T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇOKLU STRESLERE MARUZ BIRAKILAN ÇELTİK (*ORYZA SATIVA* L.) YAPRAKLARINDA EKSOJEN SKANDİYUM (Sc)'UN REAKTİF OKSİJEN TÜRLERİ (ROS) ve ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Fevzi ELBASAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Haziran- 2019
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÇOKLU STRESLERE MARUZ BIRAKILAN ÇELTİK (*ORYZA SATIVA* L.) YAPRAKLARINDA EKSOJEN SKANDİYUM (Sc)'UN REAKTİF OKSİJEN TÜRLERİ (ROS) ve ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Fevzi ELBASAN

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Evren YILDIZTUGAY

2019, 81 Sayfa

Jüri
Prof.Dr. Mustafa KÜÇÜKÖDÜK
Doç.Dr. Evren YILDIZTUGAY
Doç.Dr. Ceyda ÖZFİDAN-KONAKÇI

Tuz ve/veya kuraklık stresleri bitkide, sodyum (Na^+) klorür (Cl^-) alımını, bitki büyüme ve gelişimini olumsuz yönde etkileyen ve bunların sonucunda reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşmasına neden olan en önemli stres faktörleri arasındadır. Bunlara bağlı olarak kloroplastlarda süperoksit anyon radikali ($O_2^{\bullet-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali ($OH^{\bullet}$) gibi ROS üretiminde artışa neden olmaktadır. Bu çalışmanın amacı, tuz (100 mM) ve/veya kuraklık (PEG %5) altındaki çeltik (*Oryza sativa* L.) fidelerindeki fotosentetik, biyokimyasal ve fizyolojik parametreler üzerine nadir toprak elementlerinden (NTE) olan skandiyum'un (Sc) (25−50μM) etkilerinin değerlendirmektir. Sonuçlar, stres koşulları altında büyüme (RGR), bağıl su içeriği (RWC), ozmotik potansiyel (Ψ_Π) ve fotosentetik verimde (F_v/F_m) önemli azalmalara neden olduğunu göstermiştir. Stres koşullarında prolin içeriklerinde önemli değişimler olmamasına rağmen, kombine stres uygulaması dışındaki Sc (25 μM) uygulamasında prolin içeriklerinde artış olmuştur. Tuz ve/veya kuraklık stresleri altındaki çeltik fidelerinde süperoksit dismutaz (SOD) katalaz (CAT) peroksidaz (POX) ve glutatyon redüktaz (GR) aktivitelerinde azalmalar görülmüştür. Bunlardan dolayı tuz ve/veya kuraklık stresiyle hidrojen peroksit (H_2O_2) ve lipid peroksidasyonu (TBARS miktarı) artış gözlemlenmiştir. Glutatyon-S-transferaz (GST) ve NADPH oksidaz (NOX) aktivitelerinde önemli değişimler görülmemiştir. Stresle birlikte Sc uygulamaları antioksidan enzim aktivitelerini indüklemiştir. Sonuç olarak, Sc ve stres faktörleri çeltik bitkisinde stresle artan oksidatif hasarın etkilerini iyileştirmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan enzim, çeltik (*Oryza sativa* L.), kuraklık, oksidatif stres, skandiyum, tuz

ABSTRACT

MS THESIS
EFFECTS OF EXOGENOUS SCANDIUM (Sc) ON REACTIVE OXYGEN SPECIES (ROS) AND ANTIOXIDANT DEFENSE SYSTEM IN LEAVES OF RICE (*ORYZA SATIVA* L.) SEEDLINGS EXPOSED TO MULTIPLE STRESSES

Fevzi ELBASAN

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY

Advisor: Assoc.Prof.Dr. Evren YILDIZTUGAY

2019, 81 Pages

Jury
Prof.Dr. Mustafa KÜÇÜKÖDÜK
Assoc.Prof.Dr. Evren YILDIZTUGAY
Assoc.Prof.Dr Ceyda ÖZFİDAN-KONAKÇI

