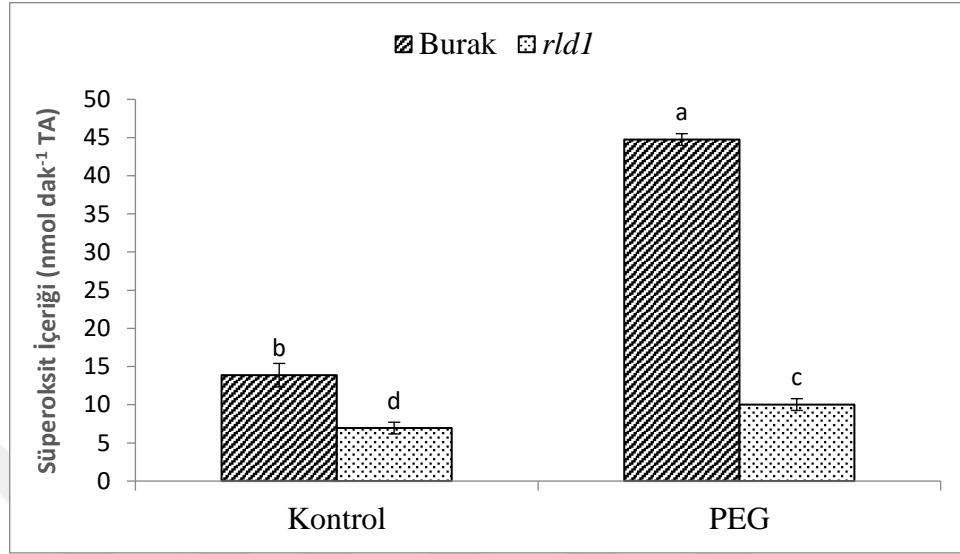


Şekil 11. Farklı dehidrin içeriği oluşturulan mısır bitkilerinde süperoksit içeriğinde meydana gelen değişimler.

3.3.2. Farklı Yaprak Kıvrılma Derecesi Oluşturulan Bitkilerin Süperoksit İçeriğindeki Değişimler

Yapılan ölçümler sonucunda süperoksit içeriğinin Burak Kontrol ile kıyaslandığında PEG uygulanan bitkilerde arttığı, *rdl1* Kontrol bitkilerinde ise azaldığı bulundu. PEG uygulanan bitkilerde süperoksit içeriğinin arttığı görüldü. Yaprak kıvrılma derecesi (%) ve

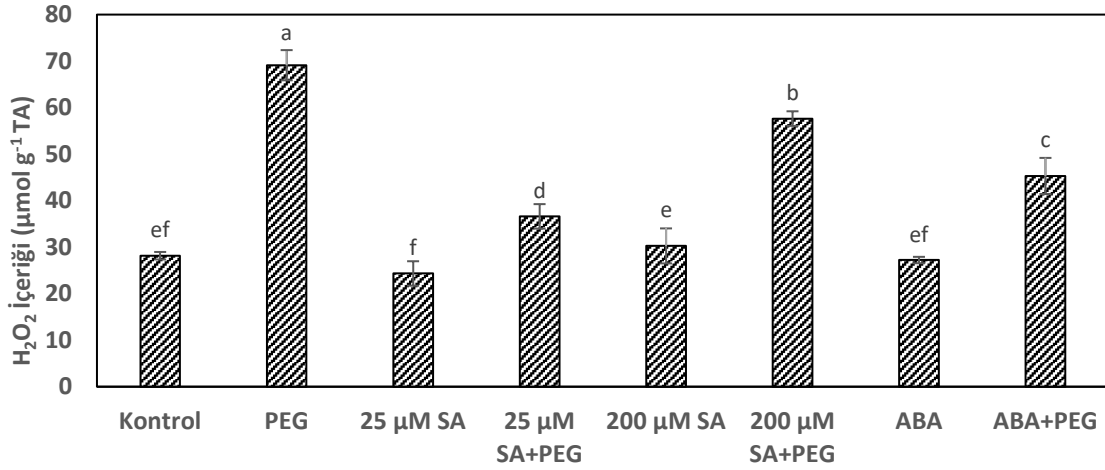
dehidrin seviyesi en fazla olan *rld1* PEG uygulanan bitkilerde süperoksit içeriğinin düşük olduğu belirlendi (Şekil 12).



Şekil 12. Farklı yaprak kıvrılma derecesi oluşturulan mısır bitkilerinde süperoksit içeriğinde meydana gelen değişimler.

3.3.3. Farklı Dehidrin İçeriği Oluşturulan Bitkilerin Hidrojen Peroksit İçeriğindeki Değişimler

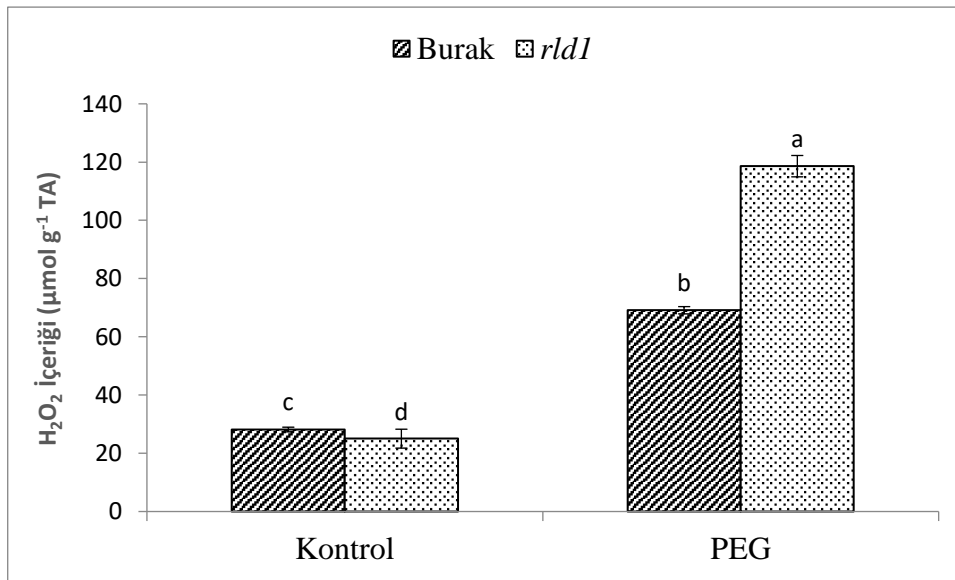
Kontrol grubuyla kıyaslandığında tüm uygulamalarda H₂O₂ içeriğinde önemli farklılıkların olduğunu saptandı. Stressiz koşullarda 25 µM SA, 200 µM SA ve 100 µM ABA uygulanan gruplarda H₂O₂ içeriğinin değişmediği bulundu. Osmotik stres koşullarında 25 µM SA, 200 µM SA ve 100 µM ABA uygulanan gruplarda H₂O₂ içeriğinin azaldığı saptandı. H₂O₂ içeriğindeki en fazla azalışın 25 µM SA uygulanan bitkilerde olduğu gözlemlendi (Şekil 13).



Şekil 13. Farklı dehidrin içeriği oluşturulan mısır bitkilerinde hidrojen peroksit (H₂O₂) içeriğinde meydana gelen değişimler.

3.3.4. Farklı Yaprak Kıvrılma Derecesi Oluşturulan Bitkilerin Hidrojen Peroksit İçeriğindeki Değişimler

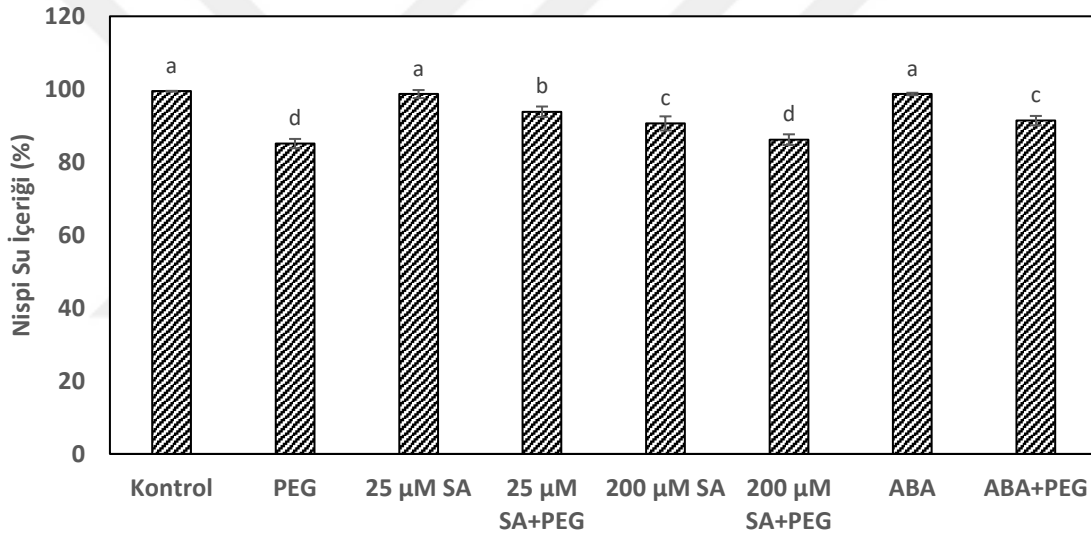
Yapılan ölçümler sonucunda H₂O₂ içeriğinin Burak Kontrol ile kıyaslandığında PEG uygulanan bitkilerde önemli ölçüde arttığı, *rd1* Kontrol bitkilerinde ise azaldığı bulundu. PEG uygulanan bitkilerde H₂O₂ içeriğindeki artışın yaprak kıvrılma derecesi ve dehidrin seviyesi en fazla olan *rd1* PEG bitkilerinde daha da arttığı belirlendi (Şekil 14).



Şekil 14. Farklı yaprak kıvrılma derecesi oluşturulan mısır bitkilerinde hidrojen peroksit (H₂O₂) içeriğinde meydana gelen değişimler.

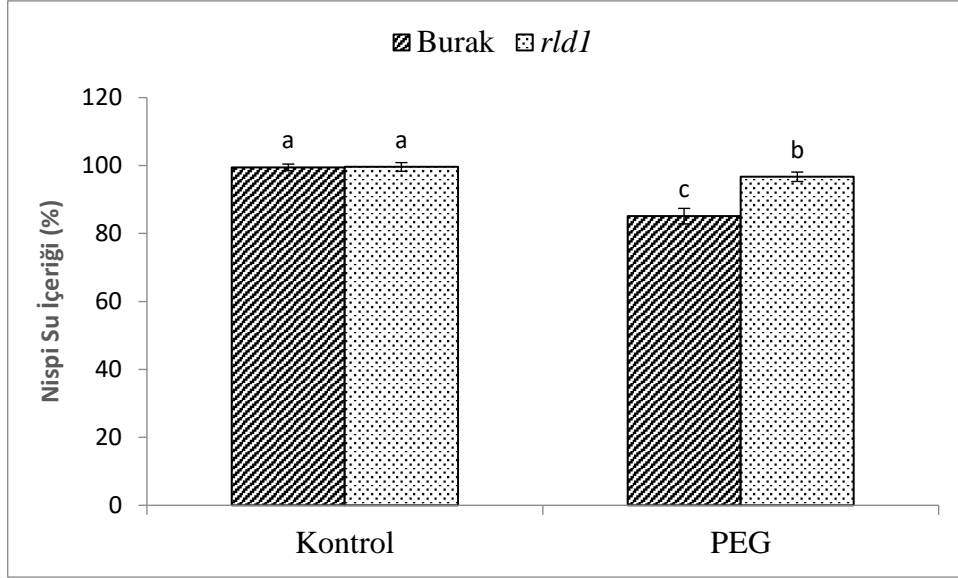
3.4. Yaprak Kıvrılma Cevabında Dehidrin ile Nispi Su İçeriği Arasındaki İlişkinin Belirlenmesi

Farklı dehidrin içeriği oluşturulan bitkilerde yapılan ölçümler sonucunda stressiz koşullarda 25 μ M SA ve 100 μ M ABA uygulamalarından sonra NSİ içeriğinin değişmediği, 200 μ M SA uygulamasından sonra azaldığı saptandı. Kontrolle kıyaslandığında (%99,5), 25 μ M SA ve 100 μ M ABA uygulanan bitkilerde NSİ'nin sırasıyla %98,6 ve %98,7 olduğu kaydedildi. 200 μ M SA uygulanan bitkilerde ise NSİ'nin kontrole göre azaldığı (%90,6) saptandı. Ozmotik stres koşullarında 25 μ M SA ve 100 μ M ABA uygulamalarından sonra NSİ'nin arttığı, 200 μ M SA uygulamasından sonra ise değişmediği gözlemlendi (Şekil 15).



