T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

KURAKLIK STRESİ ALTINDAKİ PAMUK (*Gossypium hirsutum* L.) BİTKİSİNE BAZI OSMOTİK KORUYUCULARIN ETKİSİNİN FİZYOLOJİK VE BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİN İNCELENMESİ

Nimet KILINÇOĞLU

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ŞANLIURFA

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

KURAKLIK STRESİ ALTINDAKİ PAMUK (*Gossypium hirsutum* L.) BİTKİSİNE BAZI OSMOTİK KORUYUCULARIN ETKİSİNİN FİZYOLOJİK VE BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİN İNCELENMESİ

Nimet KILINÇOĞLU

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ŞANLIURFA
2021

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET i
ABSTRACT ii
TEŞEKKÜR iii
ŞEKİLLER DİZİNİ iv
ÇİZELGELER DİZİNİ v
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ vi
1. GİRİŞ 1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 4
2.1. Bitkilerde Stres ve Kuraklığın Oluşması: 4
2.2. Kuraklık stresinin algılanması: 5
2.2.1. Kuraklık stresinin bitkiler üzerindeki morfolojik ve fizyolojik etkileri 6
2.2.2. Bitkilerin kuraklık stresi koşullarında verdikleri biyokimyasal yanıtlar 8
2.2.2.1. Serbest Oksijen Radikalleri (SOR) 10
2.2.2.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Proteinlerde Meydana Getirdiği Hasarlar 12
2.2.2.3. Serbest Oksijen Radikallerinin DNA'da oluşturduğu Hasarlar 12
2.2.2.4. Serbest Oksijen Radikallerinin Lipitlerde oluşturduğu Hasarlar 12
2.2.2.5. Serbest Oksijen Radikallerinin Antioksidan S. Sistemi üzerinde etkisi 13
2.3. Pamuk bitkisi ve önemi: 17
2.3.1. Pamukta kısıntılı sulamanın agronomik özellikler üzerinde etkisi: 20
2. 4. Osmolit uygulamaları: 27
2.4.1. Prolin ve fizyolojik özellikleri: 28
2.4.2. Prolin Biyo-Sentez Yolu: 29
2.4.3. Glisin betainin ve fizyolojik özellikleri 30
2.4.3. GB'nin Biyo-sentez yolu: 31
2.4.4. Osmolitlerin stresteki rolleri 32
2.4.5. Osmolitlerin strese karşı karakterize özellikleri 33
2.4.5.1. Osmotik basıncı dengeleme: 33
2.4.5.2. Su kaybı (dehidrasyon) sırasında hücresel yapıların korunması 34
2.4.5.3. Reaktif Oksijen Türleri (ROS) temizleyicisi 34
3. MATERYAL ve YÖNTEM 36
3.1. Materyal 36
3.1.1. Bitki materyali 36
3.1.1.1. Candia 36
3.1.2. Bitkiye uygulanan osmolit çeşitleri 37
3.1.2.1. l-prolin 37
3.1.2.2. Glisin betain 37
3.2. Yöntem 37
3.2.1. Tohum ve kullanılacak malzemelerin yüzey sterilizasyonu 37
3.2.2. Deney serilerinin hazırlanması 39
3.2.3. Besin çözeltisinin ve diğer çözeltilerin hazırlanması 41
3.3. Ölçüm ve Analizler 41
3.3.1. Büyüme parametrelerinin belirlenmesi 41
3.3.2. Yapraklarda nispi su içeriği (NSİ) tayini 42
3.3.3. Toplam Çözünebilir Karbonhidrat Miktarı 42
3.3.4. Fotosentetik pigment konsantrasyonlarının belirlenmesi 43
3.3.5. Prolin tayini 43
3.3.6. Lipit peroksidasyonunun (MDA) oluşumunun belirlenmesi: 44
3.3.7. Bazı besin elementlerinin belirlenmesi 45
3.3.8. Toplam fenol, antosiyanin ve flavonid miktarları 45

3.3.9. Total çözünmüş protein miktarının belirlenmesi 46
3.3.10. Verilerin istatistiksel analizi 47
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA 48
4.1. Farklı Kuraklık Seviyelerinde Yetişen Pamuk Bitkisine Dışsal Osmolit Uygulamasının Büyüme Parametreleri Üzerinde Etkisi 48
4.2. Farklı Kuraklık Seviyelerinde Yetişen Pamuk Bitkisine Dışsal Osmolit Uygulamasının Klorofil a, b ve Karotenoid Üzerinde Etkisi 59
4.3. Farklı Kuraklık Seviyelerinde Yetişen Pamuk Bitkisine Dışsal Osmolit Uygulamasının Total Çözünmüş Karbonhidrat (KH) Üzerine Etkisi 66
4.4. Farklı Kuraklık Seviyelerinde Yetişen Pamuk Bitkisine Dışsal Osmolit Uygulamasının Total Fenol, Antosiyanin ve Flavonoid Üzerine Etkisi 68
4.5. Farklı Kuraklık Seviyelerinde Yetişen Pamuk Bitkisine Dışsal Osmolit Uygulamasının Total Çözünmüş Protein Üzerine Etkisi 73
4.6. Farklı Kuraklık Seviyelerinde Yetişen Pamuk Bitkisine Dışsal Osmolit Uygulamasının Malondialdehit (MDA)Miktarı Üzerine Etkisi 76
4.7. Farklı Kuraklık Seviyelerinde Yetişen Pamuk Bitkisine Dışsal Osmolit Uygulamasının Prolin Miktarı Üzerine Etkisi 79
4.8. Farklı Kuraklık Seviyelerinde Yetişen Pamuk Bitkisine Dışsal Osmolit Uygulamasının Yaprak Nispi Su (RWC) Miktarı Üzerine Etkisi 81
4.9. Farklı Kuraklık Seviyelerinde Yetişen Pamuk Bitkisine Dışsal Osmolit Uygulamasının Bazı Besin Elementi Üzerinde Etkisi (Ca, K, Na, Mg, P) 84
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER 92
KAYNAKLAR 94
ÖZGEÇMİŞ 110

ÖZET

Doktora Tezi

KURAKLIK STRESİ ALTINDAKİ PAMUK (*Gossypium hirsutum* L.) BİTKİSİNE BAZI OSMOTİK KORUYUCULARIN ETKİSİNİN FİZYOLOJİK VE BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİN İNCELENMESİ

Nimet KILINÇOĞLU

Harran Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. A. Cenap CEVHERİ
Yıl: 2021, Sayfa: 112

Bu çalışmada bitkisel materyal olarak pamuk (*Gossypium hirsutum* L.) türüne ait Candia çeşidi kullanılmıştır. Şanlıurfa'da yaygın olarak yetiştirilen bu pamuk genotipini farklı kuraklık dozlarında yetiştilirip (%0 (kontrol), %10 ve %20 PEG 6000 grupları), prolin ve glisin betain osmolitlerini 2 farklı dozda uygulanmıştır (0 ve 2 mM). Bitkiler 5-6 yapraklı evreye gelinceye kadar yetiştirilmiştir. Daha sonra bitkiler, perlit ortamında, otuz gün boyunca hoagland besin solüsyonuyla sulanmıştır. Otuz birinci gün stres uygulanmaya başlanmıştır. Yedi gün boyunca osmotik stres uygulanmış, sekizinci gün bitkiler hasat edilmiştir. Bu uygulama ile hem kuraklık stresine verdikleri tepkileri belirlemek hemde bu osmolit uygulamasının ne kadar iyileştirdiğni görmek amaçlanmıştır. Bunun için yetiştirilen bitkilerin kök ve gövdelerin boyu, yaş ve kuru ağırlıkları gibi temel büyüme parametreleri, yaprak nispi su içeriği (NSİ), fotosentetik pigment (kl-a, kl-b ve karotenoid) konsantrasyonları, toplam protein, prolin birikimi, malondialdehit (MDA) miktarı, toplam karbonhidrat, toplam fenol ve antosiyanin, toplam flavonoid, bazı besin elementlerin incelenmiştir.

PEG-6000 ile oluşturulan kuraklık stresi uygulaması arttıkça gövde yaş ağırlıklarının azaldığı, kök uzunluğunu arttırdığı, yaprak NSİ'ni azaldığı gözlenmiştir. Ayrıca fotosentetik pigment miktarlarından klorofil a ve b azalmış, toplam karotenoid artmıştır. Yine kuraklık şiddeti arttıkça, toplam çözünmüş protein ve karbonhidrat, toplam fenol, toplam antosiyanin ve toplam flavonoid ve K element miktarlarında artış görülürken; Ca, Mg, Na ve P elementlerin miktarlarında azalma görülmüştür. Bu kuraklık dozlarıyla birlikte osmolit uygulaması yapıldığında değerlerin anlamlı derecede iyileştiği görülmüştür. Glisin betain ve prolin benzer ölçüde etki etmiştir.

Günümüzde pamuk yetiştiriciliği yapan çiftçilere pamuk bitkisinin suyu nasıl kullandığı, kuraklığın bitkiye verdiği olumsuz etkileri ve kuraklık stresine karşı osmolit uygulamasının bitkide zararlanmayı nasıl azalttığı anlatılabilir. Özellikle osmolit madde uygulamasını, pamuğun gübrelenmesi, organik ilaçlama gibi konuların öğretilmesi için eğitimler düzenlenebilir. Bu şekilde kuraklık stresinin getireceği verim kaybı minumum olması sağlanır, çevreye de en az zarar verilmiş olur.

ANAHTAR KELİMELER: Pamuk (*Gossypium hirsutum* L.), kuraklık, prolin, glisin betain, osmolit

ABSTRACT

PhD Thesis

INVESTIGATION OF PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PROPERTIES OF THE EFFECTS OF SOME OSMOTIC PRESERVATIVES ON COTTON (*Gossypium hirsutum* L.) PLANT UNDER DROUGHT STRESS.

Nimet KILINÇOĞLU

Harran University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. A. Cenap CEVHERİ
Year: 2021, Page: 112

In this study, Candia variety belonging to cotton (Gossypium hirsutum L.) was used as herbal material. The role of this cotton genotype, which is widely grown in Şanlıurfa, in reducing the damages of drought by cultivating different drought doses and applying proline and glycine betaine osmolites in 2 different doses (0 and 2 mM) was investigated. Plants were grown until they reached the 5-6 leaf stage. The plants were then irrigated with hoagland nutrient solution for thirty days in perlite medium. On the 31st day, stress was applied. It was divided into 0% (control), 10% and 20% groups using PEG 6000 to induce osmotic stress. These groups were divided into 0 and 2 mM osmolite dose groups. By applying osmotic stress for 7 days, the 8th day plants were harvested. With this application, it was aimed to determine their reactions to drought stress and to see how much this osmolite application improved. For this, basic growth parameters such as the length of the roots and stems of the grown plants, their wet and dry weights, leaf relative water content (NSI), photosynthetic pigment (kl-a, kl-b and carotenoid) concentrations, total protein, proline accumulation, malondialdehyde (MDA) amount, total carbohydrate, total phenol and anthocyanin, total flavonoid, some nutritional elements were studied.

It has been observed that as the drought stress application created with PEG-6000 increases, stem wet weights decrease, root length increases and leaf NSI decreases. In addition, chlorophyll a and b, among the photosynthetic pigment amounts, decreased and total carotenoid increased. Again, as the severity of drought increased, the amount of total dissolved protein and carbohydrate, total phenol, total anthocyanin and total flavonoid and K elements increased; There was a decrease in the amount of Ca, Mg, Na and P elements. When osmolite was applied with these drought doses, it was observed that the values improved significantly. Glycine betaine and proline worked to a similar extent.

Today, cotton farmers can be taught how the cotton plant uses water, the negative effects of drought on the plant, and how osmolite application reduces damage to the plant against drought stress. Trainings can be organized to teach subjects such as the application of osmolyte material, fertilization of cotton, and organic spraying. In this way, the loss of productivity caused by drought stress is minimized, and the environment is least damaged.

KEY WORDS: Cotton (*Gossypium hirsutum* L.), drought, proline, glycine betaine, osmolite

TEŞEKKÜR

Doktora tezi olarak sunduğum bu çalışma, 18162 no'lu HARRAN Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi olarak desteklenmiş ve HARRAN Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Bitki Büyütme Odası Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Bu desteği sağlayan üniversitemizin HÜBAK birimine teşekkür ederim.

Tez çalışmalarımın her aşamasında bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, tez çalışmaları dışında da her konuda yardımlarını esirgemeyen, akademik hayatımda önemli bir yeri olan değerli tez danışmanım Sayın Prof. Dr. A. Cenap CEVHERİ'ye en içten dileklerimle teşekkür ederim. Tez çalışmamın analizlerini yapabilmek adına laboratuvarının kapısını açan ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Dr. Mahmut DOĞAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında ilgi, yardım ve desteklerini gördüğüm, tez konumun belirlenmesinde katkı sunan tez izleme komitesinde bulunan Sayın Prof. Dr. Çiğdem KÜÇÜK'e, Sayın Prof. Dr. Tahir POLAT'a teşekkür ederim. İhtiyacım olduğunda her zaman kapısını çaldığım Sayın Dr. Cevher İlhan CEVHERİ'ye, ayrıca tecrübelerinden faydalandığım Prof. Dr. M. Tahir GÜLLÜOĞLU'na teşekkür ederim. Benle birlikte laboratuvar ortamında bütün gün çalışan Hatice Yüsra NAHYA'ya teşekkürü borç bilirim.

Çalışmalarım boyunca kızlarımın yanında olan ve tezimi yazabilmek adına bana destek çıkan sevgili annem Ayşegül CAN'a, her daim yanımda olan her türlü sıkıntılarıma katlanan ve bana zor anımda destek veren sevgili eşim Mehmet KILINÇOĞLU'na, bugünlere gelmemi sağlayan, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen anneme, rahmetli babama ve kardeşlerime şükranlarımı sunuyorum.

Hepiniz iyi ki varsınız...

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1. Prolinin bitkilerdeki fonksiyonları..... 29
Şekil 2.2. Bitkilerde prolin metabolizması..... 30
Şekil 2.3. GB'nin sentezlenme yolları.....32
Şekil 3.1. Denemede kullanılacak tüm malzemeleri sterilize edilmesi 38
Şekil 3.2. Denemede kullanılan tohumların sterilizasyonu ve ekilmesi……..38
Şekil 3.3. Otomatik bitki büyütme odasının koşullarının ayarlanması ve kabinden genel görüntü…38
Şekil 3.4. Çalışmada oluşturulan deney gruplarının şematik gösterimi……..... 39
Şekil 3.5. Stres öncesi bitkilerin genel durumu (30. Gün) ve solüsyonların hazırlanması……..40
Şekil 3.6. Hasat sonrası bitkilerin büyüme parametrelerinin ölçülmesi ……42
Şekil 3.7. Analizlerden genel görüntü…… 40
Şekil 3.8. MDA analizinden görüntü…….....41
Şekil 3.9. ICP cihazından genel bir görüntü ……...……...42
Şekil 4. 1. Gövde boyunun gruplar arası sonuçları (cm bitki^{-1})……..…… 49
Şekil 4. 2. Kök boyunun gruplar arası sonuçları (cm bitki^{-1})……..…… 51
Şekil 4. 3. Gövde yaş ağırlıklarının gruplar arası sonuçları (g bitki $^{-1}$)……... 52
Şekil 4. 4. Kök yaş ağırlıklarının gruplar arası sonuçları (g bitki $^{-1}$)……...53
Şekil 4. 5. Gövde kuru ağırlıklarının gruplar arası sonuçları (g bitki $^{-1}$)…….…… 55
Şekil 4. 6. Kök kuru ağırlıklarının gruplar arası sonuçları (g bitki $^{-1}$)…..…… 57
Şekil 4. 7. Yaprakta klorofil a sonuçlarının gruplar arası gösterimi..…… ….61
Şekil 4. 8. Yaprakta klorofil b sonuçlarının gruplar arası gösterimi……..62
Şekil 4. 9. Yaprakta toplam karotenoid miktarının gruplar arası gösterim (µg g^{-1} YA)……..... …64
Şekil 4. 10. Yaprakta toplam çözünmüş karbonhidrat miktarının gruplar arası gösterimi…… ….67
Şekil 4. 11. Yaprakta toplam fenol miktarının gruplar arası gösterimi (mg ml^{-1})…… ..….69
Şekil 4. 12. Yaprakta antosiyanin miktarının gruplar arası gösterimi (mg g^{-1}).....…….. ……70
Şekil 4. 13. Yaprakta toplam flavonoid miktarının gruplar arası gösterimi (mg ml^{-1})…… ....…...72
Şekil 4. 14. Yaprakta protein miktarının gruplar arası gösterimi (mg ml^{-1}).....…… …….75
Şekil 4. 15. Yaprakta MDA miktarının gruplar arası gösterimi (nmol g^{-1} YA)..... 78
Şekil 4. 16. Yaprakta prolin miktarının gruplar arası gösterimi (µmol g^{-1} YA)…… ……80
Şekil 4. 17 Yaprakta nispi su içeriğinin gruplar arası gösterim (% bitki $^{-1}$ YA)……83
Şekil 4. 18 Yaprakta Ca element miktarının gruplar arası gösterim (mg L^{-1} KA)…….. ……85
Şekil 4. 19 Yaprakta K element miktarının gruplar arası gösterim (mg L^{-1} KA)……87
Şekil 4. 20. Yaprakta Mg element miktarının gruplar arası gösterim (mg L^{-1} KA)……..….88
Şekil 4. 21 Yaprakta Na element miktarının gruplar arası gösterim (mg L^{-1} KA)…..……..…….90
Şekil 4. 22. Yaprakta P element miktarının gruplar arası gösterim (mg L^{-1} KA …..... …….91

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No:

Çizelge 3.1. Hoagland besin solüsyonu içeriği…… ……..38
Çizelge 4. 1. Gövde boyu sonuçlarının ANOVA test sonucu…… ……48
Çizelge 4. 2. Gövde boyu sonuçlarının Tukey's test sonucu…… …….....49
Çizelge 4. 3. Gövde boyu sonuçlarının ANOVA test sonucu…… ……50
Çizelge 4. 4. Gövde boyu sonuçlarının Tukey's test sonucu…… …….50
Çizelge 4. 5. Gövde yaş ağırlık sonuçlarının ANOVA test sonucu…… ……...51
Çizelge 4. 6. Gövde boyu sonuçlarının Tukey's test sonucu…… …….52
Çizelge 4. 7. Kök yaş ağırlık sonuçlarının ANOVA test sonucu…… ……...53
Çizelge 4. 8. Kök yaş ağırlık sonuçlarının Tukey's test sonucu…… ……53
Çizelge 4. 9. Gövde kuru ağırlık sonuçlarının ANOVA test sonucu…… …….54
Çizelge 4. 10. Gövde kuru ağırlık sonuçlarının Tukey's test sonucu…… ……55
Çizelge 4. 11. Kök kuru ağırlık sonuçlarının ANOVA test sonucu…… ……...56
Çizelge 4. 12. Kök kuru ağırlık sonuçlarının Tukey's test sonucu…… ……56
Çizelge 4. 13. Yaprakta klorofil a sonuçlarının ANOVA test sonucu…… ……...60
Çizelge 4. 14. Yaprakta klorofil a sonuçlarının Tukey's test sonucu…… ……60
Çizelge 4. 15. Yaprakta klorofil b sonuçlarının ANOVA test sonucu…… ……...61
Çizelge 4. 16. Yaprakta klorofil b sonuçlarının Tukey's test sonucu…… ……62
Çizelge 4. 17. Yaprakta toplam karotenoid miktarının ANOVA test sonucu.....63
Çizelge 4. 18. Yaprakta toplam karotenoid miktarının Tukey's test sonucu..... ……63
Çizelge 4. 19. Yaprakta toplam karbonhidrat sonuçlarının ANOVA test sonucu…… ……..…..66
Çizelge 4. 20. Yaprakta toplam karbonhidrat sonuçlarının Tukey's test sonucu.....66
Çizelge 4. 21. Yaprakta toplam fenol sonuçlarının ANOVA test sonucu…….……68
Çizelge 4. 22. Yaprakta toplam fenol sonuçlarının Tukey's test sonucu..... 68
Çizelge 4. 23. Yaprakta toplam anthosiyanin sonuçlarının ANOVA test sonucu…… ……69
Çizelge 4. 24. Yaprakta toplam antosiyanin sonuçlarının Tukey's test sonucu……70
Çizelge 4. 25. Yaprakta toplam flavonoid sonuçlarının ANOVA test sonucu…… ……...71
Çizelge 4. 26. Yaprakta toplam flavonoid sonuçlarının Tukey's test sonucu……71
Çizelge 4. 27. Yaprakta toplam protein sonuçlarının ANOVA test sonucu…… ……..74
Çizelge 4. 28. Yaprakta toplam protein sonuçlarının Tukey's test sonucu……74
Çizelge 4. 29. Yaprakta MDA sonuçlarının ANOVA test sonucu…….……77
Çizelge 4. 30. Yaprakta MDA sonuçlarının Tukey's test sonucu…… …….……77
Çizelge 4. 31. Yaprakta prolin sonuçlarının ANOVA test sonucu…… ……79
Çizelge 4. 32. Yaprakta prolin sonuçlarının Tukey's test sonucu..……80
Çizelge 4. 34. Yaprakta yaprak nispi su içeriği sonuçlarının ANOVA test sonucu ……..82
Çizelge 4. 35. Yaprakta yaprak nispi su içeriği sonuçlarının Tukey's test sonucu……...……..……82
Çizelge 4. 36. Yaprakta Ca element miktarı sonuçlarının ANOVA test sonucu..... 84
Çizelge 4. 37. Yaprakta Ca element miktarı sonuçlarının Tukey's test sonucu.....85
Çizelge 4. 38. Yaprakta K element miktarı sonuçlarının ANOVA test sonucu.....86
Çizelge 4. 39. Yaprakta K element miktarı sonuçlarının Tukey's test sonucu..... 86
Çizelge 4. 40. Yaprakta Mg element miktarı sonuçlarının ANOVA test sonucu..... 87
Çizelge 4. 41. Yaprakta Mg element miktarı sonuçlarının Tukey's test sonucu..... 88
Çizelge 4. 42. Yaprakta Na element miktarı sonuçlarının ANOVA test sonucu..... 89
Çizelge 4. 43. Yaprakta Na element miktarı sonuçlarının Tukey's test sonucu..... 89
Çizelge 4. 44. Yaprakta P element miktarı sonuçlarının ANOVA test sonucu..... 90
Çizelge 4. 44. Yaprakta P element miktarı sonuçlarının Tukey's test sonucu..... 91

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ABA	: Absisik asit
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
APOX	: Askorbat peroksidaz
AR-GE	: Araştırma Geliştirme
C	: Karbon elementi
Ca	: Kalsiyum
CO_2	: Karbondioksit
DMSP	: Dimetilsülfoniopropionat
DNA	: Deoksiribonükleikasit
EDTA	: Etilendiamintetraasetikasit
ELWL	: Kesik Su Kaybı Oranı
Fe	: Demir
g	: Gram
G5SA	: glutamil- 5-semialdehit
GB	: Glisin betain
GR	: Glutatyon redüktaz
GST	: Glutatyon S- Tranferanzlar
HCl	: Hidrokloroik asit
H_2O_2	: Hidrojen peroksit
ICP-AES	: İndüklenmiş Eşleştirilmiş Plazma Emisyon Spektrofotometresi
IWC	: Başlangıç Su İçeriği
ITK	: Işık tutucu kompleks
K	: Potasyum
KA	: Kuru Ağırlık
Kar	: Karotenoid
Kl-a	: Klorofil a
Kl-b	: Klorofil b
LEA	: Geç Embriyogenez Proteinleri
MDA	: Malondialdehit
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
MDA	: Malondialdehit
mRNA	: Mesajcı RNA
Na	: Sodyum
NaCl	: Sodyum klorür
NaOH	: Sodyum hidroksit
nm	: Nanometre
NSİ	: Nispi su içeriği
O_2	: Oksijen molekülü
$O_2^{\cdot -}$	: Süperoksit radikali
•OH	: Hidroksil radikali
OSK	: Oransal Su Kapsam
POX	: Peroksidaz
P5CDH	: prolin-5-karboksilat dehidrogenaz
P5CR	: Δ1-pirolin-5-karboksilat-redüktaz
P5C5	: Δ1-pirolin-5-karboksilat-sentaz
P5CS1	: Δ1-pirolin-5-karboksilat sentaz enzimi tip 1 izoformu
P5CS2	: Δ1-pirolin-5-karboksilat sentaz enzimi tip 2 izoformu
PDH	: prolin dehidrogenaz
PEG 6000	: Polietilen glikol 6000
PEG 600	: PEG 6000 kısaltması
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
S.H.	: Standart hata

SAR	: Sistemik edinsel savunma mekanizması (Systemic Acquired Resistance)
SOD	: Süperoksit dismutaz
TA	: Turgorlu ağırlık
TBA	: Tiobarbütirik asit
TCA	: Trikloroasetik asit
UV	: Ultraviyole
YA	: Yaş ağırlık
µg	: Mikrogram
µmol	: Mikromol
ΔA	: Ölçülen absorbans değeri
δ-OAT	: ornitin- δ-amino transferaz
ε	: extinksiyon kat sayısı

1. GİRİŞ

Pamuk bitkisi Malvecaea ailesinin *Gossypium* cinsinden gelmektedir. Pamuk dünyada ilk çıkış kapısı Hindistan' dan olarak bilinmektedir. Tarımı yaklaşık en az 5000 yıla denk gelirken tekstil alanında kullanılması ise M.Ö. 3000 yıllarında olduğu arkelojik kazılarca anlaşılmıştır. Anadolu'ya gelişi ise 1. Yüzyıl olduğu bildirilmiştir (Çubukçu, 2007).

Pamuk bitkisinin lifleri tekstil sanayisinde çekirdeğinden yağ elde edilmesiyle yağ endüstrisinde, kapçık ve küspesiyle yem olarak gıda sanayisinde, lifleriyle selüloz sanayisinde temel maddesi olarak kullanılan önemli bir tarım ürünüdür. Ayrıca endüstri sanayisinde birçok insana geçim kapısı olmaktadır (Çubukcu, 2007).

Bitkiler toprağa bağlı yaşadıkları için birçok çevresel baskıya maruz kalırlar. Bitkilerin büyüme ve gelişmesini sınırlandıran, metabolik fonksiyonlarını değiştiren etkilere stres denir (Kalefetoğlu ve Ekmekçi, 2005). Stres faktörleri canlı organizmalar ve ilişkilerine bağlı ise biyotik faktör, canlı olmayan etmenlere (kuraklık, ışık, sıcaklık, don vb.) bağlı ise abiyotik stres denmektedir. Bu stres faktörleri bitki metabolizmasının olağan seyrini değiştirir. Stres faktörünün dozuna ve uygulama şiddetine bağlı olarak bitkileri hayati tehlikeye sokabilmektedir (Kalefetoğlu ve Ekmekçi, 2005).

Kuraklık stresi, abiyotik stres faktörlerinin başında gelip, dünya genelinde birçok tarım ürününe zarar verip, verimi düşürmektedir. Bitkiler ekimden tohum verme aşamasına kadar tüm vejetatif dönemde kuraklık stresine maruz kalabilmektedir (Kalefetoğlu ve Ekmekçi, 2005; Güneş ve ark., 2006). Dünya genelinde kullanılan alanlarda görülen stres faktörleri yüzdelendirildiğinde kuraklık stresi %26' lık oranla ilk sırada yer almaktadır (Blum, 1986). Kuraklık stresinden etkilenmiş ülkelerin sayısı 28-30 adet iken, 2030 yılında bu oranın yaklaşık 50 adet ülkeye yayılacağı düşünülmektedir. Kuraklık stresinin tarım ürünlerine verdiği zarardan yaklaşık 3 milyar insanın etkileneceği ön görülmektedir (Graham ve Vance, 2003; Chaves ve Oliveria, 2004; Simova ve ark., 2008). Kuraklık stresi gibi abiyotik

stres sorunlarının verdiği zararların azaltılmasını sağlayan uygun teknik çeşitlerinin geliştirilmesinin hem zor hemde maliyetlidir. Sosyo-ekonomik açıdan önem arz eden kültür bitkilerinin stres faktörlerine karşı duyarlı olmaları sebebiyle daha dayanıklı bitkilerin seçilmesi ve bu bitkilerin strese tepki mekanizmalarının belirlenmesi, yeni çeşitlerin geliştirilmesi önem arz etmektedir (Anonim, 2012). Bu gaye ile yapılan çalışmalarda verim arttırılırken, besleyici değeri yüksek, çevreye verdiği zararlı etkinin en az olmalıdır.

Kuraklığın zararlı etkilerinden korunabilmek için bitkiler osmolit olarak adlandırılan organik ve inorganik maddeler sentezlemektedir. Bu maddeleri sentezleyerek, hücre içi turgor seviyesinin sürdürebilirliği sağlanır (Sánchez ve ark., 2004). Osmolitler çeşitli organellerde yer alabilirken genellikle hücre sitozolünde yer alır. Neredeyse vakuolde hiç birikmez (Moghaieb ve ark., 2004). Hücre içinde biriken bu osmolitler, kararlı bir yapıda olup metabolik olaylarda kullanılmazlar. Bu osmolitlerin hücre içinde yüksek miktarlarda birikmesi bile toksit etki yapmamaktadır (İba, 2002). Bu osmotik düzenleme ile hücre içi basınç dengelenir, büyüme, fotosentez ve stomaların açılıp kapanması gibi birçok fizyolojik olayları yönetir (Chimenti ve ark., 2002). Prolin, betainler, dimetilsülfoniopropionat (DMSP), polyoller (mannitol, sorbitol, pinitol), trehaloz ve fruktanlar ozmotik koruyuculara örnektir (Smirnoff, 1998). Bunlardan glisin betain ve prolin en sık üretilen osmotik koruyuculardan olup, hücre içi yapıların korunmasında, reaktif oksijen türlerinin uzaklaştırılmasında rol oynar (Mani ve ark., 2002).

Küresel iklim değişikliğine bağlı olarak düzensiz ve yetersiz yağış, yüksek sıcaklığa bağlı olarak tarım ürünlerinin veriminde azalmalar meydana gelmektedir. Bu değişimler pamuk bitkisini de önemli ölçüde zarar vermektedir. Kuraklık stresinin olumsuz etkilerini azaltmak amacıyla dışardan osmolit uygulanması ile ilgili çalışma çok az bulunmaktadır. Araştırmada kulladığım pamuk çeşidi CANDİA çeşididir. Bu sebeple bu çalışmada pamuk bitkisi, hem PEG-6000 (%0, %10, %20) kullanılarak oluşturulan kuraklık stresine karşı verdiği fizyolojik ve biyokimyasal özellikler araştırılmış hemde bu kuraklık gruplarına dışsal prolin ve glisin betain

uygulayarak, kuraklığın meydana getirdiği zararlanmayı iyileştirme etkisi araştırılmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Bitkilerde Stres ve Kuraklığın Oluşması

Stres kavramı bitkilerin fizyo-biyolojik aktivitelerini değiştiren bir olgudur. Stres faktörleri biyotik ve abiyotik faktörler olmak üzere ikiye ayrılır. Abiyotik stres faktörlerinin başında ise kuraklık stresi gelmektedir.

Kuraklık ise bitki gelişimini olumsuz yönde etkileyen, topraktaki su miktarını hiç ya da yetersiz kaldığı dönemdir. Kuraklık bitkinin evapo-transpirasyon hızına ve toprağın su tutma gücüne bağlıdır (Jones, 1992; Smirnoff, 1993). Kuraklık derecesini su noksanlığının olduğu ilk evre ve kurumanın gerçekleştiği ikinci evre diye iki tipe ayrılabilir. Su noksanlığı durumu, oransal su miktarının %70'lere düştüğünde stomaların kapanıp, gaz alışverişini kısıtladığı orta derecedeki su kaybıdır. İleri derece su noksanlığı durumunda ise hücreninderecedeki su kaybıdır. İleri derece su noksanlığı durumunda ise hücrenin hayati derecesenin tehlikeye girdiği, enzimatik reaksiyonların ve metabolizmanın durma noktasına geldiği duruma kuruma denir. Kurumaya yatkın vasküler bitkilerin %30'un altına düştüğünde bitkide iyileşme gerçekleşmez (Smirnoff, 1993).

Bitkiler kuraklığı belirgin ölçüde su kaybı olduğunda hücre içi turgor değişimi ile etkisini gösterir (Levitt, 1972). Su kaybıyla hücrenin total hacmi küçülür, plazma zarı hücre duvarından ayrılarak, tonoplastta ve plazma membranında çökmeler meydana gelir (McKersie, 1994). Genellikle bu durum zar yapısının üstünde yer alan hidrolitik enzimlerin etkisiyle sitozolün otoliziyle gerçekleşir ki bu zarar bitki metabolizmasını kalıcı olarak bozmaktadır (Salisbury, 1992).

Hücrenin temel bileşeninin su olması, taşıyıcı olup, hücresel reaksiyonlarda enzimlerin çalışmasına ortam sağlaması gibi temel fonksiyonları olan su, noksanlık durumunda bitkinin metaboliz düzeni bozulmaya başlar. Su kaybı ile birlikte hücre zar yapısında bulunan hidrofobik ve hidrofilik aminoasit türlerinin etkileşimi bozulur

ve protein yapılarında denetürasyonlar ve enzim aktivitelerinde gerilemeler olur (Bray, 1997).

2.2. Kuraklık stresinin algılanması

Bitkiler kuraklık stres faktörüne karşı verdiği yanıtlar bitki türüne, genotip özelliğine, su kayıp derecesine ve su kaybı süre uzunluğuna, bitkinin gelişim derecesine, bitkinin yaşına, bitkinin hücre tipi ve hücresel yapılaşmaya (hücresel çeper oluşumu ve hücre membranı gibi) bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Bray, 1997). Verilen cevaba yanıt süresi değişkenlik gösterir. Strese karşı oluşturulan cevaplar temelde genler ile yönetilir ve iki tiptir:

Geçiçi durumlarda ya da belli dakikalar içinde uyarılan genlere erken cevap genleri denir. Tüm sinyal bileşenleri önceden var olduğu için tekrardan yeni protein sentezine gerek duyulmaz. Bazı genler ise strese karşı yavaş yavaş uyarılarak devamlı olarak aktif olan genlere geç cevap genleri denir. Strese verilen yanıtta yer alan genlerin çoğunluğunu oluştururlar. Ayrıca erken cevap genleri, geç cevap genlerini indükleyecek transkripsiyon faktörlerini de içermektedir (Zhu, 2002).

Ortamdaki suyun azalmasıyla, hücre içindeki su konsantrasyonu değişmeye başlar. Hücre su kaybetmeye başladıkça kuraklık stresine hücresel yanıtın sinyal iletim yolu uyarılır. İlgili genlerin aktive edilerek sinyal mekanizması oluşturulur (Bray, 1997). Erken cevap genleri hızlı cevap verirken, geç cevap genleri ise yavaş yavaş ABA hormonun üretilmesiyle uyarılır. Kuraklık stresinin başlama sinyali ile gen ekspresyonu arasında ABA hormonuna bağımlı ve ABA hormonundan bağımsız olmak üzere iki adet sinyal iletim ve etkileşim yolu bulunmaktadır (Shinozaki ve Yamagucci-Shinozaki, 1996)

Uyarılan bu genler, metabolik olayları yöneten proteinleri üreterek, hücre içi su seviyesini korumada ve kuraklık stresi etkisine karşı yanıtın oluşmasında görev üstlenirler. Gen ifadeleri sonucu ikiye ayrılırlar:

İlk grup strese karşı yanıt oluşturan proteinleri kapsamaktadır. Suyun taşınımında rol alan kanal proteinleri, osmotik basıncı dengeleyen osmolitlerin (şekerler, prolin, glisin-betain) biyosentezinde rol alan enzim çeşitleri ve hücre zarlarını çevreleyen proteinler, proteaz türleri, toksik maddeleri uzaklaştıran enzimler, LEA (geç embriyogenez proteinleri), bazı şaperon çeşitleri, mRNA'ya bağlı bulunan bazı protein gibi yapıları kapsamaktadır. Diğer grup, kuraklık stresine cevap oluışturulmasında görev alan genlerin ifadesi, sinyal iletilmesinin daha ileri ki aşamasında yer alan Protein kinaz çeşitleri, transkripsiyon etkileri ve fosfolipaz C gibi molekülleri içerir (Shinozaki ve Yamagucci-Shinozaki, 1997).

2.2.1. Kuraklık stresinin bitkiler üzerindeki morfolojik ve fizyolojik etkileri

Pamuk bitkisi, kurak ve yarı kurak koşullarda yetişebilen önemli lif bitkilerinden bir tanesidir. Pamuk genotipleri çoğunlukla kuraklığa dayanıklı türler arasında yer alsa da su noksanlığı pamuk btkisinin büyüme ve gelişmesini kısıtlamaktadır. Lif verimini ve tohum kalitesini önemli oranda düşürmektedir (Ullah ve ark., 2008).

Kökler, bitkilerin hücre içinde simplastik ve apoplastik yolla topraktan suyu ve minerali almasına yardımcı olan yapılarıdır. Topraktan alınan bu maddeler iletim demetlerinin yardımıyla gövde ve yapraklara taşınır. Kökler, suyun olmayışına ya da kısıtlı oluşuna bağlı olarak yapılarında morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler değişimler uygulayarak ürünün kalitesini ve verimini azalttığı belirtilmiştir (Leucci ve ark., 2008; Tester ve Leigh, 2001).

Orta şiddette oluşan kuraklık bitkilerin kök sistemi gelişimini etkiler. Bir sürgün en fazla büyümeyi, köklerden su alarak, büyümenin maksimum ulaşabileceği yere kadar izin verir. Köklerde, sürgünlerden gelen fotosentez ürünleri kullanarak gelişimini sürdürür. Topraktaki su miktarı azaldıkça, toprağın üst kısmı kurumaya başlar. Köklerde daha fazla su aramak için toprağın nemli kısımlarına doğru inmeye çalışır. (Kaçar, 2007; Atasoy, 2013).

Pamuk bitkisinin gelişme periyoduna uygun olarak yapılan sulamanın büyüme hızını, koza büyüklüğünü ve lif uzunluğunu arttırdığını, bitki ekolojisini de iyileştirdiği için koza ve lif kalitesini de olumlu yönde geliştirdiğini bildirmiştir (Dağdelen ve ark., 1998). Pamukta sulamanın yetersiz olduğu durumlarda koza bağlama, tarak ve koza dökümü, lif verimi ve lif kalitesi üzerinde düşüş ve gerilemelerin olduğunu belirtmiştir (Kıvılcım ve ark., 2005). Uygulanan sulama suyu miktarında ve sıklığındaki artış genel olarak verimde de artışa sebebiyet vermiştir (Yılmaz ve ark., 1998; Basal ve ark., 2008).

Sulu ve kurak koşullarda yetişen pamuk bitkisinin genotipleri arasından sürgün ve köklerin kuru ağırlığı, yan kök sayısı, kök uzunluğu, yaprak alanı ve sıcaklığı açısından farklılıklar olduğu saptanmıştır. Ayrıca, kök morfolojisi ve kökün büyüme potansiyeli kurak koşullarda önemli bir rol üstlenmektedir (Kıvılcım ve ark., 2005). Ayrıca güçlü kök sistemi, kullanılabilir su randımanı, stoma iletkenliği, fotosentez oranı, karbon izotop ayırımı, kanopi sıcaklığı, yapraklardaki oransal su içeriği, transpirasyon ve hücre içi ozmotik düzenleyicilerin birikmesi, kuraklığa dayanıklı pamuk genotipi geliştirmede kullanılabilecek seleksiyon kriterleri arasında önerilmiştir (Başal ve Ünay, 2006).

Bitkilerde kuraklığa tolerans geliştirme ile ilgili çalışmalar çoğunlukla kökün morfolojik yapısı veya bitkilerde fizyolojik karakterler üzerinde yoğunlaşmıştır. Özellikle kök strese karşı yanıt oluşmasında çok önemli rol oynamaktadır. Su noksanlığı durumunda sürgünlerin büyüme hızı, uzunlukları ve ürün verimi oldukça düşerken kök gelişimi sürgün gelişimine göre daha az etkilenmektedir. Kuraklık stresine maruz kalmış çeşitli çalışmalar kök uzunluğunda artışın olduğu, kök çapında ise çoğunlukla azalma olduğunu belirtmişlerdir (Başal ve ark., 2005; Can, 2013).