Salt and / or drought stresses are among the most important stress factors in the plant, which affect the uptake of sodium (Na^+) chloride (Cl^-) in a negative way, which leads to the formation of reactive oxygen species (ROS). Depending on these, it causes an increase in ROS production such as superoxide anion radical ($O_2^{\bullet-}$), hydrogen peroxide (H_2O_2) and hydroxyl radical ($OH^{\bullet}$) in chloroplasts. The aim of this study was to evaluate the effects of the scandium (Sc) (25–50μM) one of the rare earth elements (REE), on photosynthetic, biochemical and physiological parameters in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings under salt (100 mM) and / or drought (PEG %5). The results showed that growth (RGR), relative water content (RWC), osmotic potential (Ψ_Π) and photosynthetic efficiency (Fv/Fm) resulted in significant reductions under stress condition. Although there were no significant changes in the content of proline under stress conditions, there was an increase in proline contents in Sc (25 μM) application except for the combined stress applications. Decreases in the activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POX), and glutathione reductase (GR) were observed in rice seedlings under salt and/or drought stresses. Therefore, hydrogen peroxide (H_2O_2) and lipid peroxidation (amount of TBARS) increased with salt and/or drought stress. There were no significant changes in the activities of glutathione-S-transferase (GST) and NADPH oxidase (NOX). Sc applications with stress induced antioxidant enzyme activities. As a result, Sc and stress factors ameliorate the effects of oxidative damage increased by stress in rice plant.

Keywords: Antioxidant enzyme, rice (*Oryza sativa* L.), drought, oxidative stress, scandium, salt

ÖNSÖZ

Deneyim, bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren, desteğini her zaman yanımda hissettiğim danışman hocam Sayın Doç.Dr. Evren YILDIZTUGAY'a en içten teşekkürlerimi sunarım. Bizlere bu imkanları sağlayan ve tüm çalışmalarımızda desteğini esirgemeyen hocam Sayın Prof.Dr. Mustafa KÜÇÜKÖDÜK'e en içten teşekkürlerimi sunarım. Tez konumun belirlenmesinde ve analiz sonuçlarımın değerlendirilmesindeki yardımlarından dolayı Sayın Doç.Dr. Ceyda ÖZFİDAN-KONAKÇI hocama teşekkür ederim. Tez çalışmamın hazırlanmasında, denemelerin kurumasında ve analiz süreçlerinde her zaman yanımda olan arkadaşım Büşra ZENGİN'e ve emeği geçen herkese teşekkür ederim.

Her anımda yanımda bulunan başta ailem olmak üzere ve tüm tez çalışmamda desteğini gördüğüm Tuğba KATIRCI'ya en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın gerçekleştirilmesinde maddi destek sağlayan S.Ü. Bilimsel Araştırmalar Koordinatörlüğü'ne (BAP - 18201079 nolu proje) katkılarından dolayı teşekkür ederiz.

Fevzi ELBASAN

KONYA-2019

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **i**

ABSTRACT ..... **ii**

ÖNSÖZ ..... **iii**

İÇİNDEKİLER ..... **iv**

ŞEKİLLER ..... **vi**

ÇİZELGELER ..... **viii**

SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **ix**

1. GİRİŞ **1**

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI **5**

2.1. Tuzluluğun Bitki Büyüme Parametreleri ve Reaktif Oksijen Türleri Üzerine Etkileri 8
2.2.Kuraklık stresinin bitki büyüme parametreleri ve reaktif oksijen türleri üzerine etkileri 11
2.3. Skandiyumun Bitki Üzerine Etkileri 13