Şekil 15. Farklı dehidrin içeriği oluşturulan mısır bitkilerinde nispi su içeriğinde (%) meydana gelen değişimler.

Farklı yaprak kıvrılma derecesi oluşturulan bitkilerde yapılan ölçümler sonucunda Burak Kontrol ile (%99,5) kıyaslandığında NSİ'nin PEG uygulanan bitkilerde azaldığı (%85,1), *rdl1* Kontrol (%99,6) bitkilerinde değişmediği bulundu. Diğer taraftan, PEG uygulanan bitkilerle kıyaslandığında NSİ değerinin *rdl1* PEG uygulanan bitkilerde arttığı (%96,7) kaydedildi (Şekil 16).

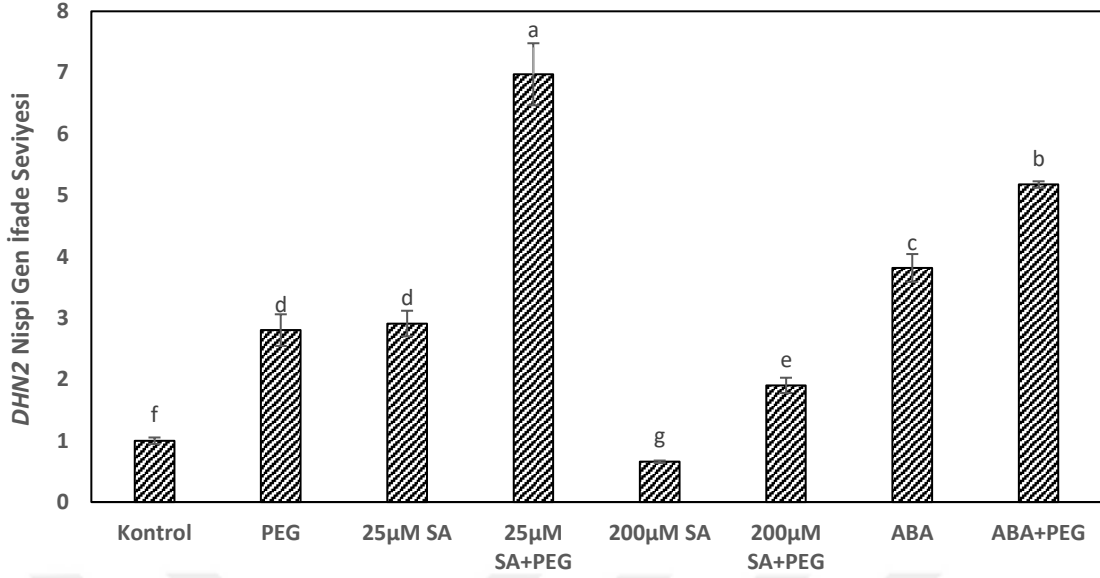


Şekil 16. Farklı yaprak kıvrılma derecesi oluşturulan mısır bitkilerinde nispi su içeriğinde (%) meydana gelen değişimler.

3.5. Dehidrin Gen İfadesinin Real-Time PCR ile Belirlenmesi

3.5.1. Farklı Dehidrin İçeriği Oluşturulan Bitkilerin *DHN2* Nispi Gen İfade Seviyesindeki Değişimler

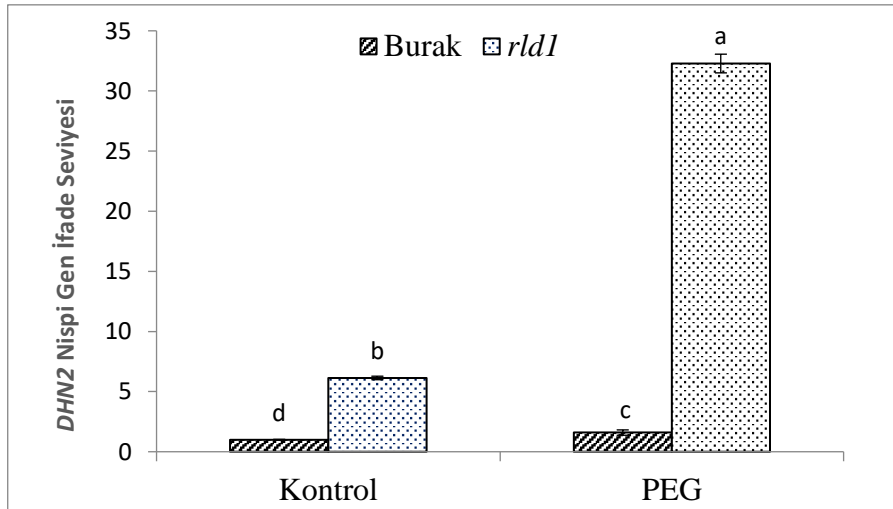
Dehidrin seviyesindeki değişimi kesin olarak belirlemek için *DHN2* gen ifadesi real time-PCR ile ölçüldü ve elde edilen verilerin western blot sonuçlarını destekler nitelikte olduğu kaydedildi. *DHN2* nispi gen ifadesinin en fazla 25 μ M SA ve 100 μ M ABA uygulanan bitkilerde uyarıldığı, 200 μ M SA uygulanan bitkilerde ise baskılandığı bulundu (Şekil 17).



Şekil 17. Farklı dehidrin içeriği oluşturulan mısır bitkilerinde *DHN2* nispi gen ifade seviyesinde meydana gelen değişimler.

3.5.2. Farklı Yaprak Kıvrılma Derecesi Oluşturulan Bitkilerin *DHN2* Nispi Gen İfade Seviyesindeki Değişimler

Farklı yaprak kıvrılma derecesi oluşturulan bitkilerde *DHN2* geni nispi ifade seviyesinin de western blot sonuçlarını destekler nitelikte olduğu saptandı. Western blot sonuçlarına paralel olarak, dehidrin gen ifadesi en yüksek olan grubun ozmotik stresli *rdl1* fidelerinin (*rdl1* PEG) olduğu belirlendi (Şekil 18).



Şekil 18. Farklı yaprak kıvrılma derecesi oluşturulan mısır bitkilerinde *DHN2* nispi gen ifade seviyesinde meydana gelen değişimler.

4. TARTIŞMA

Dehidrinler ile hidrojen peroksit ve süperoksit gibi reaktif oksijen türleri ve yaprak kıvrılması arasındaki ilişkisinin araştırıldığı bu çalışmada farklı dehidrin seviyesi oluşturulup yaprak kıvrılma derecesindeki ve de farklı yaprak kıvrılma derecesi oluşturulup dehidrin seviyesindeki değişimler belirlenmiştir. Her iki koşulda hidrojen peroksit ve süperoksit içeriğindeki değişimler ayrıca tespit edilmiştir. Çalışmada, öncelikle farklı dehidrin içeriği oluşturmak için dışarıdan farklı konsantrasyonlarda SA ve ABA uygulanmış ve dehidrin seviyesini azaltan ve arttıran konsantrasyonlar belirlenmiştir. Dehidrin seviyesini en fazla arttıran 25 µM SA ve 100 µM ABA uygulamalarının olduğu, 200 µM SA uygulanan fidelerde ise dehidrin seviyelerinin azaldığı saptanmıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalar dehidrin ifade seviyesinin SA ve ABA ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Li ve ark., 2004; Zhang ve ark., 2006; Zhang ve ark., 2008). Örneğin, dıştan uygulanan ABA'nın bermuda çimeni bitkisinin yaprak ve gövde dokularında dehidrin seviyesini uyardığı ve donma toleransını artırdığı rapor edilmiştir (Zhang ve ark., 2008). Ayrıca dehidrin gen ifade seviyesinde ABA'nın rolü mısır (Pla ve ark., 1989) ve domatesin (Cohen ve Bray, 1990) ABA sentezleyemeyen mutantlarında çalışılmış olup bu mutantlar su stresine maruz kaldıklarında dehidrin ifadesinin yetersiz kaldıkları saptanmıştır. Benzer şekilde düşük konsantrasyonda uygulanan SA'nın dehidrin gen ifade seviyesini uyardığı ve protein birikimine neden olduğu ve böylece su stresi hasarlarını hafiflettiği gösterilmiştir. Diğer taraftan aşırı SA'nın dehidrin birikimini baskıladığı ve oksidatif hasarı artırdığı saptanmıştır (Sun ve ark., 2006; Sun ve ark., 2009). Benzer şekilde Shen ve ark. (2004) düşük konsantrasyonda SA uygulanan bitkilerde *BcDh2* dehidrin gen ifadesinin yüksek konsantrasyonda SA uygulanan bitkilere göre daha fazla uyarıldığını rapor etmiştir. Çalışmamızda dehidrin seviyesindeki değişimi kesin olarak belirlemek için *DHN2* gen ifadesi real time-PCR ile ölçüldü ve elde edilen verilerin western blot sonuçlarını destekler nitelikte olduğu kaydedildi.