Pamuk bitkisinde toprak uygun neme sahip olduğunda çoğunlukla kök uzunluğunun azaldığı görülmüştür. Toprağın uygun neme sahip olmadığı durumlarda bitkinin çıkıştan 42. ve 70. Gününde kök uzunluğu ve yoğunluğunun azaldığı belirlenmiştir. Bu duruma bağlı olarak bazı morfo-fizyolojik karakterlerin kuraklık toleransıyla ilgili olabileceği düşünülmüştür.

Bunlardan ilki bitki yan köklerin toprak seviyesine olan mesafesi, kazık kökün toplam ağırlığı, yan köklerin sayısı, fidenin canlılık durumu, kök sisteminin hızlı gelişmesi ve kök/sürgün oranı, kazık kök uzunluğunda artış, transpirasyon oranında düşme, stomatal iletkenlik değişmesi, Stomaların erken kapanması, fotosentez oranında değişmeler, yaprak nispi su içeriği azalma ve azalmalara bağlı olarak yaprak yapısında değişmeler, karbon izotop diskriminasyonu gibi değerler belirtilmiştir.

Kuraklık stresine dayanma özelliği, suyun az olduğu koşullarda hayati fonksiyonlarını devam ettirebilmesine, yapılarında daha fazla su tutabilme güçlerine bağlıdır. Pamuk çeşitleri sıcaklığa dayanıklılık, kök gelişmesi, kuru madde birikimi, su noksanlığı koşullarda suyu değerlendirebilme özelliği bakımından geniş bir çeşitlilik göstermektedir.

Çeşitli pamuk genotiplerin kuraklığa dayanıklılık mekanizması araştırıldığında T 25 çeşidinde kök yapısında saçaklanma olduğu, stomaların su kaybının daha azaltarak su kullanım etkinliğini arttırdığı, stoma gaz alışverişini ve fotosentez oranını, terlemeyi, kök-sürgün oranını ve yayılımı, iletim demetleri ve hücre gelişim açısından daha uygun olduğu görülmüştür (Kıvılcım ve ark., 2005).

Bitkilerde fizyolojik karakterler ve kökün morfolojik karakterlerinin birleştirilmesiyle pamuk bitkisinin kuraklığa karşı dayanıklılığın geliştirilebileceği bildirilmiştir. Kök parametrelerinden yapraklardan kesik su kaybı (ELWL) ve başlangıç su içeriği (IWC) değerlerinin kuraklık tolerans sağlama da önemli bir seleksiyon kriteri olabileceğini belirtmiştir (Başal ve ark., 2005).

2.2.2. Bitkilerin kuraklık stresi koşullarında verdikleri biyokimyasal ve moleküler yanıtlar

Pamuk gibi C3 tip karbon metabolizmasına sahip bitkilerin fotosentez mekanizması oldukça gelişmiştir (Faver ve ark., 1996). Pettigrew ve ark. (2005), kurak ortamlarda yetişen pamuk bitkisinde fotosentez mekanizmasının gerilediği ve

fotosentez hız oranının düştüğünü bildirmiştir. Bu düşmenin sebebi stomalara bağlı ve stomadan bağımsız çeşitli faktörlerden olabileceğini bildirmiştir.

Fotosentez oranındaki düşme dışında kuraklık stresi genç sürgünlerin çiçek tomurcuklarında kurumaya (Hearn, 1975), zamanından önce olgunlaşmaya ve liflerde düşük verim olmasına neden olmuştur (Kitao ve Lei, 2007). Kuraklık, pamukta lif kalitesini ve lifin uzunluğunu düşüren, verimi koza üretimi ve tutumunu etkileyen önemli faktörlerdendir (Yazar ve ark., 2002; Ritchie ve ark., 2004; Mert, 2005). Bunlara ek olarak, lif mukavemeti ve uzunluğunun, toprağın su içeriği ile ilişkili olduğu görülmüştür. Pamuk bitkisi kuraklığa duyarlı bir bitkidir. Ancak bazı pamuk çeşitleri su noksanlığı stresinden daha az etkilendiği görülmüştür. Bu farklılığın ise pamuk genotipleri arasında çeşit x su ilişkisi, su iktarına bağlı stoma açılıp kapanması, transpirasyon ve fotosentez oranlarının değişmesi, iletim demetlerinin konumu ve durumu, kök ve sürgün gelişmesinin farklı olmasından kaynaklanabilmektedir (Şahin ve ark., 1997).

Kuraklık stresi altındayken bazı besin maddelerinin alımları daha kısıtlanabilmektedir. Azot ve K alımı stres durumunda daha az gerçekleşir (Mcwilliams, 2003).

Kurak koşullarda yetişmiş DPL 16 pamuk çeşidi ile yapılmış bir çalışmada yapraklarda prolin miktarının arttıkça su stresine dayanıklılığın arttığı görülmüştür. Kuraklık stresi ortadan kalkıncaya kadar prolini biriktirdiği ve enerji kaynağı olarak kullandığı için bu prolinin sentezinin arttığını bildirmiştir (Kıvılcım ve ark., 2005).

Kurak koşullarda yetişen pamuk bitkisinin yapraklarında indirgen ya da indirgen olmayan şeker, toplam çözünür şeker, toplam amino azot ve polifenol miktarlarında düşüş olduğunu bildirmiştir (Basal ve ark., 2008).

Kurak ortamlarda yetişen bir genotip, hücre içi nispi su içeriği optimum olarak muhafaza edebilirse ya da transpirisyon ile su kaybına engellenebilirse yahut fotosentez hızında değişme olmaksızın stomaların açılıp kapanma frekansını ve gaz

alışverişi tam sağlanabilirse, daha iyi verim alınabileceği ifade edilmiştir (Karademir ve Gençer, 2008).

Yapraklardan daha düşük su kaybetmek için daha düşük transpirasyon oranına, stoma büyüklüğünün daha az olmasına, yapraklarda daha yüksek nispi su miktarını değerlendirmek kuraklık stresine karşı yeni nesil bitki elde etmek için seleksiyon kriteri olarak kullanılabileceğini bildirilmiştir (Karademir ve Gençer, 2008).

Ayrıca su eksikliği arttıkça bitkide absisik asit (ABA) hormonunun artması, kesik yaprak su kaybı oranı ve stomanın kapanması birlikte olduğu görülmüştür. Kökten sürgünlere iletilen su, bekçi hücrelere geçişi absisik asit (ABA) derişimi önemli bir rol oynamaktadır (Başal ve ark., 2005).

Suyun azalmasına bağlı olarak enzimatik reaksiyonlardaki değişimler nükleik asitlerin yapısının da bozulmasına neden olmaktadır. Kessler (1961), kuraklık stresi yapraklardaki RNAaz aktivitesi arttırıp, nükleik asit yapısının bozulmasına neden olduğununu ve serbest radikallerin artmasına neden olduğu bildirmiştir.

Serbest radikal olan reaktif oksijen türleri, süperoksit molekülü (O_2^-), tekil oksijen (*O), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikallerinden ($OH^\cdot$) oluşmaktadır. Bu radikallerin eşleşmemiş elektronları bulunduğundan plazma zarında, mitokondri ve endoplazmik retikulum membran yapısında meydana gelebilir (McKersie, 1994).

2.2.2.1. Serbest Oksijen Radikalleri (SOR)

Bileşikler en az iki veya daha fazla elementin kimyasal bağ oluşturması oluşur. Bu bağlar negatif yüklerle elektronlara tutunarak, daha kararlı bir hale dönüşürler. Bu kararlı bileşiklerin yapılarındaki elektronlar, çift halindedirler. Eğer elektronlar çiftlenmemiş halde bulunduklarında molekül olarak daha reaktif ve kararsız duruma geçmektedir. Bir ya da daha fazla miktarda çiftlenmemiş elektronu

olan element ya da bileşiklere “serbest oksijen radikalleri” (SOR) veya “reaktif oksijen türleri” (ROS) denir.

Bu ROS’ların etrafında bulunan çiftlenmemiş elektronlar kararlı duruma geçmek için kararlı yapıda bulunan bir bileşiğin yapısından elektron alarak, bu bileşiği ROS’un yeni bir radikal maddesine dönüştürtür. ROS’ların başlattığı bu reaksiyonlar serisi, antioksidan mekanizmalarınca durduruluncaya kadar devam etmektedir. Oksidasyon olayı aslında hayatın her evresinde yaşanmakta olan bir süreçtir. Canlılarda ROS’ların oluşması eksojen ve endojen fizyolojik olaylar neticesinde oluşabilir

Moleküler oksijen, hayatta kalabilmek için önemli bir molekül olmasına rağmen, yapısında iki adet eşleşmemiş elektronu vardır. Bu elektronlar bir radikal molekül olup, diğer ROS’ların oluşmasını tetikler. Bu oluşumlar, diğer canlılar için bir tehdit unsuru haline gelmektedir.

Metabolik reaksiyonlar sonucu oluşan yan ürünler, oksijen türevli serbest radikaller; süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot-}$), singlet oksijen ($^1O_2$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikallerden (OH*) oluşur. Yine NADPH oksidaz gibi bazı enzimlerin yönettiği reaksiyonlarda küçük miktarda ROS’lar oluşabilir. Hücre içinde oluşan bu ROS’un %90’nından fazlası aerobik solunum reaksiyonlarına bağlı olarak mitokondri iç zarında oluşur (Gong ve ark., 2005; Prochazkova, 2001; Wei ve Pang, 2005; Agarwal ve ark., 2005). ROS’lar, düşük dozda bulunduğunda birçok stres mekanizmasında sinyal olarak görev alırken, yüksek dozlarda (oksidadif stres gibi) hücreye zarar verir. Hücreyi okside etme ve mutasyona uğratma gibi özelikliği olan bu metabolizma yan ürünlerinin, DNA’nın, proteinlerin, lipidlerin ve birçok makro moleküllerin kalıcı hasarlara neden olup, hücreyi otolize neden olur (Prochazkova, 2001; Martin ve Baret, 2002).

2.2.2.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Proteinlerde Meydana Getirdiği Hasarlar

Proteinlerle yapılan etkileşme sonucu oksidatif saldırılar proteinlerin spesifik aminoasit değişikliklerine, peptit bağlarının kopmasına, elekriksel yük değişimine, proteinlerin yapısının parçalanmasında neden olabilmektedir. Proteinlerin birincil, ikincil ve tersiyer yapıları, aminoasitlerin çeşitleri ROS'un saldırılarına karşı değişkenlik gösterir ve aminoasitin reaktivitesini değiştirir. Özellikle yapısında kükürt ve tiol grupları bulunduran aminoasitler bu saldırılara karşı oldukça duyarlıdırlar (Cicerali, 2004). Proteinlerin oksitlenme süreci Fe^{+3} gibi kofaktörlerin olmasıyla daha da artar. Bu metal, proteinlerde +2 değerlikli olan katyonların bölgesine tutunur. Hidrojen peroksit ile reaksiyona girerek, aminoasit serilerini oksitler (Cicerali, 2004).

2.2.2.3. Serbest Oksijen Radikallerinin DNA'da oluşturduğu Hasarlar

DNA birçok moleküle karşı oksidatif stresin oluşturduğu hasarlara karşı daha az tolerans göstermektedir. Reaktif oksijen türleri DNA'da mutasyon oluşumuna kadar birçok ölümcül etkinin oluşumunu tetikleyebilmektedir. DNA'nın yapısında ki şeker ve bazlar oksidasyon sürecine karşı oldukça duyarlıdır ve bu oksidasyon, bazların yapısının bozulmasına, zincirlerin yapısında kırılmalara neden olarak protein ifadelerinin değişmesine sebep olur (Davies, 2000; Cicerali, 2004).

2.2.2.4. Serbest Oksijen Radikallerinin Lipitlerde oluşturduğu Hasarlar

Serbest oksijen radikalleri, hücre membran yüzeyinde yer alan lipitleri okside ederek zarar verir. Bu peroksidasyon reaksiyonları ile yağ asitlerinin yapısındaki açil zincirinin çift bağlarıyla gerçekleşir (Cicerali, 2004).

Lipitlerin peroksidasyonu üç farklı aşamada (başlangıç, uzama ve sonlanma basamakları) gerçekleşmektedir. Reaksiyonun ilk basamağı, başlama basamağı olup doymamış yağ asitleri ile hidroksil radikalleri arasında gerçekleşir. Uzama

basamağında ise başlangıç basamağında oluşan yapı ile triplet oksijen reaksiyona girerek, ilerideki reaksiyon basamaklarının lipit peroksitleri oluşturur. Bu reaksiyonların başlamasında ki ana sorumlu hidroksil radikalleridir. Bu radikaller çok az derişimde bile bu zincir mekanizması aktive edilme özellikleri bulunmaktadır. Oluşan bu lipit peroksitler, metal katalizleyiciler ile birlikte olunca kararsız davranmaktadır. Hücre zarlarının lipitlerinde oluşan peroksidasyon reaksiyon sonucu radikal olmayan konjuge ürünleri oluşturması karbon veya peroksi radikalleri ile çapraz bağ oluştuğunda tamamlanır. Reaksiyon tamamlandığında malondialdehit, ethan ve etilen gibi yapılar son ürün olarak oluşur (McKersie, 2000).

2.2.2.5. Serbest Oksijen Radikallerinin Antioksidan Sistemi üzerinde etkisi

Reaktif oksijen türlerinin oluşmasını engellemek ve oluşturduğu zararlanmayı önlemek için bu maddeleri uzaklaştırmakta görev yapan savunma sistemleridir Bu sistemlere antioksidan savunma sistemleri ya da antioksidanlar denmektedir.
Antioksidan savunma sistemi enzimatik ve enzimatik olmayan savunma sistemi diye ikiye ayrılır:

1. Enzimatik Savunma Sistemi: SOD, APOX, GR, POX ve GST gibi enzimleri kapsamaktadır.
2. Enzimatik Olmayan Savunma Sistemi: Salisilik asit (SA), poliaminler, prolin, glutatyon, askorbat (vitamin C), tokoferol (vitamin E) ve flavonoitler, lignin, tanin gibi bileşikler yardımıyla gerçekleşir (Senaratna ve ark., 2000; Szekely ve ark.,2008; Alcázar ve ark., 2010; Minocha ve ark., 2010).

Hücre içinde prolin birikmesi stres toleransına cevap oluşmasını birçok farklı yoldan etkilemektedir (Szabados ve Savoure, 2010). Birçok bitki çeşidinin strese dayanıklı tipleri, hassas türlerine nazaran hücre içinde daha çok prolin biriktirmiştir (Ashraf ve Foolad, 2007). Ayrıca prolinin kuraklık stresine bağlı oluşan lipid peroksidasyonun oluşmasının önlenmesinde önemli rol oynamaktadır (Molinari ve ark., 2007).

Kuraklık ya da suyun kısıntılı olduğu durumlarda oksidatif stresin oluşmasındaki temel sebebin kloroplastlarda meydana gelen ışık-klorofil etkileşiminden kaynaklandığı düşünülmektedir (Farrant, 2000). Çünkü suyun kısıtlı olduğu durumda bitki daha fazla su kaybetmeyi önlemek için stomalarını kapatır. Bu durumda fotosentez reaksiyonunda temel rol oynayan CO_2'nin alımının kısıtlanmasına sebebiyet verir. Quantum verimi azalarak, fotosentez reaksiyon merkezlerindeki uyarılma enerjisinin artmasına neden olur (Stuhlfauth, 1990).Bu sayede NADP+ miktarı kısıtlanır ve ferrodoksin NADP+ uyarmak yerine oksijeni redükler; neticede fotosistem I'in elektronları O_2'yi uyarması sonucu reaktif O_2^- radikali üretilmiş olur (Mehler reaksiyonu) (Tambussi, 2000). Hücre içinde kuraklık stresinin etkisiyle oluşan O_2^- hücre zar yapısını oksitleyerek (MDA oluşumu) yağ asidi doygunluğuna, hücre zar yapısının zarar görmesine sebep olur (Sgherry, 1996). Süperoksit hücre içinde çok fazla aktif olmasa da H_2O_2 ve $OH^\cdot$ dönüşerek aktif olur. H_2O_2 Calvin döngüsünün birçok enziminin işleyişini değiştirir (Charles ve Halliwell, 1980; Kaiser, 1979). O_2^- ve H_2O_2, Haber-Weiss reaksiyonu ile $OH^\cdot$ Radikalini oluştururken demir ya da bakır gibi diğer geçiş metalleri ile oksidatif hasar süreceni arttırabilir (Fenton reaksiyonu) (Smirnoff, 1993).

Fotosistem II (PS II)'deki suyun fotolizi esnasında da serbest radikal oluşumu gözlenebilir. Bitkiler, kuraklığın oluşturduğu oksidatif zararın olumsuz etkilerinden kurtulmak için yağda çözünebilen ve hücre zarına bağlı antioksidanlar, lipit peroksidasyonun serbest radikallerini giderebilen α-tokoferol, β-karoten, suda çözünen antioksidanlar (O_2^- ve H_2O_2'nin uzaklaştırılmasında görev alan glutatyon ve askorbat) ve enzimatik antioksidanlar, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), peroksidaz (POD), askorbat peroksidaz (APX) ve glutatyon redüktaz (GR) gibi savunma sistemini kullanabilirler.

Orta seviyedeki su noksanlığı durumunda iken esnasında stomaların kapanmasına bağlı olarak gerçekleşen stomatal sınırlamalar ile daha uzun ve şiddetli stres durumunda fotosentez stomatal olmayan sınırlamalar sebebi ile fotosentez mekanizmasında gerilemeler olur (Kalefetoğlu ve Ekmekçi, 2005). Kuraklığa karşı oluşturulan tepkilerin ilki CO_2 transferini yöneten stoma kapanması olayıdır (Lima,

2002; Müller ve Whitshitt, 1996). Stomaları kapanmasında rol oynayan temel iki etmen hidrolik sinyaller (yaprak su potansiyeli, hücre turgoru) ve kimyasal sinyaller (absisik asit)'dir. Absisik asit (ABA), köklerde sentezlenip transpirasyon akıntısıyla taşınarak, stomaları kapatır (Teiz ve Zeiger, 1998).

Kurak ortamlarda yetişen bitkilerden izole edilmiş yaprakların kloroplast hücrelerinde fotosentetik elektron transportu ve fotofosforilasyon kapasitelerinde düşüş gerçekleştiği görülmüştür (Smirnoff, 1993). PS I ve PS II'nin de kuraklık stresinin olumsuz etkisinden etkilenmiştir (He ve ark., 1995). PS II'nin D1 ve D2 proteinlerinin bulunduğu yerde fotoinhibisyon olayının en etkin olduğu yerdir (Baker, 1991). Stres koşullarında D1 protein sentezi kısıtlanır ve sonunda degrade olur. Bunun sonucunda ikinci reaksiyon merkezi polipeptidi olan D2 proteini ve bütün PSII parçalanmış olur (He ve ark., 1995).

Kloroplastların tilakoit membranlarında en çok bulunan bu ışık tutucu kompleks (ITK) II proteinidir. Stres durumunda klorofil protein kompleksi reaktif oksijen türlerini üretebileceği düşünülmektedir. (Siefermann-Harms ve Angerhofer, 1998). ITK II'nin çevresinde bulunan lipit özelliğindeki yapılar, reaktif oksijen türlerinin klorofil-protein bütünlüğünü bozmasını engelleyebileceği düşünülmüştür (Siefermann-Harms ve Angerhofer, 1998). Bu durum bitkinin oksidatif strese karşı direnç gösterdiğini düşündürmektedir.

Fotosentezin stomatal olmayan sınırlanması; kloroplastta yer alan bazı lipidlerin, pigmentlerin ve bazı proteinlerin oksidatif stresin etkisiyle hasar görmüş olabileceği belirtilmiştir (Tambussi, 2000).

Bitkilerde fotosentez kapasitesi ortamın ışık yoğunluğuna, oransal su kapsam (OSK) içeriğine göre değişmektedir (Kalefetoğlu ve Ekmekçi, 2005). Bitkiler stresle karşılaştıkları zaman strese karşı bazı fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler cevablar geliştirirler (Arora ve ark., 2002). Bitkiler temelde stresten kaçınma ve stres toleransı olmak üzere iki ana savunma mekanizması bulunmaktadır. İlk çöl efemerlerinde görülen kurak koşullarda dormant tohum oluşturan tek yıllık bir bitkidir. Bu sayede

hücre protoplazması şiddetli negatif su basınç potansiyelinden etkilenmezler (Salisbury, 1992). Sukkulent bitkilerde de diğer bir kaçınma mekanizması vardır. Kaktüsgiller gibi bitkiler dokularında su depolar, su kayıp oranı minumumdur. Bu sayede çok uzun süre hayatını sürdürebilmektedir (Salisbury, 1992). Bu bitkileri aşırı derecede negatif su potansiyellerine maruz kalmazlar bu sebeple kuraklığa toleranslıda değillerdir. Çölde herdem yeşil olan bitkiler ise kurak koşullarda turgor basıncını devam ettirebilmek için osmotik koruyucular üretir (Mundree ve ark., 2002). Orta şiddetli kuraklık durumunda stresten bazı bitkiler kaçarken, stres koşullarına toleranslı bitki grupları ise savunma mekanizmalarını aktifleştirerek hayatta kalmaya çalışırlar. Dokuların içindeki bağıl su içeriğinin %5'ine kadar kaybedilebildiği ve kaybettiği suyu geri alabilen bitkilere dirilen (resurrection) bitkiler denir. Bu bitkilerde suyun tekrar alınma şekli farklı bir yolla gerçekleşmektedir (Mundree ve ark., 2002). Bu bitkilerin dokuları ışıklı ortamda stresle mücadele etme yetenekleri vardır ki geliştirdikleri strateji ikiye ayrılır:

Klorofil Alıkoyucu Dirilen Bitkiler (Homiochlorophyllous Resurrection Bitkiler): Bu tip bitkiler kurak koşullarda ışıklı ortamda klorofillerini saklayarak Klorofil-ışık etkileşiminin tehlikesinden kaçınırlar. Kurak koşullarda yapraklarda kıvrılma ve katlanması olması ışık stresinden kaçınmada önemli bir alternatif mekanizmadır (Sherwin ve ark., 1998).

Klorofil Kaybeden Dirilen Bitkiler (Poikilochlorophyllous Resurrection Bitkiler): Bu gruptaki bitkiler ise klorolapstlarda bulunan tilakoit membranlarını parçalayarak tüm klorofillerini yok ederler. Böylelikle kloroplastlarda reaktif oksijen türleri oluşumu önlenir. Su tekrar alınarak, fotosentetik aparat tekrar oluşturulur ve fotosentez yeniden başlatılır. Bitkiler bunu rehidrasyon sırasında onarım proteinleri sentezleyerek başarmaktadır. Bu bitkiler hücre hacminin azalmasına bağlı olarak çeşitli koruma mekanizmalrı devreye girmektedir *Craterostigma wilmsii* (Sherwin ve ark., 1999; Farrant, 2000) ve *Eragrostis nindensis* (Wander Willigen ve ark., 2001) gibi çeşitli türlerin mezofil hücreleri, hücre duvarlarında meydana gelen katlanmaya bağlı olarak hücrenin total hacminde önemli bir azalma vardır.

Kurumaya karşı duyarlı olan bitkiler, turgor basıncının düşmesiyle hücre membranlarına ve hücre çeperine uygulanan mekanik basınç gitgide azalır. Çoğunlukla hücre çeperi çökmeler ve membran yapısında bozulmalar gerçekleşir; bu zararlar onarılamaz (Wander Willigen ve ark., 2002). Bununla beraber dirilen bitkilerde, hücre hacmindeki azalmayla ilişkili olan mekanik stres çeşitli koruma mekanizmaları aracılığıyla engellenir. *Xerophyta humilis, Xerophyta viscosa* (Mundree ve ark., 2000; Farrant, 2000), Myrothamnus flabellifolius, Craterostigma wilmsii (Sherwin ve ark., 1999; Farrant, 2000) ve *Eragrostis nindensis* (Vander Willigen ve ark., 2001) gibi bazı türlerde mezofil hücreleri, hücre duvarlarındaki katlanmaya bağlı olarak hücre hacminde önemli bir azalma gösterir. Bu bitkilerin demet kını hücreleri, çok sayıda (küçük) vakuol oluşturarak suretiyle hücrenin total hacminin sabit kalması sağlanır. Bu vakuollerde su, glisin betain, prolin gibi omsotik düzenleyiciler sentezleyerek yeniden elde edilir (Wander Willigen ve ark., 2002).

2.3. Pamuk bitkisi ve önemi

Pamuk, Malvaceace familyasından olup, tropikal ve subtropikal bölgelere uyum sağlamış, otsu, küçük çalı veya ağaç şeklinde yayılış gösterebilen bir bitki türüdür (Grimes ve El-Zik, 1990). Çok yıllık bitki grubundan gelmesine rağmen ekonomik açıdan pamuk bitkisinin yetiştirimi tek yıllık olarak gerçekleşmektedir. Filogenetik çalışmalar ile DNA zinciri bilgilerine bakılarak pamuk çeşitleri yaklaşık 10-20 milyon yıl önce oluştuğunu göstermektedir (Seelanan ve ark., 1997).

Pamuğun lifi, tekstil sanayisinde; tohumu yağ sanayisinde, çiğit ve küspesi gıda sanayisinde kullanılmaktadır. Linter denilen tohumun üst kısmında bulunan kısa elyaflarda para, barut ve mobilya alanında da kullanılmaktadır (Peynicioğlu, 2014)

2019/2020 yılı veri sonuçlarına göre ülkemiz pamuk üretiminde (806 1000 MT) ile altıncı sırada, yurt içinde pamuk tüketiminde ise (1481 1000 MT) ile altıncı sırada yer almaktadır. İthalatı ile beşinci sırada (762 1000 MT), stoklama yönünden de yedinci sırada (369 1000 MT) bulunmaktadır. Ekim alanı açısından da on birinci

sırada (0.52 milyon ha), verim açısından da Çin, Brezilya ve Meksika'dan hemen sonra 1549 kg ha^{-1} ile dördüncü gelmektedir (Ekinci ve ark., 2020).

2019/2020 yılı verilerine göre ülkemizde en çok pamuk üretme alanına sahip iller sırasıyla Şanlıurfa (231430.3 ha; %44.62), Aydın (53689.1 ha; %10.35), Hatay (485539.4 ha; %9.26), Diyarbakır (48036.8 ha; %9.26), Adana (36254.3 ha; %6.99), İzmir (27743.6 ha; %5.35) yer almaktadır (Özüdoğru, 2019)

Pamuk bitkisi, Dünya üzerinde 32-36 enlemler arasında yer alan ülke topraklarında yetişmektedir. Asya, Afrika, Avustralya, Avrupa ve Amerika gibi ülkelerde yetiştiriciliği yapılmaktadır. Dünya genelinde 85 ülkede yetiştiriciliği yapılmasına rağmen (Başbağ ve ark., 2010) en fazla pamuk yetiştiriciliği yapan ülkeler sırasıyla Hindistan (%24,4), Çin (%22,2), ABD (%17,4), Brezilya (%9,3), Pakistan (% 6,1), Türkiye (%3,3), Özbekistan (% 2,4) olmuştur (USDA, 2019). İlk 3 ülke dünyada pamuk üretiminin yaklaşık %65'ini oluşturmaktadır.

Ülkemizde yetiştiriciliği yapılan tür çoğunlukla *Gossypium hirsutum* L.'dir. Ülkemizin farklı yerlerinde ve farklı zamanlarında *Gossypium arboreum* L. Ve *Gossypium barbadense* L. Türleri de yetiştirilmekte olup, yaygınlaşmamıştır. Ülkemizde GAP, Ege ve Akdeniz bölgesinde yetiştirilmesinde ekolojik yapıları uygun olduğu için bu bölgelerde ıslah çalışmaları daha çok yaygınlaşmıştır.

Pamuk yetiştiriciliğindeki temel amaç en az alandan en çok verimi elde etmektir. Bu sebeple yüksek kütlü verim, yüksek lif verim oranı, erkencilik, üstün kalitede çırçır randımanı, üstün kalitede lifler, çeşitli stres faktörlerine dayanıklılık gibi özellikler ıslah çalışmalarında önem arz etmektedir. Bu ıslah çalışmaları ile birim alandan elde edilen ürün miktarından artış sağlamaktadır. Ülkemizde şimdiye dek üretilen tescil edilmiş pamuk çeşit sayısı 103'tür. 57 tanesi özel sektör AR-GE firmaları, 46 adet devlet kurumları tarafından tescillendirilmiştir (Ekinci ve ark., 2020). Türkiye'de tescili yapılan pamuk çeşitlerinin ıslahı, ABD, Yunanistan ve Avustralya'dan ıslah edildiği bilinmektedir (Anonim, 2019). Islah çalışmalarında

farklı ekolojik ortamlarda yetişen ebeveynler kullanılarak çeşitli stres faktörlerine karşı dayanıklılık çalışmaları yapılmaktadır.

Pamuk bitkisinden yüksek verimde kaliteli ürün elde etmek için toprağı derin ve alüvyol cinste olmalıdır. Özellikle kum-kil gibi su tutma içeriği yüksek olan topraklar uygun olan tiplerdir. İklim açısından da sıcaklık, gün ışığı süresi, ortalama yağış miktarı, oransal nem değerleri önem arz etmektedir. Yıllık sıcaklık ortalamasının 19^{o} C, yazın ise 25^{o} C olması gerekmektedir. Sıcaklık taraklanma öncesi 20^{o} C, çiçeklenme zamanı 25^{o} C, koza oluşum dönemi 30-32^{o} C olmalıdır. Kozaların tam açılması isteniyorsa sıcaklığın azalarak ortalama (15^{o} C' ye kadar) düşmesi gerekir (Sezener ve ark., 2007)

Pamuk gelişmesinde temel rol oynayan temel çevresel faktörlerden biri de yağıştır. Özellikle de pamuk bitkisini yetiştirme periyodunda ihtiyaç duyduğu su miktarıdır. Gelişme periyodu içerisinde ihtiyaç duyulan su miktarı pamuk çeşitlerinin yaprak alanı ve büyüklüğüne, ışık ve sıcaklığa bağlı olmakla birlikte ortalama 700-750 mm dolaylarındadır. Pamuk bitkisi yıl dağılımına uygun olarak yeterli hava ve sıcaklığın olması koşuluyla, yıllık yağış miktarlarının 500-700 mm olduğu yerlerde sulanmadan yetiştirilebilmektedir (Berger, 1969). Uygulanan sulama programları sayesinde pamuk veriminde 3-4 kat artış olduğu bildirilmiştir (Tekinel ve Kanber, 1978; Atasoy, 2013).

Pamuk yetiştiriciliğinde pamuğun ihtiyaç duyduğu toplam su miktarı ile sulama sıklığı, yöresine göre değişkenlik göstermektedir (Tekinel ve Kanber, 1989). Günlük su tüketimi bitkinin çıkışından taraklanmaya kadar 1-2 mm, taraklanma anından ilk çiçek oluştuğu döneme kadar 2-4 mm, çiçeklenme dönemi başlangıcından, ilk koza açılımına kadar 3-8 mm, ilk koza açımından son çiçek açıncaya kadar 8-14 mm civarındadır (Atasoy, 2013).

Pamuğun ekiminden çiçeklenme döneminin başlangıcına kadar olan süreçte hızlı bir şekilde büyümesi gerekmektedir. Amaç hem çok sayıda meyve dalı oluşturmak hem de bitkinin erken olgunlaşmasını sağlamaktır. Çiçeklenme

döneminin başlamasından kozaların olgunlaşma sürecine kadar ki dönemin de bitkinin yavaş bir büyüme göstermesi beklenir. Bununda temel nedeni, bu dönemde vejetatif gelişme artarsa, fotosentetik ürünler buraya gönderileceği için çiçeklerin fazla dökülmesine neden olacaktır. Kozaların açıldığı ve olgunlaştığı bu dönemde vejetatif gelişme mutlaka tamamlanmış olması gerekir. Bu dönemde hızlı büyüme gösteren bitkilerin kozaları da geç olgunlaşır hatta kozaların birçoğu açamaz. Bu nedenle sulama zamanı ve su miktarı doğru şekilde ayarlanmalıdır (Aydemir, 1982; Atasoy, 2013).

2.3.1. Pamukta kısıntılı sulamanın agronomik özellikler üzerinde etkisi

Marani ve Amirav (1971), İsrail'de, su stresinde yetişmiş pamuk bitkilerinin farklı gelişme dönemlerinde verim üzerindeki etkileri araştırılmıştır, çiçeklenme döneminin henüz başında uygulanmış su stresinin pamuk bitkisinde büyüme değerlerini, toplam çiçek ve koza sayısını düşürdüğü görülmüştür. Çiçeklenme döneminin ikinci yarısında su stresi uygulandığında koza tutumunu, koza sayısını ve toplam kütlü ağırlığını, çırçır randıman oranını, liflerin genel uzunluğunu etkilemiştir. Ayrıca koza olgunlaşma peryodunda su stresi uygulandığında da kozaların kütlü ağırlığını ve olgunlaşma süresini değiştirdiğini bildirmişler. Bu üç farklı dönemde ki uygulamada da su stresinin uygulanması lif verimi üzerinde olumsuz etkisi bulunurken stresi lif dayanıklılığını etkilemediğini bildirmişlerdir.

Shimshi ve Marani (1971), İsrail'de, pamuk bitkisinin çiçeklenme dönemi başında uyguladıkları su stresinin verim üzerinde olumsuz etkisinin daha fazla olduğu görülmüş, koza olgunlaşma dönemindeki stres uygulanması da kozanın sayısını ve lif verim değerini azalttığını bildirmişlerdir.

Marani (1973), pamuk bitkisinin çiçeklenme dönemi başında uyguladıkları su stresinin açan çiçek adetini düşürdüğü, koza miktarı, kozanın toplam kütlü ağırlığı, lif verim ve uzunluğu, tohum içeriği olumsuz etkilenmiştir.

Tekinel ve Kanber (1978), pamuk bitkisinin su stresinden etkilenmesine bağlı olarak genel renk değişiminin olup olmadığının incelenmesi, yapraktan ve sapının su potansiyelinin belirlenmesi, gövde çap miktarının, yaprak yüzeylerinin sıcaklıklarının belirlenmesi gibi özelliklerin kullanılabileceğini bildirmiştir.

Doorembos ve Kassam (1979), pamuk bitkisinin vejetatif ve generatif dönemler arası dengenin bozulmaması için sulamanın uygun miktarda ve uygun zamanda yapılması gerektiğini önermiştir. Çiçeklenme döneminde oluşan su stresinin diğer dönemlerde oluşan strese göre daha çok verimi düşürdüğünü belirtmiştir. Ayrıca çiçeklenme döneminde (vejetatif gelişmeyi belli ölçüde azaltacak orta derecedeki stres) su stresi çiçek sayısının azalmasına neden olurken koza oluşum miktarını ve yüksek verimin olduğunu bildirmiştir.

Tekinel ve Kanber (1979), Adana'da yaptıkları çalışmada pamuk bitkisine kısıntılı su vererek, pamuk bitkisinin su tüketme miktarını ve verimini araştırmışlardır. Kullanılabilir nem %40 oranlarına düştüğünde profil tarla kapasitesine gelecek kadar tekrar sulama yapılmıştır. Toprağın olması gerekenden yaklaşık %30 değerinde daha az uygulansa bile verimde azalma olmadığını bildirmişlerdir.

El-Zik ve Thaxton (1989), Su stresi koşullarında yetiştirdiği pamuk bitkisinde, koza tutulumu, tarak ve kozakların döküldüğünü, lif veriminin ve kalitesinin azaldığını bildirmişlerdir.

Guin ve ark. (1990), pamuk bitkisinin çiçeklenme öncesindeki dönemlerde oluşan su stresinin oluşan meyve miktarını düşürdüğü, tarak oluşumunu azalttığını, tarak ve kozaların dökülmesinde görev alan hormonların etkisini değiştirdiğini bildirmiştir.

Cook ve El-Zik (1992), pamuk bitkisinin çiçeklenme başlangıç döneminde, kurak ve %100 sulama yaparak yetiştirdiklerinde) kök/gövde kuru ağırlık oranı ile koza silkme arasında pozitif bir ilişki varken; kök/gövde kuru ağırlık oranı ile lif verimi negatif ilişki bulmuşlardır. Ayrıca çiçeklenme sonrası oluşan kozalar

fotosentez ürünlerinin biriktirildiği bir depo olduğunu, kök kısmının gelişmeye devam ettiğini belirtmişlerdir. Meyve dönemi öncesi kuvvetli ve yaygın kök oluşturan pamuk genotipleri bu dönemden sonra oluşturdukları fotosentez ürünlerini koza oluşumunda kullanarak verimi düşürmekten korumaktadır.

Krieg (1997), su stresiyle yetişen pamuk bitkilerinin azalan fotosenteze bağlı olrak yaprak alanının genişlediğini, sürgün oluşumunun yavaşladığını belirtmişlerdir. Ayrıca taraklanmadan ilk çiçek oluşana kadar olan süreç verim dönemini belirleyen en önemli dönem olduğunu; çok sayıda çiçek olduğu dönemin ise kuraklığa en hassas dönem olduğunu bildirmişlerdir. Bu dönemde oluşan stres verimde çok büyük düşüşe neden olabileceğini belirtmiştir.

Kırda (1999), kısıntılı sulama ile yapmış olduğu bir çalışmada, pamuk bitkisine yapılacak genel sulamanın zamanını belirledikten sonra bitkinin kök bölgesinin su miktarı, tarla kapasitesine ulaşana dek yapılması gerektiğini bildirmiştir.

McMichael ve ark. (1999), pamuk bitkisinin su eksikliği derecesini, yaprak su potansiyeli ölçerek, su stresinin yaprak ve koza dökülmesindeki rolleri araştırılmıştır. Çiçeklenme dönemi sonunda oluşan su stresinin fazla zarar vermediğini vejetaif gelişim kısıtlandığını hatta daha yüksek verimin olduğunu bildirmişlerdir.

Pace ve ark. (1999), kuraga dayanıklı yeni çeşit geliştirilmesinde pamuk bitkisinin kısıntılı sulamaya vereceği tepkinin bilinmesi önem arz etttiğini vurgulamıştır. Bu amaçla kuraklığa duyarlı Stoneville-506 ile kuraklığa dayanıklı Tamcot HQ 95 çeşitleri ile yaptıkları çalışmada bitkilere uyguladıkları kısa bir kuraklık sonrası tekrar su verilerek bitkilerin tüm aksamları araştırılmıştır. Kuraklık uygulanan gruplarda kontrol gruplarına göre boylarının kısaldığı, yaprak yüzey alanı, nod sayısı, yaprak sayısı ve kuru ağırlıklarında azalma olmuştur. İyileşme döneminin bitimine kadar kök boyunun azalmadığını bildirmişlerdir.

Krieg (2000), pamuğun taraklanma döneminin başı ile ilk çiçek oluştuğu dönem arasında oluşan su stresin en hassas dönem olduğunu, bu süreçte uygulanan

sulama sıklığı ile koza sayısı ve ağırlığı arasında güçlü bir pozitif korelasyonun olduğunu, ilk çiçeklenme ile maksimum çiçeğin oluştuğu sürede uygulanan suyun oluşan koza miktarını artırdığını bildirmiştir.

Şahin (2000), pamuk bitkisinde oluşan su stresinin pamuğun erkencilik süresini arttırdığını; çırçır randımanı ve lif kalitesi gibi özellikleri etkilemediği; sadece koza ağırlığında az bir oranda azalmaya sebep olduğunu bildirmiştir.

Cetin ve Bilgel (2002), GAP bölgesinde yetiştirdikleri pamuk bitkilerinde etkili sulama yöntemlerini araştırmak amacıyla damla sulama yöntemi uygulayarak pamuk kütlü veriminin, karık ve yağmurlama sulama yöntemine göre daha yüksek oranda verim getirdiğini belirlemiştir. Ayrıca, pamuk silkme oranlarının damla sulama tekniğinde %50,8 ile %56,8 arasında, karık sulama yönteminde %50,8 ile %59 arasında, yağmurlama sulama yönteminde ise %52,9 ile 64,8 arasında değişkenlik gösterdiğini bildirmişlerdir.