3. MATERYAL VE YÖNTEM **15**

3.1. Tohumların Temini ve Saklanması 15
3.2. Uygulama Dozlarının Belirlenmesi ve Denemelerin Kurulması 15
3.3. Fizyolojik Ölçümler 16
3.3.1. Yaprakların nisbi su içerikleri 16
3.3.2. Bağıl sürgün büyüme oranı 16
3.3.3. Yaprakların ozmotik potansiyel değişimleri 17
3.4. Klorofil Fluoresans Ölçümleri 17
3.5. Çeltik Yapraklarında Gerçekleştirilen Biyokimyasal Parametre Ölçümleri 17
3.5.1. Yaprakların protein içeriklerinin tespiti 18
3.5.2. Lipid peroksidasyon oranlarının belirlenmesi 18
3.5.3. Yapraklardaki prolin değişimlerinin belirlenmesi 19
3.5.4. Yaprakların hidrojen peroksit içeriklerinin belirlenmesi 19
3.5.5. Yaprak enzim ekstraktlarının hazırlanması 19
3.5.6. Antioksidan enzim aktivitelerinde meydana gelen değişimlerin belirlenmesi 20
3.5.6.1. Süperoksit dismutaz enzim aktivitelerinin ve izozim profillerinin belirlenmesi 20
3.5.6.2. Katalaz enzim aktivitesinin belirlenmesi 21
3.5.6.3. Peroksidaz enzim aktivitesinin belirlenmesi 21
3.5.6.4. Askorbat peroksidaz enziminin aktivite tayini 21
3.5.6.5. Glutatyon redüktaz enziminin aktivite tayini 22
3.5.6.6. Monodehidroaskorbat redüktaz enziminin aktivite tayini 22
3.5.6.7. Dehidroaskorbat redüktaz enzim aktivitesinin belirlenmesi 23

3.5.6.8. NADPH oksidaz aktivitesi 23
3.5.6.9. Glutathione -S- Transferaz aktivitesinin belirlenmesi 23
3.6. İstatistiksel Analizler 23

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA 24

4.1. Büyüme Parametrelerinde Meydana Gelen Değişimler 24
4.2. Klorofil Fluoresans Ölçümleri 27
4.3. Çeltik Yapraklarında Gerçekleştirilen Biyokimyasal Analizlerin Sonuçları 29
4.3.1. Prolin içeriği 29
4.3.2. Yaprakların hidrojen peroksit içeriklerinde meydana gelen değişimler 30
4.3.3. Lipid peroksidasyon seviyelerinde meydana gelen değişimler 32
4.3.4. Antioksidan enzim aktivite sonuçları 33
4.3.4.1. Süperoksit dismutaz enzim aktivitesinde gözlenen değişimler 33
4.3.4.2. Katalaz enzim aktivitesinde gözlenen değişimler 36
4.3.4.3. Peroksidaz enzim aktivitesinde gözlenen değişimler 37
4.3.4.4. Askorbat peroksidaz enzim aktivitesinde gözlenen değişimler 39
4.3.4.5. Glutatyon redüktaz enzim aktivitesinde gözlenen değişimler 41
4.3.4.6. Monodehidroaskorbat redüktaz enzim aktivitesinde gözlenen değişimler 43
4.3.4.7. Dehidroaskorbat redüktaz enzim aktivitesinde gözlenen değişimler 44
4.5.4.8. Glutatyon S-transferaz aktivitesinin Belirlenmesi 46
4.3.4.8. NADPH oksidaz enzim aktivitesinde gözlenen değişimler 48