Dehidrin seviyesinde meydana gelen değişimlere paralel olarak fidelerin yaprak kıvrılma derecelerindeki (%) değişimler de değerlendirildi. Buna göre düşük konsantrasyonda SA ve ABA uygulamasından sonra dehidrin seviyesi artarken fidelerin yaprak kıvrılma derecelerinin azaldığı, yüksek konsantrasyonda SA'nın dehidrin seviyesini baskımlarken yaprak kıvrılma derecesinin arttığı belirlendi. Dıştan uygulanan SA ve

ABA'nın yaprak kıvrılmasını geciktirdiği (Kadıoğlu ve ark., 2011; Kadıoğlu ve ark., 2012; Saruhan ve ark., 2012; Terzi ve ark., 2014) diğer taraftan dehidrinler ile SA ve ABA arasında etkileşimlerin olduğu bilinmektedir. Bununla beraber söz konusu etkileşimin yaprak kıvrılması cevabıyla ilişkisi hakkında yapılan herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Mevcut çalışmada elde edilen sonuçlar SA ve ABA aracılığıyla artan dehidrin içeriğinin yaprak kıvrılmasını azalttığını göstermektedir. Yaprak kıvrılmasının kontrol edilmesi, fotosentetik üretim ve dane verimi açısından büyük önem arz etmektedir. Bu nedenle araştırmacılar devamlı olarak kıvrılma derecesi birbirinden farklı ve değişik genlerle kontrol edilen mutantlar üretmektedirler. Söz konusu mutantlardaki genlerin farklı olayları veya proteinleri kontrol ederek kıvrılmayı sağladıkları bulunmuştur. Mevcut çalışmada farklı yaprak kıvrılma derecesi oluşturulup, dehidrin seviyesinde meydana gelen değişimleri belirlemek için yaprakları kıvrık mutant (*rld1*) mısır bitkisi kullanılmıştır. Mısırdaki, *ROLLED LEAF1 (RLD1)* geninin adaksiyal hücre tabakasının tanımlanması için gerekli olduğu gösterilmiştir. *RLD1* geninin yaprağın yukarıya doğru kıvrılmasını kontrol ettiği ve sınıf III homodomain lösün fermuar proteinini (HD-ZIPIII) kodladığı kaydedilmiştir (Juarez ve ark., 2004). Mevcut çalışmada kıvrılma derecesi arttıkça dehidrin seviyesinin arttığı ve en yüksek kıvrılma derecesinin ozmotik stres koşullarına maruz bırakılan *rld1* mutant bitkilerinde olduğu saptanmıştır. Kadıoğlu ve ark. (2010) yaprakları kıvrılmış mısır bitkilerinde yapılan mikroarray analizlerinde dehidrin genlerinin 10-250 kat arasında artış gösterdiğini ve bu mikroarray analizleri sonucu dehidrinlerdeki artışların çok yüksek oranda olmasının kıvrılma ile dehidrinler arasında önemli bir ilişkinin olabileceğine işaret etmiştir.

Bitkilerde stres koşullarında değişen ve bitkinin su durumunu gösteren parametrelerden biri nispi su içeriği (NSİ)'dir. SA ve ABA'nın bitkilerde metabolik cevapların büyük bir kısmını oluşturduğu ve aynı zamanda bitki su ilişkilerini de etkilediği bilinmektedir. Özellikle ozmotik stres koşullarında SA ve ABA'nın bitki su durumunu iyileştirdiği ve buna paralel olarak yaprak kıvrılma derecesinin azaldığı belirlenmiştir (Kadıoğlu ve ark., 2011; Sezgin ve ark., 2016). Mevcut çalışmada PEG uygulanan fidelerle karşılaştırıldığında düşük konsantrasyonda SA ve ABA uygulamasından sonra yaprak kıvrılma derecesi azalırken NSİ'nin arttığı, yüksek konsantrasyonda SA uygulamasından sonra ise NSİ'nin değişmediği saptandı. SA ve ABA uygulamaları ile NSİ'de meydana gelen değişim ozmotik stres sırasında dehidrin proteinlerinin birikimiyle oluşan ozmotik regülasyonla açıklanmaya çalışılmıştır. Nitekim dehidrinlerin muhtemel bir ozmotik

düzenleyici olarak fonksiyon gördüğü rapor edilmiştir (Nylander ve ark., 2001). Benzer şekilde Fu ve ark. (2000) dehidrin birikimi ile yaprak su potansiyeli arasında pozitif bir ilişkinin olduğunu ve yaprak su potansiyelinin dehidrin gen ifadesinin uyarılmasından sorumlu önemli faktörlerden biri olduğunu ileri sürmüştür. Yaptığımız çalışmalar düşük konsantrasyonda SA ve ABA'nın dehidrin seviyesinde artışa neden olduğunu göstermiştir. Dehidrin seviyesindeki artışlar SA ve ABA'nın NSİ'ye etkisini destekler niteliktedir. Bununla beraber mutant bitkilerde (*rld1*) yaprak kıvrılma derecesi artarken NSİ'nin değişmediği, ozmotik stres koşullarında PEG uygulanan bitkilere göre mutant bitkilerde (*rld1* PEG) NSİ'nin arttığı saptandı. Çalışmamızda mutant bitkilerde NSİ'nin mutant olmayan bitkilere göre artmış olması muhtemelen yaprak kıvrılmasının dehidrin sentezini uyardığını ve böylece bitkinin su durumunu koruduğuna işaret etmektedir.

Strese maruz kalma aşırı ROT'ların oluşumuna neden olur. ROT'lar genellikle normal hücrel aktiviteler tarafından üretilirler ve normal koşullarda hücrelerde düşük seviyede bulunurlar. Bununla birlikte stres koşullarına maruz kaldıklarında seviyeleri artar. Böylece hücrede biriken ROT'lar hücrenin normal metabolik ve fizyolojik özelliklerini etkileyerek zarar görmesine neden olurlar (Smirnoff, 1993; Sohal, 2002; Grune ve ark., 2004). SA'nın ise bitkilerin biyotik ve abiyotik stres cevaplarıyla ilişkili olduğu ve reaktif oksijen türlerinin düzenlenmesinde rolü olduğu bilinmektedir (Horváth ve ark., 2007). Mevcut çalışmada PEG uygulanan fidelerle karşılaştırıldığında düşük konsantrasyonda SA ve ABA uygulamasından sonra yaprak kıvrılmasındaki azalış ve dehidrin içeriğindeki artışa paralel olarak H₂O₂ ve süperoksit içeriğinin azaldığı saptandı. Diğer taraftan yüksek konsantrasyonda SA uygulanan ve böylece dehidrin seviyesi azalmış fidelerdeki H₂O₂ ve süperoksit seviyelerinin düşük konsantrasyonda uygulanan SA ve ABA'dan daha yüksek olduğu kaydedildi. Elde edilen bu bulgular dehidrinlerin serbest radikalleri temizleyen antioksidan proteinler olduğu (Sun ve Lin, 2010) fikrini desteklemektedir. Yapılan çalışmalarda CuCOR19 dehidrininin antioksidatif etkinliğe sahip olduğu ve PvSR3 dehidrininin ROS ve metal iyonlarının neden olduğu oksidatif hasarlara karşı hücreleri koruduğu öne sürülmüştür (Hara ve ark., 2003; Zhang ve ark., 2006). Benzer şekilde *DHN-5* genini aşırı ifade eden transgenik *Arabidopsis* bitkilerinde antioksidan enzim aktivitelerinin yabancı tipe göre daha fazla uyarıldığı ve ROT seviyesinin azaldığı rapor edilmiştir. Ayrıca bu durumun dehidrin varlığının H₂O₂'nin indirgenmesini desteklediğini ve böylece bitkinin, fotosentez ve transpirasyon gibi fizyolojik işlemlerin devamını sağladığını ileri sürmüşlerdir (Saibi ve ark., 2015). Benzer bir çalışmada Hassan ve ark.

(2015) kuraklığa toleranslı buğday çeşidinde (Sids) antioksidan aktivitelerinin hassas çeşite (Gmiza) oranla daha fazla uyarıldığını ve aynı çeşitte *dhn* mRNA'sında da 3 katlık bir artışın olduğunu göstermiştir. Dehidrinlerin radikal temizleme özelliği temelde aminoasit kompozisyonlarından kaynaklanmaktadır. Diğer taraftan CuCOR19 gibi dehidrinler, hidroksil ve peroksil gibi radikaller tarafından oksidatif olarak modifiye edilebildiğinden bu radikaller temizlenebilir ve kuraklık stresinin neden olduğu oksidatif hasarları azaltabilirler. Ancak, H₂O₂ seviyesinin yüksek olmasıyla uyarılan hidroksil radikalleri, dehidrinlerin büyük ölçüde bozulmasına neden olabilir ve bu durum düşük dehidrin seviyelerine neden olabilir (Hara ve ark., 2004). Diğer taraftan kuraklık stresi koşullarında katalitik metal konsantrasyonunun arttığı ve H₂O₂ konsantrasyonunun SA muamelesinden sonra daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle, kuraklık stresli bitkilerde Fenton tipi Haber-Weiss reaksiyonları ile daha fazla hidroksil radikali meydana geldiği rapor edilmiştir. Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar yüksek SA uygulamasından sonra H₂O₂ seviyesinin yüksek olması stres koşullarında daha fazla hidroksil radikallerinin üretilmesine neden olabilir. Böylece yüksek konsantrasyonda SA uygulanmış fidelerde dehidrin seviyesinin düşük olması, hidroksil radikallerin neden olduğu bozulmaya bağlı olabileceğini düşündürmektedir. SA tarafından H₂O₂ seviyesinin uyarılması, dehidrin seviyesinin azalmasının önemli nedenlerden biri olarak görülmektedir. Elde edilen sonuçlardan kıvrılma cevabında dehidrinlerin bitkilerde H₂O₂ üretiminin düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı sonucuna varabiliriz. Mevcut çalışmada ozmotik stres koşullarında mutant bitkilerde (*rld1* PEG) H₂O₂ içeriğinin arttığı bulundu. Dehidrin içeriğindeki ve yaprak kıvrılmasındaki artışa paralel olarak H₂O₂ içeriğinin artması, yaprak kıvrılmasının muhtemelen H₂O₂ aracılığıyla kontrol edildiğini ve böylece dehidrin birikimine neden olduğuna işaret etmektedir.

Sonuç olarak, yüksek konsantrasyondaki SA'nın dehidrin seviyesini baskılayarak yaprak kıvrılmasını uyardığı, düşük konsantrasyonda SA ve ABA uygulamasının ise dehidrin seviyesini arttırıp yaprak kıvrılmasını azaltarak, bitkilerde stres koşullarında oluşan hidrojen peroksit ve süperoksit gibi reaktif oksijen türlerinin seviyesini azalttığı ve böylece stres toleransını arttırdığı ve stres hasarlarına karşı iyileştirme sağladığı gösterilmiştir. Ayrıca yaprak kıvrılmasının büyük ölçüde hidrojen peroksit ile kontrol edildiği ve dehidrin birikimine neden olduğunu teyit edilmiştir. Yaprak kıvrılmasının düzenlenmesinde dehidrinler ile hidrojen peroksit ve süperoksit gibi ROT'lar arasındaki etkileşimin önemli bir rolünün olabileceği sonucuna varılmıştır.