Ertek ve Kanber (2003), pamuk bitkisinde iki farklı damla sulama aralığını (5 ve 10 gün) deneyerek, pamuk bitkisinde silkme ve verim üzerindeki etkisini belirlemişlerdir. Sulama miktarı ve sulama sıklığının artışı ile birlikte koza silkme oranlarının düştüğünü, koza sayısında, kütlü pamuk veriminin arttığını bildirmişlerdir.

McWilliams (2003), pamuk bitkisinde geç çiçeklenme dönemde oluşan su stresinin, bu dönemde oluşan kozaların büyümesini azalttığını; çiçeklenme döneminden 16-20 gün sonra oluşan su stresinin ise en fazla lif uzunluğu etkilediği, lif kopma dayanıklılığın ise koza gelişimi döneminde (20-30 günlük süreçte) etkili olduğu, koza açılımından önceki 3-4 günlük dönemde su stresinden önemli derecede negatif etkilendiğini bildirmiştir.

Pettigrew (2004), sekiz adet pamuk genotipini sulama ve kurak şartlarda yetiştirerek verim, verim komponentleri ve lif kalite parametrelerini incelemiştir. Çalışma neticesinde sulamanın birim alanda oluşan koza sayısını %30, lif verimini

%35 arttırdığını, kütlü koza ağırlığını sabit kaldığını bildirmiştir. Pamuk genotiplerinin çırçır randımanı oranlarının su stresine cevaplarının farklı olduğunu, bazı genotiplerde çırçır randımanının, sulama ile birlikte azalma gösterirken bazı genotiplerde bu oran arttığını belirtmiştir. Lif kalite açısından lif uzunluğunun kuraklıkla azaldığını, mikroner ve lif dayanıklılık değerlerinde sulamaya bağlı değerlerinin düzensiz olduğunu, pamukta oluşan verim kaybının en önemli sebebi birim alanda koza sayısında ki azalma olduğunu bildirmiştir.

Mert (2005), Hatay koşullarında yürütülmüş çalışmada; yetişme süreleri birbirinden farklı olan pamuk genotiplerinde sulamanın etkisini araştırılmıştır. Sulamanın yapılmadığı grupların tüm çeşitlerinde kütlü pamuk verim oranı, bitki boyları, oluşan meyve dalı sayısı, toplam koza sayısı, kozaların kütlü ağırlıkları ve 100 adet tohumun ağırlığının azaldığını belirlemiştir. Sadece çırçır randıman oranının kuraklık ile arttığı, sulamanın olmadığı durumda 100 tohum ağırlığında olan azalmanın neden olmuş olabileceğini belirtmiştir. Kuraklık durumunda orta erkenci (Stoneville 453 ve Deltapine 5690) ve orta-geççi (Maras 92 ve GW Teks) olan çeşitler erkenci çeşitlere göre daha fazla etkilenmiştir. Kuraklık durumunda pamuk bitkisinin lif uzunlukları, Mikroner ve lif dayanıklılık oranları sulama yapılan uygulama grupların değerlerinden daha az olduğunu bildirmiştir.

Balkcom ve ark. (2006), Tennessee' de yapmış olduğu çalışmada, pamuk çeşitlerinde sulama rejimlerinin verim, verim komponent değerleri ve lif dayanıklık açısı dışındaki diğer kalite özelliklerini önemli ölçüde etkilediğini belirlemişlerdir

Başal ve ark. (2009), Pamuk bitkisinde damla sulama tekniğini uygulayarak, beş farklı su dozlarını (sulama yüzdesi- %0, %25, %50, %75 ve %100) uygulayarak pamuk bitkisinin suyu kullanabilme derecesine, verim ve verim komponentleri, lif kalite üzerindeki etkisini araştırmak amacı ile yapılan çalışma sonucunda sulama kapasitesini %100'den %75' e azalttığında su kullanma etkinliğinin 0.62'den 0.71 kg m^{-3}'e çıktığını saptamışlar. Sulama dozlarının azalmasına paralel olarak, kütlü pamuk verim oranı, koza miktarı, koza kütlü ağırlığında, çırçır randıman oranında ise (sadece denemenin oluşturulduğu yerin ikinci yılında) azaldığını belirtmişlerdir. Tam

sulama yapıldığı zaman liflerin uzunluğu ve dayanıklılığı, uniformite indeksi ve uzama katsayısı gibi lif özelliklerinin arttığını, mikroner değerinin ise düştüğünü tespit etmişlerdir.

Dağdelen ve ark. (2009), Ege Bölgesi'nde yürütülen 2004-2005 yıllarında yapılan tarla denemesinde, farklı su seviyelerinin su kullanma etkinliği ve lifin kalite özellikleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu çalışma neticesinde mevsimsel olarak bitkinin ortalama su tüketimi 256 – 753 mm arasında olduğu, pamuk verimi ise yaklaşık olarak 2550 – 5760 kg ha^{-1} olduğu, su kullanım etkinliği ise 0.76 ile 0.98 kg m^{-3} arasında değişkenlik gösterdiğini bildirmişler. Kütlü pamuk veriminin, yaprak yüzeyi alan miktarında ve kuru madde içeriğinin artan sulamaya bağlı olarak artmıştır. Sulama suyundaki %25 ve %50 oranlarında ki azalmanın verimde sırayla %17.1 ve %34.1 oranında azalmaya sebep olduğunu bildirmişlerdir.

Karademir ve ark. (2009), 20 adet pamuk çeşidinin su stresine verdikleri yanıtı belirlemek için yaptığı path analiz değerine göre, kuraklık durumunda klorofil değerleri, bitki boyları, bitkinin odun dal sayısı, çırçır randıman oranı ve 100 adet tohumun ağırlığının verim üzerindeki direk etkisinin olduğunu bildirmişlerdir. Araştırıcılar, pamuk ıslahı kuraklık stresi ile ilgili çalışmalarında klorofil içeriğinin yüksek verimli yeni çeşit geliştirme de bir kriter olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Price (2009), 21 adet pamuk genotipinin terleme ile kaybettiği su yüzdesini %25, %50 ve %75'nin tamamlayarak üç farklı sulama şartlarında yetiştirmiştir. Bu pamuk genotiplerinin su stresine karşı verdiği yanıtlar araştırılmıştır. Bu çalışmada uygulanan su miktarının arttığı, lif uzunluğunun arttığını belirlemiştir. Lif kopmaya karşı dayanıklılığı ve mikroner değerleri ile uygulanmış su miktarı arasında ise negatif bir korelasyon belirlemiştir. Bu sonucun, normal sulama olduğu zaman koza sayısında artış olduğu, su ve fotosentez ürünlerinin çoğunluğunun kozaya verildiğini, bitkinin üst boğumlarında meydana gelen genç koza liflerinin hasat vaktine kadar yeterince olgunlaşmamasından olabileceğinden belirtmiştir.

Mills (2010), Batı Teksas' da yürüttüğü çalışmada dört adet pamuk çeşidinin farklı su dozlarına yanıtını araştırmak amacıyla, sulama dozları ile arsındaki verim farkının 200 kg da^{-1}' dan fazla olduğunu, sulama ile bitkinin koza sayısı arasında pozitif bir ilişki olduğunu belirlemiştir.

Karademir ve ark. (2011), Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde yetiştirdikleri normal sulama ve su stresi uyguladığı pamuk bitkilerinde verim ve teknolojik özelliklerini incelemişlerdir. Su stresi durumunda kütlü pamuk verimi %48.04, lif veriminde %49.41 lik bir düşüş olduğunu belirlemiştir. Ayrıca, çırçır randıman oranıı, lif uzunlukları, lif kopmaya dayanıklılığı, lifin inceliği gibi özellikler su stresi koşullarından olumsuz etkilendiğini bildirmişlerdir.

Ünlü ve ark. (2011), Çukurova'da, %0, %50, %70 ve %100 olmak üzere dört adet sulama dozunun pamuk bitkisinin verim komponentleri üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada sulama dozu azaldıkça bitkinin boyu, kuru madde biriktirmesi, yaprak yüzey alan indeksi, bitkinin toplam koza sayısında düşüş olduğunu bildirmişler. Yine en yüksek su kullanma değeri olarak %50 ve %70'lik gruplarda, en düşük değerler ise %0 ve %100 sulama gruplarında olduğunu bildirmişlerdir.

Kang ve ark. (2012), Çin'de yürüttükleri çalışmada, pamuk bitkisini yetiştirdikleri toprağın matrik potansiyel yöntemine uygun olarak beş farklı sulama koşullarında (-10 kPa, -20 kPa, -30 kPa, -40 kPa ve -50 kPa) yetiştirmişler. Neticede topraktan alınabilecek su miktarı arttıkça, düşük negatif basınç değerlerinde kütlü pamuk verimi ve koza sayısında artış olduğu, koza kütlü ağırlığında ise su dozlarına karşı gösterdiği tepkinin düzensiz olduğunu bildirmişlerdir.

Cave (2013), ABD'de, çeşitli pamuk genotip ve hatları kullanarak farklı su dozlarına (%0, %30, %60 ve %90) karşı verdikleri yanıtı tespit etmek amacıyla iki farklı lokasyonda iki yıllık bir çalışma yapılmıştır. Her iki lokasyonda yapılan deneme sonucunda sulama dozu arttıkça veriminde arttığı ancak genotip x sulama dozu interaksiyonunda önemlilik çıkmadığını bildirmiştir.

Peynircioğlu (2014), iki lokasyonda tam (%100) ve kısıntılı (%50) sulama dozlarında damla sulama sistemini kullanarak, ortalama kütlü pamuk verimini, 1. ve 2. pozisyon koza tutma oranlarını, bitkide toplam koza sayısını, lif uzunluğunu, lif dayanıklılık gibi parametrelerin değerlerini düşürdüğünü, çırçır randıman oranını ve lif incelik değerlerini artırdığını, koza kütlü ağırlığı, lif esnekliği ve 100 adet tohumun ağırlık değerlerini değiştirmediğini bildirmiştir.

Su stresi durumunda pamuk bitkisinde verimin azalmasına neden olan temel mekanizma, fotosentez sonucu oluşan ürünlerin büyük bir kısmı köklere gönderilerek, köklerin gelişmesi sağlanır. Böylelikle üst aksamda yer alan yaprakların alanı ve sayısının azalmasına, meyve boyutlarının küçülmesine sebep olmaktadır.

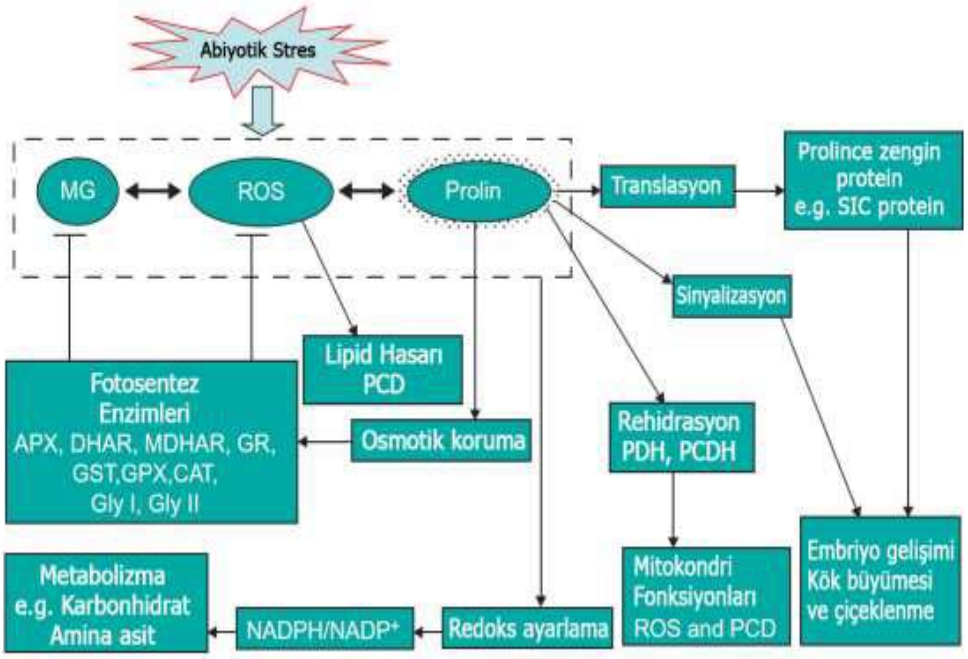
2. 4. Osmolit uygulamaları

Kuraklığın zararlı etkilerinden korunabilmek için bitkiler osmolit olarak adlandırılan organik ve inorganik maddeler sentezlemektedir. Bu maddeleri sentezleyerek, hücre içi turgor seviyesinin sürdürebilirliği sağlanır (Sánchez ve ark., 2004). Osmolitler çeşitli organellerde yer alabilirken genellikle hücre sitozolünde yer alır. Neredeyse vakuolde hiç birikmez (Moghaieb ve ark., 2004). Hücre içinde biriken bu osmolitler, kararlı bir yapıda olup metabolik olaylarda kullanılmazlar. Bu osmolitlerin hücre içinde yüksek miktarlarda birikmesi toksit etki yapmamaktadır (İba, 2002). Bu osmotik düzenleme ile hücre içi basınç dengelenir, büyüme, fotosentez ve stomaların açılıp kapanması gibi birçok fizyolojik olayları yönetir (Chimenti ve ark., 2002). Prolin, betainler, dimetilsülfoniopropionat (DMSP), polyoller (mannitol, sorbitol, pinitol), trehaloz ve fruktanlar ozmotik koruyuculara örnektir (Smirnoff, 1998). Bunlardan glisin betain ve prolin en sık üretilen osmotik koruyuculardan olup, hücre içi yapıların korunmasında, reaktif oksijen türlerinin uzaklaştırılmasında rol oynar (Mani ve ark., 2002). En sık kullanılan osmolitlerin başında prolin ve glisin betain gelmektedir.

2.4.1. Prolin ve fizyolojik özellikleri

Günümüzde prolin çeşitli stres faktörlerine karşı tolerans sağlamak için bitkilere dışardan uygulama yapılarak kullanılan önemli bir osmolit çeşididir (Parida ve ark., 2008; Hossain ve ark., 2014). Prolin yapıya katılan bir aminoasit çeşidi olmakla beraber elektron kaybının önlenmesinde, makromerlerin stabilizasyonunda, hücre duvar yapısında katılabilen bir antioksidan çeşididir. Stres faktörlerine karşı stresin olumsuz etkisini azaltırken reaktif oksijen türlerini temizleme, osmo-redox regülatör olma ve sitozol pH dengesini ayarlama, azot ve karbon birçok element kaynağı olma, şelatör olma gibi diğer görevleride olduğu bilinmektedir (Parida, 2008; Yang ve ark., 2011). Ayrıca yapıya katılan hassas proteinlerin çevresinde bir hidrasyon halkası oluşturarak bu proteinlerin zarar görmesini engellerler korurlar (Hossain ve ark., 2014). Na^+ / K^+ ayarlamasında ve C- N elementlerini yöneterek büyüme ve gelişimde önemli rol oynayarak indikatör göreviyle önemli rol oynar (Kırbağ Zengin ve Munzuroğlu, 2006). Özellikle tuzluluk ve kuraklık stres faktörüne karşı prolin seviyesi artış göstermektedir (Hossain ve ark., 2014).

Matysik ve ark. (2002), yaptıkları araştırmada, çeşitli stres koşullarında prolinin antioksidan mekanizmasının kapasitesini artırmada daha az rol oynadığını belirtmişlerdir. Araştırmacılar stresin prolin gibi aminoasitlerin sentezini uyardığını ve neticede stresle ilgili diğer moleküllerin sentez mekanizmasını başlatarak öncü olabildiğini düşünmüşlerdir. Poliaminler ornitin veya arjininden sentezlenir. Bitkilerde prolin metabolizması çeşitli stres sinyallerinin oluşması için önemlidir (Hayat ve ark., 2012; Liang ve ark., 2013; Hossain ve ark., 2014). Şekil 2. 1.'de görüldüğü gibi prolin bitkilerde önemli görevler üstlenmektedir.



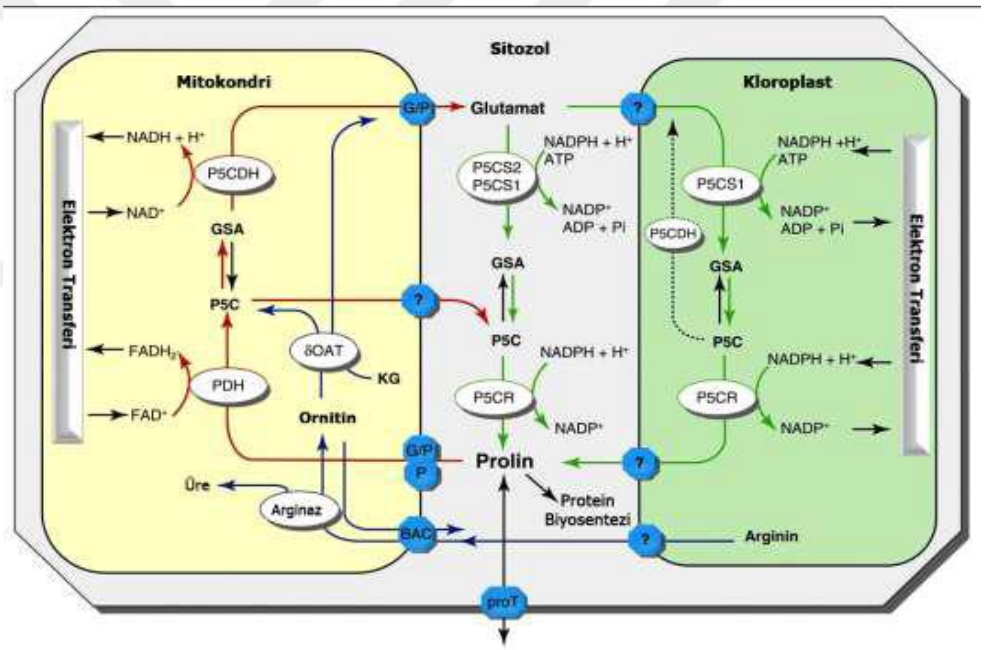
Şekil 2.1. Prolinin bitkilerdeki fonksiyonları (Hossain ve ark., 2014)

2.4.2. Prolin Biyo-Sentez Yolu

İki yolla gerçekleşmektedir. Bunlardan ilki glutamat yolu yolu iken diğeri ornitin yoludur.

Şekil 2. 2' de görüldüğü gibi glutamat yolunda iki adet enzim görev almaktadır: Δ1-pirolin-5-karboksilat sentaz (P5CS; EC 2.7.2.11) ve Δ1-pirolin-5-karboksilat-redüktaz (P5CR)'dır. *Arabidopsis thaliana* bitkisinde glutamat yolu kullanılarak prolin biyosentezi, çift faktörlü Δ1-pirolin-5-karboksilat sentaz (P5CS) enzimi kontrolünde gerçekleşir. P5CS enzimi, glutamik asiti fosforilleyerek glutamil-5-semialdehit (G5SA)'e dönüştürtür. Ayrıca bu enzimin P5CS1 ve P5CS2 diye iki tip izoformu bulunur. Prolin, G5SA'den pirolin-5-karboksilat (P5C) kullanarak Δ1-pirolin-5- karboksilat-redüktaz (P5CR; EC 1.5.1.2) enzimi katalizörlüğünde üretimi gerçekleşir. Bu mekanizmanın hızını belirleyen temel faktör; P5CS enziminin γ-glutamil kinaz aktivitesidir. Temelde arda prolin miktarındaki değişme glutamat artışına bağlı olarak değişmektedir.

Ornitin üzerinden prolin biyosentezin kontrolü ornitin- δ-amino transferaz (δ-OAT) enziminin katalizie olmasıyla gerçekleşir (Şekil 4). Prolin, sitoplazmada ve kloropastlarda sentezlenebilirken mitokondri organelinde katabolize edilmesi iki enzimin sırayla çalışması sonucu meydana gelir. Prolin tekrardan glutamata kadar yıkılır. Prolin katabolizasyonu sırasında görev alan enzimler prolin dehidrogenaz (PDH; EC 1.5.99.8) ve prolin-5-karboksilat dehidrogenaz (P5CDH; EC 1.5.1.12)'dır. PDH prolini P5C'ye çevirdikten sonra P5CDH, P5C'yi glutamata çevirir (Kavi Kishor ve ark., 2005; Szekely ve ark., 2008; Parida ve ark., 2008; Abraham ve ark., 2010; Liang ve ark., 2013; Singh ve ark., 2014; Hossain ve ark., 2014). Stres koşullarındahücre içinde prolin miktarının birikimi önemli ölçüde prolin biyosentezi ile prolin yıkımına bağlı olarak değişir (Hossain ve ark., 2014).



Şekil 2.2. Bitkilerde prolin metabolizması (Szabados ve Savoure, 2010)

2.4.3. Glisin betainin ve fizyolojik özellikleri

Glisin betain (N, N, N-trimetil glisin) nötr pH'ta çalışan, suda eriyebilen ve üç metil gruptan oluşmaktadır. Glisin betainin (GB) moleküler yapısına bağlı olarak GB'nin enzim ve protein kompleksleri gibi moleküllerle hidrofobik ve hidrofilik yapılarla etkileşmesini sağlar. Yapılan in vitro çalışmalarda, GB'nin, çeşitli stres

faktörlerine maruz kaldığında hücre içi osmotik basıncı düzenleyen bir osmolit olduğunu gösterir (Gorham, 1995).

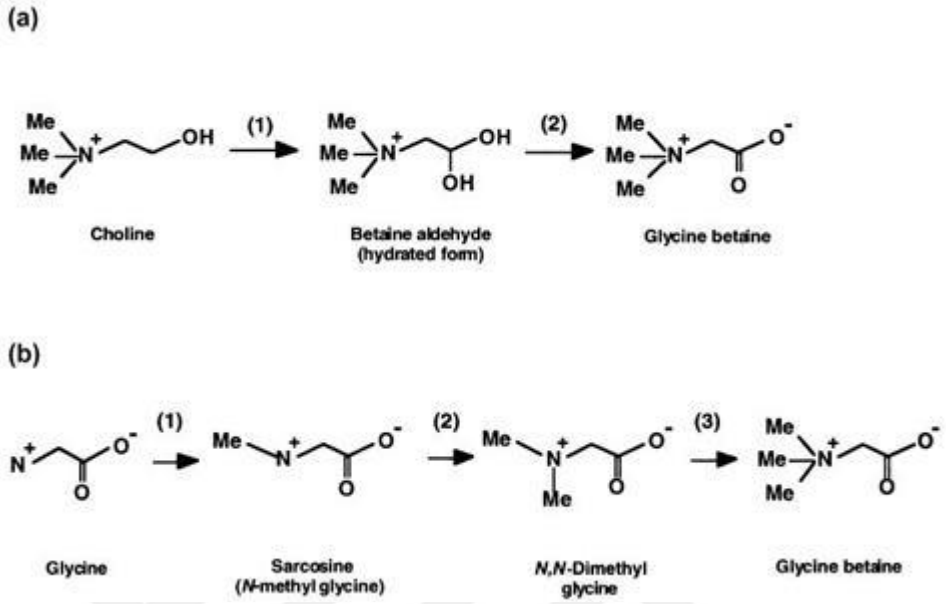
GB'nin hücre içinde sabit kaldığı ile ilgili iki hipotez belirtilmiştir. Arakawa ve Timasheff (1983) yaptıkları biyofiziksel çalışmalar neticesinde, GB'nin proteinlerle etkileşime girmeyince proteinde suyun bağlanacağı kısmın korunmasıyla ilgili olduğunu belirtmiştir. Diğer hipotez ise Schobert tarafından 1977 yılında konulmuştur. Hipoteze göre, kuraklık koşullarında GB'nin hidrofobik kısmı, kolay bir şekilde bağlanan suyun serbest olan proteinin hidrofobik kısmına tutunarak, proteinin denature olmaktan korur (Schobert, 1977).

2.4.3. GB'nin Biyo-sentez yolu

Doğada GB'nin bazı prokaryot türlerinde, ökaryotik mikroorganizmada, çeşitli bitki ve hayvanlarda bulunabilen bir moleküldür. Şekil 2. 3.'de görüldüğü gibi GB'nin sentezlenmesi (kolin ve glisin moleküllerinin ortamda bulunduğunda) iki farklı aşamada sentezlenmektedir. Kolinin GB'e dönüşebilmesi için kolinin oksidasyonu sırasında görev yapan enzimler sayesinde gerçekleşir. Çoğunlukla iki enzimin birden kullanıldığı yol, bitki, hayvan ve mikroorganizmalarda daha yaygın görülmektedir. Bu yolda, GB zehirli bir ara ürün olan betain aldehid (kolin türü) iki aşamalı oxidasyon sürecine bağlı olarak gelişir. İleri yapılı bitkilerde, tepkimeler kloroplastın stromasında yer alan CMO ve BADH enzimleri kontrolünde gerçekleşir. GB'nin sentezlenmesi de stres faktörüyle uyarılabilir. GB, stres koşullarında doğal olarak birikebilen bitkilerde 40-400 μmol (g DW)$^{-1}$ derişiminde birikir (Rhodes and Hanson, 1993). Tek enzimin kullanıldığı yol ise Arthrobacter cinsinde ki toprak bakterisinde belirlenmiştir. Bu tepkime COD (H_2O_2 üreten oksidaz) enzimi yönetilmesiyle katabolize edilir.

Glisinin GB'e dönüşmesinde tipik iki halofilik mikroorganizma (Ectothiorhodospira halochloris ve Actinopolyspora halophilia)'da belirlenmiştir (Nyyssöla ve ark., 2000). Bu mikroorganizmalarda GB, iki Sadenosilmetionin bağlı

olarak metiltransferaz GSMT ve SDMT tarafından yıkıma uğratılarak üç ardışık seri reaksiyonların N-metilasyon edilmesi ile glisin üretilir.



Şekil 2.3. GB'nin sentezlenme yolları (Sakamoto ve ark. (2002))

2.4.4. Osmolitlerin stresteki rolleri

Bitkilerde prolin miktarının artması önemli bir içsel tepkidir. Birçok çalışmada prolin birikmesi abiyotik stres faktörlerine karşı bir yanıt olduğu görülmüştür. Bu durum ilk kez su stresinde solma noktasına gelmiş çimlerde görülmüştür. Bitkilerde prolin gibi çözülebilir maddelerin birikimi hücrenin yapısını koruyan mekanizmadır (Kavi Kishor ve ark., 2005; Hayat ve ark., 2012; Hossain ve ark., 2014; Yaish, 2015).

Glisin betain (GB), prolin osmoliti gibi abiyotik stres faktörlerine karşı yanıt olarak oluşturulan bazı bitkiler tarafından sentezlenebilen temel bir ozmolittir. Düşük moleküler ağırlığı olan, suna çözünebilen uyumlu bir bileşiktir. GB hücre içinde yüksek oranlarda birikebilir, birikmesi de zehir etkisi yapmaz. *Beta vulgaris, Spinacia oleracea, Hordeum vulgare, Triticum aestivum, Sorghum bicolor* gibi bitki türleri tarafından GB sentezlenmiştir. Solanaceae familya üyeleri olan *Lycopersicon*

esculentum, Arabidopsis thaliana, Solanum tuberosum, Oryza sativa GB sentezleyemeyen bitkiler arasında yer almaktadır (Wyn Jones ve Storey, 1981).

Bir çok çalışma, soğuk koşullarda ve dondurucu stres koşullarına karşı GB'nin dışardan uygulanmasına bağlı olarak bitkinin strese karşı toleransını arttırdığını gösterilmiştir (Kishitani ve ark. 1994; Chen, ve ark., 2000; Gorham, 1995). Prolin gibi GB'de PS II yapılarının kararlı bir şekilde korunuduğunu göstermiştir (Papageorgiou ve Murata, 1995). GB, siyanobakterilerin tilakoid zarlarında ve ıspanak bitkisinin yapraklarının tilakoid membranlarında yer alan PSII molekülleri in vitro'da inkübasyonu sırasında PS II kompleksi tarafından oksijen üretme aktivitesini artırmaktadır (Papageorgiou, ve ark., 1991; Mamedov ve ark., 1991; Mohanty ve ark., 1993).

GB birikimi birçok abiyotik stres faktörlerine karşı membranın zarar görmesini önler (Deshnium ve ark., 1997; Chen, ve ark., 2000). Bunu zar düzenleyicisi olarak, (Rudolph, ve ark., 1986), yüzeyde yer alan proteinlerin su katmanını koruyarak (Coughlan ve Heber, 1982) veya lipitlerin okside olmasını indirgeyerek yapmaktadır (Prasad, Anderson ve Stewart, 1994a).

2.4.5. Osmolitlerin strese karşı karakterize özellikleri

2.4.5.1. Osmotik basıncı dengeleme

Prolinin ozmotik dengelemekt ki temel hücrenin dehidrasyona karşı direnç mekanizmasını artırmasıdır. Prolin gibi sitozolde bulunan osmolitlerin hücre içinde birikimi, hücredeki su potansiyel farkın düşmesi ile oluşan zararların azaltılmasında rol oynar. Bitkiler prolini çoğunlukla sitozolde ve kloroplast stromasında biriktirir (Şekil 5). Özelde bu iki yerde biriken prolin miktarı, bitkinin diğer dokularında birikenden çok daha fazladır. Prolinin sitoplazma içindeki çok ufak bir değişimi osmotik basıncı dengeleme de oldukça etkilidir (Kavi Kishor ve ark., 2005; Hayat ve ark., 2012; Liang ve ark., 2013; Hossain ve ark., 2014).

2.4.5.2. Su kaybı (dehidrasyon) sırasında hücresel yapıların korunması

Dehidrasyon, bitkilerde büyümenin ve gelişiminin en sınırlayıcı faktörlerden birisidir. Prolin su kaybına bağlı olarak oluşan strese yanıt olarak proteinleri ve hücre zarları gibi hücresel yapıların ve fonksiyonların koruma, ROS'ların inaktive etme gibi birçok görevi vardır. Hücre içinde su miktarı azaldığında, prolin hidrofilik etkileşmeler yapıp, hidrojen bağları oluşturur. Bu şekilde su stresi dengelenmeye çalışılır ve stres süresince fotosentez mekanizmasında ve mitokondri organelinde elektron taşıma kompleksi- II'nin korunmasını gerçekleşir (Hayat ve ark., 2012; Liang ve ark., 2013; Hossain ve ark., 2014). Polen ve tohumlarda bile dehidrasyon sırasında prolin varlığı ve birikimi gerçekleşmiştir (Hayat ve ark., 2012; Liang ve ark., 2013; Hossain ve ark., 2014).

Ayrıca stres koşullarında bozulan enerji mekanizmasına ek olarak birçok fonksiyonun aktifleşmesinde rol oynayan düzenleyici bir sinyal molekülüdür. Stres sonrasında iyileşme mekanizmasında, mitokondrinin özelliklerini düzenleyerek hücre bölünme ve hücre otolizinin düzenlenmesinde, bitkinin biyüme ve gelişmesinde, çiçeklenme ve protein sentezi gibi metabolik olayların gen ifadelerinde ozmolitlerin rol aldığı belirtilmiştir. Tüm bu özelliklerin olması prolinin hücre içinde çok yönlü bir sinyal molekülü olarak görev aldığını göstermektedir (Kavi Kishor ve ark., 2005; Hayat ve ark., 2012; Liang ve ark., 2013; Hossain ve ark., 2014).

2.4.5.3. Reaktif Oksijen Türleri (ROS) temizleyicisi

Çeşitli stresler sebebiyle hücre içinde reaktif oksijen türleri (ROS) meydana gelir. ROS'lar DNA ve proteinlerin yapısında ve lipidlerin yüzeyinde oksidasyonlara neden olurlar. Bitkiler stres koşullarında singlet oksijen ($^1O_2$) ve hidroksil (OH) radikali gibi iki önemli ROS ürünü oluşur. Birçok farklı stres koşullarında yapılmış çalışmalararda birçok osmolit arasından ve ROS'ları temizleyerek, hücreleri oksidatif stresten koruyan iki molekülün prolin ve glisin betain olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir. Ayrıca bu çalışmalar, bu iki osmolit türünün bitki hücrelerinde stres koşullarında enzimatik olmayan bir antioksidan olarak görev aldığını göstermektedir.

Matysik ve ark. (2002) yaptıkları araştırmada, prolinin bitkilerdeki $^1O_2$ temizlemede oldukça etkin bir rol aldığını düşünmüşlerdir. Alia ve ark. (2001), prolinin $^1O_2$'i süperoksit anyonuna $[O\text{-}O]^{2-}$ dönüştürerek, radikali temizlediğini düşünmüşlerdir. Rustgi ve ark. (1977), prolinin OH ile reaksiyona girme isteğinin olabileceğini belirtmişlerdir. Bunlara ek olarak Fenton reaksiyonundan kaynaklanan çok sayıda metal iyonu radikalini prolin bağlayarak OH^- karşı koruyucu etkisinin olduğunu belirtilmiştir (Hayat ve ark., 2012; Liang ve ark., 2013; Hossain ve ark., 2014).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki materyali

Bu çalışmada kullanılan pamuk (*Gossypium hirsutum* L.) tohumları, Şanlıurfa Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğünden sağlanmıştır. Tez çalışmasında Candia çeşidi kullanılmıştır.

3.1.1.1. CANDİA

Islah Edildiği Kuruluş: BAYER

Tescil Yılı: 2011
Bitki Şekli: Konik
Bitki Boyu: Orta (80-85 cm)
Yaprak Şekli: Palmiye
Yaprak Yoğunluğu: Orta Yoğunlukta
Koza Şekli: Oval ve orta büyüklükte

Çırçır Randımanı: % 40,65
Lif Uzunluğu: 29,26 mm
Lif Kopma Dayanıklılığı: 31,77 g tex^{-1}
Lif İnceliği: 4,51 micronaire

Yüksek verimli, Güneydoğu Anadolu Bölgesi yüksek sıcaklık ve kurak koşullarına uygun, su stresine tolerant
Fırtınaya Dayanıklı (Makineli hasat İçin)
Yatmaya Dayanıklı (Makineli hasat İçin)
Orta-Erkenci (İlk el toplama oranı % % 87.18)

Bölgede Pamukta önemli bir hastalık olan Verticillium solgunluğuna tolerant.

Bölgede son dönem pamuk zararlısı olarak bilinen yaprak pirelerine karşı tolerant Tavsiye Edilen Bölgeler: Güneydoğu Anadolu Bölgesi (Diyarbakır, Ş. Urfa, Adıyaman, Mardin, Batman, K. Maraş, G. Antep, Şırnak) (Almas, 2016).

3.1.2. Bitkiye uygulanan osmolit çeşitleri

3.1.2.1. l-prolin

Sigma aldrich firmasının l- prolin ürünü kullanılmıştır. Molekül ağırlığı 115.13 g mol^{-1}.

3.1.2.2. Glisin betain

Merck firmasının glisin betain ürünü kullanılmıştır. Molekül ağırlığı 117.23 g mol^{-1}.

3.2. Yöntem

3.2.1. Tohum ve kullanılacak malzemelerin yüzey sterilizasyonu

Pamuk bitkisinin tohumlarını, herhangi bir kontaminasyonu engellemek için %70 lik ethanol solüsyonunda 30 saniye uygulanarak, yüzey sterilizasyonu yapılmıştır. Hemen sonra %10 NaOCl solüsyonda, 10 dakika boyunca bekletilmiştir. Bu süre sonunda olası NaOCl kalıntısını yok etmek amacıyla double distile su (ddI - H_2O) ile 3 kez yıkanmış, tohumları sterilizasyon etme işlemi sona ermiştir. (Wu ve ark., 2011; Can, 2013). Daha sonra kullanılan cam malzeme ve metal gereçler alimunyum folyo ile sarılarak, etüvde bekletilmiştir.

Perlit ise ekim öncesi saf sudan geçirilip, perlitin nemli kalması sağlanmıştır. Saksılara yerleştirilip, bu işlem ekimden hemen önce yapılmıştır. Şekil 3.1., 3.2. ve 3.3. analizler öncesi hazırlık aşamalarını göstermektedir.



Şekil 3.1. Kullanılacak tüm malzemeleri sterilize edilmesi ve solüsyonların hazırlanması



Şekil 3.2. Denemede kullanılan tohumların sterilizasyonu



Şekil 3.3. Otomatik bitki büyütme odasının koşullarının ayarlanması ve kabin içinden genel görüntü

3.2.2. Deney serilerinin hazırlanması

Bu çalışma, Harran Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Bitki Büyütme Laboratuvarında yürütülmüştür. İklim odasında, kontrollü şartlarda iri perlit kullanılarak, bitki büyütme odasında yetiştirilmiştir. Pamuk çeşitlerinin fotosentez yapabileceği uygun sıcaklık değeri ise 27- 28°C olduğu bildirilmiştir (Frederick, 2006). Bitki yetiştirme ortamının sıcaklığı günlük ortalama 27 ± 1°C olacak şekilde (30 °C / 26 °C) ayarlanmıştır (Reddy ve ark., 2004; Salvucci ve Crafts-Brandner, 2004). Uzun gün bitkisi olan pamuk bitkisini yetiştirme ortamını 14 saat aydınlık, 10 saat karanlık olacak şekilde düzenlenmiştir. Aydınlatma bitkiler için geliştirilmiş floresans lambalar kullanılarak yukarıdan yapılmıştır. Işık yoğunluğu 350-400 μmol/m^2/sn olarak ayarlanmış bu ölçüm daha önceden belirlenmiştir. Yetiştirme ortamındaki nem oranı %65-70 düzeyinde tutulmuştur (Rahman ve ark., 2004). Analizlere ilk olarak, mayıs ayı denemesi kurulup, hasat edilmesiyle başlamıştır. Analizler yapılırken denemenin ikinci tekrarı temmuz ayı içerisinde kurulmuştur. Hasat sonrası hemen ikinci denemenin analizlerine başlandı. Genel değerlendirme sonrası iki deneme serisinin tüm hasat materyalleri birleştirilerek, analizlerin üçüncü tekrarı yapılmıştır. Tüm analizler 3 tekrarlı olmak üzere birbirinden bağımsız yapılmıştır. Deney grupları şekilde ki gibi oluşturulmuştur (Şekil 3.4).

KURAKLIK GRUPLARI					
(%0) PEG 6000		**%10 PEG 6000**		**%20 PEG-6000**	
0 mM 1. saksı	**2 mM 1. saksı**	**0 mM 1. saksı**	**2 mM 1. saksı**	**0 mM 1. saksı**	**2 mM 1. saksı**
0 mM 2. saksı	**2mM 2. saksı**	**0 mM 2. saksı**	**2mM 2. saksı**	**0 mM 2. saksı**	**2mM 2. saksı**
0 mM 3. saksı	**2 mM 3. saksı**	**0 mM 3. saksı**	**2 mM 3. saksı**	**0 mM 3. saksı**	**2 mM 3. saksı**

Şekil 3.4. Çalışmada oluşturulan deney gruplarının şematik gösterimi

Sterilizasyon sonrası pamuk tohumları çimlenmesi için çimlendirme kabinine alınmıştır. Perlitte yetişecek olan pamuk tohumları kotiledonların çıkmasının

ardından ilk yaprakların belirgin bir hal almasıyla hoagland besin solüsyonu verilmiştir (Hoagland, 1950). Pamuk bitkisi 5-6 yapraklı evreye gelince kuraklık uygulaması da başlatılmıştır (30. Gün sonu). Kuraklık uygulaması ise besin solüsyonu içine PEG 6000 ilavesiyle gerçekleştirilmiştir. Farklı dozlarda kuraklık stresine maruz kalan CANDİA pamuk çeşidine osmotik stres düzenleyici olarak glisin betain ve prolin uygulanmıştır. Hiç osmolit uygulanmadığı grup 0 mM iken 2 mM uygulama dozu olarak hazırlanmış, bu çözeltiler sulama suyuna eklenerek kuraklık stresiyle birlikte uygulanmıştır. Yedi gün boyunca kuraklık stresinin etkileri sürmesiyle sekizinci gün sonunda tüm bitkiler hasat edilmiştir. Şekil 3.5. Stres uygulama öncesi bitkilerin durumu ve kuraklık uygulaması için solüsyon hazırlama aşamalarını göstermektedir.