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 50

5.1.Sonuçlar 50
5.2. Öneriler 52

6. KAYNAKLAR 53

ÖZGEÇMİŞ 68

ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Askorbat-glutatyon döngüsünün genel görünümü……..11
Şekil 3.1. Tuz ve/veya kuraklık stresi altındaki çeltik yapraklarında skandiyum uygulamalarının sürgün boyutlarında meydana getirdiği ortalama değişimler…….....16
Şekil 3.2. Enzim ekstraktlarının hazırlanması. A. 0.5'er gram yaprak alınarak havanda sıvı azot yardımıyla B. homojenizasyon tamponuyla homojenize edilir.C. Ardından elde edilen homojenantlar 4 °C'de 10.000 rpm'de 20 dk santrifüj edilir. D. Oluşan süpernatant, protein içeriğinin belirlenmesinde ve enzim aktivitelerinin tayin edilmesi için hazır hala gelmiş olur……...…20
Şekil 4.1. Tuz ve/veya kuraklık stresi altındaki çeltik yapraklarında dışarıdan uygulanan skandiyumun bağıl sürgün büyüme oranlarında (RGR) meydana getirdiği ortalama değişimler (n=5). Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel bakımdan farklı olan değerleri göstermektedir (P< 0.05)……24
Şekil 4.2. Tuz ve/veya kuraklık stresi altındaki çeltik yapraklarında skandiyum uygulamalarının nisbi su içeriklerinde (RWC) meydana getirdiği ortalama değişimler (n=5). Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel bakımdan farklı olan değerleri göstermektedir (P< 0.05)…….... 25
Şekil 4.3. Tuz ve/veya kuraklık stresi altındaki çeltik fidelerinde skandiyum uygulamalarının ozmotik potansiyelde meydana getirdiği değişimler (MPa) (n=5). Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel olarak farklı olan değerleri göstermektedir (P<0.05) ……..26
Şekil 4.4. Tuz ve/veya kuraklık stresi altındaki çeltik yapraklarında skandiyum uygulamalarının maksimum kuantum verimi (Fv/Fm)'nde meydana getirdiği ortalama değişimler (n=5). Sütunlar üzerindeki aynı harfler istatistiksel olarak aynı olan değerleri göstermektedir (P>0.05)……. 27
Şekil 4.5. Tuz ve/veya kuraklık stresi altındaki çeltik yapraklarında dışarıdan uygulanan skandiyumun yaprak prolin içeriklerinde gözlenen ortalama değişimler (n=3). Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel olarak farklı olan değerleri göstermektedir (P<0.05) ……..…29
Şekil 4.6. Tuz ve/veya kuraklık stresi altındaki çeltik yapraklarında skandiyum uygulamalarının yaprak H_2O_2 içeriklerinde gözlenen ortalama değişimler (n=3). Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel olarak farklı olan değerleri göstermektedir (P<0.05)……31
Şekil 4.7. Tuz ve/veya kuraklık stresi altındaki çeltik yapraklarında skandiyum uygulamalarının yaprak TBARS içeriklerinde (nmol g^{-1} YA) meydana getirdiği değişimler (n=4). Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel olarak farklı olan değerleri göstermektedir (P<0.05) …….….32
Şekil 4.8. Tuz ve/veya kuraklık stresleri altındaki çeltik yapraklarında dışarıdan skandiyum uygulamalarının yaprak SOD izozimlerinde (a) ve total SOD (U mg^{-1} protein) aktivitelerinde (b) meydana gelen değişimler (n=4). Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel olarak farklı olan değerleri göstermektedir (P<0.05) ……..…34
Şekil 4.9. Tuz ve/veya kuraklık stresi altındaki çeltik yapraklarında skandiyum uygulamalarının yaprak total CAT (U mg^{-1} protein) aktivitelerinde meydana gelen değişimler (n=4). Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel olarak farklı olan değerleri göstermektedir (P<0.05)……..… 36
Şekil 4.10. Tuz ve/veya kuraklık stresi altındaki çeltik yapraklarında skandiyum uygulamalarının yaprak POX izozimlerinde (a) ve total POX (U mg^{-1} protein)