5. SONUÇLAR

1. Farklı konsantrasyonlarda SA uygulayarak farklı dehidrin içeriği oluşturmak için yapılan uygulamalar sonucunda, 25 μM SA ve 100 μM ABA uygulamalarının dehidrin içeriğini artırdığı, 200 μM konsantrasyonda uygulanan SA'nın dehidrinleri baskıladığı belirlendi.
2. PEG uygulanmış fidelerde kontrole göre dehidrin içeriğinin arttığı ve bu artışın 25 μM SA ve 100 μM ABA uygulanmış fidelerden daha fazla, 200 μM SA uygulanmış fidelerden ise daha az olduğu görüldü.
3. Farklı dehidrin içeriği oluşturmak için yapılan PEG, SA ve ABA uygulamalarından sonra yaprak kıvrılma derecesinin (%) ölçülmesi sonucunda, kontrol grubunda yaprak kıvrılması gözlenmezken PEG uygulanan fidelerde kıvrılmanın olduğu görüldü. Ozmotik stres koşullarında 25 μM SA ve ABA uygulamalarının PEG grubuyla kıyaslandığında kıvrılma derecesini azalttığı, 200 μM SA uygulamasının ise kıvrılmayı artırdığı bulundu.
4. Mutant mısır bitkileri de kullanılarak farklı yaprak kıvrılma dereceleri oluşturulması üzerine yapılan çalışmalar sonucunda normal kontrol grubu fidelerinde yaprak kıvrılması gözlenmezken, PEG grubu bitkilerde yaprak kıvrılma derecesinin %34,53, *rdl1* Kontrol grubunda %66,50, *rdl1* PEG grubunda ise %73,15 olduğu belirlendi.
5. Mutant ve mutant olmayan bitkilerde yaprak kıvrılma derecesinin artışına paralel olarak dehidrin seviyesinin arttığı ve en fazla artışın *rdl1* PEG fidelerinde olduğu kaydedildi.
6. Stresiz koşullarda 25 μM SA ve 100 μM ABA uygulanan bitkilerde süperoksit içeriğinin değişmediği, 200 μM SA uygulamasından sonra arttığı bulundu. Ozmotik stres koşullarında PEG uygulanan bitkilerle kıyaslandığında 25 μM SA ve 100 μM ABA uygulamalarından sonra süperoksit içeriğinin azaldığı, 200 μM SA uygulamasından sonra ise arttığı bulundu.
7. Stresiz koşullarda kıvrılmış olan mutant bitkilerde normal kontrol bitkilerine göre dehidrin seviyesi artarken süperoksit içeriğinin azaldığı bulundu. Ozmotik stres

koşullarında *rdl1* PEG uygulanan bitkilerde de süperosit içeriğinin azaldığı belirlendi.

8. Stressiz koşullarda 25 µM SA, 200µMSA ve 100 µM ABA uygulanan gruplarda H₂O₂ içeriğinin değişmediği bulundu. Ozmotik stres koşullarında 25 µM SA, 200 µM SA ve 100 µM ABA uygulanan gruplarda H₂O₂ içeriğinin azaldığı saptandı.
9. Stressiz koşullarda kıvrılmış olan mutant bitkilerde normal kontrol bitkilerine göre dehidrin seviyesi artarken H₂O₂ içeriğinin azaldığı bulundu. Ozmotik stres koşullarında *rdl1* PEG uygulanan bitkilerde ise H₂O₂ içeriğinin arttığı kaydedildi.
10. Stressiz koşullarda 25 µM SA ve 100 µM ABA uygulamalarından sonra nispi su içeriğinin değişmediği, 200 µM SA uygulamasından sonra azaldığı saptandı. Ozmotik stres koşullarında 25 µM SA ve 100 µM ABA uygulamalarından sonra nispi su içeriğinin arttığı, 200 µM SA uygulamasından sonra ise değişmediği gözlemlendi.
11. Stressiz koşullarda kıvrılmış olan mutant bitkilerde normal kontrol bitkilerine göre dehidrin seviyesi artarken nispi su içeriğinin değişmediği bulundu. Ozmotik stres koşullarında mutant bitkilerde nispi su içeriğinin arttığı saptandı.
12. Farklı dehidrin içeriği ve de farklı yaprak kıvrılma derecesi oluşturulmuş bitki gruplarında, içsel dehidrin seviyesindeki değişimlerin *DHN2* gen ifade seviyesi ile paralel olduğu belirlendi.

6. ÖNERİLER

Kuraklık, bütün dünyada olduğu gibi ülkemizde de tarım yapılan alanlarda ürün verimini etkileyen en önemli faktörlerden birisidir. Kuraklığa karşı bitkiler yaşamlarını daha uzun süre devam ettirebilmek ve en az hasarla çıkabilmek için geliştirdikleri sakınma mekanizmaları bulunmaktadır ve bu mekanizmalardan birisi de yaprakların rulo şeklinde kıvrılmasıdır. Dünyada ve ülkemizde tarımı yapılan ve bu mekanizmaya sahip olan bitkiler için bu çalışma önem arz etmektedir. Bundan dolayı yaprak kıvrılmasının her yönü ile bilinmesi büyük önem taşımaktadır. Çalışmamızda, ozmotik stres koşullarında düşük konsantrasyonda SA ve ABA uygulamasının dehidrin seviyesini artırıp yaprak kıvrılmasını azaltarak, bitkilerde stres koşullarında oluşan hidrojen peroksit ve süperoksit gibi reaktif oksijen türlerinin seviyesini azalttığı ve böylece stres toleransını arttırdığı ve stres hasarlarına karşı iyileştirme sağladığı gösterilmiştir. Böylece bu uygulamayla elde edilen veriler doğrultusunda, stres koşullarında yaprak kıvrılmasının geciktirilmesiyle kuraklık stresine karşı ürün verimi kayıplarının önlenebileceği söylenebilir.

Ayrıca çalışmada, yaprak kıvrılmasının büyük ölçüde hidrojen peroksit ile kontrol edildiği ve dehidrin birikimine neden olduğunu teyit edilmiştir. Yaprak kıvrılmasının düzenlenmesinde dehidrinler ile reaktif oksijen türleri (ROT) arasındaki etkileşimin önemli bir rolünün olabileceği gösterilmiştir. Böylece kuraklık koşulları altında H₂O₂'in uyardığı sinyal yollarının aydınlatılması yaprak kıvrılmasının nasıl kontrol edildiğinin anlaşılmasını sağlayacaktır. Ozmotik stres altında bulunan bitkilerde SA ve ABA uygulaması ile bitkilerdeki yaprak kıvrılması mekanizması ile ilgili antioksidan enzimlere ve bu enzimlerin gen ifade seviyelerine bakılması ve dehidrinlerin yaprak kıvrılma cevabındaki moleküler fonksiyonlarını anlamak için daha ayrıntılı olarak çalışılması önerilmektedir.

7. KAYNAKLAR

- Abba, S., Ghignone, S. ve Bonfante, P., 2006. A Dehydration-Inducible Gene in the Truffle *Tuber borchii* Identifies a Novel Group of Dehydrins, BMC Genomics, 7, 39.
- Agamy, R. A., Hafez, E. E. ve Tarek, H., 2013. Acquired Resistance Motivated by Salicylic Acid Application on Salt Stressed Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences, 13, 1, 50-57.
- Akkuş, İ., 1995. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, Mimoza Yayınları, Konya.
- Aktaş, Y. L., 2001. *Vitis vinifera* L. cv. Sultani'de Salisilik Asit Uygulamasının Yaprak Proteinleri İçeriği Üzerine Etkileri, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Allagulova, C. R., Gimalov, F. R., Shakirova, F. M. ve Vakhitov, V. A., 2003. The Plant Dehydrins: Structure and Putative Functions, Biochemistry (Moscow), 68, 945-951.
- Alsheikh, M. K., Svensson, J. ve Randall, S. K., 2005. Phosphorylation Regulated Ion Binding is a Property Shared by the Acidic Subclass Dehydrins, Plant, Cell and Environment, 28, 1114-1122.
- Anjum, S. A., Xie, X., Wang, L., Saleem, M. F., Man, C. ve Lei, W., 2011. Morphological, Physiological and Biochemical Responses of Plants to Drought Stress, African Journal of Agricultural Research, 6, 2026-2032.
- Apse, M. P. ve Blumwald, E., 2002. Engineering Salt Tolerance in Plants, Current Opinion in Biotechnology, 13, 146-150.
- 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.
- Baker, J., Steele, C. ve Dure, L. I., 1988. Sequence and Characterization of 6 Lea Proteins and Their Genes from Cotton, Plant Molecular Biology, 11, 277-291.
- Baktır İ., 2010. Bitki Büyüme Düzenleyicileri Özellikleri ve Tarımda Kullanımları, Hasad Yayıncılık.
- Bartels, D. ve Sunkar, R., 2005. Drought and Salt Tolerance in Plants, Critical Reviews in Plant Sciences, 24, 23-58.
- Bezrukova, M. V., Sakhabutdinova, R., Fathutdinova, R. A., Kyldiarova, I. ve Shakirova, F., 2001. The Role of Hormonal Changes in Protective Action of Salicylic Acid on Growth of Wheat Seedlings under Water Deficit, Agrochemiya (Russ), 2, 51-54.

- Begg, J. E., 1980. Morphological Adaptation of Leaves to Water Stress. In: N. C. Turner and P. J. Kramer (eds), *Adaptation of Plants to the Water and High Temperature Stress*, John Wiley and Sons, New York, 33-42 s.
- Bhargava, S. ve Sawant, K., 2013. Drought Stress Adaptation: Metabolic Adjustment and Regulation of Gene Expression, *Plant Breeding*, 132, 21-32.
- Bidwell, R. G. S., 1974. *Plant Physiology*, Macmillan Publishing Com. Inc., New York, 643 s.
- Blum, A., 1986. *Plant Breeding for Stress Environments*, CRC Press, Boca Raton, USA. 1-223 s.
- Blum, A., 1988. *Plant Breeding for Stress Environments*, Boca Raton, USA: CRC Press.
- Bohnert, H. J. ve Jensen, R. G., 1996. Strategies for Engineering Water-stress Tolerance in Plants, *Trends Biotechnology*, 14, 89-97.
- Borovskii, G. B., Stupnikova, I. V., Antipina, A. A., Downs, C. A. ve Voinikov, V. K., 2000. Accumulation of Dehydrin-Like Proteins in the Mitochondria of Cold-Treated Plants, *Journal of Plant Physiology*, 156, 797-800.
- Borovskii, G. B., Stupnikova, I. V., Antipina, A. I. ve Voinikov, V. K., 2002. Accumulation of Dehydrins and Aba-Inducible Proteins in Wheat Seedlings During Low-Temperature Acclimation, *Russian Journal of Plant Physiology*, 49, 2, 229-234.
- 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.
- Bradford, M. M., 1976. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-dye Binding, *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
- Bravo, L. A., Close, T. J., Corcuera, L. J. ve Guy, C. L., 1999. Characterization of an 80-Kda Dehydrin-Like Protein in Barley Responsive to Cold Acclimation, *Plant Physiology*, 106, 177-183.
- Bravo, L. A., Gallardo, J., Olave, N., Martinez, J., Alberdi, M., Close, T. J. ve Corcuera, L. J., 2003. Cryoprotective Activity of A Cold-induced Dehydrin Purified from Barley, *Physiologia Plantarum*, 118, 262-269.
- Bray, E. A., 1997. Plant Responses to Water Deficit, *Trends in Plant Science*, 2, 48-54.
- Bray, E. A., 1993. Molecular Response to Water Deficit, *Plant Physiology*, 103, 1035-1040.