Şekil 3.5. Stres öncesi bitkilerin genel durumu (30. Gün)

Tezde bakılan analizler şu şekildedir:

1. Bitkilerde büyüme parametreleri:
2. Bitkilerde bağıl büyüme hızı:
3. Besin elementleri analizi:
4. Fotosentetik pigment analizi:
5. Total antosiyanin miktarı:
6. Total fenolik bileşik miktarı:
7. Total flavonoid miktarı:
8. Total karbonhidrat miktarı:
9. MDA:
10. Prolin:

11. Total protein miktarı:

3.2.3. Besin çözeltisinin ve diğer çözeltilerin hazırlanması

Kuraklık stresi oluşturmak amacıyla %0, %10 ve %20 oranlarında PEG 6000 tartılıp, double distile su içinde karıştırılarak çözündürülmüştür. Pamuk bitkilerinin yetiştirilmesi içinde hoagland besin solüsyon çözeltisi hazırlanmıştır (Hoagland ve Arnon, 1950). Hoagland besin solüsyon çözeltisi stok olarak hazırlanmış olup, içeriği Çizelge 3. 1. Görüldüğü gibi belirtilmiştir.

Çizelge 3.1. Hoagland besin solüsyonu içeriği

No	Kimyasal adı	Molaritesi
1	KNO_3	1 M
2	$CaNO_3$	1 M
3	$NH_4H_2PO_4$	1M
4	$MgSO_4$	1 M
5	H_3BO_3	1 M
6	$MnCl_2$	1 M
7	$CuSO_4$	0,1 M
8	ZnSO4	0,1 M
9	$(NH_4)_6Mo_7O_{24}$	0,1 M
10	Tartarik asit (% 0,5)+Demir sülfat (%0,4)	6 mL/10 L

Hazırlanan bu besin solüsyonun pH'sı 5,70- 5,80 ayarlanmıştır (HCl veya NaOH ile).

3.3. Ölçüm ve Analizler

3.3.1. Büyüme parametrelerinin belirlenmesi

Büyüme parametreleri gövde uzunluğu, gövde yaş ağırlığı, gövde kuru ağırlığı, kök uzunluğu, kök yaş ağırlığı ve kuru ağırlığından oluşmaktadır. Bu ölçümler için her bir gruptan 10'ar bitki kullanılmıştır. Boylar milimetrik cetvel yardımıyla ölçülürken (cm bitki^{-1}), ağırlıklar (g bitki^{-1}) olarak kaydedilmiştir. Şekil 3.6. analiz aşamasını göstermektedir.

Yaş ağırlıklar alındıktan sonra kuru ağırlıkların belirlenmesi için yaş örnekler 70°C'ye ayarlanarak etüvde 72 saat bekletilmiştir ve ağırlıkları tekrar tartılarak kuru ağırlıkları (gr bitki^{-1}) olarak kaydedilmiştir.



Şekil 3.6. Hasat sonrası bitkilerin büyüme parametrelerinin ölçülmesi (Can, 2013)

3.3.2. Yapraklarda nispi su içeriği (NSİ) tayini

Hasat dönemlerinde tüm grupların bitkilerinden en genç sürgünlerine sahip olan, tam açılmış lateral yapraklarıdan seçilen 9 adet yaprak örneği alınarak (9 ayrı bitkiden) yaş ağırlıkları (YA) belirlenmiştir. Sekiz saat boyunca dI-H_2O içinde petri tabaklarında bekletilmiş, turgor durumuna geçmesi sağlanmıştır (TA). Daha sonra tüm yaprak örnekleri 70 ^{0}C' de, 72 saat boyunca etüvde kurumaya alınmıştır. Kuruma sonrası kuru ağırlıkları (KA) tartılmıştır. Yaprak dokularına ait nispi su içeriği aşağıdaki denklem (3. 1) göre % olarak belirlenmiştir (Smart ve Bingham, 1974).

Nispi Su İçeriği (%) = [(YA – KA) / (TA – KA)] ×100 (3. 1)

YA = Yaş Ağırlık; KA = Kuru Ağırlık; TA = Turgorlu Ağırlık

3.3.3. Toplam Çözünebilir Karbonhidrat Miktarı

Pamuk bitkisinin kontrol ve stres gruplarına ait bitkilerin yaprak dokularında bulunan toplam çözünür karbonhidrat miktarı fenol-sülfürik metoduna göre belirlenmiştir (Dubois, 1956). Daha önceden etüvde kurutulmuş yaprak örnekleri toz haline getirilerek cam tüp içine 0,05 gr'lık örnekler alınmıştır. Alınan bu yaprak

örneklerinin üzerine %70'lik etil alkol eklenmiş, bir saat boyunca 80 ºC'lik sıcak su banyosunda tutulmuştur. Bu sürenin sonunda tüpler 3500 rpm'de 20 dakika santrifüj yapılmıştır. Daha sonra yeni deney tüplerine sırasıyla 1000 µl süpernatant, 300 µl % 5'lik fenol ve 2000 µl derişik sülfürik asit (H_2SO_4) eklenerek hafif hafif karıştırılmıştır. Daha sonra karışımların absorbans değerleri, heksoz şekerler için 488 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Yaprak dokularındaki toplam çözünür karbonhidrat miktarı heksoz şekerler için glukoz kullanılarak, hazırlanan standart grafikler yardımıyla hesaplanmıştır.

3.3.4. Fotosentetik pigment konsantrasyonlarının belirlenmesi

Taze yaprak örnekleri (500 mg), havanda 15 ml %80' lik (v/v) aseton (merck) ile ezilerek, yeni cam tüplere filtre kâğıdıyla yerleştirilmiş, süzülmeye bırakılmıştır. Oluşan süzüntünün son hacmi aseton ile 10 ml' ye tamamlanmıştır. Spektrofotometrik olarak 663 nm' de klorofil a (Kl-a), 645 nm' de klorofil b (Kl-b) ve 480 nm' de karotenoid (Kar) ölçümleri yapılarak analiz tamamlanmıştır. Hesaplaması Lichtenthaler ve Wellburn (1983)' e göre aşağıdaki denklem (3. 2.), (3. 3), (3. 4) göre yapılmıştır. (A: ölçülen absorbans değeri).

Klorofil a (Kl-a) = ΔA 663 x 12.70 –ΔA 645 × 2.69 / mg örnek ağırlığı (3. 2)

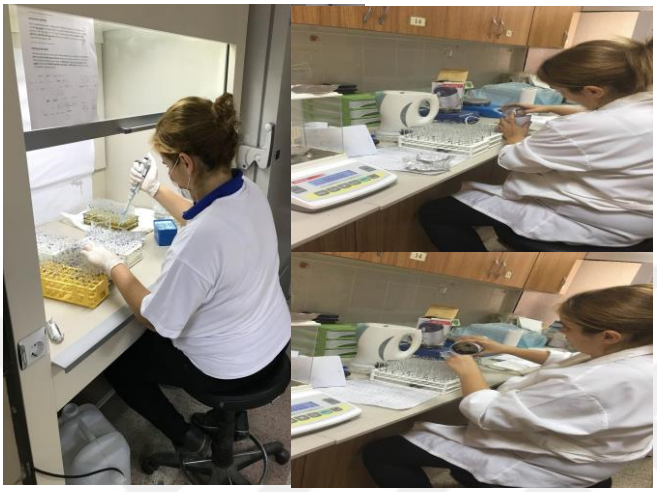
Klorofil-b (Kl-b) = ΔA645 x 22.90 – ΔA663 × 4.68 / mg örnek ağırlığı (3. 3)

Karotenoid (Kar) = ΔA480 + ΔA663 x 0.114 – ΔA645 × 0.638/112.50 / mg örnek ağırlığı (3. 4)

3.3.5. Prolin tayini

Kuraklık ve stres uygulama gruplarından rastgele seçilmiş 3 bitkinin yaprak dokularında bulunan serbest prolin içeriği Bates ve ark.' na (1973) göre belirlenmiştir. 0,5 gr' lık yaş örnekler %3 'lük 5-sülfosalisilik asit ile havanda ezilerek, homojenize edilmiştir. Homojenizasyon sonrası tüplere alınan örnekler 5000 G' de 5 dk santrifüj edildi. Elde edilen süpernatant kısımdan 1'er ml alınıp, yeni cam tüplere aktarıldı. Üzerinlerine Glasiyal asetik asit ve inhidrin asit çözeltisi pipetlendi. Doksan dakika benmaride 95°C de bekletildi. Süre sonunda örnekler

soğutulup, üzerlerine toluen eklenmiştir. 520 nm' deki absorbansı spektrofotometre okunarak elde edilmiştir. Prolin konsantrasyonu, standart olarak prolinin kullanılıp, kalibrasyon eğrisi oluşturulmasıyla elde edilmiştir ve sonuçları µmol prolin g^{-1} taze ağırlık olarak ifade edilmiştir. Şekil 3.7. analiz esnasındaki uygulamaları göstermektedir.



Şekil 3.7. Analizlerden genel görüntü

3.3.6. Lipit peroksidasyonunun (MDA) oluşumunun belirlenmesi:

Kuraklık stresine bağlı olarak hücre zararlarının lipit kısmında oksidasyona bağlı olarak MDA (malondialdehit) oluşur. MDA'nın miktarının belirlenmesi de TBA (tiobarbütürik asit) testi kullanılmıştır (Madhava Rao ve Sresty, 2000). Bu sebeple için tüm gruplardan 500 mg yaprak örneği tartılıp, örnekleri %0,1 TCA (trikloroasetik asit) ile havanda ezilmiştir. Bu homohenizasyon işlemi sonrası 1 mL alınıp üzerlerine 4 ml %0,5 TBA (tiobarbütirik asit) içeren %20' lik TCA (trikloro asetik asit) ilave edilmiştir. Tüpler 90 ^{0}C'ye ayarlanmış sıcak su banyosunda bir saat bekletilmiş, daha sonra tüpler buzlu soğuk suda bekletilmiştir. 10.000 rpm' de 15 dakika santrifüj edildikten sonra örnekler 532 nm ve 600 nm dalga boylarında okunmuştur. MDA derişimi ekstinksiyon katsayısı (ε = 155 mM^{-1} cm^{-1}) kullanılarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.8. MDA analizinden görüntü

3.3.7. Bazı besin elementlerinin belirlenmesi

Daha önceden kurutulmuş ve öğütülmüş bitki örneklerinden 0.3 g tartılmış, örnekler Harran Üniversitezi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezine (HÜBTAM) teslim edilerek, yaptırılmıştır. ICP-AES (Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometer) (Varian- Vista, axiel) cihazında okunarak hesaplanması yapılmıştır (Soil Survey Laboratory Methods Manual, 2004; Can, 2013).



Şekil 3.9. ICP cihazından genel bir görüntü (Can, 2013)

3.3.8. Toplam fenol, antosiyanin ve flavonid miktarları

Yaprak dokularında ki anthosiyanin içeriği Cervilla ve ark. (2012)'ye göre yapılmıştır. 0,5 g taze yaprak örnekleri, 18:1:81 oranında propanol: HCl: dH2O homojenize edilmiştir. 10 dk boyunca 5000 rpm santrifüj edilmiştir sonrasında 85° C sıcak su banyosunda bekletilip, banyo sonrası 24 saat karanlıkta inkübasyona

bırakılmıştır. Ertesi gün 6000 rpmde, 15 Cde, 40 dk boyunca santrifüj edilip, köre karşı spektrofotometrede 535 ve 650 nm okunmuştur.

Yaprak dokularında ki flavonoid içeriği Cervilla ve ark. (2012)'ye göre yapılmıştır Kuru örneklerden 0,5 gr tartılıp, %80 lik metanol ile havanda homojenize edilmiştir. Homojenizasyon sonrası tüplere alınan homojenantlar, en az 48 saat bekletilmiştir. İnkübasyon sonrası tüpler, 6000 rpmde, 10 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Yeni tüpe aktarılan homojenantlar üzerlerine %5 $NaNO_2$, %10 $AlCl_3$ ve 1 N NaOH eklenerek, spektrofotometrede 510 nm spektrumda okunmuştur. Standart olarak pyrocatecholden oluşturulan standard eğriler kullanılmıştır.

Yaprak dokularında bulunan total fenol madde miktarı Chandler and Dodds (1983) tarafından uygulanmış prosedürün küçük değişiklikler yapılarak belirlenmiştir. Taze yaprak örneklerinden alınan 0,5 gr'lık yaprak dokuları sıvı azot içerişinde havanda ezilerek öğütülmüştür. Öğütülen yaprak dokuları, cam tüplere alınarak üzerlerine %80'lik 5 ml metil alkol eklenmiştir. 48 saat boyunca buzdolabında bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda homojenatları, 4000 rpm'de, 20 dk santrifüj edildi. 1000 µl süpernatant üzerine sırasıyla 5 ml distile su, 400 µL %50'lik Folin Ciocalteu's Reagent (FCR) ve 1000 µl %5'lik sodyum karbonat (Na_2CO_3) eklenmiştir. Hazırlanan karışım, oda sıcaklığında bir saat bekletildikten sonra vortekslenerek, karışımların absorbans değerleri, 725 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Yaprak dokularında bulunan total fenol madde içeriği, gallik asitle oluşturulan standart grafik yardımıyla hesaplanmıştır.

3.3.9. Total çözünmüş protein miktarının belirlenmesi

Literatürde yapıldığı tarzda standartlar hazırlandıktan sonra tüm gruplar, 3 tekrarlı olmak üzere, 50'şer µl örnek alınıp, yeni tüplere konmuştur. Bu yeni tüplerin üzerine Coomasie Brillant Blue (CBB) isimli protein boyasından 950 µl eklenmiştir. Örnekler köre karşı Shimadzu UV spektrofotometre cihazı ile 595 nm'de okunmuştur. Total çözünmüş protein miktarı analizleri Bradford' a (1976) göre farklı derişimlerde BSA (Bovine Serum Albumine) standartları kullanılarak

hesaplanmıştır. Çözünebilen total protein miktarı mg ml^{-1} yaş ağırlık olarak belirlenmiştir.

3.3.10. Verilerin istatistiksel analizi

Araştırmada kullanılan 22 bağımlı değişkene ait veriler her bir kuraklık dozu (PEG 6000: %0, %10, %20) için; Kontrol grubu (0mM) ile GB (2mM) ve PROLIN (2mM) osmolit dozlarından oluşan, toplamda 9 gruba ayrılmıştır. Gruplara ait her bir alt grupta 3'er adet tekerrür bulunmaktadır. Oluşturulan bu 9 grup, her bir kuraklık dozu düzeyinde osmolit dozlarının kontrol grubundan (0mM) daha etkili olup olmadığını tespit etmek amacıyla tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılarak analiz edilmiştir. Böylece gerek ayrı ayrı kuraklık dozu düzeyleri içinde gerekse kuraklık dozları arasında ortalamalar arası karşılaştırma yapılabilmektedir. Tek yönlü varyans analizi yardımı ile grupların ortalamaları arasındaki olası anlamlı farklılıkların var olup olmadığı tespit edilerek, anlamlı farklılığa sebep olan gruplar varyansların homojenlik durumuna göre Tukey's HSD veya Tamhane's T2 çoklu karşılaştırma testleri kullanılarak belirlenmiştir. Çoklu karşılaştırma sonuçları hem tablo hem de grafik yardımıyla sunulmuştur. Tek yönlü varyans analizleri α=0,001 (%0,1) önem düzeyinde, Tukey's HSD ve Tamhane's T2 çoklu karşılaştırma testleri α=0,05 (%5) önem düzeyinde uygulanmıştır. Gruplar arası varyanslar homojen ise Tukey's HSD testi kullanılırken, homojenliğin bozulduğu durumda Tamhane's T2 testi kullanılmıştır (P elementi)

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Çalışmanın bu kısmında tek yönlü varyans analizi tablolarının sunumundan sonra çoklu karşılaştırma (Tukey's HSD ve Tamhane's T2) tabloları ve grafikleri sunulmuştur. Bütün çoklu karşılaştırma tablolarında her bir hücre kendisine karşılık gelen **grubun ortalaması ± standart hatası** şeklinde verilmiştir. Grafiklerde ise her bir sütun karşılık geldiği grubun ortalamasını temsil etmektedir. Hem tablolarda hem de grafiklerde gruplar arası farklılıklar harflendirme metodu kullanılarak belirtilmiştir. Harflendirmeler 'a' harfinden başlayarak büyük ortalamadan küçüğe doğru olacak şekilde yapılmıştır.

4.1. Farklı Kuraklık Seviyelerinde Yetişen Pamuk Bitkisine Dışsal Osmolit Uygulamasının Büyüme Parametreleri Üzerinde Etkisi

Çizelge 4. 1. gövde boyu bağımlı değişkeni için yapılan varyans analizi sonuçlarını göstermektedir. Tablo incelendiğinde P=0,000<α=0,001 olduğu görülmektedir. Bu durumda grupların ortalamaları arasında %5'lik önem seviyesinde anlamlı bir farklılık mevcuttur.

Çizelge 4. 1. Gövde boyu sonuçlarının ANOVA test sonucu

Gövde Boyu	**ANOVA**				
	Kareler Toplamı	sd	Kareler Ortalaması	F	**P**
Gruplar Arası	1112,667	8	139,083	139,083	**0,000**
Grup İçi	18	18	1		
Toplam	1130,667	26			

***P<0,001 sd. Serbestlik Derecesi

Çizelge 4. 2. Gövde boyunda anlamlı farklılığa sebep olan grupların hangileri olduğu Tukey's HSD testi ile gösterilmiştir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %5 önem düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir.

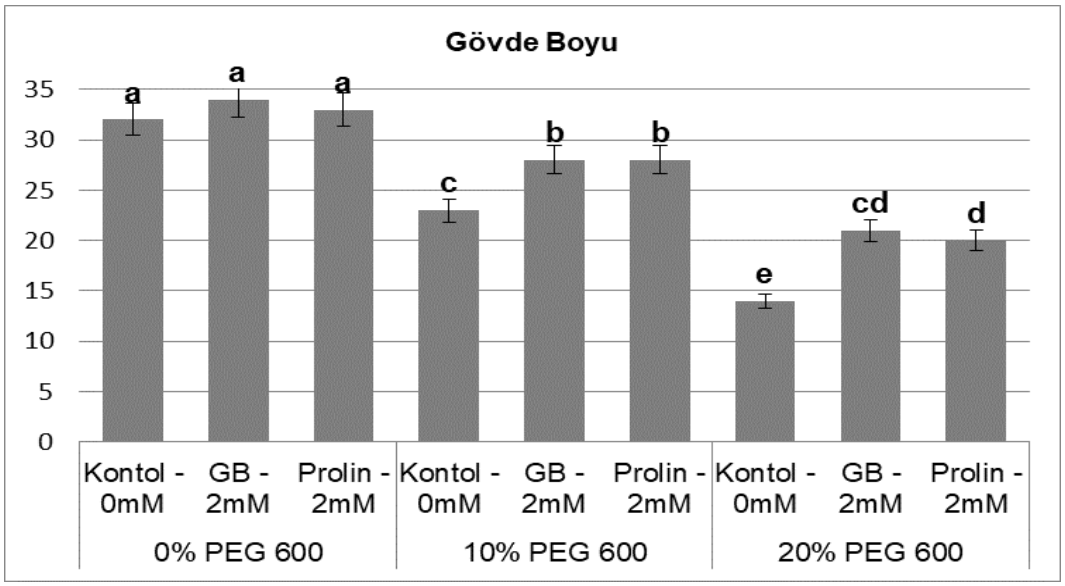
Çizelge 4. 2. Gövde boyu sonuçlarının Tukey's test sonucu

Gövde Boyu		Tukey's HSD		
		Osmolit Dozu		
		Kontrol - 0mM	GB - 2mM	Prolin - 2mM
Kuraklık Dozu	0% PEG6000	32 ± 0,577^{e}	34 ± 0,577^{e}	33 ± 0,577^{e}
	10% PEG6000	23 ± 0,577^{c}	28 ± 0,577^{d}	28 ± 0,577^{d}
	20% PEG6000	14 ± 0,577^{a}	21 ± 0,577^{bc}	20 ± 0,577^{b}

***P<0,001 sd. Serbestlik Derecesi

Gövde boyu Tukey's HSD sonuçları incelendiğinde 0% PEG 6000 kuraklık dozu düzeyinde, kontrol ortalaması ile GB ve Prolin ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir. En düşük sonuç, 14 cm olarak %20 PEG 6000 grubunda bulunurken, en yüksek sonuç 32 cm ile kontrol grubunda (%0 PEG 6000 grubu) bulunmuştur.

Şekil 4. 1. gövde boyunun gruplar arası sonuçları (cm bitki^{-1}) olarak göstermektedir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %5 önem düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir.



Şekil 4. 1. Gövde boyunun gruplar arası sonuçları (cm bitki^{-1})

Çizelge 4. 3. kök boyu bağımlı değişkeni için yapılan varyans analizi sonuçlarını göstermektedir. Tablo incelendiğinde P=0,000<α=0,001 olduğu görülmektedir. Bu durumda grupların ortalamaları arasında %0.1'lik önem seviyesinde anlamlı bir farklılık mevcuttur.

Çizelge 4. 3. Kök boyu sonuçlarının ANOVA test sonucu

Kök Boyu	**ANOVA**				
	Kareler Toplamı	sd	Kareler Ortalaması	F	**P**
Gruplar Arası	1354,927	8	169,366	177,656	**0,000**
Grup İçi	17,160	18	0,953		
Toplam	1372,087	26			

***P<0,001 sd. Serbestlik Derecesi

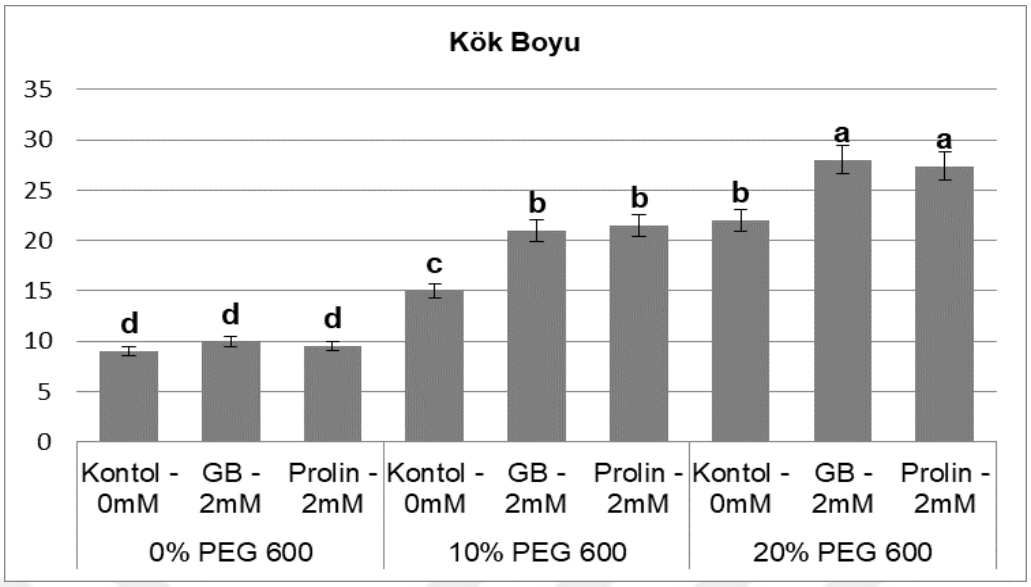
Çizelge 4. 4. Kök boyu sonuçlarının Tukey's test sonucu

Kök Boyu		**Tukey's HSD**		
		Osmolit Dozu		
		Kontol - 0mM	GB - 2mM	Prolin - 2mM
Kuraklık Dozu	0% PEG600	9 ± 0,577^{a}	10 ± 0,577^{a}	9,5 ± 0,289^{a}
	10% PEG600	15 ± 0,577^{b}	21 ± 0,577^{c}	21,5 ± 0,577^{c}
	20% PEG600	22 ± 0,577^{c}	28 ± 0,577^{d}	27,4 ± 0,666^{d}

*P<0,05

Çizelge 4. 4. Kök boyunda anlamlı farklılığa sebep olan grupların hangileri olduğu Tukey's HSD testi ile gösterilmiştir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. En uzun kök boyu %20'lik PEG 6000 grubunda 22 cm olarak bulunurken, en düşük ölçüm 9 cm ile %0 PEG 6000 grubunda elde edilmiştir.

Şekil 4. 2. kök boyunun gruplar arası sonuçları (cm bitki^{-1}) olarak göstermektedir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %5 önem düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir.



Şekil 4. 2. Kök boyunun gruplar arası sonuçları (cm bitki^{-1})

Çizelge 4. 5. gövde yaş ağırlığına bağımlı değişken için yapılan varyans analizi sonuçlarını göstermektedir. Tablo incelendiğinde P=0,000<α=0,001 olduğu görülmektedir. Bu durumda grupların ortalamaları arasında %0.1'lik önem seviyesinde anlamlı bir farklılık mevcuttur.

Çizelge 4. 5. Gövde yaş ağırlık sonuçlarının ANOVA test sonucu

Gövde Yaş Ağırlık	**ANOVA**				
	Kareler Toplamı	sd	Kareler Ortalaması	F	**P**
Gruplar Arası	728,296	8	91,037	79,290	**0,000**
Grup İçi	20,667	18	1,148		
Toplam	748,963	26			

***P<0,001 sd. Serbestlik Derecesi

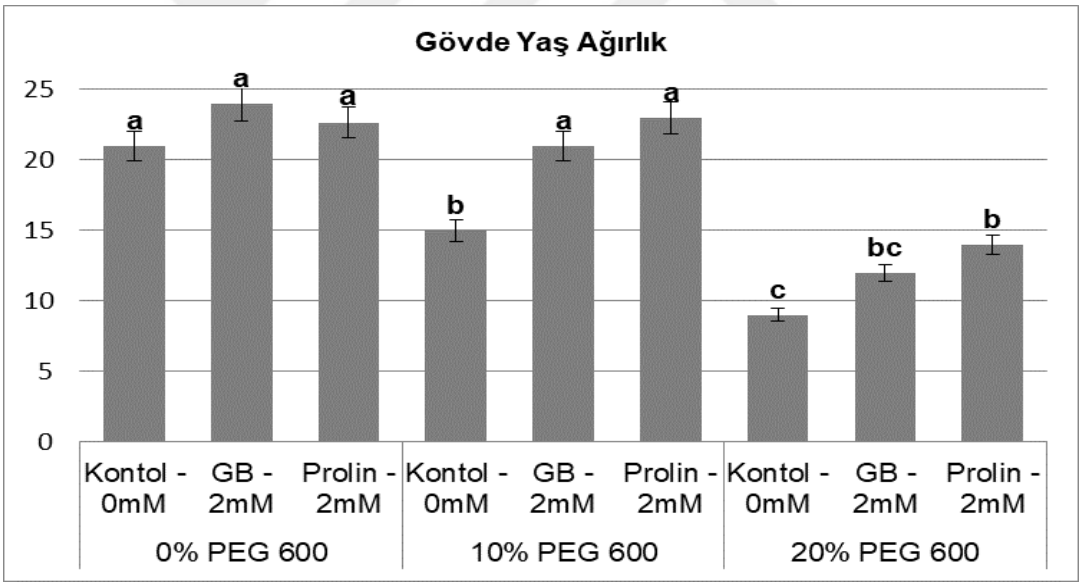
Çizelge 4. 5. anlamlı farklılığa sebep olan grupların hangileri olduğunu gösteren Tukey's HSD testi ile gösterilmiştir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %5 önem düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir.

Çizelge 4. 6. Gövde yaş ağırlık sonuçlarının Tukey's test sonucu

Gövde Yaş Ağırlık		Tukey's HSD		
		Osmolit Dozu		
		Kontol - 0mM	GB - 2mM	Prolin - 2mM
Kuraklık Dozu	0% PEG600	21 ± 0,577[a]	24 ± 0,577[a]	22,67 ± 0,882[a]
	10% PEG600	15 ± 0,577[b]	21 ± 0,577[a]	23 ± 0,577[a]
	20% PEG600	9 ± 0,577[c]	12 ± 0,577[bc]	14 ± 0,577[b]

*P<0,05

Çizelge 4. 6. gövde yaş ağırlık Tukey's HSD sonuçları incelendiğinde 0% PEG 6000 kuraklık dozu düzeyinde kontrol ortalaması ile GB ve Prolin ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir. En düşük değer %20'lik PEG 6000 grubunda 9 g olarak bulunurken, en yüksek değer 21 g ile %0 PEG 6000 grubunda bulunmuştur.



Şekil 4. 3. Gövde yaş ağırlık gruplar arası sonuçları (g bitki^{-1})

Şekil 4. 3. Gövde yaş ağırlık gruplar arası sonuçları (g bitki^{-1}) olarak göstermektedir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %0.5 önem düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir.

Çizelge 4. 7. kök yaş ağırlık bağımlı değişkeni için yapılan varyans analizi sonuçlarını göstermektedir. Tablo incelendiğinde P=0,000<α=0,001 olduğu görülmektedir. Bu durumda grupların ortalamaları arasında %0,1'lik önem seviyesinde anlamlı bir farklılık mevcuttur.

Çizelge 4. 7. Kök yaş ağırlık sonuçlarının ANOVA test sonucu

Kök Yaş Ağırlık	**ANOVA**				
	Kareler Toplamı	sd	Kareler Ortalaması	F	**P**
Gruplar Arası	34,255	8	4,282	1102,101	**0,000**
Grup İçi	0,070	18	0,004		
Toplam	34,325	26			

***P<0,001 sd. Serbestlik Derecesi

Çizelge 4. 7. Kök yaş ağırlık bağımlı değişkeni için yapılan varyans analizi sonuçları incelendiğinde P=0,000<α=0,001 olduğu görülmektedir. Bu durumda grupların ortalamaları arasında %0,1 önem seviyesinde anlamlı bir farklılık mevcuttur.

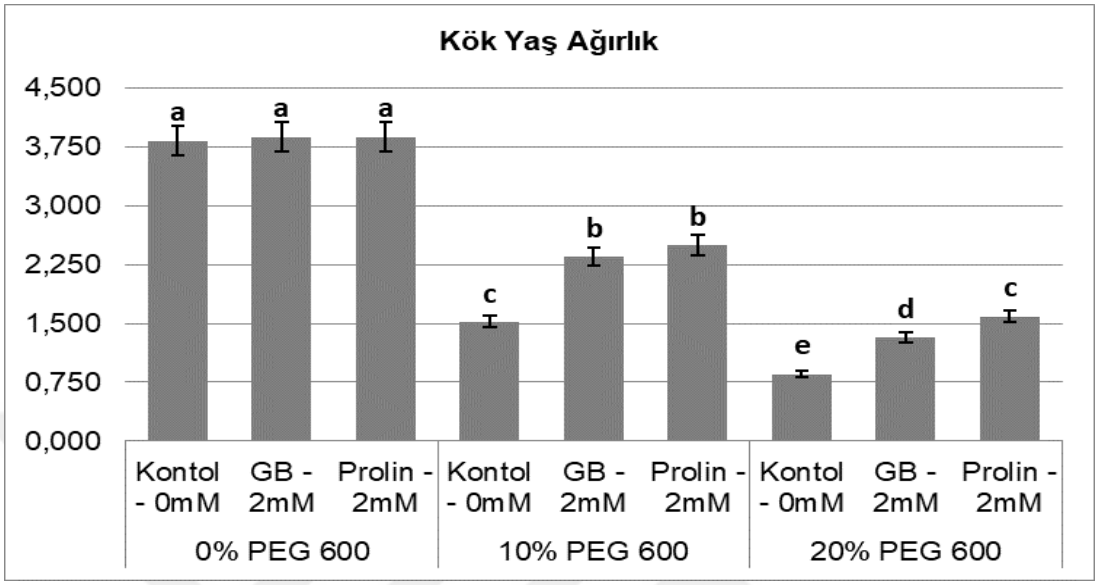
Çizelge 4. 8. Kök yaş ağırlık sonuçlarının Tukey's test sonucu

Kök Yaş Ağırlık		**Tukey's HSD**		
		Osmolit Dozu		
		Kontol - 0mM	GB - 2mM	Prolin - 2mM
Kuraklık Dozu	0% PEG600	3,83 ± 0,012^{a}	3,88 ± 0,012^{a}	3,88 ± 0,012^{a}
	10% PEG600	1,52 ± 0,058^{c}	2,35 ± 0,029^{b}	2,5 ± 0,058^{b}
	20% PEG600	0,853 ± 0,015^{e}	1,323 ± 0,015^{d}	1,59 ± 0,058^{c}

*P<0,05

Çizelge 4. 8. Kök yaş ağırlık incelendiğinde anlamlı farklılığa sebep olan grupların hangileri olduğunu gösteren Tukey's HSD testi ile gösterilmiştir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %0.1 önem düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. En düşük değer 0,853 g

ile %20'lik PEG 6000 grubunda bulunurken, en yüksek değer 3,88 g ile %0 PEG 6000 osmolit grubunda bulunmuştur.



Şekil 4.4. Kök yaş ağırlık gruplar arası sonuçları (g bitki^{-1})

Şekil 4. 4. Kök yaş ağırlık gruplar arası sonuçları (g bitki^{-1}) olarak göstermektedir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %0.5 önem düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir.

Çizelge 4. 9. Gövde kuru ağırlık sonuçlarının ANOVA test sonucu

Gövde Kuru Ağırlık	**ANOVA**				
	Kareler Toplamı	sd	Kareler Ortalaması	F	**P**
Gruplar Arası	13,110	8	1,639	211,402	**0,000**
Grup İçi	0,140	18	0,008		
Toplam	13,250	26			

***P<0,001 sd. Serbestlik Derecesi

Çizelge 4. 9. Gövde kuru ağırlık bağımlı değişkeni için yapılan varyans analizi sonuçları incelendiğinde P=0,000<α=0,001 olduğu görülmektedir. Bu durumda

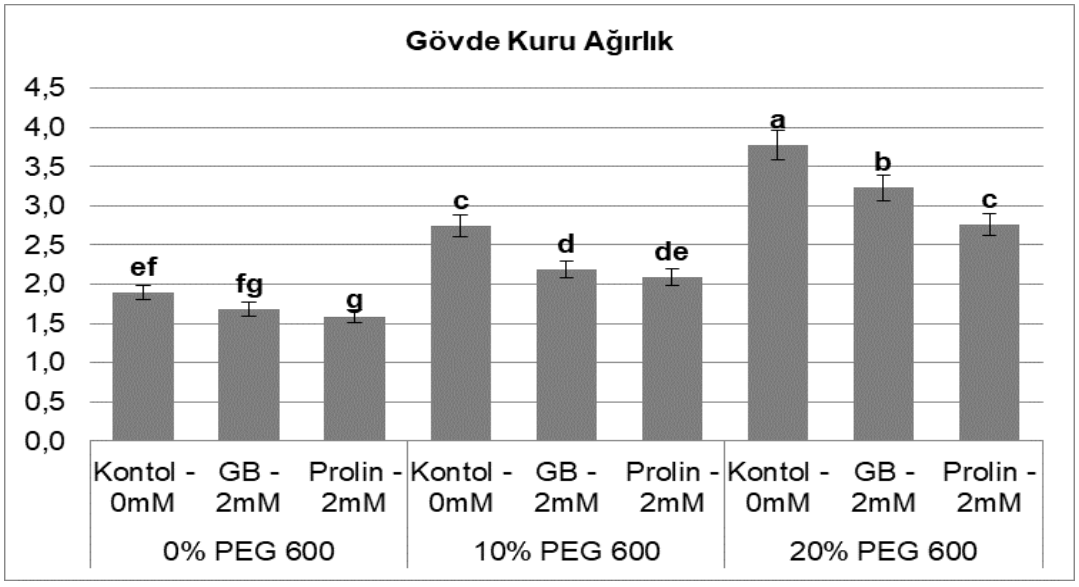
grupların ortalamaları arasında %0,1 önem seviyesinde anlamlı bir farklılık mevcuttur.

Çizelge 4. 10. Gövde kuru ağırlık sonuçlarının Tukey's test sonucu

Gövde Kuru Ağırlık		Tukey's HSD		
		Osmolit Dozu		
		Kontol - 0mM	GB - 2mM	Prolin - 2mM
Kuraklık Dozu	0% PEG600	1,89 ± 0,058^{ef}	1,68 ± 0,058^{fg}	1,59 ± 0,058^{g}
	10% PEG600	2,74 ± 0,058^{c}	2,19 ± 0,058^{d}	2,087 ± 0,037^{de}
	20% PEG600	3,77 ± 0,058^{a}	3,227 ± 0,012^{b}	2,76 ± 0,042^{c}

*P<0,05

Çizelge 4. 10. incelendiğinde anlamlı farklılığa sebep olan grupların hangileri olduğunu gösteren Tukey's HSD testi ile gösterilmiştir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %0.1 önem düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. En düşük değer %0 PEG 6000 prolin osmolit grubunda 1.59 g olarak bulunurken, en yüksek değer 3.77 g ile %20 PEG 6000 grubunda bulunmuştur.



Şekil 4.5. Gövde kuru ağırlık gruplar arası sonuçları (g bitki^{-1})

Şekil 4. 5. Gövde kuru ağırlık gruplar arası sonuçları (g bitki^{-1}) olarak göstermektedir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %0.5 önem düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir.

Çizelge 4. 11. Kök kuru ağırlık sonuçlarının ANOVA test sonucu

Kök Kuru Ağırlık	**ANOVA**				
	Kareler Toplamı	sd	Kareler Ortalaması	F	**P**
Gruplar Arası	1,049	8	0,131	120,391	**0,000**
Grup İçi	0,020	18	0,001		
Toplam	1,068	26			

***P<0,001 sd. Serbestlik Derecesi

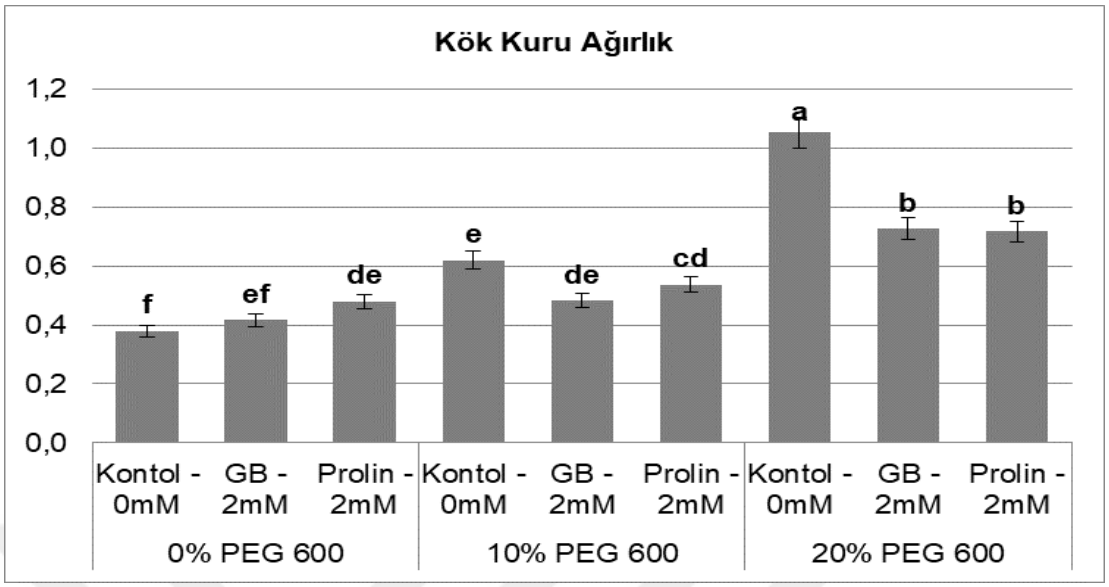
Çizelge 4.11. Kök kuru ağırlık sonuçları için yapılan varyans analizi sonuçları incelendiğinde P=0,000<α=0,001 olduğu görülmektedir. Bu durumda grupların ortalamaları arasında %0,1 önem seviyesinde anlamlı bir farklılık mevcuttur.