- Bray, E. A., 2002. Classification of Genes Differentially Expressed During Water-Deficit Stress in *Arabidopsis thaliana*: An Analysis Using Microarray and Differential Expression, Annals of Botany, 89, 803-811.
- Bray, E. A., 2000. Response to Abiotic Stresses. Biochemistry and Molecular Biology of Plants., eds. R.B. Buchanan, W. Gruissem, and R. L. Jones., The American Society of Plant Physiologists, Rockville, 1158-1203.
- Bressan, R. A., 2008. Stres Fizyolojisi, Editörler: Taiz, L., Zeiger, E., Çeviri Editörü: Türkan, İ., “Bitki Fizyolojisi”, Palme Yayıncılık, Ankara, 591-620 s.
- Campbell, S. A. ve Close, T. J., 1997. Dehydrins: Genes, Proteins and Associations with Phenotypic Traits, New Phytology, 137, 61-74.
- Castillo, F. J., 1996. Antioxidative Protection in The Inducible Cam Plant *Sedum album* L. Following The Imposition of Severe Water Stress and Recovery, Oecologia, 107, 469- 477.
- 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.
- Cheng, Z. Q., Targolli, J., Huang, X. Q. ve Wu, R., 2002. Wheat LEA genes, PMA80 and PMA1959, Enhance Dehydration Tolerance of Transgenic Rice (*Oryza sativa* L.). Molecular Breeding, 10, 71-82.
- Choi, D. W., Zhu, B. ve Close, T. J., 1999. The Barley (*Hordeum vulgare* L.) Dehydrin Multigene Family: Sequences, Allele Types, Chromosome Assignments, and Expression Characteristics of 11 *DHN* Genes of Cv Dicktoo, TAG Theoretical and applied genetics Theoretische und angewandte Genetik, 98, 1234-1247.
- Chugh, V., Kaur, N., Grewal, M. S. ve Gupta, A. K., 2013. Differential Antioxidative Response of Tolerant and Sensitive Maize (*Zea mays* L.) Genotypes to Drought Stress at Reproductive Stage, Indian Journal of Biochemistry and Biophysics, 50, 150-158.
- Clarke, J. M., 1986. Effect of Leaf Rolling on Leaf Water Loss in *Triticum spp.*, Canadian Journal of Plant Science, 66, 885-891.
- Close, T. J., 1996. Dehydrins: Emergence of a Biochemical Role of a Family of Plant Dehydration Proteins, Physiologia Plantarum, 96, 795-803.
- Close, T. J., Fenton, R. D., Yang, A., Asghar, R., DeMeson, D. A., Crone, D. E., Meyer, N. C. ve Moonan, F., 1993. Dehydrin: The Protein in Plant Responses to Cellular Dehydration During Environmental Stress. Eds. T. J. Close and E. A. Bray, American Society of Plant Physiologists, Rockville, 104-118.
- Close, T. J., 1997. Dehydrins: A Commonality in the Response of Plants to Dehydration and Low Temperature, Physiologia Plantarum, 100, 291-296.

- Cohen, A. ve Bray, E. A., 1990. Characterization of Three mRNAs That Accumulate in Wilted Tomato Leaves in Response to Elevated Levels of Endogenous Abscisic Acid, Planta, 182, 27-33.
- Corlett, J. E., Jones, H. G., Mascacci, A. ve Masokjidek, J., 1994. Water Deficit, Leaf Rolling and Susceptibility to Photoinhibition in Field Grown Sorghum, Physiologia Plantarum, 92, 423-430.
- Cornic, G., 2000. Drought Stress Inhibits Photosynthesis by Decreasing Stomatal Aperture- Not by Affecting Atp Synthesis, Trends in Plant Science, 5, 187-188.
- Costa-França, M. G., Pham-Thi, C. A. T., Pimentel, R. O. P., Rossiello, Y., Fodil, Z. ve Laffray, D., 2000. Differences in Growth and Water Relations among *Phaseolus vulgaris* Cultivars in Response to Induced Drought Stress, Environmental and Experimental Botany, 43, 227-237.
- Cruz de Carvalho, M. H., Laffray, D. ve Louguet, P., 1998. Comparison of Physiological Responses of *Phaseolous vulgaris* and *Vigna unguiculata* Cultivars When Submitted to Drought Conditions, Environmental and Experimental Botany, 40, 197-207.
- Cuming, A. C., 1999. Lea Proteins. Seed Proteins, eds. P.R. Shewry and R. Casey., Kluwer: Dordrecht, The Netherlands, 244, 753-780.
- Çanakçı, S. ve Munzuroğlu, Ö., 2004. Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) Çeliklerinde Ağırlık Değişimleri, Pigment ve Protein Miktarları Üzerine Asetilsalisilik Asit ve Tuz (NaCl) Uygulamasının Karşılıklı Etkileri, Gazi Üniversitesi Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi, 24, 1, 23-40.
- Çırak, C. ve Esenal, E., 2006. Soyada Kuraklık Stresi, OMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi, 21, 231-237.
- Demiralay, M., Sağlam, A. ve Kadioğlu, A., 2013. Salicylic Acid Delays Leaf Rolling by Inducing Antioxidant Enzymes and Modulating Osmoprotectant Content in *Ctenanthe setosa* Under Osmotic Stress, Turkish Journal of Biology, 37, 49-59.
- Danyluk, J., Perron, A., Houde, M., Limin, A., Fowler, B., Benhamou, N. ve Sarhan, F., 1998. Accumulation of An Acidic Dehydrin in the Vicinity of Plasma Membrane During Cold Acclimation of Wheat, Plant Cell, 10, 623-638.
- Dat, J., Vandenaabeele, S., Vranova, E., Van Montagu, M., Inze, D. ve Breusegem, F., 2000. Dual Action of the Active Oxygen Species During Plant Stress Responses, Cellular and Molecular Life Sciences, 57, 779-795.
- Dolferus, R., 2014. To Grow or Not to Grow: A Stressful Decision for Plants, Plant Science, 2229, 247-261.
- Dubey, R. S., 1994. Handbook of Plant and Crop Stress, New York, Marcel Dekker, 227 s.

- Dure, L. I., 1993. Structural Motifs in Lea Proteins of Higher Plants. Response of Plants to Cellular Dehydration During Environmental Stress, eds. T.J. Close and E.A. Bray., American Society of Plant Physiologists, Rockville, TN. 91-103.
- Dure, L. I., Crouch, M., Harada, J., Ho, T.-H., Mundy, J., Quatrano, R., Thomas, T. ve Sung, Z. R., 1989. Common Amino Acid Sequence Domains among the Lea Proteins of Higher Plants, Plant Molecular Biology, 12, 475-486.
- Ehleringer, J. ve Forseth. I., 1980. Solar Tracking by Plants, Science, 210, 1094-1098.
- 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.
- Elstner, E. F. ve Osswald, W., 1994. Mechanisms of oxygen activation during plant stress, Proceedings of the Royal Society Edinburg, 103, 131-154.
- Etehadnia, M., Waterer, D. R. ve Tanino, K. K., 2008. The Method of ABA Application Affects Salt Stress Responses in Resistant and Sensitive Potato Lines, Journal of Plant Growth Regulation, 27, 331-341.
- FAO. Food and Agriculture Organization of United Nations, (<http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/E>), 14.04.2013.
- Farooq, M., Wahid, A., Basra, S. M. A. ve Shahzad, I. D., 2009. Improving Water Relations and Gas Exchange with Brassinosteroids in Rice Under Drought Stress, Journal of Agronomy and Crop Science, 195, 262-269.
- 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.
- Finkelstein, R., 2013. Abscisic Acid Synthesis and Response, *The Arabidopsis Book*, e0166. doi: 10.1199/tab.0166.
- Foyer, C. H. ve Harbinson, J., 1994. Oxygen Metabolism and the Regulation of Photosynthetic Electron Transport. In: Foyer CH, Mullineaux PM, eds. Causes of Photooxidative Stress and Amelioration of Defense Systems in Plants. Boca Raton: CRC Press, 1-42 s.
- Frahry, G. ve Schopfer, P., 2001. NADH-stimulated, Cyanide-resistant Superoxide Production in Maize Coleoptiles Analyzed with A Tetrazolium-based Assay, Planta, 212, 175-183.
- Fu, P., Wilen, R. V., Wu, G. H., Robertson, A. J. ve Gusta, L. W., 2000. Dehydrin Gene Expression and Leaf Water Potential Differs Between Spring and Winter Cereals During Cold Acclimation, Journal of Plant Physiology, 156, 394-400.

- Garay-Arroyo, A., Colmenero-Flores, J. M., Garcarrubio, A. ve Covarrubias, A. A., 2000. Highly Hydrophilic Proteins in Prokaryotes and Eukaryotes Are Common During Conditions of Water Deficit, Journal of Biological Chemistry, 275, 5668-5674.
- Ghasemzadeh, A. ve Jaafar, H. Z. E., 2012. Effect of Salicylic Acid Application on Biochemical Changes in Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe), Journal of Medicinal Plants Research, 6, 790-795.
- Goday, A., Jensen, A. ve Cuiñez-Macia, F., 1994. The Maize Abscisic Acid-responsive Protein Rab17 is Located in the Nucleus and Interacts with Nuclear Localization Signals, Plant Cell, 6, 351-60.
- Greenway, H. ve Munns, R., 1980. Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes, Annual Review of Plant Physiology, 31, 149-190.
- Grune, T., Jung, T., Merker, K. ve Davies, K. J. A., 2004. Decreased proteolysis Caused Byprotein Aggregates, Inclusionbodies, Plaques, Lipofuscin, Ceroid, and 'Aggresomes' During Oxidative Stress, Aging, and Disease, The International Journal of Biochemistry and Cell Biology, 36, 2519-2530.
- 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.
- Güler, N. S., Saglam, A., Demiralay, M. ve Kadioglu, A., 2012. Apoplastic and Symplastic Solute Concentrations Contribute to Osmotic Adjustment in Bean Genotypes During Drought Stress, Turkish Journal of Biology, 36, 151-160.
- Gunes, A., Inal, A., Alpaslan, M., Cicek, N., Guneri, E., Eraslan, F. ve Guzelordu, T., 2005. Effects of Exogenously Applied Salicylic Acid on the Induction of Multiple Stress Tolerance and Mineral Nutrition in Maize (*Zea mays* L.). Archives of Agronomy and Soil Science, 51, 687-695.
- Hakimi, A. B. M. ve Hamada, A. M., 2011. Ascorbic Acid, Thiamine or salicylic Acid Induced Changes in Some Physiological Parameters in Wheat Grown Under Copper Stress, Plant Protection Science, 47,92-108.
- Halliwell, B., 1984. Toxic effects of oxygen on plant tissues, In: chloroplast metabolism, the structure and function of chloroplasts in green leaf cells, Halliwell, B., Ed., Oxford Press, Oxford, 180-206 s.
- Halliwell, B., 1994. Free Radicals and Antioxidants: A Personal View. Nutrition Reviews, 52, 8, 253-265.
- Halliwell, B., Clement, M. V. ve Long, L. H., 2000. Hydrogen Peroxida in the Human Body, FEBS Letter, 486, 10-13.
- Hanin, M., Brini, F., Ebel, C., Toda, Y., Takeda, S. ve Masmoudi, K., 2011. Plant Dehydrins and Stress Toerance, Plant Signaling Behavior, 6, 10, 1503-1509.