Çizelge 4.12. Kök kuru ağırlık sonuçlarında anlamlı farklılığa sebep olan grupların hangileri olduğu Tukey's HSD testi ile gösterilmiştir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %0.5 önem düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. En düşük değer 0,38 g ile %0 PEG 6000 grubunda bulunurken, en yüksek değer 1,053 g ile %20 PEG 6000 grubunda bulunmuştur.

Çizelge 4. 12. Kök kuru ağırlık sonuçlarının Tukey's test sonucu

Kök Kuru Ağırlık		**Tukey's HSD**		
		Osmolit Dozu		
		Kontol - 0mM	GB - 2mM	Prolin - 2mM
Kuraklık Dozu	0% PEG600	0,38 ± 0,012^{f}	0,417 ± 0,012^{ef}	0,48 ± 0,023^{de}
	10% PEG600	0,62 ± 0,012^{e}	0,483 ± 0,020^{de}	0,537 ± 0,018^{cd}
	20% PEG600	1,053 ± 0,037^{a}	0,727 ± 0,012^{b}	0,717 ± 0,009^{b}

*P<0,05



Şekil 4.6. Kök kuru ağırlık gruplar arası sonuçları (g bitki^{-1})

Şekil 4. 6. Kök kuru ağırlık gruplar arası sonuçları (g bitki^{-1}) olarak göstermektedir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %0.5 önem düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir.

Stres, bitkilerin büyüme ve gelişmesini olumsuz yönde etkiler. Bitkilerin ürün miktarını ve kalitesini azaltan temel faktörlerden birisidir. Pamuk bitkisi gibi ekonomik değeri olan bitkiler en çok çevresel stres etmenlerinden etkilenmektedir ve bu etmenlerin başını kuraklık gelmektedir (Araus ve ark., 2002; Reddy ve ark., 2004). Kuraklık, bitki de su noksanlığı durumudur. Kuraklık stresinin etkisiyle sürgün oluşumu, gövde gelişimi kök gelişmesinden daha fazla gerilediği bildirilmiştir (Pace ve ark., 1999). Pamuk bitkisinin gelişme döneminde kuraklık ile karşılaştığı zaman büyümenin gerilediği ve bitki boylarında uzamasının yavaşladığı belirlenmiştir (Wrona, 2000).

Çalışmamızda bitkiler kuraklık stresinden etkilenmeye başladıkları zaman yapraklarında solma, yaprakların genel ağırlıklarında düşüş olduğu görülmüştür. Kuraklık şiddetinin ve etki süresinin sürmesiyle ilk çıkan yapraklarda sararmalar,

nekrozların oluştuğu görülmüştür. Bu yaşlı yaprakların dökülmesi, bazı yapraklarda kuruma ve dökülmenün olması, yaprak renginin giderek açılması, yapraklarda benekler halinde lekeler oluşması gibi durumların gelişmesiyle bitki ölüm aşamasına kadar gelmiştir.

Kuraklık stresine dayanıklılık kazandırmak amacıyla bazı bitkilere dışardan çeşitli ajanlar verilmesiyle ilgili çalışmalar bulunmaktadır (Loutfy ve ark., 2012; Wang ve ark., 2011; Türk ve ark., 2014). Fakat aminoasit kökenli osmolit bileşiklerin bu amaçla kullanıldığı araştırmalar sınırlıdır. Mevcut çalışmada ise glisin betain ve prolinin kuraklık stresinde bazı büyüme parametreleri üzerine etkileri araştırıldığında kuraklık stresinin verdiği hasarı azaltarak iyileştirici etki gösterdiği belirlenmiştir.

Türkan ve ark. (2005), kuraklık oluştuğunda, kuraklığın olumsuz etkilerinden en çok yaprakların etkilendiğini belirtmiş; Costa Franço ve ark. (2000)'de kökün uzaması ve daha çok gelişme göstermesi de kuraklığın etkisinden kaynaklandığını belirtmişlerdir. Sairam ve ark. (1998) ve Türkan ve ark. (2005), PEG kullanarak yetiştirdikleri bitkilerin çoğunluğunda kök, gövde ve sürgünlerin uzunluklarında azalmalar; bitkinin yaş ve kuru ağırlıklarında azalmaların görülmesi; yaprak yüzey alanı ve toplam yaprak adedinde azalmalar; klorofil pigment miktarında ve % Nispi Su İçeriğinde azalmaların olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada kuraklık şiddeti arttıkça **kök ve gövdenin yaş ağırlıkları** bakımından azalmaların olduğu görülmüştür. Dışardan osmolit uygulanmasıyla birlikte kontrol grubuna nazaran kök ve gövdenin yaş ağırlıklarındaki azalmalar, anlamlı derecede artış göstermiştir. Prolin ve glisin betain osmolit uygulaması benzer etki göstermiştir.

Farklı bitkilerde kuraklık stresinin **kök uzaması** üzerindeki etkisi çoğunlukla olumsuz yönde olduğu bildirilmiştir (Sharp ve ark., 1988; Baskin, 1999; Wang ve ark., 2009; Kage, 2004; Kusaka ve ark., 2005). Hint darısı (*Pennisetum glaucum* L.) çeşitli genotiplerinde, kuraklık stresinin uygulanmasının kök boyunu kontrol bitkilerine göre azalttığını rapor etmiştir (Kusaka ve ark., 2005). Bu çalışmada

kuraklık stresinin etkisi arttıkça kök boylarının arttığı görülmüştür. Bunun sebebi kazık kök yapısına sahip olan pamuk bitkisi kök çevresinde az miktarda su bulunmasından dolayı derinlere doğru uzama yaparak su arayışına girmiş olabilir. Kuraklık şiddeti artıkça, pamuk bitkisinin köklerinin boyu artış göstermiştir. Dışardan osmolit uygulanmasıyla birlikte bu artışlarda kontrol gruplarına kıyasla anlamlı derecede düşüş göstermiştir. Osmolit uygulanmasıyla kök içindeki osmatik basınç dengeleyerek, kök uzaması azaltılmış olabilir.

Kuru ağırlık, kurak koşullarda yetişen bitkilerin su noksanlığından ne derece etkilendiğini belirleme de kullanılan önemli parametrelerden bir tanesidir. Kuraklığın ilk ve en belirgin özelliği büyümenin gözle görülür azalmasıdır. Hücre içinde belli ölçülerde sabit tutulan su miktarı azalmaya başlayınca bitkilerde stomaların kapatılma sinyali verilir. Bu sayede CO_2 fiksasyon kapasitesi dengede tutulmaya çalışılır. Bitkinin fotosentez mekanizması da yavaşlar ve fotosentezi önemli ölçüde azaltmak zorunda kalır (Chebab ve ark., 2009). Neticede çoğunlukla azalan ürüne bağlı olarak bitkilerin kuru ağırlıklarında azalma görülür. Bu çalışmada kuraklık stresinin etkisi arttıkça **gövde ve kök kuru** ağırlığında artışların olduğu görülmüştür.

Dışardan kuraklık stresiyle birlikte verilen osmolitlerin uygulanması kuru ağırlıklardaki artışı kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede düşüş göstermiştir. Bunun sebebi gerileyen fotosentez mekanizmasına rağmen çözünmüş karbonhidratların artmış olması ve extra osmotik madde vererek bitkininde depo osmolit madde sentezlemiş olmasından kaynaklanıyor olabilir. Bu durum osmolit uygulanmasıyla birlikte kuraklığın olumsuz etkilerinin kuru ağırlık üzerindeki etkisini iyileştirdiği söylenebilir. Prolin ve glisin betain benzer etki göstermiştir.

4.2. Farklı Kuraklık Seviyelerinde Yetişen Pamuk Bitkisine Dışsal Osmolit Uygulamasının Klorofil a, b ve Karotenoid Üzerinde Etkisi

Çizelge 4. 13. Klorofil A bağımlı değişkeni için yapılan varyans analizi sonuçları incelendiğinde P=0,000<0,001 olduğu görülmektedir. Bu durumda grupların ortalamaları arasında %0,1 önem seviyesinde anlamlı bir farklılık mevcuttur.

Çizelge 4. 13. Klorofil a sonuçlarının ANOVA test sonucu

Klorofil A	ANOVA				
	Kareler Toplamı	sd	Kareler Ortalaması	F	P
Gruplar Arası	33,633	8	4,204	1170,225	**0,000**
Grup İçi	0,065	18	0,004		
Toplam	33,698	26			

***P<0,001 sd. Serbestlik Derecesi

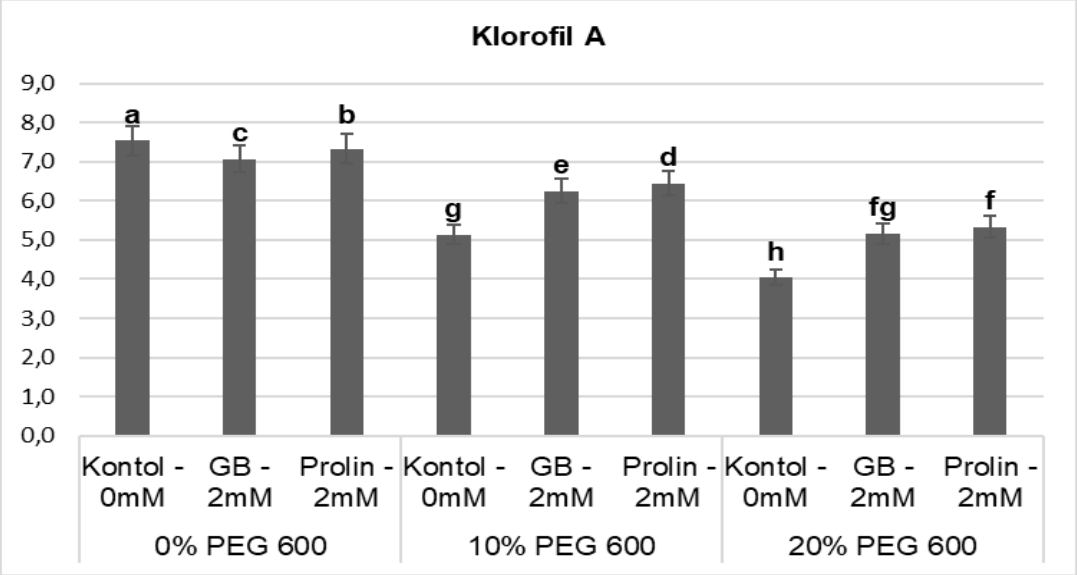
Çizelge 4.13. Klorofil A bağımlı değişkeni için yapılan varyans analizi sonuçları incelendiğinde P=0,000<0,001 olduğu görülmektedir. Bu durumda grupların ortalamaları arasında %0,1 önem seviyesinde anlamlı bir farklılık mevcuttur.

Çizelge 4. 14. Klorofil a sonuçlarının Tukey's HSD test sonucu

Klorofil A		Tukey's HSD		
		Osmolit Dozu		
		Kontol - 0mM	GB - 2mM	Prolin - 2mM
Kuraklık Dozu	0% PEG600	7,54 ± 0,023^{a}	7,073 ± 0,029^{c}	7,33 ± 0,058^{b}
	10% PEG600	5,14 ± 0,026^{g}	6,25 ± 0,023^{e}	6,45 ± 0,012^{d}
	20% PEG600	4,05 ± 0,023^{h}	5,17 ± 0,029^{fg}	5,34 ± 0,058^{f}

*P<0,05

Çizelge 4. 14. klorofil a bağımlı değişkeni için anlamlı farklılığa sebep olan grupların hangileri olduğu Tukey's HSD testi ile gösterilmiştir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %0.1 önem düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. En düşük değer, 4.05 µg g^{-1} %20'lik kuraklık grubunda bulunurken, en yüksek değer 7.54 µg g^{-1} ile %0 PEG 6000 grubunda bulunmuştur.



Şekil 4. 7. Klorofil a bağımlı değişkenin gruplar arası sonuçları (µg g^{-1} $bitki^{-1}$).

Şekil 4. 7. Klorofil a bağımlı değişkeni için gruplar arası sonuçları (µg g^{-1} $bitki^{-1}$) olarak göstermektedir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %0.5 önem düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir.

Çizelge 4.15. klorofil b bağımlı değişkeni için yapılan varyans analizi sonuçları incelendiğinde P=0,000<α=0,001 olduğu görülmektedir. Bu durumda grupların ortalamaları arasında %0,1 önem seviyesinde anlamlı bir farklılık mevcuttur.

Çizelge 4. 15. Klorofil b sonuçlarının ANOVA test sonucu

Klorofil B	**ANOVA**				
	Kareler Toplamı	sd	Kareler Ortalaması	F	**P**
Gruplar Arası	25,53	8	3,191	694,865	**0,000**
Grup İçi	0,083	18	0,005		
Toplam	25,613	26			

***P<0,001 sd. Serbestlik Derecesi

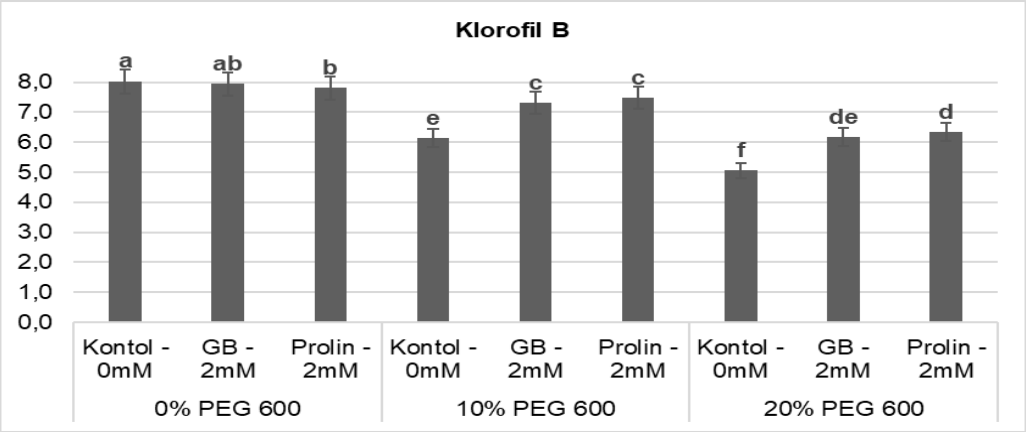
Çizelge 4. 16. Klorofil b bağımlı değişkeninde anlamlı farklılığa sebep olan grupların hangileri olduğu Tukey's HSD testi ile gösterilmiştir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir

farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %0.1 önem düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. En düşük değer 5,05 µg g^{-1} ile %20 PEG 6000 grubunda bulunurken, en yüksek değer 8,03 µg g^{-1} ile %0 PEG 6000 grubunda bulunmuştur.

Çizelge 4. 16. Klorofil b sonuçlarının Tukey's HSD test sonucu

Klorofil B		Tukey's HSD		
		Osmolit Dozu		
		Kontol - 0mM	GB - 2mM	Prolin - 2mM
Kuraklık Dozu	0% PEG600	8,03 ± 0,012[a]	7,937 ± 0,032[ab]	7,8 ± 0,058[b]
	10% PEG600	6,14 ± 0,021[e]	7,31 ± 0,058[c]	7,48 ± 0,029[c]
	20% PEG600	5,05 ± 0,023[f]	6,17 ± 0,029[de]	6,34 ± 0,058[d]

*P<0,05



Şekil 4. 8. Klorofil b bağımlı değişkenin gruplar arası sonuçları (µg g^{-1}).

Şekil 4. 8. Klorofil b bağımlı değişkenin gruplar arası sonuçları olarak göstermektedir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %0.5 önem düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir.

Çizelge 4. 17. Karotenoid bağımlı değişkeni için yapılan varyans analizi sonuçları incelendiğinde P=0,000<α=0,001 olduğu görülmektedir. Bu durumda

grupların ortalamaları arasında %0,1 önem seviyesinde anlamlı bir farklılık mevcuttur.

Çizelge 4.17. Karotenoid sonuçlarının ANOVA test sonucu

Karotenoid	**ANOVA**				
	Kareler Toplamı	sd	Kareler Ortalaması	F	**P**
Gruplar Arası	4,562	8	0,57	106,69	**0,000**
Grup İçi	0,096	18	0,005		
Toplam	4,658	26			

***P<0,001 sd. Serbestlik Derecesi

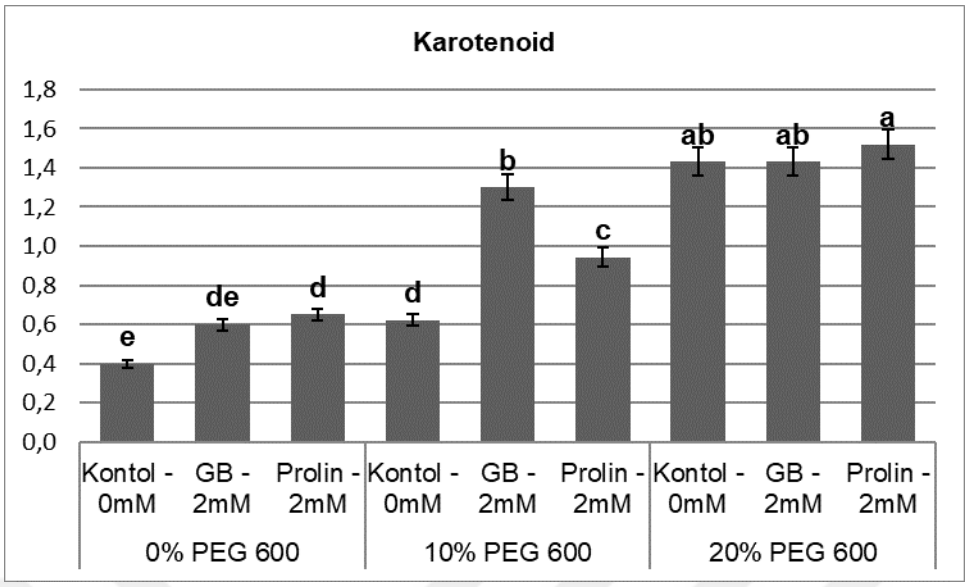
Çizelge 4. 18. Karotenoid sonuçlarının Tukey's HSD test sonucu

Karotenoid		**Tukey's HSD**		
		Osmolit Dozu		
		Kontol - 0mM	GB - 2mM	Prolin - 2mM
Kuraklık Dozu	0% PEG600	0,397 ± 0,038^{e}	0,6 ± 0,015^{de}	0,65 ± 0,029^{d}
	10% PEG600	0,623 ± 0,012^{d}	1,3 ± 0,058^{b}	0,943 ± 0,009^{c}
	20% PEG600	1,43 ± 0,058^{ab}	1,43 ± 0,058^{ab}	1,52 ± 0,058^{a}

*P<0,05

Çizelge 4.18. Karotenoid sonuçlarında anlamlı farklılık oluşturan grupların hangileri olduğu Tukey's HSD testi ile gösterilmiştir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %0.1 önem düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. En düşük değer 0,397 μg g^{-1} ile %0 PEG 6000 grubunda bulunurken, en yüksek değer 1,52 μg g^{-1} olarak %20 PEG 6000 prolin 2 mM grubunda bulunmuştur.

Şekil 4. 9. Karotenoide bağımlı değişkenin gruplar arası sonuçları olarak göstermektedir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %0.5 önem düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir.



Şekil 4.9. Karotenoid bağımlı değişkenin gruplar arası sonuçları (μg g^{-1}).

Fotosentez mekanizması kuraklık stresinin oluşturduğu oksidatif stres çeşidinden oldukça etkilenmektedir. Foto oksidasyona bağlı olarak fotosentezin verimi düşer, klorofil pigment kayıpları başlar (Kato ve Shimizu, 1985; Fu ve Huang, 2001). Bu kjayıplarının temeli oluşan reaktif türlerinin kloroplast, mitokondri gibi organellerinin elektron transport sistemini bozarak fotosentez aygıtını ve bileşimlerinin çalışma yapısını bozar. Özellikle stres faktörlerinin olumsuz etkilerini görebilmek için araştırmacılar çoğunlukla bitkinin hayati metabolik yollardan biri olan fotosentez mekanizmasını araştırırlar (Almas, 2016)

Kuraklık stresi azalan su miktarına bağlı olarak stomalarını kapatır ve hücre içi CO2 miktarının azalmasına sebep olur. Bu basınç ve elektron kaybı fotosentez mekanizmasında fotoinhibisyon ve fotooksidasyon gibi olayları aktifleştirerek, klorofil moleküllerinin parçalanmasına yol açmaktadır (Flexas ve Medrano, 2002; Zhang ve ark., 2014). Ayrıca kuraklık stresi klorofil sentezinin yavaşlamasına ve yapraklarda bulunan total klorofil miktarının azalmasına sebep olduğu bildirilmiştir (Ramanjulu ve ark., 1998; Singer ve ark., 2003). Kuraklık stresinin olumsuz etkilerini farklı bitki türlerinde de fotosentetik pigment miktarını azalttığına dair birçok çalışma bulunmaktadır (Thimmanaik ve ark., 2002; Parida ve ark., 2007; Guerfel ve ark., 2009; Nikolaeva ve ark., 2010).

Yapraklarda bulunan fotosentetik pigment içerikleri, pigmentlerin sentezlenme ve parçalanma hızları arasında bulunan dengeye bağlıdır. Yapılan bazı çalışmalarda kuraklık stresinin oluşturduğu reaktif oksijen türleri, 5-aminolevülinik asit sentaz gibi klorofil sentezinden sorumlu reaksiyonları katabolize eden enzimlerin aktivitesini artırır. (Blokhina ve ark., 2003). Hem de klorofillaz gibi klorofil moleküllerinin degrede eden reaksiyonları katalizleyen enzimlerin aktivitesini artırdığı belirlenmiştir (Hsiao, 1973). Çalışmamızda pamuk bitkisinin kuraklık stresi arttıkça kontrol gruplarına göre klorofil a ve b miktarlarının azaldığı görülmüştür. Buna göre kuraklık stresi uygulanan pamuk bitkilerinin yapraklarındaki pigment metabolizmasının bozulduğu söylenebilir. Bu kuraklık gruplarına osmolit uygulanması ile stres gruplarının kontrol grubuna göre klorofil a ve b içerikleri anlamlı ölçüde arttırmıştır. Bu da bize osmolit uygulamasının fotosentetik pigment kaybını azalttığını hatta onarmış olabileceğini düşündürmektedir. Glisin betain ve prolin grupları arasında benzer etki görülmüştür.

Karotenoidler ise enzimatik olmayan antioksidan mekanizma sistemlerinden biridir. Bitkileri fotooksidasyondan korurken aynı zamanda kuraklık stresinin etkisiyle oluşmuş reaktif oksijen türlerine karşı süpürücü bir rol alan bileşiktir. Karotenoidler özellikle fotosentez reaksiyonu sırasında oluşan 1O2 ve diğer zararlı serbest radikalleri süpürerek, hücreyi bu zararlı etkiden korur (Collins, 2001; Sieferman-Harms, 1987; Halliwell ve Gutteridge, 1998). Bu çalışmada artan kuraklıkla birlikte karotenoidlerin oranı önemli ölçüde artış göstermiştir. Bu artışın nedeni karotenoidlerin kuraklık stresindeki bitkiyi ROS'ların artışından korumak olabilir. Orta şiddetteki kuraklık uygulaması (%10 PEG 6000) ile beraber osmolit uygulanmasıyla karotenoiddeki bu artışın kontrol gruplarına göre azalttığını göstermiştir. Ancak şiddetli kuraklık uygulamasında (%20 PEG 6000) artan reaktif türlerine karşı osmolitin etkisi yetersiz kalmış olabilir. Bu durum bize artan kuraklık şiddetine bağlı olarak ROS'un azalması için osmolit dozu arttıralabilir. Orta şiddetteki kuraklık uygulamasına osmolit uygulanması karotenoid miktarınında azaltmış olabileceğini ve hücre içi karotenoid mekanizmasının normalleşmesinde etkili olduğunu düşündürmektedir.

4.3. Farklı Kuraklık Seviyelerinde Yetişen Pamuk Bitkisine Dışsal Osmolit Uygulamasının Total Çözünmüş Karbonhidrat (KH) Üzerine Etkisi

Çizelge 4. 19. Total çözünmüş karbonhidrat sonuçlarının ANOVA test sonucu

Total KH	**ANOVA**				
	Kareler Toplamı	sd	Kareler Ortalaması	F	**P**
Gruplar Arası	447,88	8	55,985	1796,522	**0,000**
Grup İçi	0,561	18	0,031		
Toplam	448,44	26			

***P<0,001 sd. Serbestlik Derecesi

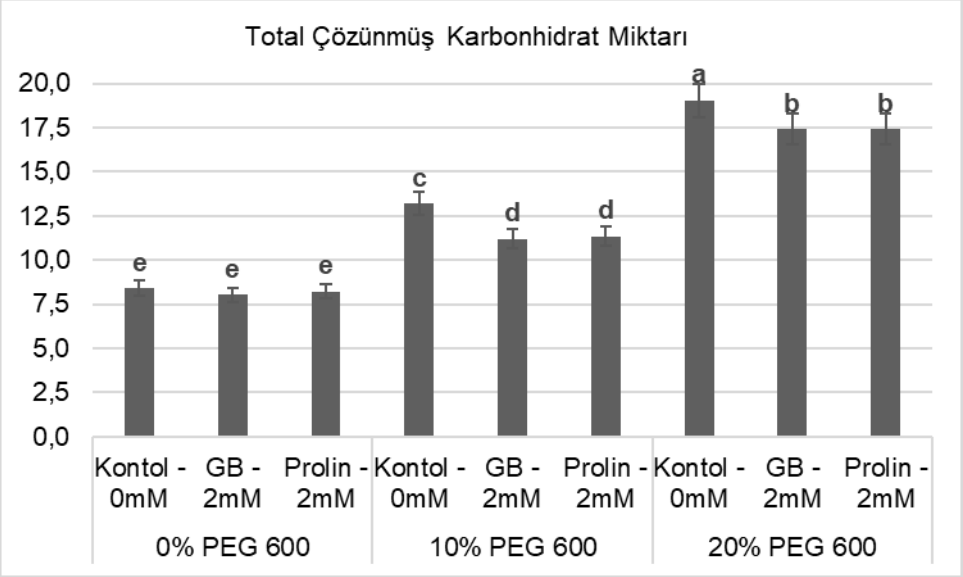
Çizelge 4. 19. Total karbonhidrat miktarına bağımlı değişkeni için yapılan varyans analizi sonuçları incelendiğinde P=0,000<α=0,001 olduğu görülmektedir. Bu durumda grupların ortalamaları arasında %0,1 önem seviyesinde anlamlı bir farklılık mevcuttur.

Çizelge 4.20. Total çözünmüş karbonhidrat sonuçlarının Tukey's HSD test sonucu

Total KH		**Tukey's HSD**		
		Osmolit Dozu		
		Kontol - 0mM	GB - 2mM	Prolin - 2mM
Kuraklık Dozu	0% PEG600	8,41 ± 0,203^{e}	8,04 ± 0,078^{e}	8,227 ± 0,038^{e}
	10% PEG600	13,2 ± 0,101^{c}	11,203 ± 0,024^{d}	11,353 ± 0,070^{d}
	20% PEG600	19,053 ± 0,135^{a}	17,433 ± 0,088^{b}	17,4 ± 0,058^{b}

*P<0,05

Çizelge 4.20 incelendiğinde anlamlı farklılığa sebep olan grupların hangileri olduğunu gösteren Tukey's HSD testi ile gösterilmiştir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %0.1 önem düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. 0% PEG6000 düzeyinde kontrol ortalaması ile GB ve Prolin ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir. En düşük değer 8.04 mg ml^{-1} olarak %0 PEG 6000 2 mM GB grubunda bulunurken, en yüksek değer 19,053 mg ml^{-1} ile %20'lik PEG 6000 grubunda bulunmuştur.



Şekil 4.10. Total çözünmüş kh miktarının gruplar arası sonuçları (mg ml^{-1})

Şekil 4. 10. Total çözünmüş karbonhidrat miktarını gruplar arası sonuçları olarak göstermektedir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %0.5 önem düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir.

Kuraklık stresine bağlı olarak stoma hareketleri kısıtlanan pamuk bitkisinin fotosentez mekanizmasında azalmalar, klorofil pigmentlerinde azalmalar gerçekleşir (Parida ve ark., 2007). Yavaşlayan ve bozulan fotosentez mekanizmasının ürünü olan karhonhidratta da bozulma ve miktarında azalma gerçekleşir (Lawlor, 1995; Pelleschi ve ark., 1997; Kim ve ark., 2000). Kerepesi ve Galiba (2000), fotosentez ve solunum gibi bitki için hayati önem arz eden olaylar karbonhidrat metabolizmasını da etkilemektedir.

Farklı bitkilerde farklı kuraklık seviyelerinde yetiştirilen bitkilerde çoğunlukla toplam çözünür karbonhidrat miktarının arttığı görülmüştür (Kerepesi ve Galiba, 2000; Kim ve ark., 2000; Sanchez ve ark., 2004)

Çalışmamızda da benzer sonuç elde edilmiştir. Kuraklık stresi arttıkça çözünür karbonhidrat miktarının arttırdığı görülmektedir. Bu durum bize pamuk bitkisinin

yavaşlayan karbonhidrat sentezine karşı daha çok karbonhidrat tükettiğini düşündürmektedir. Osmolit uygulanmasıyla birlikte kuraklık gruplarında kontrol gruplarına göre toplam karbonhidrat miktarında azalma olmuştur. Bu durumda bitkinin karbonhidratı kullanma da daha etkin rol oynadığını düşündürmektedir. GB ve prolin benzer etki göstermiştir.

4.4. Farklı Kuraklık Seviyelerinde Yetişen Pamuk Bitkisine Dışsal Osmolit Uygulamasının Total Fenol, Antosiyanin ve Flavonoid Üzerine Etkisi

Çizelge 4. 21. Total fenol sonuçlarının ANOVA test sonucu

Total Fenol	**ANOVA**				
	Kareler Toplamı	sd	Kareler Ortalaması	F	**P**
Gruplar Arası	749,842	8	93,73	93,73	**0,000**
Grup İçi	18	18	1		
Toplam	767,842	26			

***P<0,001 sd. Serbestlik Derecesi

Çizelge 4.21. Total fenol bağımlı değişkeni için yapılan varyans analizi sonuçları incelendiğinde, P=0,000<α=0,001 olduğu görülmektedir. Bu durumda grupların ortalamaları arasında %0,1 önem seviyesinde anlamlı bir farklılık mevcuttur.

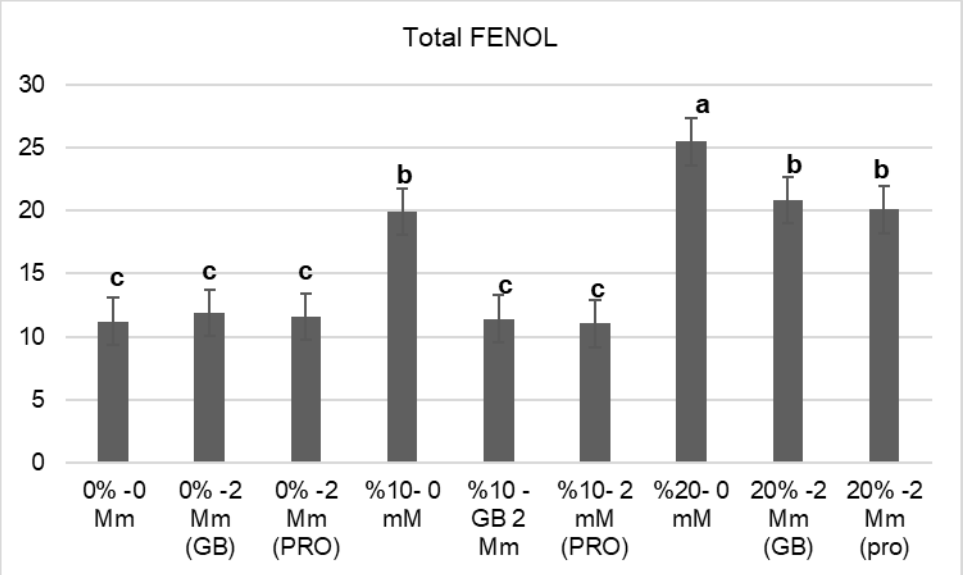
Çizelge 4. 22. Total fenol sonuçlarının Tukey's HSD test sonucu

Total Fenol		**Tukey's HSD**		
		Osmolit Dozu		
		Kontol - 0mM	GB - 2mM	Prolin - 2mM
Kuraklık Dozu	0% PEG600	11,2 ± 0,577^{c}	11,89 ± 0,577^{c}	11,57 ± 0,577^{c}
	10% PEG600	11,43 ± 0,577^{c}	19,92 ± 0,577^{b}	11,03 ± 0,577^{c}
	20% PEG600	20,82 ± 0,577^{b}	25,47 ± 0,577^{a}	20,07 ± 0,577^{b}

*P<0,05

Çizelge 4.22. Total fenol içeriğinde anlamlı farklılığa sebep olan grupların hangileri olduğu Tukey's HSD testi ile gösterilmiştir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %0.1 önem düzeyinde

anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. En düşük değer 11.2 mg ml^{-1} ile %0 PEG 6000 grubunda bulunurken, en yüksek değer 25.47 mg ml^{-1} %20 PEG 6000 grubunda bulunmuştur.



Şekil 4.11. Total fenol miktarının gruplar arası sonuçları (mg ml^{-1})

Çizelge 4. 23. Total antosiyanin sonuçlarının ANOVA test sonucu

Total Anthocynanin	**ANOVA**				
	Kareler Toplamı	sd	Kareler Ortalaması	F	**P**
Gruplar Arası	1,096	8	0,137	34,637	**0,000**
Grup İçi	0,071	18	0,004		
Toplam	1,167	26			

***P<0,001 sd. Serbestlik Derecesi

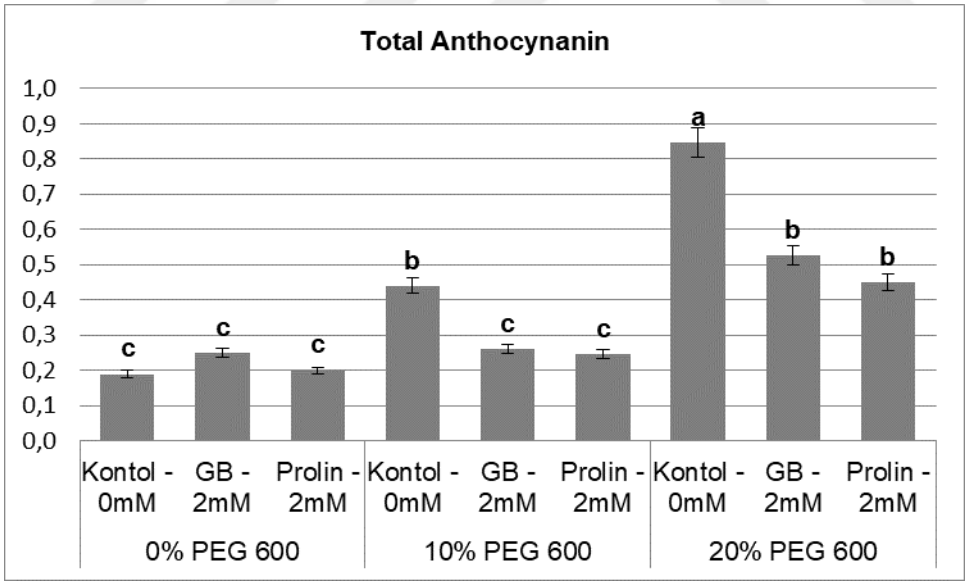
Çizelge 4. 23. Total Anthocynanin bağımlı değişkeni için yapılan varyans analizi sonuçları incelendiğinde P=0,000<α=0,001 olduğu görülmektedir. Bu durumda grupların ortalamaları arasında %0,1 önem seviyesinde anlamlı bir farklılık mevcuttur.

Çizelge 4. 24. Total antosiyanin sonuçlarının Tukey's HSD test sonucu

Total Anthocynanin		Tukey's HSD		
		Osmolit Dozu		
		Kontol - 0mM	GB - 2mM	Prolin - 2mM
Kuraklık Dozu	0% PEG600	0,19 ± 0,058^{c}	0,25 ± 0,029^{c}	0,2 ± 0,058^{c}
	10% PEG600	0,44 ± 0,023^{b}	0,26 ± 0,035^{c}	0,247 ± 0,032^{c}
	20% PEG600	0,847 ± 0,024^{a}	0,527 ± 0,015^{b}	0,45 ± 0,029^{b}

*P<0,05

Çizelge 4. 24. Total antosiyaninde anlamlı farklılığa sebep olan grupların hangileri olduğu Tukey's HSD testi ile gösterilmiştir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %0.1 önem düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. En düşük değer 0.19 mg ml^{-1} ile %0 PEG 6000 grubunda bulunurken, en yüksek değer 0.847 mg ml^{-1} %20 PEG 6000 grubunda bulunmuştur.



Şekil 4.12. Total antosiyanin miktarının gruplar arası sonuçları.

Şekil 4. 12. Total antosiyanin miktarının gruplar arası sonuçları olarak göstermektedir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup

ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %0.5 önem düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir.

Çizelge 4. 25. Total flavonoid sonuçlarının ANOVA test sonucu

Total Flavonoid	**ANOVA**				
	Kareler Toplamı	sd	Kareler Ortalaması	F	**P**
Gruplar Arası	1067,57	8	133,446	268,162	**0,000**
Grup İçi	8,957	18	0,498		
Toplam	1076,528	26			

***P<0,001 sd. Serbestlik Derecesi

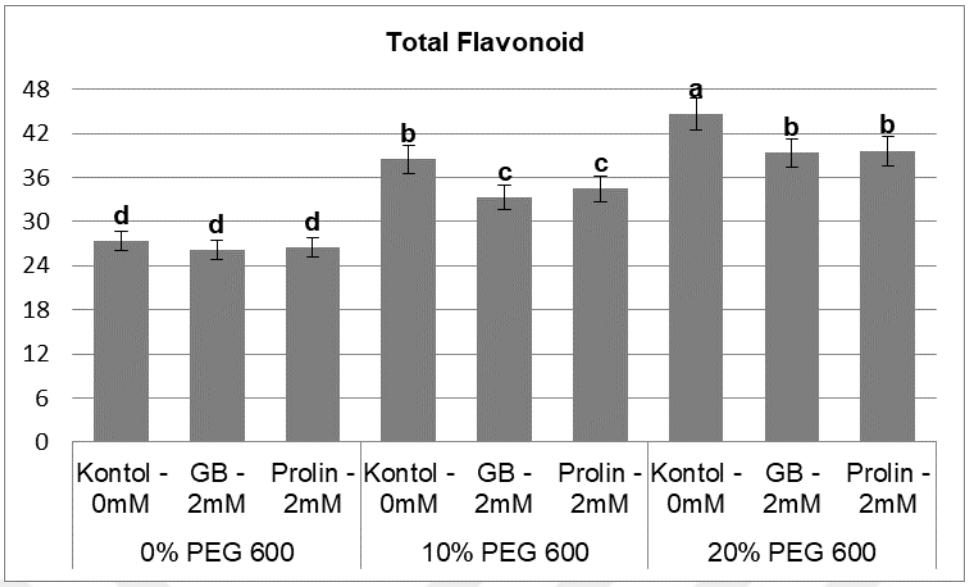
Çizelge 4. 25. Total flavonoid bağımlı değişkeni için yapılan varyans analizi sonuçları incelendiğinde P=0,000<α=0,001 olduğu görülmektedir. Bu durumda grupların ortalamaları arasında %0,1 önem seviyesinde anlamlı bir farklılık mevcuttur.

Çizelge 4. 26. Total flavonoid sonuçlarının Tukey's HSD test sonucu

Total Flavonoid		**Tukey's HSD**		
		Osmolit Dozu		
		Kontol - 0mM	GB - 2mM	Prolin - 2mM
Kuraklık Dozu	0% PEG600	27,353 ± 0,338^{d}	26,07 ± 0,598^{d}	26,52 ± 0,199^{d}
	10% PEG600	38,517 ± 0,536^{b}	33,277 ± 0,090^{c}	34,507 ± 0,058^{c}
	20% PEG600	44,617 ± 0,401^{a}	39,367 ± 0,187^{b}	39,64 ± 0,698^{b}

*P<0,05

Çizelge 4. 26. anlamlı farklılığa sebep olan grupların hangileri Tukey's HSD testi ile gösterilmiştir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %0.1 önem düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. En düşük değer 27.353 %0 PEG 6000 grubunda bulunurken, en yüksek değer 44.617 %20 PEG 6000 grubunda bulunmuştur.