- Hara, M., Terashima, T. F., Fukaya, T. ve Kuboi, T., 2003. Enhancement of Cold Tolerance and Inhibition of Lipid Peroxidation by Citrus Dehydrin in Transgenic Tobacco, Planta, 217, 290-298.
- Hara, M., Fujinaga, M. ve Kuboi, T., 2004. Radical Scavenging Activity and Oxidative Modification of Citrus Dehydrin, Plant Physiology and Biochemistry, 42, 657-662.
- Harborne, J. B., 1980. Plant Phenolics. In: Secondary Plant Products. E. A. Bell, B. V. Charlwood (ed.), Springer Verlag, Berlin, 329-402 s.
- Hare, P. D., Cress, W. A. ve Van Staden, J., 1998. Dissecting the Roles of Osmolyte Accumulation During Stress, Plant Cell Environment, 21, 535-553.
- Hartung, W., Sauter, A. ve Hose, E., 2002. Abscisic Acid in the Xylem Where Does It Come From, Where Does It Go To, Journal of Experiment Botany, 53, 27-37.
- Hassan, N. M., El-Bastawisy, Z. M., El-Sayed, A. K., Ebeed, H. T. ve Nemat Alla, M. M., 2015. Roles of Dehydrin Genes in Wheat Tolerance to Drought Stress, Journal of Advanced Research, 6, 179-188.
- Hayat, S. ve Ahmad, A., 2007. Salicylic Acid: A Plant Hormone, Springer, UK.
- Hayat, Q., Hayat, S., Irfan, M. ve Ahmad, A., 2010. Effect of Exogenous Salicylic Acid Under Changing Environment: A review. Environmental and Experimental Botany, 68, 14-25.
- 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.
- Heyen, B. J., Alsheikh, M. K., Smith, E. A., Torvik, C. F., Seals, D. F. ve Randall, S. K., 2002. The Calcium-Binding Activity of A Vacuole-Associated, Dehydrin-Like Protein Is Regulated by Phosphorylation, Plant Physiology, 130, 675-687.
- Horváth, E., Szalai, G. ve Janda, T. 2007. Induction of Abiotic Stress Tolerance by Salicylic Acid Signaling, Journal of Plant Growth Regulation, 26, 290-300.
- Hsu, Y. T., Kuo, M. C. ve Kao, C. H., 2006. Cadmium-induced Ammonium Ion Accumulation of Rice Seedlings at High Temperature Is Mediated Through Abscisic Acid, Plant and Soil, 287, 267-277.
- Hsu, S. Y. ve Kao, C. H., 2003. Differential Effect of Sorbitol and Polyethylene Glycol on Antioxidant Enzymes in Rice Leaves, Plant Growth Regulation, 39, 83-90.
- Hua, Y. J., Yuan, G. L., Man, Y., Hua, Q. X. ve Fang, Z. M., 2008. Salicylic Acidinduced Enhancement of Cold Tolerance Through Activation of Antioxidative Capacity in Watermelon, Scientia Horticulturae, 118, 200-205.

- Hughes, D. W. ve Galau, G. A., 1989. Temporally Modular Basis of Dehydration Tolerance in Plants, Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 47, 377-403.
- Hughes, S. ve Graether, S. P., 2011. Cryoprotective Mechanism of A Small Intrinsically Disordered Dehydrin Protein, Protein Science, 20, 42-50.
- Ingram, J. ve Bartels, D., 1996. The Molecular Basis of Dehydration Tolerance in Plants, Annual Review of Plant Biology, 47, 377-403.
- Ismail, A. M., Hall, A. E. ve Close, T. J., 1999. Allelic Variation of a Dehydrin Gene Co-Segregates with Chilling Tolerance During Seedling Emergence, Proceedings of the National Academy of Sciences, 23, 13566-13570.
- Iuchi, S., Kobayashi, M., Taji, T., Naramoto, M., Seki, M., Kato, T., Tabata, S., Kakubari, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K. ve Shinozaki, K., 2001. Regulation of Drought Tolerance by Gene Manipulation of 9-cis-epoxycarotenoid Dioxygenase, A Key Enzyme in Abscisic Acid Biosynthesis in Arabidopsis, The Plant Journal, 27, 325-333.
- Jaleel, C. A., Gopi, R., Sankar, B., Gomathinayagam, M. ve Panneerselvam, R., 2008. Differential Responses in Water Use Efficiency in Two Varieties of *Catharanthus roseus* Under Drought Stress, Comptes Rendus Biology, 331, 1, 42-47.
- Jenks, M. A. ve Hasegawa, P. M., 2005. Plant Abiotic Stress, 1. Baskı, Blackwell, UK, 270 s.
- Jensen, A., Goday, A., Figueras, M., Jessop, A. ve Pages, M., 1998. Phosphorylation Mediates the Nuclear Targeting of the Maize Rab17 Protein, The Plant Journal, 13, 691-697.
- Jones, M. M. ve Rawson., H. M., 1979. Influence of Rate of Development of Leaf Water Deficits upon Photosynthesis, Leaf Conductance Water Use Efficiency, and Osmotic Potential in Sorghum, Physiologia Plantarum, 45, 103-111.
- Juarez, M. T., Twigg, R.W. ve Timmermans, C. P., 2004. Specification of Adaxial Cell Fate During Maize Leaf Development, Development, 131, 4533-4544.
- Kacar, B., Katkat, B. ve Öztürk, Ş., 2006. Bitki Fizyolojisi. Nobel Yayın Dağıtım.
- Kadioğlu, A. ve Turgut, R., 1999. Some Biochemical Changes during Leaf Rolling in *Ctenanthe setosa* (Marantaceae), Acta Physiologiae Plantarum, 21, 209-214.
- Kadioğlu, A. ve Terzi, R., 2007. A Dehydration Avoidance Mechanism: Leaf Rolling, The Botanical Review, 73, 290-302.
- Kadioğlu A., Terzi R., Sağlam A. ve Güven, F. G., 2010. Kuraklık Stresi Koşullarında Yaprak Kıvrılması Sırasında Fotosentezle İlgili Bazı Genlerin Ekspresyon Seviyelerinin Belirlenmesi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri, 988, 2012-2013.

- Kadioğlu, A., Saruhan, N., Saglam, 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., 2011. Bitki Fizyolojisi, ISBN: 978-605-4361-06-9, 5, Gündüz Ofset Matbaacılık, Trabzon.
- Kadioğlu, A., Terzi, R., Saruhan, N. ve Saglam, A., 2012. Current Advances in the Investigation of Leaf Rolling Caused by Biotic and Abiotic Stress Factors, Plant Science, 182, 42-48.
- Kalefetoğlu, T. and Ekmekçi, Y., 2005. The Effect of Drought on Plants and Tolerance Mechanisms, Gazi University Journal of Science, 18, 4, 723-740.
- Khodary, S. E. A., 2004. Effect of Salicylic Acid on the Growth, Photosynthesis and Carbohydrate Metabolism in Salt Stressed Maize Plants, International Journal of Agriculture and Biology, 6, 1.
- Kim, H. S., Lee, J. H., Kim, J. J., Kim, C. H., Jun, S. S. ve Hong, Y. N., 2005. Molecular and Functional Characterization of Calea6, the Gene for a Hydrophobic Lea Protein from *Capsicum Annuum*, Gene, 344, 115-123.
- Kling, G. J. ve Meyer Jr, M. M., 1983. Effects of Phenolic Compounds and Indoleacetic Acid on Adventitious Root Initiation in Cuttings of *Phaseolus aureus*, *Acer saccharinum* and *Acer griseum*, HortScience, 18, 3, 352-354.
- 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.
- Koag, M. C., Fenton, R. D., Wilkens, S. ve Close, T. J., 2003. The Binding of Maize *DHNI* to Lipid Vesicles. Gain of Structure and Lipid Specificity, Plant Physiology, 131, 309-316.
- Koag, M. C., Wilkens, S, Fenton, R. D., Resnik, J., Vo, E. ve Close T. J., 2009. The K-segment of Maize *DHNI* Mediates Binding to Anionic Phospholipid Vesicles and Concomitant Structural Changes, Plant Physiology, 150, 1503-1514.
- Krasensky, J. ve Jonak, C., 2012. Drought, Salt, and Temperature Stress-induced Metabolic Rearrangements and Regulatory Networks, Journal of Experimental Botany, 63, 4, 1493-1608.
- Kuhn, J. M. ve Schroeder, J. I., 2003. Impacts of Altered RNA Metabolism on Abscisic Acid Signaling, Current Opinion in Plant Biology, 6, 463-469.
- Kumar, S., Kaur, G. ve Nayyar, H., 2008. Exogenous Application of Abscisic Acid Improves Cold Tolerance in Chickpea (*Cicer arietinum* L.), Journal of Agronomy and Crop Science, 194, 449-456.

- Kuşvuran, Ş., 2010. Kavunlarda Kuraklık ve Tuzluluğa Toleransın Fizyolojik Mekanizmaları Arasındaki Bağlantılar, Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Kuşvuran, Ş., Yıldız, H. ve Abak, K., 2011. Responses of Different Melon Genotypes to Drought Stress, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Journal of Agricultural Sciences, 21, 209-219.
- Laffray, D. ve Louguet, P., 1990. Stomatal Response and Drought Resistance, Bulletin De La Societe Botanique De France, 137, 47-60.
- Lang, Y. Z., Zhang, Z. J., Gu, X. Y., Yang, J. C. ve Zhu, Q. S., 2004. A Physiological and Ecological Effect of Crimpy Leaf Character in Rice (*Oryza sativa* L.) II. Photosynthetic Character, Dry Mass Production and Yield Forming, Acta Agronomica Sinica, 30, 883-887.
- Lang, V. ve Palva, E. T., 1992. The Expression of A Rab-related Gene, rab18, Is Induced by Abscisic Acid During the Cold Acclimation Process of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh, Plant Molecular Biology, 20, 5, 951-962.
- Lee, T. T. ve Skoog, F., 1965. Effect of Substituted Phenols on Bud Formation and Growth of Tobacco Tissue Culture, Physiology Plant, 18, 386-402.
- Lee, S., Kim, S. G. ve Park, C. M., 2010. Salicylic Acid Promotes Seed Germination Under High Salinity by Modulating Antioxidant Activity in Arabidopsis, New Phytologist, 188, 626-637.
- Levitt, J., 1980. Responses of Plants to Environmental Stresses, Academic Press, 497.
- Li, Z., Zhao, L., Kai, G., Yu, S., Cao, Y., Pang, Y., Sun, X. ve Tang, K., 2004. Cloning and Expression Analysis of A Water Stress-induced Gene from *Brassica oleracea*, Plant Physiology and Biochemistry, 42, 789-794.
- Li, L., Shia, Z. Y., Li, L., Shenc, G. Z., Wangc, X. Q., Ana, L. S. ve Zhang, J. L., 2010. Overexpression of ACL1 (Abaxially Curled Leaf 1) Increased Bulliform Cells and Induced Abaxial Curling of Leaf Blades in Rice, Molecular Plant, 3, 807-817.
- 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.
- Madhova Rao, K. V., Raghavendra, A. S. ve Janardhan Reddy, K., 2005. Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants, Netherlands: Springer, 345.
- Malkin, R. ve Niyogi, K., 2000. Photosynthesis. In: B.B Buchanan, W. Gruissem, and R. L. Jones (Eds.) *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, John Wiley & Sons Inc, Somerset, Nj., 568-628 s.