Şekil 4. 13. Total flavonoid miktarının gruplar arası sonuçları.

Şekil 4. 13. Total flavonoid gruplar arası sonuçları olarak göstermektedir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %0.5 önem düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir.

Bitkiler çeşitli stres faktörlerine karşı dokularında çeşitli sekonder metabolitlerin biriktirmesi hayatta kalabilmek adına önem arz etmektedir (Wiseman ve Halliwell, 1996). Bitkilerin stres faktörlerine yanıt olarak dokularında fenolik bileşik türevleri, antosiyanin ve flavonoid türevleri, tokoferoller ve askorbik asit gibi enzimatik olmayan antioksidanları hücre içinde biriktirmesi, bitkilerin olumsuz stres durumlarına karşı yanıt olarak geliştirdiği bir savunma mekanizması olarak tanımlanmaktadır (Hernandeez, 2004; Keleş ve Öncel, 2002; Munne-Bosch, 2005; Rodriguez ve ark., 2010).

Fenolik bileşikler, aromatik bileşikler grubundan olup, yapısında çeşitli miktarlarda hidroksil (OH) grubu taşıyan organik moleküllerdir (Dixon ve Paiva, 1995). Bu maddelerin sentez hızı ve miktarı stres koşulların şiddetine göre değişiklik göstermektedir. Bu maddelerin varlığı reaktif oksijen türlerine karşı antioksidan görevi üstlenmektedir (Grace ve Logan, 2000). Fenolik madde ve türevleri

yapılarında bulundurdukları hidroksil grubu sayesinde ROT'leri inaktive etme yeteneğine sahiptirler. Bunu hidroksil gruplarında yer alan hidrojen atomlarını ROT'lere vererek kararlı yapıda bulunan fenoksil radikallerini meydana getirirler (Bowler, 1992). Oksidasyon sonucu H_2O_2'i hücre içinden uzaklaştırmak için guaiakol peroksidazlara (GPX) elektron donörü olarak rol alır (Nakano ve Asada, 1981). Böylece antioksidan görevi görürler.

Kuraklık stresinde yetiştirilen farklı bitkilerde yapılan çalışmalar bitkiden bitkiye farklılık göstermiştir. Domates (Rodriguez, 2010), *Vitis vinifera* (Esteban ve ark., 2001; Deluc ve ark., 2009) ve *Hypericum brasiliense* (De Abreu ve Mazzafera, 2005) bitkilerinde toplam fenolik madde miktarlarının arttığı, *Camellia sinensis* (Cheruiyot ve ark., 2007) bitkisinde azaldığı, *Brassica oleracea* (Robbins ve ark., 2005) ve *Olea europea* (Palese ve ark., 2010) bitkilerinde ise toplam fenolik madde miktarlarında değişiklik görülmemiştir.

Bitkiler çoğunlukla stres ile karşılaştıklarında hücre içinde artan ROT miktarının etkisini azaltmak ve inaktive etmek amacıyla antioksidan maddeleri sentezlerler. Bu çalışmada kuraklık stresi uygulamasıyla birlikte bitkilerde antioksidan rolü olan fenolik madde, total antosiyanin ve flavonoidlerin miktarını artırmıştır. Kuraklık uygulamasıyla beraber osmolit uygulandığında ise bu oranların kontrol gruplarına göre düştüğü görülmüştür. Antioksidan mekanizmasınında kuraklık stresinin etkisiyle artan oranın osmolit uygulamasıyla düşmesi bize bitkinin stresin olumsuz etkisini azaltabildiğini düşündürmektedir. Prolin ve GB benzer etki göstermiştir.

4.5. Farklı Kuraklık Seviyelerinde Yetişen Pamuk Bitkisine Dışsal Osmolit Uygulamasının Total Çözünmüş Protein Üzerine Etkisi

Çizelge 4. 27. Total Protein bağımlı değişkeni için yapılan varyans analizi sonuçları incelendiğinde $P=0,000<\alpha=0,001$ olduğu görülmektedir. Bu durumda grupların ortalamaları arasında %0,1 önem seviyesinde anlamlı bir farklılık mevcuttur.

Çizelge 4. 27. Total çözünmüş protein sonuçlarının ANOVA test sonucu

Total Protein	**ANOVA**				
	Kareler Toplamı	sd	Kareler Ortalaması	F	**P**
Gruplar Arası	18,238	8	2,28	193,621	**0,000**
Grup İçi	0,212	18	0,012		
Toplam	18,45	26			

***P<0,001 sd. Serbestlik Derecesi

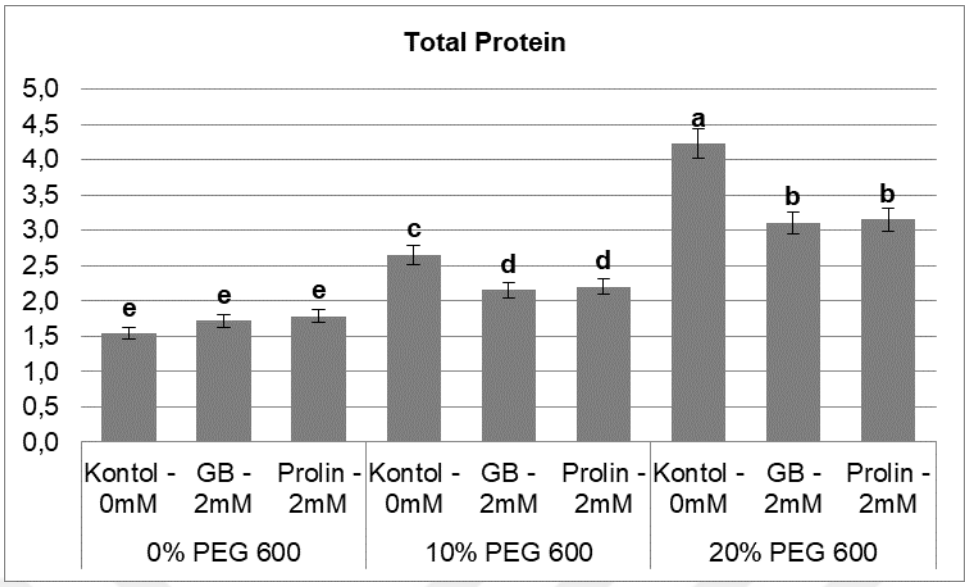
Çizelge 4. 28. Total çözünmüş protein sonuçlarının Tukey's HSD test sonucu

Total Protein		**Tukey's HSD**		
		Osmolit Dozu		
		Kontol - 0mM	GB - 2mM	Prolin - 2mM
Kuraklık Dozu	0% PEG600	1,537 ± 0,047^{e}	1,713 ± 0,061^{e}	1,783 ± 0,018^{e}
	10% PEG600	2,653 ± 0,032^{c}	2,157 ± 0,097^{d}	2,2 ± 0,058^{d}
	20% PEG600	4,23 ± 0,076^{a}	3,11 ± 0,058^{b}	3,15 ± 0,079^{b}

*P<0,05

Çizelge 4. 28. Total çözünmüş protein sonuçlarında anlamlı farklılığa sebep olan grupların hangileri olduğu Tukey's HSD testi ile gösterilmiştir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %0.1 önem düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. En düşük değer 1,537 mg ml^{-1} ile %0 PEG 6000 grubunda bulunurken, en yüksek değer %20 PEG 6000 grubunda bulunmuştur. Ayrıca 0% PEG6000 düzeyinde Kontrol ortalaması ile GB ve Prolin ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir.

Şekil 4. 14. Total çözünmüş protein değişkeninin gruplar arası sonuçları mg ml^{-1} olarak gösterilmektedir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %0.5 önem düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir.



Şekil 4. 14. Total çözünmüş protein miktarının gruplar arası sonuçları (mg ml^{-1})

Kuraklık stresinin olumsuz etkisi suyun azalmasıyla birlikte fotosentez reaksiyonlarından nükleik asit-protein sentezi kadar birçok biyokimyasal ve fizyolojik olayı etkilemektedir (Çırak ve Esendal, 2006). Chartzoulakisa (2002), kuraklık stresinin etkisine bağlı olarak protein sentez hızının azalıp, protein metabolizmasının katabolizasyonun hızlandığını belirlemiştir. RNAaz enziminin aktivitesinin artmasına bağlı olarak nükleik asitlerin parçalanmaya başlayıp, mRNA'nın yapısının bozulduğunu poliribozomların miktarında azalmalar olduğunu bildirmiştir (Chartzoulakisa, 2002).

Çözünür protein miktarı kuraklık stresine bağlı olarak çeşitler hatta türler arasında farklılık göstermektedir. Kuraklık stresiyle yetiştirilmiş bazı bitkilerde çözünür protein içeriği araştırıldığında buğday (Xiaoqin ve ark., 2009) ve fesleğen (Khalid, 2006) bitkilerinde çözünür protein miktarı, stres uygulanmamış kontrol gruplarına göre azalma gösterirmiştir. Ancak buğdayın farklı çeşitlerinde (Altenbach ve ark., 2003; Gooding ve ark., 2003; Rharrabti ve ark., 2003; Öztürk ve Aydin 2004; Guttieri ve ark., 2005; Asseng ve Milroy 2006; Weightman ve ark., 2008; Saint Pierre ve ark., 2008; Flagella ve ark., 2010) ve soya fasülyesi gibi bitkilerde çözünür protein miktarının arttığı görülmüştür.

Parida ve ark. (2007), kuraklık stresine maruz bıraktıkları pamuk (*Gossypium hirsutum* L.) genotiplerinin yapraklarındaki protein miktarında azalma belirlemişlerdir. Shen ve ark. (1997), kuraklık stresi altındaki bazı bitki türlerinin yapraklarında; proteolitik enzim aktivitelerinin artışına bağlı olarak toplam çözünür protein miktarının azaldığını bildirmişlerdir.

Yapılan bazı çalışmalarda kuraklık stresinin etkisiyle bazı proteinlerin indüklenerek, kuraklığa adaptasyon sağlamada önemli rol oynadığı belirlenmiştir (Bray, 1993; Han ve Kermode, 1996; Riccardi ve ark., 1998). Kuraklık stresinin etkisiyle dehidrin protein grubunun sentezi artarak, diğer proteinlerin yapısal bütünlüğünü koruyup, hücre içi pH ve elektriksel dengeyi sağlamada rol oynadığı rapor edilmiştir (Bray, 1993; Close ve ark., 1993).

Çalışmamızda da kuraklık stresi arttıkça kontrol grubuna göre çözünmüş protein miktarında artma görülmüştür. Bu artış bize protein mekanizmasının kuraklık stresinin olumsuz etkilerinin azaltmak amacıyla hücre içinde protein miktarını arttırdığını düşündürmektedir. Kuraklık stresine osmolit uygulanmasıyla beraber kuraklık stres gruplarında kontrol gruplarına nazaran protein miktarında azalma görülmektedir. Bu durum dışardan protein türevli madde verilerek, diğer proteinlerin yapısının bozulmasını engellediğini düşündürmüştür.

4.6. Farklı Kuraklık Seviyelerinde Yetişen Pamuk Bitkisine Dışsal Osmolit Uygulamasının Malondialdehit (MDA)Miktarı Üzerine Etkisi

Çizelge 4. 29. MDA bağımlı değişkeni için yapılan varyans analizi sonuçları incelendiğinde $P=0,000<\alpha=0,001$ olduğu görülmektedir. Bu durumda grupların ortalamaları arasında %0,1 önem seviyesinde anlamlı bir farklılık mevcuttur.

Çizelge 4.29. Malondialdehit sonuçlarının ANOVA test sonucu

MDA	ANOVA				
	Kareler Toplamı	sd	Kareler Ortalaması	F	P
Gruplar Arası	10,583	8	1,323	272,442	**0,000**
Grup İçi	0,087	18	0,005		
Toplam	10,67	26			

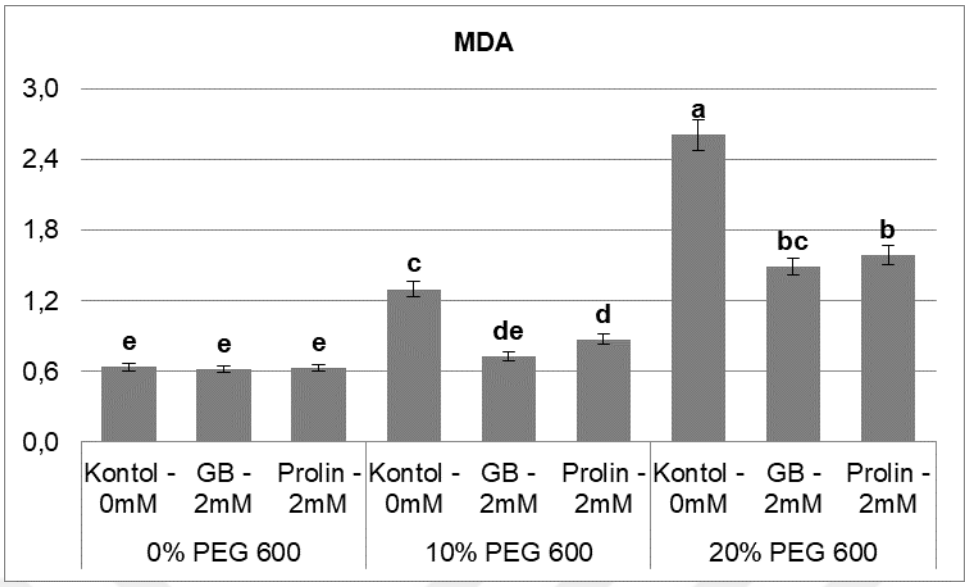
***P<0,001 sd. Serbestlik Derecesi

Çizelge 4. 30. Malondialdehit sonuçlarının Tukey's HSD test sonucu

MDA		Tukey's HSD		
		Osmolit Dozu		
		Kontol - 0mM	GB - 2mM	Prolin - 2mM
Kuraklık Dozu	0% PEG600	0,64 ± 0,023^{e}	0,62 ± 0,012^{e}	0,63 ± 0,017^{e}
	10% PEG600	1,3 ± 0,058^{c}	0,73 ± 0,015^{de}	0,87 ± 0,006^{d}
	20% PEG600	2,61 ± 0,058^{a}	1,49 ± 0,058^{bc}	1,59 ± 0,058^{b}

*P<0,05

Çizelge 4. 30. Malondialdehit sonuçlarında anlamlı farklılığa sebep olan grupların hangileri olduğu Tukey's HSD testi ile gösterilmiştir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %0.1 önem düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. En düşük değer 0,62 ile %0 PEG 6000 grubunda bulunurken, en yüksek değer 2,61 ile %20 PEG 6000 grubunda bulunmuştur. MDA Tukey's HSDsonuçları incelendiğinde 0% PEG600 düzeyinde Kontrol ortalaması ile GB ve Prolin ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir.



Şekil 4. 15. MDA miktarlarının gruplar arası sonuçları

Şekil 4. 15. MDA miktarlarının gruplar arası sonuçları olarak göstermektedir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %0.5 önem düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir.

Bitkilerde kuraklığa karşı tolerans sağlamanın temel unsurlardan biri de hücre zarlarının geçirgenliğini ve kararlılığının korunmasıdır (Baji ve ark., 2002). Kuraklık stresinin etkisiyle hücre içinde tekil oksijen, süperoksit radikali ve hidroksil radikali gibi bazı ROT'lerin oluşumu ile hidrojen peroksit gibi toksik bileşiklerin oluşması sonucunda oksidatif strese meydana gelir (Valentovič ve ark., 2006). Hücre içinde anabolik ve katabolik reaksiyonlarının temelini elektron transferine dayanmaktadır. Bu durum sürekli olarak reaktif oksijen türlerinin oluşması demektir (Demiral, 2003). Hücre içinde oluşan bu reaktif oksijen türlerinin ilk hedefi hücre membranlarıdır. Hücre membranlarının oksidasyonu sonucu malondialdehit adı verilen bir madde oluşur. Bu olaya lipit peroksidasyonu denmektedir. Bu maadenin artması hücre için oksidatif stresin arttığı, hücre zarının geçirgenliğinin bozulduğuna işarettir, geçirgenliğinin bozulmasıyla bazı maddelerin geçişi olur (Blokhina ve ark., 2003).

MDA miktarının artması ve hücrenin elektriksel iletkenlik değerlerinin değişmesi, elektrolit sızıntısı gibi değişimler hücresel zarların yapısında oluşan hasarın şiddeti hakkında bize bazı bilgiler vermektedir. Kuraklık stresi uygulanan bitkilerde lipit peroksidasyonu sonucu MDA birikiminin gerçekleştiğini gösteren birçok çalışma yapılmıştır (Türkan ve Demiral, 2004; Güneş ve ark., 2008; Sairam ve ark., 1997; Sairam ve Saxena, 2000; Sairam ve ark., 2001 Selote ve ark., 2004; Fazeli ve ark., 2007; Rodriguez ve ark., 2010; Can, 2013; Almas, 2014). Çalışmamızda da yaprak dokularında kuraklık stresinin şiddeti arttıkça, MDA miktarının arttığı belirlenmiştir. Bu artış bize pamuk bitkilerinin strese karşı gösterdiği tepkilerden biri olduğunu, uygulanan kuraklık stresinin hücresel membran özelliklerini değiştirdiğini göstermektedir. Osmolit uygulanmasıyla birlikte kuraklık gruplarında kontrol gruplarına göre MDA miktarlarında azalma olmuştur. Bu durum osmolitlerin hücre zar yapısında bütünlüğün sağlamasındada önemli rolü olduğu düşündürmektedir.

4.7. Farklı Kuraklık Seviyelerinde Yetişen Pamuk Bitkisine Dışsal Osmolit Uygulamasının Prolin Miktarı Üzerine Etkisi

Çizelge 4. 31. Prolin sonuçlarının ANOVA test sonucu

Prolin	**ANOVA**				
	Kareler Toplamı	sd	Kareler Ortalaması	F	**P**
Gruplar Arası	2,556	8	0,32	278,299	**0,000**
Grup İçi	0,021	18	0,001		
Toplam	2,577	26			

***P<0,001 sd. Serbestlik Derecesi

Şekil 4. 31. Prolin bağımlı değişkeni için yapılan varyans analizi sonuçları incelendiğinde P=0,000<α=0,001 olduğu görülmektedir. Bu durumda grupların ortalamaları arasında %0,1 önem seviyesinde anlamlı bir farklılık mevcuttur.

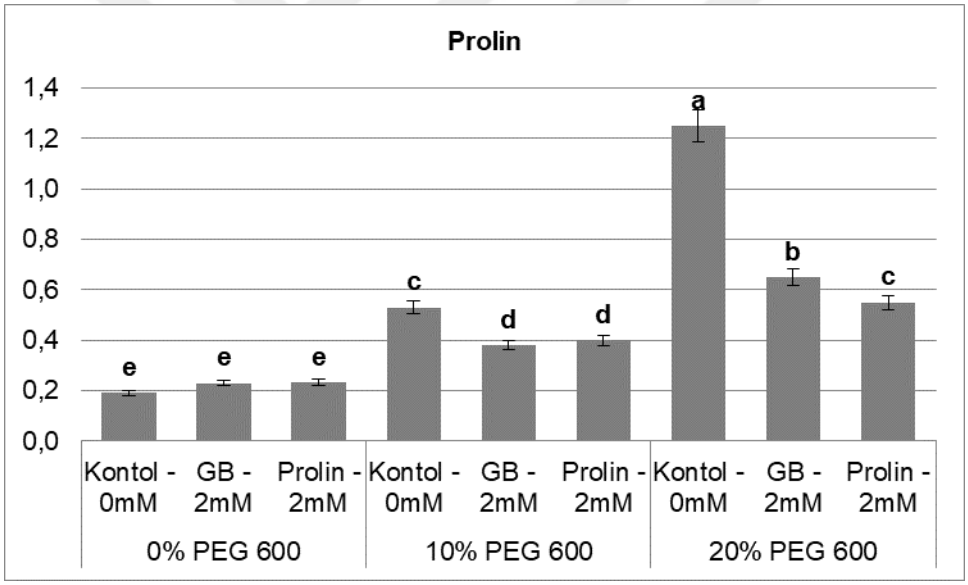
Çizelge 4. 32. Prolin sonuçlarının anlamlı farklılığa sebep olan grupların hangileri olduğu Tukey’s HSD testi ile gösterilmiştir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %0.1 önem düzeyinde

anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. En düşük değer 0.19 µmol g^{-1} ile %0 PEG 6000 grubunda bulunurken, en yüksek değer 1,25 µmol g^{-1} ile %20 PEG 6000 grubunda bulunmuştur.

Çizelge 4. 32. Prolin sonuçlarının Tukey's HSD test sonucu

Prolin		Tukey's HSD		
		Osmolit Dozu		
		Kontol - 0mM	GB - 2mM	Prolin - 2mM
Kuraklık Dozu	0% PEG600	0,19 ± 0,006^{e}	0,23 ± 0,012^{e}	0,233 ± 0,018^{e}
	10% PEG600	0,53 ± 0,017^{c}	0,38 ± 0,012^{d}	0,4 ± 0,006^{d}
	20% PEG600	1,25 ± 0,029^{a}	0,65 ± 0,029^{b}	0,55 ± 0,029^{c}

*P<0,05



Şekil 4.16. Prolin miktarlarının gruplar arası sonuçları (µmol g^{-1})

Şekil 4. 16. Prolin miktarlarının gruplar arası sonuçları olarak göstermektedir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %0.5 önem düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir.

Prolin özellikle oksidatif stres koşullarına yanıt olarak sentezi artan bir aminoasittir. Hücre içinde osmotik basıncı düzenleyerek hücre ici pH ve elektron akışını düzenler Farklı kuraklık seviyelerinde yetiştirilen farklı bitkilerde prolinin hücre içinde birikimini gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Buğday (Chandrasekar ve ark., 2000; Tatar ve Gevrek, 2008; Xiaoqin ve ark., 2009; Nikolaeva ve ark., 2010; Keyvan, 2010; Geravandi ve ark., 2011), ayçiçeği (Rabert ve ark., 2014), Brassica napus (Vartanian ve ark., 1992), fasülye (Zlatev ve Stoyanov, 2005), fesleğen (Khalid, 2006), Populus przewalskii (Lei ve ark., 2006) bitkilerinde prolin miktarı stres uygulanmayan kontrol gruplarıyla kıyaslandığında hücre içinde biriktiği görülmüştür. Araştırmacılar prolinin kuraklık stresinde bu derece artmasında ki temel sebebin; su stresinde osmotik basıncı düzenleyici rolü oluşundan kaynaklandığını düşünmüşlerdir. Prolinin artan kuraklık stresinin meydana getirdiği zararlanmayı en aza indirgemeye çalışıyor olabilir. Çünkü prolinde, fenolik bileşikler gibi OH radikalinin süpürülmesind rol alır. OH radikalinin meydana getirdiği hasarı en aza indirmeye çalışarak, redoks tepkimesinde aktiv rol alan metal iyonlarını bağlamaktadır (Matysik ve ark., 2002).

Çalışmada artan kuraklık şiddetine bağlı olarak prolin miktarı da artış göstermektedir. Kuraklık stresi ile birlikte osmolitlerin uygulanması kuraklık gruplarının kontrol grubuna göre prolin sentezini azaltmıştır. Prolinin miktarının azalması aynı zamanda prolin ve glisinbetain uygulanan grupların stresten daha az etkilendiğinin göstergesi olabilir. Prolin ve GB uygulanması benzer etki göstermiştir.

4.8. Farklı Kuraklık Seviyelerinde Yetişen Pamuk Bitkisine Dışsal Osmolit Uygulamasının Yaprak Nispi Su (RWC) Miktarı Üzerine Etkisi

Çizelge 4. 33. RWC bağımlı değişkeni için yapılan varyans analizi sonuçları incelendiğinde $P=0,000<\alpha=0,001$ olduğu görülmektedir. Bu durumda grupların ortalamaları arasında %0,1 önem seviyesinde anlamlı bir farklılık mevcuttur.

Çizelge 4. 33. RWC sonuçlarının ANOVA test sonucu

RWC	ANOVA				
	Kareler Toplamı	sd	Kareler Ortalaması	F	P
Gruplar Arası	1430,296	8	178,787	58,335	**0,000**
Grup İçi	55,167	18	3,065		
Toplam	1485,463	26			

***P<0,001 sd. Serbestlik Derecesi

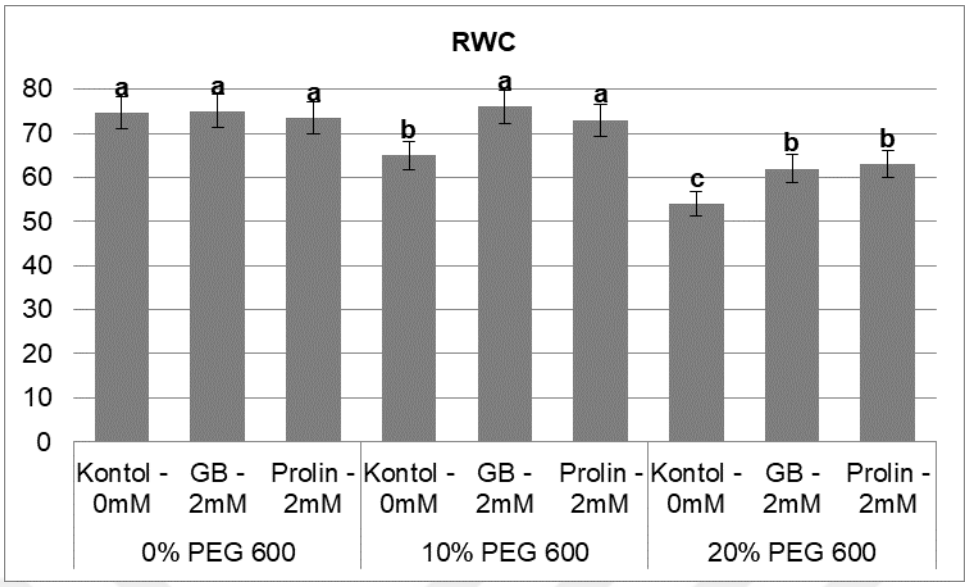
Çizelge 4. 34. RWC sonuçlarının Tukey's HSD test sonucu

RWC		Tukey's HSD		
		Osmolit Dozu		
		Kontol - 0mM	GB - 2mM	Prolin - 2mM
Kuraklık Dozu	0% PEG600	74,667 ± 2,603[a]	75 ± 0,577[a]	73,50 ± 0,289[a]
	10% PEG600	65 ± 0,577[b]	76 ± 0,577[a]	73 ± 0,577[a]
	20% PEG600	54 ± 0,577[c]	62 ± 0,577[b]	63 ± 0,577[b]

*P<0,05

Çizelge 4. 34. RWC anlamlı farklılığa sebep olan grupların hangileri olduğu Tukey's HSD testi ile gösterilmiştir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %0.1 önem düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. En düşük değer %54 ile %20 PEG 6000 grubunda bulunurken, en yüksek değer %75 ile %0 PEG 6000 GB 2 mM grubunda bulunmuştur.

Şekil 4. 17. RWC miktarını gruplar arası sonuçları % olarak göstermektedir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %0.5 önem düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir.



Şekil 4. 17. RWC miktarının gruplar arası sonuçları (%).

Bağıl su miktarı (RWC), maximum su miktarı ile turgor basınıcının oluştuğu andaki ölçümdür. Bitkinin kurak ve sıcak ortamlarda ne derecede su kaybettiğini belirleme de kullanılan parametrelerden biridir. Uzun süren kuraklık koşulları, uzun süreli turgor basıncının düşüklüğüne neden olmaktadır. Bu durum aynı zamanda bağıl su içeriğinin azalarak, diğer sinyal mekanizmanın aktifleşmesinin ilk adımlarından birini oluşturmaktadır.

Olumsuz stres koşullarından etkilenip etkilenmediğini belirleyen temel faktörlerden biri de büyüme parametreleridir. Büyüme parametrelerini ise kök, gövdenin boyu, yaş ve kuru ağırlıkları gibi ölçümler oluşturmaktadır. Ayrıca fotosentetik pigmentlere, fotosentetik verim ve stoma iletkenliği, CO_2 derişimi bakarak araştırmacılar fotosentez mekanizmasındaki değişimlerin genel durum hakkında bilgi edinebilirler. Fotosentez mekanizmasındaki değişime bağlı olarak karbonhidrat ve su metabolizması da değişkenlik göstermektedir (Can, 2013).

Nispi su içeriği ile bitkinin sahip olduğu su miktarı belirlenirken osmotik basıncın dengelenmesine bağlı olarak yaprak su potansiyeli değişir. Dokularda ki bu osmatik basınç dengesi tüm stres etmenlerinin olumsuz etkisini azaltmada rol oynayan önemli bir mekanizmadır (Bohnert ve ark., 1995). Kuraklık stresi bitkide su

içeriğinin düşmesi, yaprak su potansiyeli ve turgoru azalması, stoma kapanması ve hücre genişlemesi ile büyümesinin durmasıyla karakterize edilir (Morgan, 1994; Jaleel ve ark., 2008).

Kuraklık stresi farklı bitkilerde de bağıl su miktarının azalttığına dair çalışmalar bulunmaktadır (Egert ve Tevini, 2002, Chartzoulakis ve ark., 2002; Guerfel ve ark., 2009, Hu ve ark., 2010, Terzi ve ark., 2010; Ayaz ve ark., 2001; Zhang ve ark., 2010, Nikolaeva ve ark., 2010). Kuraklık şiddeti arttıkça yaprak nispi su içeriğinin kontrol grubuna göre azaldığı görülmüştür Kuraklık stresi ile beraber osmolit uygulanması ile beraber bağıl su içerikleri kontrole göre arttığı görülmüştür. Prolin ve GB penzer etki yapmıştır. Bu durumda dışardan verilen osmolitin çeşitli mekanizmalarla hücresel turgor durumlarını korumaya yardımcı olduğu söylenebilir. Böylelikle kuraklık sinyalinin oluşması engellenmiş olabilir.

4.9. Farklı Kuraklık Seviyelerinde Yetişen Pamuk Bitkisine Dışsal Osmolit Uygulamasının Bazı Besin Elementi Üzerinde Etkisi (Ca, K, Na, Mg, P)

Çizelge 4.35. Ca elementi sonuçlarının ANOVA test sonucu

Ca Elementi	ANOVA				
	Kareler Toplamı	sd	Kareler Ortalaması	F	**P**
Gruplar Arası	211083,351	8	26385,419	209,108	**0,000**
Grup İçi	2271,252	18	126,181		
Toplam	213354,603	26			

***P<0,001 sd. Serbestlik Derecesi

Çizelge 4. 35. Ca Elementi bağımlı değişkeni için yapılan varyans analizi sonuçları incelendiğinde P=0,000<α=0,001 olduğu görülmektedir. Bu durumda grupların ortalamaları arasında %0,1 önem seviyesinde anlamlı bir farklılık mevcuttur.

Çizelge 4. 36. Ca elementi sonuçlarından anlamlı farklılığa sebep olan grupların hangileri olduğu Tukey's HSD testi ile gösterilmiştir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir

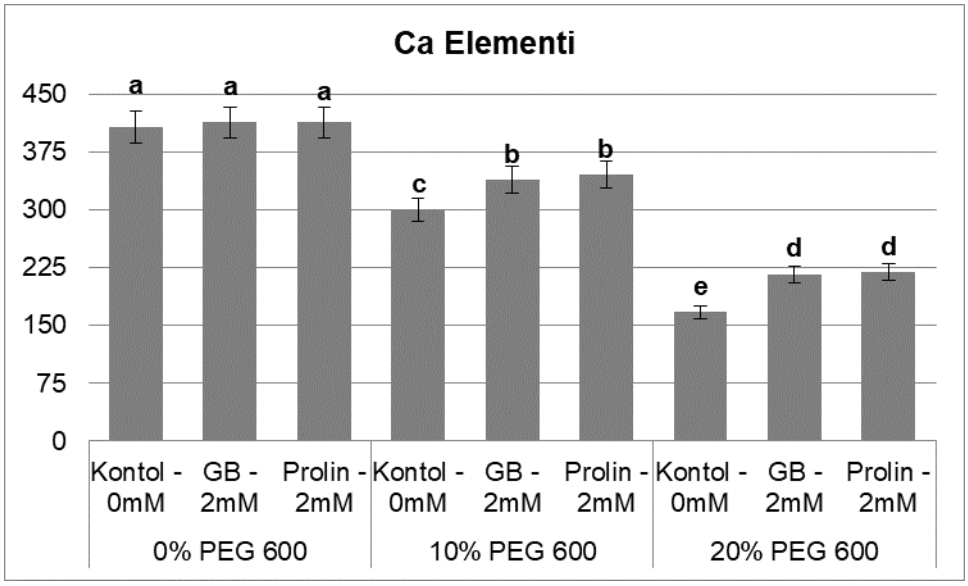
farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %0.1 önem düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. En düşük değer 167.37 mg ml^{-1} %20 PEG 6000 grubunda bulunurken, en yüksek değer 413.347 mg ml^{-1} %0 PEG 6000 grubunda bulunmuştur.

Çizelge 4.36. Ca elementi sonuçlarının Tukey's HSD test sonucu

Ca Elementi		Tukey's HSD		
		Osmolit Dozu		
		Kontol - 0mM	GB - 2mM	Prolin - 2mM
Kuraklık Dozu	0% PEG600	407,787 ± 10,086[a]	413,357 ± 6,705[a]	413,347 ± 7,626[a]
	10% PEG600	299,803 ± 2,22[c]	339,093 ± 7,738[b]	345,333 ± 5,462[b]
	20% PEG600	167,37 ± 4,388[e]	216,363 ± 5,839[d]	219,24 ± 5,073[d]

*P<0,05

Şekil 4. 18. Ca elementinin gruplar arası sonuçları olarak göstermektedir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %0.5 önem düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir.



Şekil 4. 18. Ca elementinin gruplar arası sonuçları (mg ml^{-1}).

Çizelge 4.37. K elementi sonuçlarının ANOVA test sonucu

K Elementi	ANOVA				
	Kareler Toplamı	sd	Kareler Ortalaması	F	P
Gruplar Arası	262181,342	8	32772,668	107,941	**0,000**
Grup İçi	5465,094	18	303,616		
Toplam	267646,435	26			

***P<0,001 sd. Serbestlik Derecesi

Çizelge 4. 37. K Elementi bağımlı değişkeni için yapılan varyans analizi sonuçları incelendiğinde P=0,000<α=0,001 olduğu görülmektedir. Bu durumda grupların ortalamaları arasında %0,1 önem seviyesinde anlamlı bir farklılık mevcuttur.

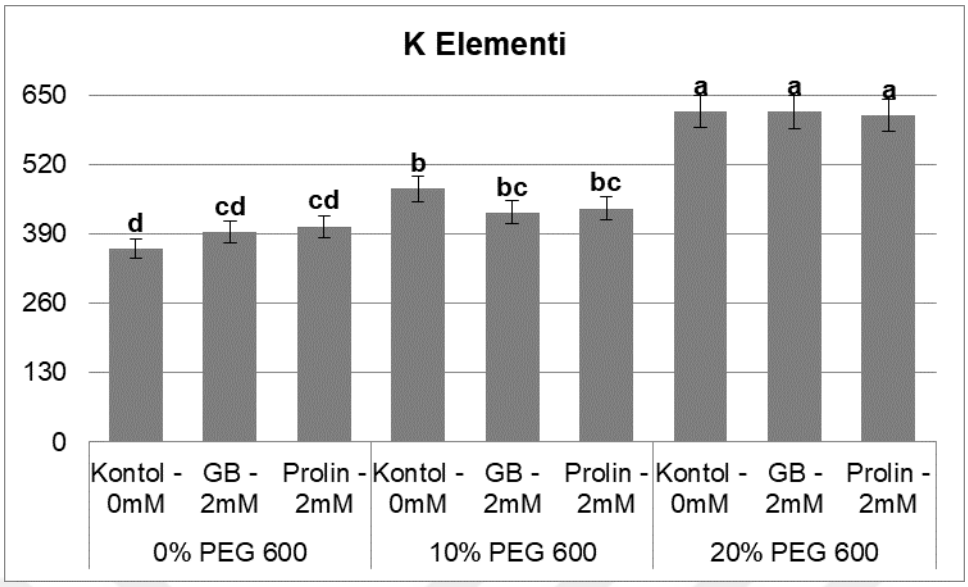
Çizelge 4.38. K elementi sonuçlarının Tukey's HSD test sonucu

K Elementi		Tukey's HSD		
		Osmolit Dozu		
		Kontol - 0mM	GB - 2mM	Prolin - 2mM
Kuraklık Dozu	0% PEG600	362,847 ± 15,953^{d}	393,993 ± 12,276^{cd}	404,253 ± 7,196^{cd}
	10% PEG600	475,033 ± 7,526^{b}	430,17 ± 11,921^{bc}	437,54 ± 8,263^{bc}
	20% PEG600	619,937 ± 8,168^{a}	618,737 ± 6,154^{a}	612,397 ± 9,069^{a}

*P<0,05

Çizelge 4. 38. K element sonuçlarında anlamlı farklılığa sebep olan grupların hangileri olduğu Tukey's HSD testi ile gösterilmiştir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %0.1 önem düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. En düşük değer 362.847 mg ml^{-1} %0 PEG 6000 grubunda bulunurken, en yüksek değer 619.937 mg ml^{-1} ile %20 PEG6000 grubunda bulunmuştur.

Şekil 4. 19. K elementinin gruplar arası sonuçları olarak göstermektedir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %0.5 önem düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir.



Şekil 4. 19. K elementinin gruplar arası sonuçları (mg ml^{-1}).

Çizelge 4. 39. Mg Elementi bağımlı değişkeni için yapılan varyans analizi sonuçları incelendiğinde P=0,000<α=0,001 olduğu görülmektedir. Bu durumda grupların ortalamaları arasında %0,1 önem seviyesinde anlamlı bir farklılık mevcuttur.

Çizelge 4.39. Mg elementi sonuçlarının ANOVA test sonucu

Mg Elementi	**ANOVA**				
	Kareler Toplamı	sd	Kareler Ortalaması	F	**P**
Gruplar Arası	37086,027	8	4635,753	61,849	**0,000**
Grup İçi	1349,14	18	74,952		
Toplam	38435,167	26			

***P<0,001 sd. Serbestlik Derecesi

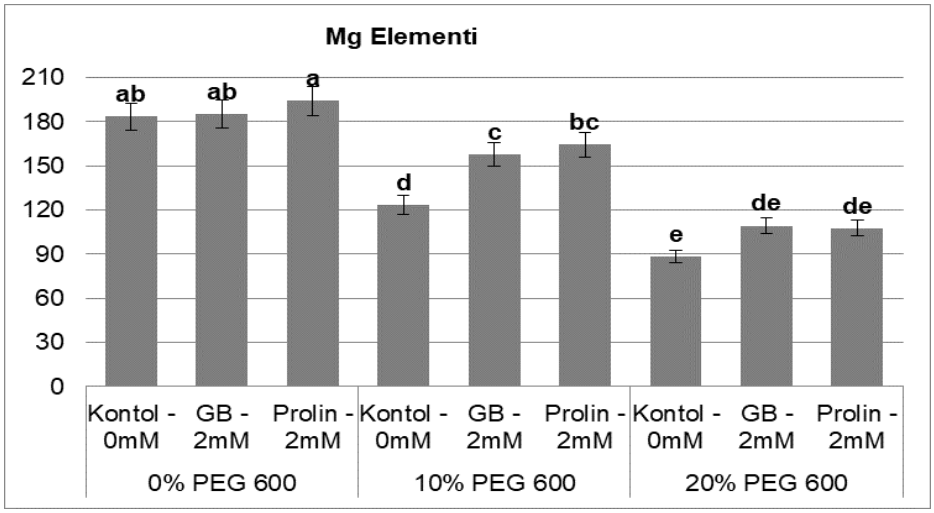
Çizelge 4. 40. Mg elementi sonuçlarının Tukey's HSD test sonucu

Mg Elementi		Tukey's HSD		
		Osmolit Dozu		
		Kontol - 0mM	GB - 2mM	Prolin - 2mM
Kuraklık Dozu	0% PEG600	183,39 ± 7,674^{ab}	185,263 ± 5,741^{ab}	194,07 ± 7,098^{a}
	10% PEG600	123,497 ± 6,431^{d}	157,693 ± 1,795^{c}	164,393 ± 5,897^{bc}
	20% PEG600	88,497 ± 1,069^{e}	109,327 ± 0,909^{de}	107,547 ± 1,144^{de}

*P<0,05

Çizelge 4. 40. Mg elementinde anlamlı farklılığa sebep olan grupların hangileri olduğu Tukey's HSD testi ile gösterilmiştir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %0.1 önem düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. En düşük değer 88,497 mg ml^{-1} %20 PEG 6000 grubunda bulunurken, en yüksek değer 194,07 mg ml^{-1} %0 PEG 6000 2 mM Prolin grubunda bulunmuştur.