- Martinez, C., Ponns, E., Prats, G. ve Leon, J., 2004. Salicylic Acid Regulates Flowering Time and Links Defence Responses and Reproductive Development, Plant Journal, 37, 209-217.
- Matthews, R. B., Azam-Ali, S. N. ve Peacock, J. M., 1990. Response of Four Sorghum Lines to Mid-season Drought: II. Leaf Characteristics, Field Crops Research, 25, 297-308.
- Mehlar, A. H., 1951. Studies on Reactions of Illuminated Chloroplasts: I. Mechanism of the Reduction of Oxygen and Other Hill Reagents, Archives of Biochemistry and Biophysics, 33, 1, 65-77.
- Metraux, J. P., 2001. Systemic Acquired Resistance and Salicylic Acid: Current State of Knowledge, European Journal of Plant Pathology, 13-18.
- Mishra, A. ve Choudhuri, M. A., 1999. Effects of Salicylic Acid on Heavy Metal-induced Membrane Deterioration Mediated by Lipoxygenase in Rice, Biology Plantarum, 42, 409-415.
- Mitra, J., 2001. Genetics and Genetic Improvement of Drought Resistance in Crop Plants, Current Science, 80, 758-762.
- Mittova, V., Tal, M., Volokita, M. ve Guy, M., 2002. Salt Stress Induces Up Regulation of An Efficient Chloroplast Antioxidant System in The Salt Tolerant Wild Tomato Species *Lycopersicon pennellii* but not in The Cultivated Species, Physiologia Plantarum, 115, 3, 393-400.
- Mojović, M., Vuletić, M., Bacić, G. G. ve Vucinić, Z., 2004. Oxygen Radicals Produced by Plant Plasma Membranes: An EPR Spin-trap Study, Journal of Experimental Botany, 55, 2523-2531.
- Mullet, J. E. ve Whitsitt, M. S., 1996. Plant Cellular Responses to Water Deficit, Plant Growth Regulation, 20, 119-124.
- Mundy, J. ve Chua, N. H., 1988. Abscisic Acid and Water-Stress Induce the Expression of a Novel Rice Gene, The EMBO Journal, 7, 2279-2286.
- Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A. ve Rodwell, V. W., 1996. Harper'ın Biyokimyası, 24. baskı, (Çev: Dikmen N., Özgünen T.), Barış Kitabevi, İstanbul.
- Nar, H., Sağlam, A., Terzi, R., Varkonyı, Z. ve Kadioğlu, A., 2009. Leaf Rolling and Photosystem II Efficiency in *Ctenanthe setosa* Exposed to Drought Stress, Photosynthetica, 47, 429-436.
- Nelson, J. M., Lane, B. ve Freeling, M., 2002. Expression of A Mutant Maize Gene in the Ventral Leaf Epidermis is Sufficient to Signal A Switch of the Leaf's Dorsoventral Axis, Development, 129, 4581-4589.

- Noreen, S. ve Ashraf, M., 2008. Alleviation of Adverse Effects of Salt-stress on Sunflower (*Helianthus annuus* L.) by Exogenous Application of Salicylic Acid: Growth and Photosynthesis, Pakistan Journal of Botany, 40, 1657-1663.
- Nylander, M., Svensson, J., Tapio, P. E. ve Welin, B. V., 2001. Stressed-Induced Accumulation and Tissue-Specific Localization of Dehydrins in *Arabidopsis thaliana*, Plant Molecular Biology, 45, 263-279.
- Oh, S. J., Song, S. I., Kim, Y. S., Jang, H. J., Kim, S. Y., Kim, M., Kim, Y. K., Nahm, B. H. ve Kim, J. K., 2005. Arabidopsis CBF3/DREB1A and ABF3 in transgenic Rice Increased Tolerance to Abiotic Stress Without Stunting Growth, Plant Physiology, 138, 341-351.
- Oppenheimer, H. R., 1960. Plant Water Relationships in Arid and Semi-arid Conditions, UNESCO, UK. 105-138 s.
- Osakabe, Y., Osakabe, K., Shinozaki, K. ve Tran, L. P., 2014. Response of Plants to Water Stress, Front Plant Science, 5, 86.
- O'Toole, J. C. ve R. T. Cruz., 1980. Response of Leaf Water Potential, Stomatal-Resistans, and Leaf Rolling to Water-stress, Plant Physiology, 65, 428-432.
- Ouilet, F., Houde, M. ve Sarhan, F., 1993. Purification, Characterization and Cdna Cloning of the 200 Kda Protein Induced by Cold Acclimation in Wheat, Plant Cell Physiology, 34, 59-65.
- Öktüren, F. ve Sönmez S., 2005. Bitki Besin Maddeleri ve Bazı Bitki Büyüme Düzenleyicileri (Hormonlar) Arasındaki İlişkiler, Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü, 22, 2, 20-32.
- Örs, S. ve Ekinci, M., 2015. Kuraklık Stresi ve Bitki Fizyolojisi, Derim, 32, 2, 237-250.
- Özeker, E., 2005. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, ISSN 1018-8851, 42, 213-23.
- Özer, H., Karadoğan, T. ve Oral, E., 1997. Bitkilerde Su Stresi ve Dayanıklılık Mekanizması, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 28, 3, 488-495.
- Özfidan, C., 2010. Ekzojen ABA Uygulamasının Kuraklık Stresi (PEG-6000) Altındaki Yabani ve ABA-eksik Arabidopsis Mutantları Üzerindeki Biyokimyasal ve Fizyolojik Etkilerinin Araştırılması, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Özfidan, C., Turkan, I., Sekmen, A. H. ve Seckin, 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, 44-51.

- Park, S. Y., Noh, K. J., Yoo, J. H., Yu, J. W., Lee, B. W., Kim, J. G., Seo, H. S. ve Paek, N. C., 2006. Rapid Upregulation of Dehydrin3 and Dehydrin4 in Response to Dehydration is A Characteristic of Drought-tolerant Genotypes in Barley, Journal of Plant Biology, 49, 6, 455-62.
- Pelah, D., Wang, W., Altman, A., Shoseyov, O. ve Bartels, D., 1997. Differential Accumulation of Water Stress-related Proteins, Sucrose Synthase and Soluble Sugars in Populus Species That Differ in Their Water Stress Response, Physiologia Plantarum, 99, 1, 153-9.
- Pla, M., Goday, A., Vilardell, J., Gomez, J. ve Pages, M. 1989. Differential Regulation of ABA-induced 23-25 kDa Proteins in Embryo and Vegetative Tissues of the Viviparous Mutants of Maize, Plant Molecular Biology, 13, 385-394.
- Qing Moo, S., ShiQing, S., ZhiGong, Z. ve ShiRong, G., 2007. Physiological Mechanisms of Salicylic Acid Enhancing the Salt Tolerance of Cucumber Seedling, Scientia Agricultura Sinica, 40, 1, 147-152.
- Rejeb, I. B., Miranda, L. A., Cordier, M. ve Mauch-Mani, B., 2014. Induced Tolerance and Priming for Abiotic Stress in Plants, Molecular Approaches in Plant Abiotic Stress, 1st ed. (Editör: Gaur, R. K. ve Sharma, P), Taylor and Francis Group, Florida, 232-247.
- 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.
- Richard, S., Morency, M. J., Drevet, C., Jouanin, L. ve Seguin, A., 2000. Isolation and Characterization of A Dehydrin Gene from White Spruce Induced Upon Wounding, Drought and Cold Stresses, Plant Molecular Biology, 1, 1-10.
- Rinne, P. L. H., Kaikuranta, P. L. M., van der Plas, L. H. W. ve van der Schoot, C., 1999. Dehydrins in Cold-acclimated Apices of Birch (*Betula pubescent* Ehrh.): Production, Localization and Potential Role in Rescuing Enzyme Function During Dehydration, Planta, 209, 377-388.
- Rorat, T., 2006. Plant Dehydrins; Tissue Location, Structure and Function, Cellular and Molecular Biology Letters, 11, 536-556.
- Rorat, T., Szabala, B. M., Grygorowicz, W. J., Wojtowicz, B., Yin, Z. ve Rey, P., 2006. Expression of Sk3-Type Dehydrin in Transporting Organs Is Associated with Cold Acclimation in Solanum Species, Planta, 224, 205-221.
- Saavedra, L., Svenson, J., Carballo, V., Izmendi, D., Welin, B. ve Vidal, S., 2006. A Dehydrin Gene in Physcomitrella Patens Is Required for Salt and Osmotic Stress Tolerance, The Plant Journal, 45, 237-249.

- Sağlam, A., 2004. Ağır Kuraklık Stresi Geçirmiş *Ctenanthe setosa* Bitkisinin Yeni Kuraklık Koşullarına Adaptasyon Yeteneğinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Sahar, K., Baghizadeh, A. ve Taher, N. M., 2011. The Salicylic Acid Effect on the *Salvia officianlis* L. Sugar, Protein and Proline Contents Under Salinity (NaCl) Stress, Journal of Stress Physiology and Biochemistry, 7, 80-87.
- Saibi, W., Feki, K., Mahmoud, R. B. ve Brini, B., 2015. Durum Wheat Dehydrin (*DHN-5*) Confers Salinity Tolerance to Transgenic Arabidopsis Plants Through the Regulation of Proline Metabolism and ROS Scavenging System, Planta, 242, 1187-1194.
- Salisbury, F. B. ve Ross, C. W., 1992. Plant Physiology. Wadsworth Publishing Co., California.
- Sanders, D., Brownlee C. ve Harper J. F., 1999. Communicating with calcium, Plant Cell, 11, 691-706.
- Sanchez-Ballesta, M. T., Rodrigo, M. J., Lafuente, M. T., Granell, A. ve Zacarias, L., 2004. Dehydrin from Citrus, Which Confers in vitro Dehydration and Freezing Protection Activity, is Constitutive and Highly Expressed in the Flavedo of Fruit But Responsive to Cold and Water Stress in Leaves, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52, 1950-1957.
- Sarhan, F., Oullet, F. ve Vazquez-Tello, A., 1997. The Wheat Wcs120 Gene Family: A Useful Model to Understand the Molecular Genetics of Freezing Tolerance in Cereals, Physiologia Plantarum, 101, 439-445.
- Saruhan, N., Sağlam, A. ve Kadioglu, A. 2012. Salicylic Acid Pretreatment Induces Drought Tolerance and Delays Leaf Rolling by Inducing Antioxidant Systems in Maize Genotypes, Acta Physiologiae Plantarum, 34, 97-106.
- Schulze, E. D., Beck, E. ve Müller-Hohenstein, K., 2005. Plant Ecology. Birinci Baskı, USA, Springer.
- Senaratna, T., Touvhell, D., Bunn, E. ve Dixon, K., 2000. Acetyl Salicylic Acid (aspirin) and Salicylic Acid Induce Multiple Stress Tolerance in Bean and Tomato Plant. Plant Growth Regulation, 30, 157-161.
- Sezgin, A., Altuntaş, C., Sağlam, A. ve Kadioglu, A., 2016. Exogenous ABA Delays Leaf Rolling Under Osmotic Stress by Osmotic Regulation, International Molecular Biology and Biotechnology Congress, At Skopje, Macedonia.
- Shakirova, F. M., Sakhabutdinova, A. R., Bezrukova, M. V., Fatkhutdinova, R. A. ve Fatkhutdinova, D. R., 2003. Changes in the Hormonal Status of Wheat Seedlings Induced by Salicylic Acid and Salinity, Plant Science, 164, 317-322.