Şekil 4. 20. Mg elementinin gruplar arası sonuçları olarak göstermektedir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %0.5 önem düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir.



Şekil 4. 20. Mg elementinin gruplar arası sonuçları (mg ml^{-1}).

Çizelge 4.41. Na elementi sonuçlarının ANOVA test sonucu

Na Elementi	ANOVA				
	Kareler Toplamı	sd	Kareler Ortalaması	F	P
Gruplar Arası	28586,676	8	3573,334	44,754	**0,000**
Grup İçi	1437,204	18	79,845		
Toplam	30023,880	26			

***P<0,001 sd. Serbestlik Derecesi

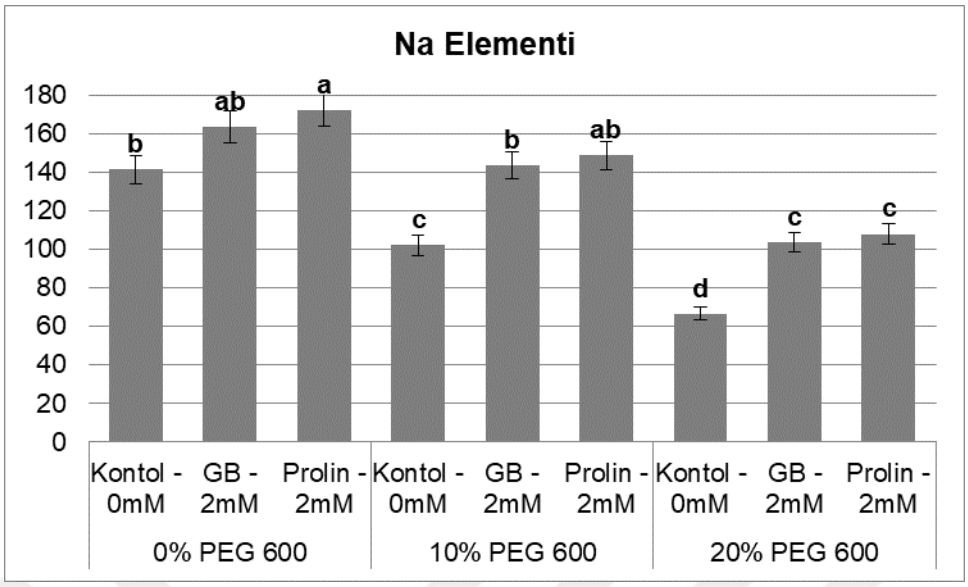
Çizelge 4. 41. Na Elementi bağımlı değişkeni için yapılan varyans analizi sonuçları incelendiğinde P=0,000<α=0,001 olduğu görülmektedir. Bu durumda grupların ortalamaları arasında %0,1 önem seviyesinde anlamlı bir farklılık mevcuttur.

Çizelge 4.42. Na elementi sonuçlarının Tukey's HSD test sonucu

Na Elementi		Tukey's HSD		
		Osmolit Dozu		
		Kontol - 0mM	GB - 2mM	Prolin - 2mM
Kuraklık Dozu	0% PEG600	141,385 ± 4,858^{b}	163,543 ± 3,824^{ab}	172,417 ± 7,195^{a}
	10% PEG600	102,12 ± 0,577^{c}	143,61 ± 5,246^{b}	148,677 ± 8,869^{ab}
	20% PEG600	66,503 ± 1,910^{d}	103,677 ± 3,331^{c}	108,01 ± 5,317^{c}

*P<0,05

Çizelge 4. 42. Na elementinde anlamlı farklılığa sebep olan grupların hangileri olduğu Tukey's HSD testi ile gösterilmiştir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %0.1 önem düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. En düşük değer 66.503 mg ml^{-1} %20 PEG 6000 grubunda bulunurken, en yüksek değer 172.417 mg ml^{-1} %0 PEG 6000 2 mM Prolin grubunda bulunmuştur.



Şekil 4. 21. Na elementinin gruplar arası sonuçları (mg ml^{-1}).

Şekil 4. 21. Na elementi için gruplar arası sonuçları olarak göstermektedir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %0.5 önem düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir.

Çizelge 4. 43. P elementi sonuçlarının ANOVA test sonucu

P Elementi	ANOVA				
	Kareler Toplamı	sd	Kareler Ortalaması	F	P
Gruplar Arası	138079,755	8	17259,969	163,747	**0,000**
Grup İçi	1897,314	18	105,416		
Toplam	139977,069	26			

***P<0,001 sd. Serbestlik Derecesi

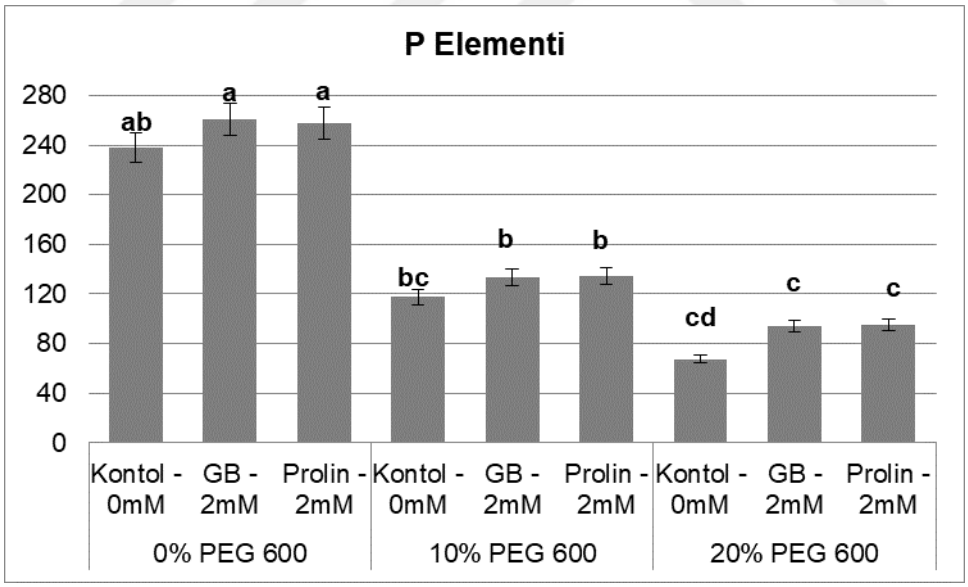
Çizelge 4. 43. P Elementi bağımlı değişkeni için yapılan varyans analizi sonuçları incelendiğinde P=0,000<α=0,001 olduğu görülmektedir. Bu durumda grupların ortalamaları arasında %0,1 önem seviyesinde anlamlı bir farklılık mevcuttur. P Elementi grupları arasındaki varyans homojen dağılmadığından dolayı Tamhane's T2 testi kullanılması uygun görülmüştür.

Çizelge 4.44. P elementi sonuçlarının Tamhane's T2 test sonucu

P Elementi		Tamhane's T2		
		Osmolit Dozu		
		Kontol - 0mM	GB - 2mM	Prolin - 2mM
Kuraklık Dozu	0% PEG600	237,9 ± 0,289^{bc}	261,007 ± 7,939^{ab}	257,547 ± 8,742^{ab}
	10% PEG600	117,443 ± 8,414^{cd}	133,407 ± 6,701^{cd}	134,113 ± 6,658^{cd}
	20% PEG600	67,4 ± 0,577^{ad}	93,543 ± 2,614^{d}	94,687 ± 3,080^{d}

*P<0,05

Çizelge 4. 44. P Elementinde anlamlı farklılığa sebep olan grupların hangileri olduğu Tamhane's T2 testi ile gösterilmiştir. Bu durumda, harflendirme sonucunda aynı harfi içeren grup ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmazken, aynı harfi içermeyen grup ortalamaları arasında %0.1 önem düzeyinde anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. En düşük değer 67.4 mg ml^{-1} %20 PEG 6000 grubunda bulunurken, en yüksek değer 257.547 mg ml^{-1} %0 PEG 6000 Prolin 2 mM grubunda bulunmuştur.



Şekil 4. 22. P elementinin gruplar arası sonuçları (mg ml^{-1}).

Bitkiler kuraklık stresine girince hücre içine mineral element alımı, kök morfolojisinin gelişimi, topraktaki besin akışı ve alışını etkilemektedir (Fageria ve ark., 2002; Samarah ve ark., 2004). Kuraklık stresi koşullarında bitkilerin bazı besin elementinin alınımı, bitkilerin kuraklık mekanizmasında önemli bir role üstlenmektedir (Samarah ve ark., 2004). Potasyum elementi, bitkilerde kuraklık stresine dayanıklılığını, stomaların açılıp kapanma mekanizmasını düzenleyerek hücre içi osmoregülasyonu, hücrenin enerji ihtiyaç durumunu, toplam proteini ve protein sentezini, içsel dengeyi (homeostasis) artırır (Beringer ve Trolldenier, 1978; Marscher, 1995). Ayrıca hücre içi K turgor basıncın stabil bir şekilde devam etmesi (Mengel ve Arneke, 1982) ve kurak koşullarda terlemenin etkisini azaltarak kuraklıktan olumsuz etkisini engelleyebilmektedir (Andersen ve ark., 1992). Bitkiler bozulan fotosentez mekanizmasına bağlı olarak enerji üretim mekanizmasında hasarlar oluşmaktadır. Kuraklık stresinin bu olumsuz etkisinden korunabilmeleri için K^+ birikimi, organik madde üretiminden daha önem arz etmektedir. Çünkü K gibi iyon alımı ile osmotik denge oluşturmaya çalışırken daha fazla enerji açığa çıkmaktadır. Farklı bitkilerde farklı stres faktörlerinin etkisiyle hücre içi K^+ element miktarının arttığı görülmüştür (Morgan, 1992; Yaşar ve ark., 2006; Yaşar ve ark., 2007).

Çalışmamızda da kuraklık stresi artıkça yapraklarda ki K içeriğinde artış olduğu görülmüştür. Kuraklık şiddetinin artmasına bağlı olarak K^+ birikimlerini artırması; pamuk bitkisinin kuraklığın olumsuz etkilerini azaltma çabası içinde olduğunu söyleyebiliriz. Bu kuraklık gruplarına osmolit uygulanması ile beraber kontrol gruplarına göre K^+ element miktarında azalma az miktarda görülmüştür. Bunun sebebi K elementi hücre içi alımlarında enerji gereksimini karşılama da aktif rol oynarken, derişimi değişmesinden kaynaklanabilir. Prolin ve GB benzer etki göstermiştir.

Kuraklık koşulları altında hücre içinde Ca alınımı azalır. Bitkilerde Ca^{+2} iyonu osmotik düzenlenmesinde, kuraklık ve tuzluluk stresi gibi oksidatif strese karşı dayanıklılığın artırılmasında, kuraklık ve tuzluluk stresinin oluşma mekanizmasında sinyal yolağında önemli bir rol olduğunu bildirmiştir (Bartels ve Sunkar, 2005).

Jenne ve ark. (1958), bitkilerde stres koşullarında Ca birikimi azalmasının P ve K iyonlarıyla da rekabete girdiğini belirtmiş, iyi sulanan bir ortamda yetişmiş mısır bitkilerinde P, K ve Ca elementlerinin birikim oranları sırasıyla; %40, %71 ve %91 olduğunu bildirmiştir. Bizim yaptığımız çalışmada kuraklık uygulanan pamuk bitkisine kuraklık stresi artıkça Ca elementinin azaldığı görülmüştür. Bu durum bize kuraklık stresinin oluşum sinyal mekanizmasında da hasar olabileceği düşündürmektedir. Ancak osmolit uygulanması ile beraber stres gruplarının kontrol gruplarına göre Ca elemeninde artış olması bu sinyal mekanizmasının çalışmasını normalleştirdiğini düşündürmektedir.

Havlin ve ark. (1999), bitkilerde kuraklık stresinin etkisiyle Mg, Na, Fe ve P gibi iyonların alım mekanizmalarının değiştiği ve bu elementlerin alınımı da engellendiğini bildirmiş, bu iyonlarının eksikliğinde bitkide toksisite durumlarının oluşturduğunu rapor etmiştir. Stres faktörlerinin etkisi altında besin elementlerinin (Mg, Fe ve P gibi) bitkilerdeki birikimleri bitkiden bitkiye farklılık göstermektedir. Stres faktörlerinin etkisiyle bazı bitkilerde birikirken bazı bitkilerde bu elementlerin miktarı noksanlık göstermektedir. Hassan ve ark. (1970) arpada yaptığı çalışma da bu elementlerin miktarında azalma görülürken, Hu ve Schmidhalter (2001) yaptıkları çalışmada ise Mg, Fe ve P elementlerinin tuzluluk ve kuraklık koşullarında değişim göstermediği bildirilmiştir. Çalışmamızda da kuraklık stresi altındaki pamuk bitkilerimizin Mg, Na ve P elementlerinin miktarının azaldığı görülmüştür. Bu veriler ışığında pamuk bitkilerini K elementinin içeriğinin artmasıyla, hücre içi osmotik düzenleme yaptığını, Mg elementinin azalmasıyla fotosentez sisteminde hasarlar oluştuğunu, P elementinin azalmasıyla yeni sürgün oluşumunun ve gelişmenin yavaşladığını söyleyebiliriz. Ancak kuraklık gruplarına ek olarak osmolit uygulanmasıyla bu elementlerin kontrol gruplarına göre çoğunlukla arttırmıştır. Bu durum bize osmolitlerin metobolik olayları düzenlemede olumlu etkisi olduğunu düşündürmektedir. Prolin ve GB benzer etki göstermiştir.

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Bu tez çalışması sonucunda, PEG-6000 kullanılarak oluşturulan farklı kuraklık basınçlarında yetişen Candia pamuk çeşidine dışsal prolin ve glisin betain maddelerinin uygulanması sonucu, kuraklık stresinin meydana getirdiği zararlanmayı çoğunlukla iyileştirdiği görülmüştür. Osmolit uygulamalarında prolin ve glisin betain osmolitleri fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri açısıdan benzer tepkilere neden olduğu belirlenmiştir.

Bitki büyütme kabininde, kontrollü koşullarda, iri perlit kullanılarak saksılarda yapılan bu çalışma, tarla koşullarında belli su basınçlarına ayarlanarak ya da kısmi sulama yapılarak stres üzerinde osmolitlerin iyileştirici etkisi araştırabilir. Bu denemelerin fizyo-biyolojik olarak metabolik yollarının ve antioksidan sistemin enzim çeşitleri araştırılabilir. Fotosentez, protein ve karbonhidrat metabolizması daha detaylı araştırabilir. Fotosentez mekanizmasının elektron taşıma zinciri ve RuBiSCO gibi karbon indirgenme döngüsünün önemli enzimleri seviyeleri araştırılabilir. Protein metabolizmasında ise birçok strese karşı görev alan sıcaklık şoku proteinlerin ifadesi ve kuraklık sinyalinin oluşmasında, sinyalin iletilmesinde rol olan maddeler araştırılabilir. Hatta anatomik yapılarının, çeşitli gen ifadelerinin araştırılması, incelenmesiyle ileride yapılacak ıslah çalışmalarına daha da yol gösterici olabilir.

Çalışmamız, güneydoğu anadolu bölgesinde özellikle pamuk üretiminde birinci olan Şanlıurfa ili için yaz aylarında kuraklık zamanında osmolit uygulanması pamuğun kuraklık stresi toleransının artırılmasında nasıl bir etki sağlayacağını gösterilmesi ve kullanılması açısından önem arz etmektedir. Protein kökenli osmolit madde kullanılması, çeşitli kimyasalların (pestisit, ilaç, gübre vb.) doğaya ve besin zinciri yoluyla insana verdiği zararların önüne geçileceği, üründe verim kaybını azaltacağını düşünmekteyim.

Günümüzde pamuk yetiştiriciliği yapan çiftçilere pamuk bitkisinde suyun bitki tarafından etkin kullanımını, pamuk bitkisinin kuraklık gibi stres koşullarında bitkinin vereceğini fizyolojik ve biyokimyasal etkileri anlatılabilir. Özellikle osmolit

madde uygulamasını, pamuğun gübrelenmesi, organik ilaçlama gibi konuların öğretilmesi için eğitimler düzenlenebilir. Bu şekilde kuraklık stresinin getireceği verim kaybı minumum olması sağlanır, çevreye de en az zarar verilmiş olur.

KAYNAKLAR

ABRAHAM, E., HOURTON-CABASSA, C., ERDEİ, L., and SZABADOS, L., 2010. Methods for Determination of Proline in Plants. Humana Press, USA, 639: 317– 331.

AGARWAL, S., SAIRAMA, R. K., SRIVASTAVAA, G. C., TYAGIB, A. and MEENAA, R. C., 2005. Role of ABA, Salicylic Acid, Calcium and Hydrogen Peroxide on Antioxidant Enzymes Induction in Wheat Seedlings. Plant Science, 169: 559–570.

ALCÁZAR, R., ALTABELLA, T., MARCO, F., BORTOLOTTI, C., REYMOND, M., KONCZ, C., CARRASCO., P. and TIBURCIO, A. F., 2010. Polyamines: Molecules with Regulatory Functions in Plant Abiotic Stress Tolerance. Planta, 231: 1237–1249.

ALİA, M. P., and MATYSİK, J., 2001. Effect of Proline on the Production of Singlet Oxygen. Amino Acids, 21: 195–200.

ALMAS, S., 2016. Bitki Aktivatörlerinin Gap Bölgesi'nde Yetiştirilen Pamuk (*Gossypium hirsutum* L.) Çeşitlerinin Kuraklik Toleransi Üzerine Etkisi. Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Şanlıurfa, 103.

ALTENBACH, S.B., DUPONT, F., KOTHARİ, K., CHAN, R., JOHNSON, E., and LİEU, D., 2003. Temperature, Water and Fertilizer İnfluence the Timing of Key Events During Grain Development in Spring Wheat. J. Cereal Sci., 37: 9-20.

ANONİM, 2012. Türkiye İstatistik Kurumu http: // tuikrapor.tuik.gov.tr/reports. Erişim; 25 ekim 2013.

ANONİM, 2019. Gümrük ve Ticaret Bakanlığı Dış ticaret İstatistikleri. Erişim; https://ticaret.gov.tr/istatistikler/dis-ticaret-istatistikleri, 5 ekim 2019.

ARAKAWA T., and TIMASHEFF S. N., 1983. Preferential Interactions of Proteins with Solvent Components in Aqueous Amino Acid Solutions. Archives of Biochemistry and Biophysics, 224: 169–177.

ARAUS, L., SLAFER, A., REYNOLDS, P., and ROYO, C., 2002. Plant breeding and drought in C3 creals: What should we breed for?. Ann. Bot., 89: 925-940.

ARORA, A., SAİRAM, K., and SRİVASTAVA, A., 2002. Oxidative stress and antioxidative system in plants. Current Science, 82: 1227-1238.

ASHRAF, M. and FOOLAD, M. R., 2007. Roles of glycinebetaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany, 59: 206–216.

ASSENG, S., and MILROY, S. P., 2006. Simulation of Environmental and Genetic Effects on Grain Protein Concentration in Wheat. Eur. J. Agron. 25: 119-128.

ATASOY, G., 2013. Pamukta (*Gossypium* spp.) Kuraklik ve Sıcaklık Stresinin Bazı Agronomik, Fizyolojik ve Biyokimyasal Özelliklere Etkisinin Incelenmesi. Ege Universitesi, Fen Bilimleri Enstirü, Yüksek Lisans Tezi, İzmir, 108 syf.

AYAZ, F., KADIOĞLU, A., and DOĞRU, A., 2001. Leaf Rolling Effects on Lipid and Fatty Acid Composition *Ctenanthe setosa* L. (Marantaceae) Subjected To Water- Deficit Stress. Acta Physiologia Plantarum, 23: 43-47.

AYDEMİR, M., 1982. Pamuk Islahı, Yetiştirme Tekniği Lif Markası Özellikleri. Nazilli Pamuk Araştırma Enst. Müd. Yayını, 33 syf.

BAJI, M., KINET, J., and LUTS, S., 2002. The Use of Electrolytic Leakage Method for Assessing the Cell Membrane Stability as a Water Stress Tolerance Test in Durum Wheat. Plant Growth Regul., 36: 61–70.

BAKER, J. T., GİTZ, D. C., PAYTON, P., WANJURA, D. F. and UPCHURCH, D. R., 2007. Using Leaf Gas Exchange to Quantify Drought in Cotton Irrigated Based on Canopy Temperature Measurements. Agron. J., 99:637–644.

BALKCOM, K. S., REEVES D. W., SHAW J. N., BURMESTER C. H., and CURTİS L. M., 2006. Cotton Yield and Fiber Quality From İrrigated Tillage Systems in the Tennessee Valley. Agronomy Journal, 98:596-602.

BASAL, H., DAGDELEN, N., UNAY, A., and YILMAZ, E., 2008. Effects of Deficit Drip İrrigation Ratios on Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) Yield and Fiber Quality. J. Agronomy & Crop Science, 195(1): 19-29

BASKIN, T., MEEKES, H., LIANG, B., and SHARP, R., 1999. Regulation of Growth Anisotropy in Well-Watered and Water-Stressed Maize Roots. II. Role of Cortical Microtubules and Cellulose Microfibrils. Plant Physiology, 119: 681–692.

BAŞAL, H., DAĞDELEN, N., ÜNAY, A., and YILMAZ, E., 2009. Effects of Deficit Drip İrrigation Ratios on Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) Yield and Fiber Quality. J. Agron. Crop Sci., 195: 19-29.

BASAL, H., SMİTH, C., THAXTON, S., and HEMPHİLL, J., 2005. Seedling Drought Tolerance in Upland Cotton. Crop Sci., 45: 766-771.

BASAL, H., and ÜNAY, A., 2006. Water Stress in Cotton (*Gossypium hirsutum* L.). Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg., 43 (3): 101-111.

BAŞBAĞ, S., EKİNCİ, R., AKINCI, C., AKINCI, C., TONÇER, Ö., 2011. Diyarbakır ve Şanlıurfa İlinde Pamuk Sektörü Envarterinin Hazırlanması Projesi. Diyarbakır Kalkınma Ajansı Sonuç Raporu, 50s.

BATES, L. S., WALDREN, R. P., and TEAR, I. D., 1973. Rapid Determination of Free Proline For Water-Stress Studies. Plant and Soil, 39:205-207.

BERGER, J. 1969. The World's Major Fibre Crops, Their Cultivation and Manuring. (eds.), Centre D' Etude De I' Azote, Zurıch, p. 216-222

BERİNGER H., and TROLLDENİER G., 1978. Influence of K Nutrition on Response to Environmental Stress. Plant Physiology, 261: 115-124.

BLOKHİNA, O., 2000. Anoxia and Oxidative Stress: Lipid Peroxidation, Antioxidant Status and Mitochondrial Functions in Plants. Department of Biosciences, Division of Plant Physiology University of Helsinki, Finland. 79 pp.

BLOKHINA, O., VİROLAİNEN, E., and FAGERSTEDT, K.V., 2003. Antioxidants, Oxidative Damage and Oxygen Deprivation Stress: a review. Annals of Botany, 91: 179-194.

BLUM, A., 1986. Breeding Crop Varieties for Stress Environments, Critical Reviews in Plant Sciences, 2: 199-237.

BOHNERT, H., NELSON, D., and JENSEN, R., 1995. Adaptation to Environmental Stresses. Plant Cell, 7: 1099-1111.

BOWLER, C., MONTAGU, M., and INZÉ, D., 1992. Superoxide Dismutase and Stress Tolerance. Plant Mol. Biol., 43: 83-116.

BRADFORD, M. M., 1976. A Rapid and Sensitive Method For The Quantitation Of Microgram Quantities Of Protein Utilizing The Principle Of Protein-Dye Binding. Anal. Biochem., 72:248-254.

BRAY, E., 1993. Molecular Responses to Water Deficit. Plant Physiology, 103: 1035– 1040.

BRAY, A., 1997. Plant Responses to Water Deficit. Trends Plant Science, 2: 48-54.

CAN, N., 2013. Pamuk Çeşitlerinde (*Gossypium hirsutum* L.) Kuraklik Stresi Etkilerinin Fizyolojik Olarak İncelenmesi. Harran Universitesi, Fen Bilimleri Ens., Yüksek Lisans Tezi, Şanlıurfa, 105 syf.

CAVE, J., 2013. Cotton Lint Yield, Fiber Quality, and Water –Use Efficiency as İnfluenced by Cultivar and İrrigation Level. Texas Tech Universty, Nature Science Ens., Master of Sciences, USA. p. 192.

CERVİLLA, L.M., B. BLASCO, J.J. RİOS, M.A., ROSALES and E. SANCHEZ-RODRİGUEZ, 2012. Parameters Symptomatic for Boron Toxicity in Leaves of Tomato Plants. J. Bot., 2012: 1-17.

CETİN, O., and BİLGEL, L., 2002. Effects of Different İrrigation Methods on Shedding and Yield of Cotton. Agricultural Water Manage, 54: 1–15.

CHANDLER, S., and DODDS, J., 1983. The Effect of Phosphate Nitrogen and Sucrose on the Production of Phenolics and Socosidine in Callus Cultures of *Solanum laciniatum* L. Plant Cell, 2: 105-108.

CHANDRASEKAR, V., SAİRAM, R. K., and SRİVASTAVA G. C., 2000. Physiological and Biochemical Responses of Hexaploid and Tetraploid Wheat to Drought Stress. J. Agr. & Crop Sci., 185:219-227.

CHARLES, A. and HALLİWELL B., 1980. Effect of Hydrogen Peroxide on Spinach (*Spinacia oleraceae*) Chloroplast Fructose Biphosphatase. Biochem. J., 189: 373-376.

CHARTZOULAKİ, K., PATAKAS, A., KODİFİS, G., BOSABALİDİS, A., and NOSTOU, A., 2002. Water Stress Affects Leaf Anatomy, Gas Exchange, Water Relations and Growth of Two Avocado Cultivars. Scientia Horticulturae, 95(1-2): 39–50.

CHAVES, M. M., and OLIVEIRA, M. M., 2004. Mechanisms Underlying Plant Resilience to Water Deficits: Prospects for Water-Saving Agriculture. J. Exp. Bot., 55:2365-2384.

CHEHAB, E. W., EİCH, E., and BRAAM, A., 2009. J. Thigmomorphogenesis: A Complex Plant Response to Mechano-Stimulation. J. Exp. Bot. 60: 43–56.

CHEN W.P., Lİ P. H. and CHEN T. H. H., 2000. Glycinebetaine İncreases Chilling Tolerance and Reduces Chilling-İnduced Lipid Peroxidation in *Zea Mays* L., Plant, Cell and Environment, 23: 609–618pp.

CHERUIYOT E. K., MUMERA, L. M., NG'ETICH W. K., HASSANALI, A., and WACHIRA, F., 2007. Polyphenols as Potential Indicators for Drought Tolerance in Tea (*Camellia sinensis* L.). Biosci. Biotechnol. Biochem., 71, pp. 2190-2197.

CHİMENTİ, C. A, PEARSON, J., and HALL, A. J., 2002. Osmotic Adjustment and Yield Maintenance Under Drought İn Sunflower. Field Crops Res., 75:235-246.

CİCERALİ, N. I., 2004. Effect of Stress on Antioxidant Defense Systems of Sensitive and Resistant Cultivars of Lentil (*Lens culinaris* M.), ODTÜ, Fen Bilimleri Ens., Yüksek Lisans Tezi, Ankara.

CLOSE, T., 1996. Dehydrins: Emergence of a Biochemical Role of a Family of Plant Dehydration Proteins. Physiol. Plant., 97: 795–803.

COLLİNS, A., 2001. Carotenoids and Genomic Stability. Mutat Res., 475:1-28.

COOK, C. G., and El-Zik, K. M., 1992. Cotton seedling and First- Bloom Plant Characteristics: Relationships with Drought-İnfluenced Boll Abscission and Lint Yield. Crop Science, 32: 1464-1467.

COSTA-FRANCA, G., PHAM-THİ, T., PİMENTEL, P., ROSSİELLO, Y., FODİL, Z., and LAFFRAY, D., 2000. Differences in Growth and Water Relations among *Phaseolus vulgaris* Cultivars in Response to İnduced Drought Stress. Environ. Exp. Bot. 43: 227–237.

COUGHLAN, S. J., and HEBER U., 1982. The Role of Glycinebetaine in the Protection of Spinach Thylakoids Against Freezing Stress. Planta, 156: 62–69.

ÇIRAK, C., and ESENDAL, E., 2006. Soyada Kuraklık Stresi. OMÜ Zir. Fak. Dergisi, 21(2): 231-237.

ÇUBUKÇU, N., 2007. Pamuklarda Verticillium Solgunluğu (*Verticillium dahliae* Kleb.) 'na Karşı Endofitik Balkterilerle Mücadele Olanakları: Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Aydın,73 syf.

DAĞDELEN, N., YILMAZ, E., SEZGİN, F, and BAŞ, S., 1998. Son Su Uygulama Zamanının Pamuk Kalitesi ve Bazı Verim Özellikleri Üzerine Etkisi. Ege Bölgesi I. Tarım Kongresi Cilt:2, 7-11 Eylül, Aydın.

DAĞDELEN, N., BAŞAL, H., YILMAZ, E., GÜRBÜZ, T., and AKÇAY, S. M., 2009. Different Drip İrrigation Regimes Affect Cotton Yield, Water Use Efficiency and Fiber Quality in Western Turkey. Agricultural Water Management, 96:111-120.

DAVİES, K. J. A., 2000. Oxidative Stress, Antioxidant Defenses, and Damage Removal, Repair, and Replacement Systems. IUBMB Life, 50: 279–289.

DE ABREU IN, N., and MAZZAFERA P., 2005. Effect of Water and Temperature Stress on the Content of Active Constituents of *Hypericum brasiliense* Choisy. Plant Physiol Biochem., 43:241-8.

DELUC, L. G., QUİLİCİ, D. R., DECENDİT, A., GRİMPLET, J., WHEATLEY, M. D., SCHLAUCH, K. A., MERİLLON, J. M., CUSHMAN, J. C., and CRAMER, G. R., 2009. Water deficit Alters Differentially Metabolic Pathways Affecting İmportant Flavor and Quality Traits in Grape Berries of Cabernet, Sauvignon and Chardonnay, BMC Genomics, 10: 212-223.

DEMİRAL, T., 2003. Genç Pirinç Fidelerine Dışarıdan Glisinbetain Uygulanmasıyla, Tuza (NaCl) Toleransının Arttırılmasında Antioksidant Enzim Aktivitesinin Rolünün Araştırılması. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tezi, İzmir, 36-37.

DESHNİUM, P., GOMBOS, Z., NİSHİYAMA, Y. and MURATA, N., 1997. The Action in Vivo of Glycine Betaine in Enhancement of Tolerance of Synechococcus sp. Strain PCC 7942 to Low Temperature. J. Bacteriol., 17: 339-344pp.

DIXON, R., CHOUDHARY D., and DALKIN D., 1992. Molecular Biology of Stress-induced Phenylpropanoid and İsoflavonoid Biosynthesis in *Alfa alfa*. Stafford HA, Stafford, 16-34 pp.

DOORENBOS, J. and KASSAM, A. H., 1979. Yield Response to Water. Irrigation and Drainage paper. Pergamon Press, Rome, Italy, 193p.

DUBOIS, M., GILLES, A., HAMILTON, K., REBERS, A., and SMITH, F., 1956. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. Analytical Chemistry, 28(3): 350-356 p.

EGERT, M., and TEVINI, M., 2002. Influence of Drought on Some Physiological Parameters Symptomatic for Oxidative Stress in Leaves Of Chives (*Allium schoenoprasum*). Environ. Exp. Bot., 48:43-49.

EKINCI, R., AYTAÇ, S., BAŞBAĞ, S., ARSLANOĞLU, F., and AYAN, A. K., 2020. Lifli Bitki Üretiminde Mevcut Durum ve Gelecek. Türkiye Ziraat Mühendisliği IX Teknik Kongresi.

EL-ZIK, K.M., and THAXTON, P.M., 1989. Genetic Improvement for Resistance to Pests and Stresses in Cotton: In Integrated Pest Management Systems and Cotton Production. Science Publisher, New York, 344 p.

ERTEK, A., and KANBER, R., 2003. Effects of Different Drip Irrigation Programs on the Boll Number and Shedding Percentage and Yield of Cotton. Agricultural Water Management, 60 :1–11.

ESTEBAN, M. A., VİLLANUEVA, M. J., and LİSSARRAGUE, J. R., 2001. Effect of İrrigation on Changes in the Anthocyanin Composition of the Skin of cv Tempranillo (*Vitis vinifera* L) Grape Berries During Ripening. J. Sci. Food Agric. 81:409-420.

FARRANT M., 2000. A Comparison of Mechanisms of Desiccation Tolerance among Three Angiosperm Resurrection Plant Species. Plant Ecol., 151: 29-39.

FAVER, L., GERIK, J., THAXTON, M., and EL-ZIK M., 1996. Late Season Water Stress in Cotton: II. Leaf Gas Exchange and Assimilation Capacity. Crop Science, 36(4): 922–928.

FAZELİ, F., GHORBANLI M., and NIKNAM V., 2007. Effect of Drought on Biomass, Protein Content, Lipid Peroxidation and Antioxidant Enzymes in two Sesame Cultivars. Biologia Plantarum, 51: 98-103.

FLAGELLA, Z., GIULIANI, M.M., GIUZIO, L., VOLPI, C., and MASCI, S., 2010. Influence of Water Deficit on Durum Wheat Storage Protein Composition and Technological Quality. Eur. J. Agron., 33:197-207.

FLEXAS, J., and MEDRANO, H., 2002. Drought-Inhibition of Photosynthesis in C3 Plant: Stomatal and Non-Stomatal Limitation Revisited. Ann. Botany 89(2): 183-189.

FREDERICK, W. J., BRITOVSEK, G., CAIRNEY, J., ECKERT, C. A., 2006. The Path Forward for Biofuels and Biomaterials. Science, Vol. 311, Issue 5760, pp. 484-489

FU, J., and HUANG, B., 2001. Involvement of Antioxidants and Lipid Peroxidation in the Adaptation of two Cool-Season Grasses to Localized Drought Stress. Environ. Exp. Bot., 45: 105-114.

GERAVANDI, M., FARSHADFAR, E., KAHRIZI, D., 2011. Evaluation of Some Physiological Traits as Indicators of Drought Tolerance in Bread Wheat Genotypes. Russian Journal of Plant Physiology, 58: 69-75.

GRACE, S., and LOGAN, B., 2000. Energy Dissipation and Radical Scavenging by Plant Phenylpropanoid Pathway. Phiol. Trans. R. Soc. Lond. B., 355: 1499-1510.

GONG, Y., TOIVONEN P. M. A., LAU O. L., and WIERSMA P. A., 2001. Antioxidant System Level in 'Braeburn' apple in Related to its Browing Disorder. Bot. Bull. Acad. Sin., 42:259-264.

GOODING, M. J., ELLIS, R. H., SHEWRY, P. R., and SCHOFIELD, J. D., 2003. Effects of Restricted Water Availability on the Grain Filling, Drying and Quality of Winter Wheat. J. Cereal Sci. 37: 295-309.

GORHAM J., 1995. Betaines in Higher Plants – Biosynthesis and Role in Stress Metabolism, in Amino Acids and Their Derivatives in Higher Plants. Cambridge University Press, Cambridge, 171–203pp.

GRAHAM, P. H., and VANCE, C.P. 2003. Legumes: Importance and Constraints to Greater Use. Plant Physiology, 131: 872-877 pp.

GRIMES, D. W., and EL-ZIK, K. M.,1990. Cotton. Agronomy, 30: 741-773.

GUERFEL, M., BACCOURI, O., BOUJNAH, D., CHAIBI, W., and ZARROUK, M., 2009. Impacts of Water Stress on Gas Exchange, Water Relations, Chlorophyll Content and Leaf Structure in the two Main Tunisian Olive (*Olea europaea* L.) cultivars. Scientia Horticulturae, 119(3): 257–263.

GUIN W. M., SCHERMER A., LYNCH M., SUN TT., 1990. Differentiation-Specific Expression of Keratin Pairs. Cellular and Molecular Biology of Intermediate Filaments, 22: 301-334.

GUTTIERI, M.J., MCLEAN, R., STARK, J.C., and SOUZA, E., 2005. Managing Irrigation and Nitrogen Fertility of Hard Spring Wheats for Optimum Bread and Noodle Quality. Crop Sci., 45:2049-2059.

GUNEŞ, A., ÇIÇEK, N., INAL, A., ALPASLAN, M., ERASLAN, F., GUNERI, E., and GUZELORDU, T., 2006. Genotipic Responce of Chickpea (*Cicer arietininum* L.) Cultivars to Drought Stress Implemented at pre- and post-Anthesis Stages and Its Relations with Nutrient Uptake and Efficiency. Plant Soil Environment, 52: 368-376.

GÜNEŞ, M., ve AKTAŞ M., 2008. Su Stresinde Yetiştirilen Genç Mısır Bitkisinde Potasyum Uygulamasının Gelişme ve Evrim Üzerine Etkisi. OMÜ Zir. Fak Dergisi, 12: 33-36.

HALLIWELL, B., and GUTTERIDGE, J. M. C., 1999. Free Radicals in Biology and Medicine, Oxford University Press, Oxford, 1396 p.

HAN, B, and KERMODE A R., 1996. Dehydrin-like Proteins in Castor Bean Seeds and Seedlings are Differentially Produced in Responses to ABA and Water-Deficit-Related Stresses. J Exp Bot., 47: 933-939.

HAVLIN, L., BEATON, D., TISDALE, L., and NELSON, L., 2004. Soil Fertility and Fertilizers. An Introduction to Nutrient Management. Prentice Hall: Upper Saddle River. London, 124: 406–425.

HAYAT, S., HAYAT, Q., ALYEMENI, M. N., WANI, A.S., PICHTEL, J., and AHMAD, A., 2012. Role of Proline under Changing Environments A Review. Plant Signaling & Behavior 7:11, 1456–1466.

HE, X., WANG, J., and LİANG, G., 1995. Effects of Water Stress on Photochemical Function and Protein Metabolism of Photosystem II in Wheat Leaves. Physiol. Plant., 93: 771-777.

HEARN, B., 1975. Response of Cotton to Water and Nitrogen in a Tropical Environment. I. Frequency of Watering and Method of Application of Nitrogen. Journal of Agricultural Science, 84: 407–417.

HERNANDEZ, I., ALEGRE, L., and MUNNE- BOSCH, S., 2004. Drought- induced Changes in Flavonoids and Other Low Moleculer Weight Antioxidant in Cistus clusii Grown under Mediterranean Field Conditions. Tree Physiology, 24: 1301- 1311.

HOAGLAND D.R., and ARNON, D.I., 1950. The Water-Culture Method for Growing Plants Without Soil. Circ. 347. Univ. of Calif. Agric. Exp. Station, Berkley.

HOSSAIN, M. A., HOQUE, A., BURRITT, D., and FUJITA, M., 2014. Proline Protects Plants Against Abiotic Oxidative Stress: Biochemical and Molecular Mechanisms stress. Biologia Plantarum, 42, 249–257.

HU, L., WANG, Z., DU, H., and HUANG, B., 2010. Differential Accumulation of Dehydrins in Response to Water Stress for Hybrid and Common Bermudagrass Genotypes Differing in Drought Tolerance. Journal of Plant Physiology 167: 103–110.

HU, Y., and SCHMİDHALTER, U., 2001. Effects of Salinity and Macronutrient Levels on Micronutrients in Wheat. J. Plant Nutr., 24: 273–281.

IBA, K., 2002. Acclimative Responses to Temperature Stress in Higher Plants: Approaches of Gene Engineering for Temperature Tolerance. Annu. Rev. Plant Biol., 53: 225-245.

JALEEL C. A., MANIVANNAN P., LAKSHMANAN G. M. A., GOMATHINAYAGAM M., and PANNEERSELVAM R., 2008. Alterations in Morphological Parameters and Photosynthetic Pigment Responses of *Catharanthus Roseus* under Soil Water Deficits. Colloids Surf B Biointerfaces 61:298-303.

JENNE, E., RHOADES, H., YİEN, C., and HOWE, O., 1958. Change in Nutrient Element Accumulation by Corn with Depletion of Soil Moisture. Agron. J. 50: 71–80.

JONES, H. G., and CORLETT, J. E. 1992. Current Topics in Drought Physiology. J. Agric. Sci., 119: 291-296.

KAÇAR, M. M., 2007. Farklı Su ve Gübre Sistemlerinin Pamuk Bitkisinde Su Stresi Indeksinin Değişiminin Incelenmesi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarımsal Yapılar ve Sulama Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, Adana.

KAGE, H., KOCHLER, M., and STÜTZEL, H., 2004. Root Growth and Dry Matter Partitioning of Cauliflower under Drought Stress Conditions: Measurement and Simulation. Europ. J. Agronomy, 20: 379–394.

KAİSER, M., 1979. Reversible inhibition of the Calvin Cycle and Activation of the Oxidative Pentose Phosphate Cycle in Isolated Intact Chloroplasts by Hydrogen Peroxide. Biologia Plantarum, 145: 377-382.

KALAFETOĞLU, T., and EKMEKÇİ, Y., 2005. The Effect of Drought on Plants and
Tolerance Mechanisms. Journal of Science, 18: 723-740.

KANG, Y., WANG, R. WAN, S., HU, W., JIANG, S., and LIU, S., 2012. Effects of Different Water Levels on Cotton Growth and Water Use Through Drip Irrigation in an Arid Region with Saline Ground Water of Northwest. Agricultural Water Management, 109: 117– 126. China.

KARADEMIR, Ç., KARADEMIR, E., EKINCI, R., and GENÇER, O., 2009. Correlations and Pathco Efficient Analysis between Leaf Chlorophyll Content, Yield and Yield Components in Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) under Drought Stress Conditions. Agrobotanici Cluj- Napoca, 37 (2): 241-244.

KARADEMIR, Ç., KARADEMIR E., EKINCI, R., and BEREKATOĞLU, K., 2011. Yield and Fiber Quality Properties of Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) under Water Stress and Non-Stress Conditions. African Journal of Biotechnology, 10(59):12575-12583.

KARADEMIR, C., and GENCER, O., 2008. Yield and Tecnological Characteristics in Advanced Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) Lines under Drought Stres Conditions, 10th Meeting of Inder-Regional Cooperative Research Network on Cotton, 28 September-1 October, Greece.

KAVI KISHORE, P. B., SANGAM, S., AMRUTHA, R. N., LAXMİ, P. S., NAİDUNAIDU, K. R., RAO, K. R. S. S., RAO, S., REDDY, K. J., THERIAPPAN, P., and SREENIVASULU, N., 2005. Regulation of Proline Biosynthesis, Degradation, Uptake and Transport in Higher Plants: Its Implications in Plant Growth and Abiotic Stres Tolerance. Curr. Sci., 88:424-43.

KELEŞ, Y., and ÖNCEL, I., 2002. Response of Antioxidative Defence System to Temperature and Water Stres Combinations in Wheat Seedlings. Plant Science, 163: 783-790.

KEREPESI, I., and GALIBA, G.,2000. Osmotic and Salt Stress-Induced Alteration in Soluble Carbohydrate Content in Wheat Seedlings. Crop science, 40(2): 482-487.

KESSLER, B., 1961. Nucleic Acids as Factors in Drought Resistance of Higher Plants. Recent Advan. Bot., 2:1153-1159. KEYVAN, S., 2010. The Effects of Drought Stress on Yield, Relative Water Content, Proline, Soluble Carbohydrates and Chlorophyll of Bread Wheat Cultivars. Journal of Animal & Plant Sciences, 8: 1051-1060.

KHALID, K. H. A., 2006. İnfluence of Water Stress on Growth, Essential Oil, and Chemical Composition of Herbs (*Ocimum* sp.), Int. Agrophysics, 20:289-296.

KIRBAĞ ZENGIN, F. ve MUNZUROĞLU, Ö., 2006. Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) Fidelerinin Toplam Çözünebilir Protein, Prolin ve Klorofil Miktarları Üzerine Civa Klorürün ($HgCl_2$) Etkileri. Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 18: 25–30.

KIVILCIM, N., ŞAHİN, A., EKŞİ, İ., ÖZBEK, N., YOLCU, S., NAZA, İ., BİLGEN, F., İMAMOĞLU, A., SEZENER, V., GENÇYILMAZ, E., ve COŞKUN, R., 2005. Melezleme Islahı ile Kuraklığa Dayanıklı Pamuk Çeşitlerinin Geliştirilmesi. Tarım ve Köy işleri Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü, Nazilli Pamuk Araştırma Enstitüsü, Proje raporu, TAGEM proje no: 97/03/01/004.

KIM, J., MAHE, A., BRANGEON, J., and PRIOUL, J., 2000. A Maize Vacuolar Invertase, IVR2, is Induced by Water Stress. Organ/tissue Specificity and Diurnal Modulation of Expression. Plant Physiol., 124:71–84.

KIRDA, C. 1999. Crop Yield Response to Deficit Irrıgation. Kluwer aca. Pub., Dordrecht, The Netherlands, Pp. 258.

KISHITANI S., WATANABE K., YASUDA S., ARAKAWA K., and TAKABE T., 1994. Accumulation of Glycinebetaine During Cold Acclimation and Freezing Tolerance in Leaves of Winter and Spring Barley Plants. Plant, Cell and Environment, 17: 89–95pp.

KITAO, M., and LEİ, T., 2007. Circumvention of Over-oxcitation of PSII by Maintaining Electron Transport Rate in Leaves of Four Cotton Genotypes Developed under Long-Term Drought. Plant Biol., 9: 69–76.

KRIEG, D. R., 1997. Genetic and Environmental Factors Affecting Productivity of Cotton. Proc. Beltwide Cotton Prod. Res. Conf. Page: 1347.

KRIEG, D. R., 2000. Cotton water relations. In: D.M. Oosterhuis (ed). Proc. 2000 Cotton Research Meeting and Summaries of Cotton Research. Arkansas Agric. Exp. Sta., Special Report 198. P: 7-15.

KUSAKA, M., LALUSIN, A., and FUJIMURA, T., 2005. The Maintenance of Growth and Turgor in Pearl Millet (*Pennisetum glaucum* [L.] Leeke) Cultivars with Different Root Structures and Osmo-Regulation under Drought Stress. Plant Science, 168:1–14.

LAWLOR, D., 1995. The Effects of Water Deficit on Photoynthesis. Enviroment and Plant metabolism, 124: 129-160.

LEI Y., YIN, C., LI, C., 2006. Differences in Some Morphological, Physiological, and Biochemical Responses to Drought Stress in Two Contrasting Populations of Populus przewalskii. Physiol Planta, 127:182-191.

LEVITT, J., 1972. Responses of Plants to Environmental Stresses, Academic Press, New York, 2: 567-568.

LIANG, B., HUANG, X., ZHANG, G., ZHANG, F., and ZHOU, Q., 2006. Effect of Lanthanum on Plants under Supplementary Ultraviolet- B Radiation: Effect of Lanthanum on Flavonoid Contents in Soybean Seedlings Exposed to Supplementary Ultraviolet-B Radiation. J. Rare Earths, 24:613-623.

LICHTENTHALER, H. K., and WELLBURN, A. R., 1983. Determination of Total Carotenoids and Chlorophylls a and b of Leaf Extracts in Different Solvents. Biochemical Society Transactions 11:591–592.

LİMA, A., DAMATTA, M., PİNHEİRO, A., TOTOLA, M. and LOUREİRO, E., 2002. Photochemical Responses and Oxidative Stress in Two Clones of *Coffea canephora* under water deficit conditions. Environ. Exp. Bot., 47: 239-247.

LOUTFY, N., EL-TAYEB, M. A., HASSANEN, A. M., MOUSTAFA, M. F. M., SAKUMA, Y., and INOUHE, M. 2012. Changes in the Water Status and Osmotic Solute Contents in Response to Drought and Salicylic Acid Treatments in Four Different Cultivars of Wheat (*Triticum aestivum*). J. Plant Res., 125:173-184.

MADHAVA RAO K.V., and SRESTY T.V.S., 2000. Antioxidative Parameters in the Seedlings of Pigeon pea (*Cajanus cajan* L. Millspaugh) in Response to Zn and Ni Stresses. Plant Sci., 157:113-128.

MAMEDOV M. D., HAYASHI H., WADA H., MOHANTY P. S., PAPAGEORGIOU G. C., and MURATA N., 1991, Glycinebetaine Enhances and Stabilizes the Evolution of Oxygen and the Synthesis of ATP by Cyanobacterial Thylakoid Membranes. FEBS Letters, 294: 271– 274pp.

MANI, S., VAN DE COTTE, B., MONTAGUE, V., and VERBRUGGEN, N., 2002. Altered Levels of Proline Dehydrogenase Cause Hypersensitivity to Proline and its Analogs in Arabidopsis. Plant Physiol, 128: 73-83.

MARANI, A. 1973. Effects of Soil Moisture Stress on two Varieties of Upland Cotton in Israel. Exp. Agri. 7 (1): 225-239.

MARANI, A., and AMIRAV, A., 1971. Effects of Soil Moisture Stress on two Varieties of Upland Cotton in Israel. Exp. Agri., 7 (1): 213-224.

MARSCHNER, H., 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. 2nd edn. Academic Press, New York, pp. 889.

MARTINS A. P, SALGUEIRO, L., GONÇALVES, M. J., D. A., CUNHA, A. P., VILA, R., CAÑIGUERAL, S., MAZZONI, V., TOMI, F., and CASANOVA,

J., 2001. Essential Oil Composition and Antimicrobial Activity of Three Zingiberaceae from S. Tome e Principe. Planta Medica. 67(6):580-584.

MATYSIK, J., ALIA, BHALU. B. and MOHANTY, P., 2002. Molecular Mechanisms of Quenching of Reactive Oxygen Species by Proline under Stress in Plants. Current Science, 82: 525-532.

MCKERSIE, D., and LESHEM, Y., 1994. Stress and Stress Coping in Cultivated Plants. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 12: 456-486.

MCKERSIE, D. B., 2000. Oxidative Stress. – In: McKersie, D. B., Mycorrhiza-Eco-Physiology, Secondary Metabolites, Nanomaterials, Springer Press, Uttar Pradesh, 4, 299–320.

MCMICHAEL, B. L., OOSTERHUIS, D. M., ZACK, J. C., and BEYROUTY, C. A., 1999. Growth and Development of Root System. Cotton Physiology Book II. National Cotton Council, Memphis, TN.

MCWILLIAMS, D., 2003. Drought Strategies for Cotton. Cooperative Extension Service Circular 582, College of Agriculture and Home Economics, USA.

MERT, M., 2005: Irrigation of Cotton Cultivars Improves Seed Cotton Yield, Yield Components and Fibre Properties in the Hatay Region, Turkey. Acta Agricultural Scand., B 55: 44–50.

MILLS, C. I., 2010. Analysis of Drought Tolerance and Water Use Efficiency in Cotton, Castor, and Sorghum. Plant and Soil Science, Texas Tech University, Doctoral Dissertation, Lubbock-TX., Pp. 203.

MINOCHA, R., LONG, S., THANGAVEL, P., MINOCHA, S. C., EAGAR, C. and DRISCOLL, C. T., 2010. Elevation Dependent Sensitivity of Northern Hardwoods to Ca-addition at Hubbard Brook Experimental Forest, Forest Ecology and Managament, NH, USA, 260: 2115–2124.

MOGHAIEB, R., SANEOKA, H., and FUJİTA, K., 2004. Effect of Salinity on Osmotic Adjustment, Glycinebetaine Accumulation and the Betain Aldehyde Dehydrogenase Gene Expression in Two Halophytic Plants *Salicornia europaea* and *Suaeda maritima*. Plant Sci., 166: 1345-1349.

MOHANTY P. S., HAYASHI H., PAPAGEORGIOU G.C., and MURATA, N., 1993. Stabilization of the Mn-cluster of the Oxygen-Evolving Complex by Glycinebetaine. Biochimica et Biophysica Acta, 1144: 92–96pp.

MOLINARI, H. G. C, MARUR, C. C., VENDRUSCOLO, E. C. G., PİLEGGİ, M., SCAPİM, C. A., and VİEİRA, L. G. E., Stress Induced Synthesis of Proline Confers Tolerance to Water Deficit in Transgenic Wheat. Journal of Plant Physiolgy, 164:10 1667-1376 pp.

MORGAN, J., 1992. Osmotic Components and Properties Associated with Genotypic Differences in Osmoregulation in Wheat. Aust. J. Plant Physiol. 19: 67–76.

MUNDREE, G., BAKER, B., MOWLA, S., PETERS, S., MARAİS, S., WİLLİGEN, V., GOVENDER, K., MAREDZA, A., MUYANGA, S., FARRANT, M., and THOMSON, A., 2002. Physiological and Molecular Insights into Drought Tolerance. Afr. J. Biotechnol., 1:23-38.

MUNNÉ-BOSCH, S., and PEÑUELAS, J., 2004. Drought-induced oxidative stress in strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) growing in Mediterranean field conditions. 166: 1105-1110.

MULLER, E. and WHİTSHİTT, S., 1996. Plant cellular responses to water deficit. Plant Growth Regul., 20: 41-46.

NAKANO Y., and ASADA K., 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant and Cell Physiology, 22(3):867-880.

NIKOLAEVA, K., MAEVSKAYA, N., SHUGAEV, G., and BUKHOV, G., 2010. Effect of Drought on Chlorophyll Content and Antioxidant Enzyme Activities in Leaves of Three Wheat Cultivars Varying in Productivity. Russian Journal of Plant Physiology, 57(1): 87–95.

NYYSSÖLÄ A., KEROVUO J., KAUKINEN P., VON WEYMARN N., and REINIKAINEN T., 2000. Extreme halophiles synthesize betaine from glycine by methylation. Journal of Biological Chemistry, 275: 22196–22201pp.

ÖZTÜRK, A., and AYDIN, F., 2004. Effect of water stress at various growth stages on some quality characteristics of winter wheat. J. Agron. Crop Sci., 190:93-99.

PACE, P. F., CRALE, H.T., EL-HALAWANY, S.H.M., COTHREN, J.T., and SENSEMAN, S.A., 1999. Drought induced changes in shoot and root growth of young cotton plants. Journal Cotton Science, 3:183-187.

PALESE, A.M., NUZZO, V., FAVATI, F., PIETRAFESA, A., CELANO, G., and XILOYANNIS, C., 2010. Effects of water deficit on the vegetative response, yield and oil quality of olive trees (*Olea europaea* L., cv Coratina) grown under intensive cultivation. Sci. Hortic., 125:222-229.

PAPAGEORGIOU G.C., FUJIMURA Y., and MURATA N., 1991. Protection of the oxygen-evolving Photosystem II complex by glycinebetaine. Biochimica et Biophysica Acta, 1057: 361–366pp.

PAPAGEORGIOU G.C. and MURATA N., 1995. The unusually strong stabilizing effects of glycine betaine on the structure and function of the oxygen-evolving Photosystem II complex. Photosynthesis Research, 44: 243–252pp.

PARIDA, K., DAGAONKAR, S., PHALAK, S., UMALKAR, V., and AURANGABADKAR, P., 2007. Alterations in photosynthetic pigments, protein and osmotic components in cotton genotypes subjected to short-term drought stress followed by recovery. Plant Biotec. Rep., 1: 37-48.

PELLESCHI, S., ROCHER, P., and PRIOUL, L., 1990. Effect of water restriction on carbonhydrate metabolism and photosynthesis in mature maize leaves. Plant Cell and Environment, 20:493-503.

PETTIGREW, W.T., 2004. Moisture deficit effect on cotton lint yield, yield components and boll distribution. Agron. Journal, 96: 377-383.

PEYNIRCIOĞLU, C., 2014. Kuraklik stresine dayanikli pamuk (*Gossypium hirsutum* L.) çeşit islahinda kullanilacak pamuk genotiplerinin belirlenmesi. Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tez, Aydın, Türkiye.

PRASAD T. K., ANDERSON M. D., and STEWART C. R., 1994. Acclimation, hydrogen peroxide, and abscisic acid protect mitochondria against irreversible chilling injury in maize seedlings. Plant Physiology, 105: 619–627pp.

RABERT, G. A., MANIVANNAN, P., SOMASUNDARAM, R., and PANNEERSELVAM, R.,2014. Triazole compounds alters the antioxidant and osmoprotectant status in drought stressed *Helianthus annuus* L. Plants. Emırates Journal of Food and Agriculture, 26(3): 265-276.

RAHMAN, H., MALIK, S. A., and SALEEM, M., 2004. Heat Tolerance of Upland Cotton During the Fruiting Stage Evaluated Using Cellular Membrane Thermostability. Field Crops Research, 85:149–158.

RAMANJULU, S., and BARTELS, D., 2002. Drought and Desiccation-Induced Modulation of Gene Expression in Plants. Plant Cell Environ., 25: 141–151.

REDDY, R., KAKANI, G., ZHAO, D., KOTI S., and GAO, W., 2004. Interactive Effects of Ultraviolet-B Radiation and Temperature on Cotton Physiology, Growth, Development and Hyperspectral Reflectance. Photochemistry and Photobiology, 79: 416–427.

RHARRABTI, Y., ROYO, C., VILLEGAS, D., APARICIO, N., and GARCÍA DEL MORAL, L. F., 2003. Durum Wheat Quality in Mediterranean Environments. I. Quality expression under different zones, latitudes and water regimes across Spain. Field Crop Res., 80: 123-131

RHODES, D., and HANSON A. D., 1993. Quaternary Ammonium and Tertiary Sulfonium Compounds in Higher-Plants. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol., 44: 357–384.

RICCARDI F, GAZEAU P, VIENNE D, and ZIVY, M.,1998. Protein Changes in Response to Progressive Water Deficit in Maize, Quantitative Variation and Polypeptide Identification. Plant Physiol 117: 1253-1263.

RITCHIE, G. L., BEDNARZ, C. W., JOST, P. H., and BROWN, S. M., 2004. Cotton Growth and Development. Cooperative Extension Service and The University of Georgia College of Agricultural and Environmental Sciences. Bulletin, 1252.

RODRIGUES, M. L., PACHECO, C. M. A., and CHAVES, M. M., 1995. Soil Plant Relations, Root Distribution and Biomass Portioning in *Lupinus albus* L. under Drought Conditions. J. Exp. Bot., 46:947-956.

RODRIGUEZ, S., WILHELMI, R., CERVILLA, L., BLASCO, B., RIOS, J., ROSALES, A., ROMERO, L., and RUIZ, J., 2010. Genotypic Differences in Some Physiological Parameters Symptomatic for Oxidative Stress Under Moderate Drought in Tomato Plants. Plant Science, 178: 30–40.

RUDOLPH, A. S., CROWE, J. H., and CROWE, L. M., 1986. Effects of Three Stabilizing Agents – Proline, Betaine, and Trehalose – on Membrane Phospholipids, Archives of Biochemistry and Biophysics, 245: 134–143pp.

SAİRAM, K., DESHMUKH, S., and SAXENA, C., 1998. Role of Antioxidant Systems in Wheat Cultivars Tolerance to Water Stress. Biologia Plantarum, 41: 387-394.

SAIRAM, K., SHUKLA, S., and SAXENA, C., 1997. Stress Induced Injury and Antioxidant Enymes in Relation to Drought Tolerance in Wheat Genotypes. Biologia Plantarum, 40: 357-364.

SAIRAM, R.K., and SAXENA, D.C., 2000. Oxidative Stress and Antioxidants In Wheat Genotypes: Possible Mechanism of Water Stress Tolerance. Journal of Agronomy and Crop Science, 184: 55-61.

SAIRAM R. K., CHANDRASEKHAR, V., and SRIVASTAVA, G. C., 2001. Comparison of Hexaploid and Tetraploid Wheat Cultivars in Their Responses to Water Stress. Biologia Plantarum, 44: 89–94.

SALISBURY, F.B., and ROSS, C.W., 1992. Mineral Nutrient. Plant Physiology, Wadsworth Inc., California, pp. 116–135.

SALVUCCI, E., and CRAFTS-BRANDNER, J., 2004. Inhibition of Photosynthesis by Heat Stress: The Activation State of Rubisco as a Limiting Factor in Photosynthesis. Physiologia Plantarum, 120:179–186.

SAMARAH, N., MULLEN, R., and CIANZIO, S., 2004. Size Distribution and Mineral Nutrients of Soybean Seeds in Response to Drought Stress. Journal of Plant Nutrition, 27: 815–835.

SÁNCHEZ, J., DE ANDRÉS, F., TENORIO, L., and AYERBE, L., 2004. Growth of Epicotyls, Turgor Maintenance and Osmotic Adjustment in Pea Plants (*Pisum sativum* L.) Subjected to Water Stress. Field Crops Res., 86: 81–90.

SCHOBERT B., 1977. Is There an Osmotic Regulatory Mechanism in Algae and Higher Plants?, Journal of Theoretical Biology, 68: 17–26 pp.

SEELANAN, T.A., SCHNABEL, K., and WENDEL, J.F., 1997. Congruence and Consensus in the Cotton Tribe. Systematic Botany, 22:259-290.

SEZENER, V., ÖZBEK, N., ERDOĞAN, O., BOZBEK, T., YAVAŞ, İ., and ÜNAY, A., 2007. Variety x Environment Interaction in Cotton Yield Trails. International Journal of Agricultural Research, 2 (2): 175-179.

SGHERRY, M., PİNZİNO, C., and NAVARİ-IZZO, F., 1996. Sunflower Seedlings Subjected to Increasing Water Stress by Water Deficit: Changes in O_2^- Production Related to the Composition of Thylakoid Membranes. Physiol. Plant., 96: 446- 452.

SHARP, K. H. and RAVEN, E., 2003. Enzyme-substrate Interactions in Ascorbate Peroxidase, University of Leicester, Cambridge, UK, NPR.

SHEN, B., JENSEN, G., and BOHNERT, J., 1997. Mannitol Protects Against Oxidation by Hydroxyl Radicals. Plant Physiol., 115: 527–532.

SHERWİN, W. and FARRANT, M., 1998. Protection Mechanisms Against Excess Light in the Resurrection Plants *Craterostigma wilmsii* and *Xerophyta viscosa*. Plant Growth Regul., 24: 202-210.

SHIMSHI, D., and MARANI, A., 1971. Effects of Soil Moisture Stress on Two Varieties of Stressed Cotton Leaves. Crop Science, 17: 905-915.

SHİNOZAKİ, K. and YAMAGUCHİ-SHİNOZAKİ, K., 1996. Molecular Responses to Drought and Cold Stress. Current Opion Biotechnology, 7: 161-167.

SHINOZAKI, K., YAMAGUCHİ-SHİNOZAKİ, K., 1997. Gene Expression and Signal Transduction in Water-Stress Response. Plant Physiol., 115: 327-334.

SIEFERMAN-HARMS, D., 1987. The Light Harvesting Function of Carotenoids in Photosynthetic Membrane. Plant Physiol., 69:561-568.

SİEFERMANN-HARMS, D., and ANGERHOFER, J., 1998. A Evidence for an O_2^- Barrier in the Light-harvesting Chlorophyll-a/b-protein Complex LHC II. Photosynth Res., 55: 83-94.

SIMOVA-STOILOVA L., DEMIREVSKA, K., PETROVA, T., TSENOV, N., and FELLER, U., 2008. Antioxidative Protection in Wheat Varieties Under Severe Recoverable Drought at Seedling Stage. Plant Soil Environ., 54: 529-536.

SINGER, M., HELMY, I., KARAS, N., and ABOU-HADID, F., 2003. Influences of Different Water-Stress Treatments on Growth, Development and Production of Snap Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Acta Hort., 614: 605-611.

SINGH, C., KUMAR, V., PRASAD, I., PATIL, V. R., and RAJKUMAR, B. K., 2016. Response of Upland Cotton (*G. hirsutum* L.) Genotypes to Drought Stress Using Drought Tolerance Indices. Journal Crop Science Biotechnol. 19: 53-59.

SMART, R.E. and BINGHAM, G.E., 1974. Rapid Estimates of Relative Water Content. Plant Physiol., 53: 258-260.

SMİRNOFF, N., 1993. The Role of Active Oxygen in the Response of Plants to Water Deficit and Desiccation. New Phytol., 125: 27–58.

SMİRNOFF, N., 1998. Plant Resistance to Environmental Stresses. Current Opinion Biotechnol., 9: 214-219.

SOIL SURVEY LABORATORY METHODS MANUAL., 2004. Soil Survey Investigation Report United States Department of Agriculture Natural Resources Conservation Sevice No:42. Version 4.0 November.

SZABADOS, L. and SAVOURE, A., 2010. Proline: A Multifunctional Amino Acid, Trends in Plant Science, 15: 89–97.

SZÉKELY, G., ABRAHÁM, E., CSÉPLO, A., RİGÓ, G., ZSİGMOND, L., CSİSZÁR, J., AYAYDİN, F., STRİZHOV, N., JÁSİK, J., SCHMELZER, E., KONCZ, C., and SZABADOS, L., 2008. Duplicated P5CS Genes of Arabidopsis Play Distinct Roles in Stress Regulation and Developmental Control of Proline Biosynthesis. Plant Journal, 53: 11–28.

ŞAHİN, A., 1997. Pamuk Tarımında Kuraklığa Karşı Alınması Gerekli Önlemler. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü, Nazilli Pamuk Araştırma Enstitüsü Raporu, Yayın No: 19.

ŞAHİN, A., 2000. Melezleme Islahı ile Kuraklığa Dayanıklı Pamuk Çeşitlerinin Geliştirilmesi. Pamuk Araştırma İstasyonu Müdürlüğü Yayınları. Nazilli.

TAMBUSSI, E.A., CASADESUS, J., MUNNE-BOSCH, S., and ARAUS, J.L., 2002. Photoprotection in Water-Stressed Plants of Durum Wheat (*Triticium turgidum* var. Durum): Changes in Chlorophyll Flouorescence Spectral Signature and Photosynthetic Pigments. Funct. Plant Biol., 29:35-44.

TATAR O, and GEVREK, M. N., 2008. Influence of Water Stress on Proline Accumulation, Lipid Peroxidation and Water Content of Wheat. Asian. J Plant Sc. 7: 409-412.

TEKINEL, O., and KANBER, R. 1978. Çukurova Koşullarinda Pamuk Bitkisinin Fenolojik Görüntüsüne Göre Sulama Zamanının Saptanması Üzerine Bir Araştırma. Ç.Ü. Zirat Fakültesi Yıllığı, Yıl.9, Sayı 1, Ayrı Baskı, 32-34. Adana.

TEKINEL, O., and KANBER, R., 1979. Çukurova Koşullarinda Kısıntılı Su Kullanma Durumunda Pamuğun Su Tüketimi ve Verimi. Toprak-Su Araşt. Enst. Yayın No:98, Rapor Yayın No: 48, s: 39.

TERZI, R., SAĞLAM, A., KUTLU, N., and KADIOĞLU, A., 2010. İmpact of Soil Drought Stress on Photochemical Efficiency of Photosystem II and Antioxidant Enzyme Activities of *Phaseolus vulgaris* Cultivars. Turk. J. Bot., 34: 1-10.

TESTER, M., and LEIGH, A., 2001. Partitioning of Nutrient Transport Process in Roots. J. Exp.Bot., 52: 445-457.

THIMMANAIK, S., KUMAR, G., KUMARI, J., SURYANARAYANA, N., and SUDHAKAR, C., 2002. Photosynthesis and the Enzymes of Photosynthetic Carbon Reduction Cycle in Mulbery During Water Stress and Recovery. Photosynthetica, 40: 233-236.

TÜRK, H., ERDAL, S., GENISEL, M., ATICI, O., DEMIR, Y. and YANMIS, D.,2014. The Regulatory Effect of Melatonin on Physiological, Biochemical

and Molecular Parameters in Cold-Stressed Wheat Seedlings. Plant Growth Regul., 74 (2): 139-152 pp.

TÜRKAN, İ., BOR, M., ÖZDEMİR, F., and KOCA, H., 2005. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant *P. acutifolius* Gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. Plant Science, 168: 223–231.

TÜRKAN, İ., and DEMİRAL, T., 2004. Does Exogenous Glycinebetaine Affect Antioxidative System of Rice Seedlings Under Nacı Treatment?. Journal of Plant Physiology, 161: 1089-1100.

ULLAH, I.R., 2008. Genotypic Variation for Drought Tolerance in Cotton (*Gossypium hirsutum* L.): Leaf Gas Exchange and Productivity. Flora, 203: 105–115.

USDA, 2019. Cotton World Markets and Trade, World Production, Markets and Trade Reports, https://www.fas.usda.gov/data_analysis/scheduled-reports-2019. Erişim tarihi: 15.10.2020.

ÜNLÜ, M., KANBER, R., KOÇ, L., TEKIN, S., and KAPUR, B. 2011. Effects of Deficit Irrigation on the Yield and Yield Components of Drip Irrigated Cotton in a Mediterranean Environment. Agricultural Water Management, 98: 597–605.

VALENTOVIČ, P., LUXOVÁ, M., KOLAROVIČ, L., and GAŠPARÍKOVÁ, O., 2006. Effect of Osmotic Stress on Compatible Solutes Content, Membrane Stability and Water Relations in Two Maize Cultivars. Plant Soil Environ., 52: 186–191.

VANDER WİLLİGEN, C., PAMMENTER, W., MUNDREE, G., and FARRANT, M., 2001. Some Physiological Comparisons Between the Resurrection Grass, Eragrostis Nindensis and the Related Desiccation-Sensitive Species Eragrostis curvula. Plant Growth Regul., 35: 121-129.

VANDER WİLLİGEN, C., MUNDREE, G., and FARRANT, M., 2002. Tonoplast Intrinsic Proteins in the Resurrection Grass. *Eragrostis nindensis*, Gordon Conferance, Oxford, UK, pp. 563.

VARTANİAN, N. P., L. HERVOCHON, MARCOTTE, and F. LARHER. 1992. Proline Accumulation During Drought Rhizogenesis in *Brassica napus* var. *oleifera*. J. Plant Physiol. 5: 623-628.

WANG, J.P., MAO, X.G., JING, R.L., LI, R.Z., and CHANG, X.P., 2009. Single Nucleotide Polymorphism of Tacrt-D Gene Associated with Drought Resistance in Wheat. Germplasm Sci. Agric Sin. 41:3983-3990.

WANG Y. B. S., ZHAO, T., QU, X., YUAN, L., ZHAO, X., HUIJIE Z., 2011. Effect of Nitric Oxide Treatment on Antioxidant Responses and Psba Gene Expression in Two Wheat Cultivars During Grain Filling Stage Under Drought Stress and Rewatering. Acta Physiol Plant, 33:1923-1932.

WEİ, Y.H., and PANG, C.Y., 2005. The Role of Mitocondria in Human Aging Process, Biotech International, 17: 8-13, 2005.

WEIGHTMAN, R.M., MILLAR, S., ALAVA, J., FOULKES, M.J., FISH, L., and SNAPE, J.W., 2008. Effects of Drought and the Presence of the 1BL/1RS Translocation on Grain Vitreosity, Hardness and Protein Content in Winter Wheat. J. Cereal Sci., 47: 457-468.

WISEMANN, H., and HALLİWELL, B., 1996. Damage to DNA by Reactive Oxygen and Nitrogen Species: Role in Inflammatory Disease and Progression to Cancer. Biochem. J., 313: 17-29.

WRONA, A. F., 2000. Factors Affecting Water Use, Newsletter of the Cotton Physiology Education Program, National Cotton Council, Vol:1 No:1.

WU, J., WANG, Y., and ZHU, C., 2011. Overexpression of a Cotton Cyclophilin Gene In Transgenic Tobacco Plants Confer Dual Tolerance to Salt Stres and *Pseudomanas syringae*. Plant Phys.,12: 79-61.

WYN JONES, R. G., and STOREY, R., 1981. Betaines in the Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants. Academic Press, New york. 171–204 pp.

XIAOQIN, Y., JIANZHOU C., and GUANGYIN, W., 2009. Effects of Drought Stress and Selenium Supply on Growth and Physiological Characteristics of Wheat Seedlings. Acta Physiol Plant. 31:1031-1036.

YAISH, M. W., 2015. Proline Accumulation is a General Response to Abiotic Stress in the Date Palm Tree (*Phoenix dactylifera* L.), Genetics and Molecular Research, 14(3): 9943–9950.

YANG, J.C, ZHANG, J. H., WANG, Z. Q., ZHU, Q. S., and WANG, W., 2001. Remobilization of Carbon Reserves in responses to Water Deficit During Grain Filling of Rice. Field Crops Research, 71:47-55.

YASAR, F., TURKMEN, S., and ELLİALTİOGLU, Ş., 2006. Determination of Antioxidant Activities in Some Melon (*Cucumis melo* L.) Varieties and Cultivars Under Salt Stress. J. Hortic. Sci. & Biotec. 81: 627-630.

YASAR, F., 2007. Effects of Salt Stress on Ion and Lipidperoxidasion Content in Green Beans Genotypes. Asian J. Chem., 19: 1165-1169.

YAZAR, A., SEZEN, M., and SESVEREN, S., 2002. LEPA and Trickle Irrigation Of Cotton in the Southeast Anatolia Project (GAP) Area in Turkey. Agric. Water Manage., 54: 189–203.

YILMAZ, E., DAĞDELEN, N., ve SEZGİN, F., 1998. Son Su Uygulama Zamanının Pamukta Su Verim Ilişkileri Üzerine Etkisi. Ege Bölgesi 1. Tarım Kongresi, 7-11 Eylül, Aydın, s. 53-61.

ZHANG, L., ZHANG, Z., DU, V., LI, W., LUO, H., CHOW, S., and ZHANG, F., 2010. Leaf Wilting Movement Can Protect Water-Stressed Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) Plants Against Photoinhibition of Photosynthesis and Maintain Carbon Assimilatin in the Field. J. Plant Biol., 53: 52–60.

ZHANG, L., PENG, J., CHEN, T. T., ZHAO, X. H., ZHANG, S. P., LİU, S. D., DONG, H. L., FENG L., and YU, S. X., 2014. Effect of Drought Stress on Lipid Peroxidation and Proline Content in Cotton Roots. The J. of Animal and Plant Sci., 24(6): 1729-1736.

ZHU, K., 2002. Salt and Drought Stress Signal Transduction in Plants. Annu. Rev.Plant Biol., 53: 247-273.

ZLATEV, Z., and STOTANOV, Z., 2005. Effect of Water Stress on Leaf Water Relations of Young Bean Plants. J. Central Eur. Agric., 6(1): 5-14.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı **:** Nimet KILINÇOĞLU

EĞİTİM

Derece	**Adı, İlçe, İl**	**Yılı**
Lise	: Şanlıurfa Anadolu Lisesi, Şanlıurfa	2006
Üniversite	: Gazi Üniversitesi, Ankara	2010
Yüksek Lisans	: Harran Üniversitesi, Şanlıurfa	2013

UZMANLIK ALANI: Bitki Fizyolojisi

YABANCI DİLLER: Almanca**,** İngilizce

YER ALDIĞI ÇALIŞMALAR ve YAYINLAR:

LİSANS:
National Geographic, Türkiye'nin Nadir Çiçekleri Tehlike Altında, Mart 2010 sayısı.

YÜKSEK LİSANS:
Projeler:
Proje adı: Pamukta sıcaklıkla ilgili aday genlerin belirlenmesi (TÜBİTAK 1002 bursiyeri- Project No. 110O228) Yayını: Identification of heat responsive genes in cotton. BIOLOGIA PLANTARUM 58 (3): 515-523, 2014. DOI: 10.1007/s10535-014-0414-9

Proje adı: Bor noksanlığı ve toksisitesinin bazı hibrit mısır çeşitlerinin temel fizyolojik, biyokimyasal ve anatomik özelliklerinde meydana getirdiği değişimlerin araştırılması (TÜBİTAK 1001 bursiyeri- Proje no: 110 T 260) Yayını: Determination of reliable house keeping gene(s) for qPCR in maize under different boron dosages. New Biotechnology · Volume 31S · July 2014.
http://dx.doi.org/10.1016/j.nbt.2014.05.975

Proje adı: Farklı bor dozlarının bezelye hatlarının temel fizyolojik, biyokimyasal ve anatomikl özellikleri üzerine etkisinin belirlenmesi (Tübitak – 110 O527) yayını: Evaluation of serine carboxypeptidase (*PsCP*) gene expression in *Pisum arvense* L. grown under different boron levels. New Biotechnology · Volume 29S · September 2012. http://dx.doi.org/10.1016/j.nbt.2012.08.377

Yüksek lisans Tezi: Pamuk Çeşitlerinde (*Gossypium hirsutum* L.) Kuraklık Stresi Etkilerinin Fizyolojik Olarak İncelenmesi (HÜBAK- Proje no: 1197)
Danışmanı: Tijen Demiral

DOKTORA:

Proje adı: Farklı Azot dozları ve Su seviyelerin pamuğun (Gosypium hirsutum L.) Fizyolojik Parametrelere etkisi (Hübak- Proje no: 17214). Projenin Yayınları: Harran Ovası Koşullarında Farklı Azot Dozları ve Su Seviyelerinin Pamuk (*Gossypium Hirsutum* L.) Bitkisinde Bazı İyon Miktarlarına Etkisi, ICONTECH Internatıonal Journal Of Surveys, Engıneering, Technology. ISSN 2717-7270. Doi: 10.46291/ICONTECHvol4iss2pp48-68.

Sözlü Sunum: Harran Ovası koşullarında farklı azot dozları ve su seviyelerinin pamuk (G*ossypium hirsutum* L.) bitkisinde bazı fizyolojik parametrelere etkisi. 2nd International Eurasian Conference on Science, Engineering and Technology (EurasianSciEnTech 2020), October 07-09, 2020.

Proje adı: Kuraklık stresi altındaki pamuk bitkisine bazı osmotik koruyucularının etkisinin Fizyolojik ve biyokimyasal etkilerinin araştırılması (Doktora tezi) (Hübak-P. No: 18162) Yayını: The Effect of Exogenous Proline Application on Cotton Plant (*Gossypium hirsutum* L.) Under Drought Stress on Some Physiological Parameters. 2020. *J. Biol.* 4(2): 126-133. DOI: 10.31594/commagene.783027

Proje adı: Organik gübrelerin Tritikale (Triticale spp) ve Arpa (*Hordeum vulgare*) bitkisinde bazı fizyolojik ve biyokimyasal özellikler üzerine etkileri (HÜBAK- P. No:18204). Yardımcı araştırıcı (devam ediyor)

Proje adı: Farklı organik gübrelerin bezelye bitkisi üzerindeki fizyolojik ve biyokimyasal etkilerinin araştırılması (HÜBAK- P. No:18266). Yardımcı araştırıcı (devam ediyor)

Proje adı: Farklı organik gübrelerle yetiştirilen bezelye bitkisinin (Pisum sativum L.) besin elementi üzerindeki etkisi (HÜBAK- P. No:19379). Yardımcı araştırıcı (devam ediyor)

Proje adı: Şanlıurfada yetişen Glycyrrhiza L. bitki türlerinin yaprak, kök ve meyvesinde ağır metal incelenmesi (HÜBAK- P. No:15151). Yardımcı araştırıcı (devam ediyor)

Proje adı: Şanlıurfada doğal olarak yetişen Glycyrrhiza L. bitki türlerinin yaprak, kök ve meyvelerinde kül, protein, nişasta, selüloz, makro ve mikro elementlerin belirlenmesi (HÜBAK- P. No:15152). Yardımcı araştırıcı (devam ediyor)