- Shanker, A. K., Maheswari, M., Yadav, S. K., Desai, S., Bhanu, D., Attal, N. B. ve Venkateswarlu, B., 2014. Drought Stress Responses in Crops, Functional and Integrative Genomics, 14, 11-22.
- Shao, H. B., Chu, L. Y., Jaleel, C. A. ve Zhao, C. X., 2008. Water-deficit Stress-induced Anatomical Changes in Higher Plants, Comptes Rendus Biologies, 331, 3, 215-225.
- Shen, Y., Tang, M. J., Hu, Y. L. ve Lin Z. P., 2004. Isolation and Characterization of a Dehydrin-like Gene from Drought-tolerant *Boea crassifolia*, Plant Science, 166, 1167-175.
- Shih, M., Hoekstra, F. A. ve Hsing, Y. C., 2008. Late Embryogenesis Abundant Proteins, Advances in Botanical Research, 48, 212-240.
- Shim, I. S., Momose, Y., Yamamoto, A., Kim, D. W. ve Usui, K., 2003. Inhibition of Catalase Activity by Oxidative Stress and Its Relationship to Salicylic Acid Accumulation in Plants, Plant Growth Regulation, 39, 285-292.
- Shinozaki, K. ve Shinozaki, K. Y., 2000. Molecular Responses to Dehydration and Low Temperature: Differences and Cross-Talk between Two Stress Signalling Pathways, Current Opinion in Plant Biology, 3, 217-223.
- Shinozaki, K. ve Yamaguchi-Shinozaki, K., 1996. Molecular Responses to Drought and Cold Stress, Curr Opin Biotechnology, 7, 161-167.
- Smirnoff, N., 1993. The role of Active Oxygen in the Response of Plants to Water Deficit and Desiccation, New Phytologist, 125, 27-58.
- Sohal, R. S., 2002. Role of Oxidative Stress and Protein Oxidation in the Aging Process, Free RadicalvBiology and Medicine, 33, 37-44.
- Stuhlfauth, T., Scheuermann, R. ve Fock, H. P., 1990. Light Energy Dissipation Under Water Stress Conditions-contribution of Reassimilation and Evidence for Additional Processes, Plant Physiology, 92, 1053-1061.
- Sun, X. ve Lin, H. H., 2010. Role of Plant Dehydrins in Antioxidation Mechanisms, Biologia, 65, 755-759.
- Sun, X., Yuan, S. ve Lin, H. H., 2006. Salicylic Acid Decreases the Levels of Dehydrin-like Proteins in *Tibetan hullless* Barley Leaves Under Water Stress, Verlag der zeitschrift für Naturforschung, 61, 245-250.
- Sun, X., Xi, D. H., Feng, H., Du, J. B., Lei, T., Liang, H. G. ve Lin, H. H., 2009. The Dual Effects Salicylic Acid on Dehydrin Accumulation in Water-stressed Barley Seedlings, Russian Journal of Plant Physiology, 56, 3, 348-354.
- Szepesi, A., Csiszár, J., Bajkán, S., Gémes, K., Horváth, F., Erdei, L., Deér, A. K., Simon, M. L. ve Tari, I., 2005. Role of Salicylic Acid Pre-Treatment on The Acclimation of Tomato Plants to Salt- And Osmotic Stres, Acta Biologica Szegediensis, 49, 1-2, 123-125.

- Tabaei-Aghdaei, S. R., Harrison, P. ve Pearce, R. S., 2000. Expression of Dehydration-Stress-Related Genes in the Crowns of Wheatgrass Species (*Lophopyrum elongatum* (Host) A. Love and *Agropyron desertorum* (Fisch. Ex Link.) Schult.) Having Contrasting Acclimation to Salt, Cold and Drought, Plant Cell Environment, 23, 561-571.
- Taiz, L. ve Zeiger, E., 2010. Responses and Adaptations to Abiotic Stress. In: Plant Physiology, Fifth Edition. Sunderland, MA: Sinauer Associates. Inc. 755-778 s.
- Tang, W., 1987. Heat Production in Cycad Cones. Botanical Gazette, 148, 165-174.
- Teiz, L. ve Zeiger, S. C. E., 1998. Plant Physiology, University of California, Los Angeles Sinauer Associates, Inc., Publisher, 726-735 s.
- Terzi, R., Kadioglu, A., Kalaycioglu, E. ve Saglam, A. 2014. Hydrogen Peroxide Pretreatment Induces Osmotic Stress Tolerance by Influencing Osmolyte and Abscisic Acid Levels in Maize Leaves, Journal of Plant Interactions, 9, 1, 559-565.
- Tohma, Ö., 2007. Çilekte Salisilik Uygulamasının Tuz Stresine Dayanıklılık Üzerine Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Tohma, O. ve Esitken, A., 2011. Response of Salt Stressed Strawberry Plants to Foliar Salicylic Acid Pre-treatments, Journal of Plant Nutrition, 34, 4, 590-599.
- Tomoya, N., Ichiro, M., Shigemi, S., Norihiro, O. ve Yuko, O., 1998. Antagonistic Effect of Salicylic Acid and Jasmonic Acid on The Expression of Pathogenesis-Related (PR) Protein Genes in Wounded Mature Tobacco Leaves, Plant Cell Physiology, 39, 5, 500-507.
- Torres, M. A., Jones, J. D. G. ve Dangl, J. L., 2005. Pathogen-Induced, NADPH Oxidase-Derived Reactive Oxygen Intermediates Suppress Spread of Cell Death in *Arabidopsis thaliana*, Nature Genetics, 37, 1130-1134.
- Tourian, N., Simaki, J. M., Hasani, N. ve Madani, H., 2013. Change in Photosynthetic Pigment Concentration of Wheat Grass (*Agropyron repens*) Cultivars Response to Drought Stress and Foliar Application with Chitosan, International Journal of Agronomy and Plant Production, 4, 1084-1091.
- Umezawa, T., Hirayama, T., Kuromori, T. ve Shinozaki, T., 2011. Advances in Botanical Research, The Regulatory Networks of Plant Responses to Abscisic Acid, Editor İsmail Türkan, 57, First Edition, Elsevier, Japan, 202-233 s.
- URL-1, <https://www.saglikaktuel.com/bitki-ansiklopedisi-misir-nedir-faydalari-nelerdir-1660.htm>, 15.04.2019.
- Van Zee, K., Chen, F. Q., Hayes, P. M., Close, T. J. ve Chen, T. H. H., 1995. Cold-Specific Induction of a Dehydrin Gene Family Member in Barley, Plant Physiology, 108, 1233-1239.

- Vicente, M. R. S. ve Plasencia, J., 2011. Salicylic Acid Beyond Defence: Its Role in Plant Growth and Development, Journal of Experimental Botany, 62, 3321–3338.
- Wang, W., Vinocur, B., Shoseyov, O. ve Altman, A., 2004. Role of Plant Heat-shock Proteins and Molecular Chaperones in The Abiotic Stress Response, Trends in Plant Science, 9, 5, 244-252.
- Wang, L. J. ve Li, S. H., 2006. Salicylic Acid-Induced Heat or Cold Tolerance In Relation to Ca^{2+} Homeostasis and Antioxidant Systems in Young Grape Plants, Plant Science, 170, 685-694.
- Wang, W., Vinocur, B. ve Altman, A., 2003. Plant Responses to Drought, Salinity and Extreme Temperatures: Towards Genetic Engineering for Stress Tolerance, Planta, 218, 1, 1-14.
- Wisniewski, M., Webb, R., Balsamo, R., Close, T. J., Yu, X. M. ve Griffith, M., 1999. Purification, Immunolocalization, Cryoprotective, and Antifreeze Activity of PCA60: A Dehydrin from Peach (*Prunus persica*), Physiology Plantarum, 105, 600-608.
- Wright, A., Bubb, W. A., Hawkins, C. L. ve Davies, M. J., 2002. Singlet Oxygen-mediated Protein Oxidation: Evidence for the Formation of Reactive Side Chain Peroxides on Tyrosine Residues, Photochemistry and Photobiology, 76, 35-46.
- Wu, Y., Kuzma, J., Marechal, E., Graeff, R. ve Lee, H. C., 1997. Abscisic Acid Signaling Through Cyclic ADP-ribose in Plants, Science, 278, 2126-30.
- Xie, Z., Zhang, Z. L., Hanzlik, S., Cook, E. ve Sjen, Q. J., 2007. Salicylic Acid Inhibits Gibberellin-induced Alphaamylase Expression and Seed Germination via A Pathway Involving an Abscisic-acid-inducible WRKY Gene, Plant Molecular Biology, 64, 293-303.
- Xiong, L., Lee, B. H., Ishitani, M., Lee, H., Zhang, C. ve Zhu, J. K., 2001. FIERY1 Encoding An Inositol Polyphosphate 1- Phosphatase is A Negative Regulator of Abscisic Acid and Stress Signaling in Arabidopsis, Genes and Development, 15, 1971-84.
- Xiong, L. ve Zhu, J. K., 2002. Molecular and Genetics Aspects of Plant Responses to Osmotic Stress, Plant Cell and Environment, 25, 131-139.
- Yang, Y., Yan, C. Q., Cao, B. H., Xu, H. X., Chen, J. P. ve Jiang, D. A., 2007. Some Photosynthetic Responses to Salinity Resistance are Transferred Into the Somatic Hybrid Descendants from the Wild Soybean Glycine *Cyrtoloba* ACC547, Physiologia Plantarum, 129, 658-669.
- Yılmaz, E., Tuna, L. A. ve Bürün, B., 2011. Bitkilerin Tuz Stresi Etkilerine Karşı Geliştirdikleri Tolerans Stratejileri, C.B.Ü. Fen Bilimleri Dergisi, 71, 47-66.

- Yusuf, M., Hasan, S. A., Ali, B., Hayat, S., Fariduddin, Q. ve Ahmad, A., 2008. Effect of Salicylic Acid on Salinity Induced Changes in *Brassica juncea*, Journal of Integrative Plant Biology, 50, 1096-1102.
- Zhang, Y., Li, J., Yu, F., Cong, L., Wang, L., Burkard, G. ve Chai, T., 2006. Cloning and Expression Analysis of SKn-Type Dehydrin Gene from Bean in Response to Heavy Metals, Molecular Biotechnology, 32, 205-218.
- Zhang, X. ve Ervin, E. H., 2008. Metabolic Defense Responses of Seeded Bermudagrass During Acclimation to Freezing Stress, Crop Science, 46, 2598-2605.
- Zhang, G. H., Xu, Q., Zhu, X. D., Qian, Q. ve Xue, H. W., 2009. SHALLOT-LIKE1 is a KANADI Transcription Factor That Modulates Rice Leaf Rolling by Regulating Leaf Abaxial Cell Development, Plant Cell, 21, 719-735.
- Zhou, B., Guo, Z. ve Lin, L., 2006. Effects of Abscisic Acid Application on Photosynthesis and Photochemistry of *Stylosanthes guianensis* Under Chilling Stress, Plant Growth Regulation, 48, 195-199.
- Zhu, J. K., Hasegawa, P. M. ve Bressan, R., 1997. Molecular Aspects of Osmotic Stress in Plants, Critical Reviews in Plant Sciences, 16, 253-277.
- Zhu, B., Choi, D. W., Fenton, R. ve Close, T. J., 2000. Expression of the Barley Dehydrin Multigene Family and the Development of Freezing Tolerance, Molecular and General Genetics MGG, 145-153.
- Zhu, J. K., 2002. Salt and Drought Stress Signal Transduction in Plants, Annual Reviews of Plant Biology, 53, 247-73.
- Zhu, J. K., 2005. Understanding and Improving Salt Tolerance in Plants, Crop Science, 45, 437-448.
- 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

Lokman KÜÇÜK, 15 Ekim 1988’ de Trabzon’un Araklı ilçesinde doğdu. İlk ve ortaöğretimini Araklı’da tamamladı. 2008 yılında KTÜ Fatih Eğitim Fakültesi Ortaöğretim Fen ve Matematik Alanları Eğitimi Biyoloji Öğretmenliği’ni kazandı. 2015 yılında KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda Prof. Dr. Rabiye TERZİ danışmanlığında Yüksek Lisans eğitimine başladı. 2019 yılında Yüksek Lisansını tamamladı. Yabancı dili İngilizcedir.