aktivitelerinde (b) meydana gelen değişimler (n=4). Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel olarak farklı olan değerleri göstermektedir (P<0.05) ……..…38
Şekil 4.11. Tuz ve/veya kuraklık stresi altındaki çeltik yapraklarında dışarıdan skandiyum uygulamalarının yaprak APX izozimlerinde (a) ve total APX (U mg^{-1} protein) aktivitelerinde (b) meydana gelen değişimler (n=4). Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel olarak farklı olan değerleri göstermektedir (P<0.05) ……..…40
Şekil 4.12. Tuz ve/veya kuraklık stresi altındaki çeltik yapraklarında skandiyum uygulamalarının GR (U mg^{-1} protein) aktivitelerinde meydana getirdiği değişimler (n=4). Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel olarak farklı olan değerleri göstermektedir (P<0.05) ……..……42
Şekil 4.13. Tuz ve/veya kuraklık stresi altındaki çeltik yapraklarında dışarıdan skandiyum uygulamalarının yaprak total MDHAR (U mg^{-1} protein) aktivitelerinde meydana gelen değişimler (n=4). Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel olarak farklı olan değerleri göstermektedir (P<0.05) ……43
Şekil 4.14. Tuz ve/veya kuraklık stresi altındaki çeltik yapraklarında skandiyum uygulaması sonucunda DHAR (μmol mg^{-1} protein) aktivitelerinde meydana getirdiği değişimler (n=4). Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel olarak farklı olan değerleri göstermektedir (P<0.05) ……..……45
Şekil 4.15. Tuz ve/veya kuraklık stresi altındaki çeltik yapraklarında dışarıdan skandiyum uygulamalarının yaprak GST izozimlerinde (a) ve total GST (U mg^{-1} protein) aktivitelerinde (b) meydana gelen değişimler (n=4). Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel olarak farklı olan değerleri göstermektedir (P<0.05)……46
Şekil 4.16. Tuz ve/veya kuraklık stresi altındaki çeltik fidelerine skandiyum uygulamalarının yaprak NOX izozimlerinde (a) ve total NOX (U mg^{-1} protein) aktivitelerinde (b) meydana gelen değişimler (n=4). Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel olarak farklı olan değerleri göstermektedir (P<0.05) ……..……48

ÇİZELGELER

Çizelge 2.1 Bitkilerde ROS detoksifikasyonunda rol oynayan başlıca enzimler……...…..7

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

%: Yüzde
H_2O_2: Hidrojen peroksit
O_2: Oksijen
$OH^{\bullet}$: Hidroksit radikali

Kısaltmalar

APX: Askorbat peroksidaz
CAT: Katalaz
DAB: 3.3'-diaminobenzidin tetrahidroklorid
DHAR: Dehidroaskorbat redüktaz
EDTA: Etilendiamin tetra asetik asit
g: Gram
GST: Glutatyon-S-transferaz
GR: Glutatyon redüktaz
KA: Kuru ağırlık
KCN: Potasyum siyanür
MDA: Malondialdehit
MDHAR: Monodehidroaskorbat redüktaz
mg: Miligram
ml: Mililitre
mM: Milimolar
NBT: Nitro blue tetrazolium
NOX: NADPH oksidaz
POX: Peroksidaz
PVPP: Polivinilpolipirolidon
ROS: Reaktif oksijen türleri
RWC: Nispi su içeriği
Sc:Skandiyum
SOD: Süperoksit dismutaz
TA: Turgorlu ağırlık
TBA: Tiobarbütirik asit
TCA: Trikloroasetik asit
YA: Yaş ağırlık
µg: Mikrogram
µM: Mikromolar

1. GİRİŞ

Nadir toprak elementleri (NTE) 15 adettir. Bunların hepsine birden lantanidler denilmektedir. Lantanidler atom numarası 57 (lantan) ile 71 (lutetiyum) arasındaki elementleri içermektedir. Atom numaraları 39 yttrium (Y) ve 21 skandiyum (Sc) benzer iyon çapları ve küçük atomik yapıları ile NTE grubu elementlerine dahil edilmektedir. Skandiyum ve yttrium'un da eklenmesiyle dünya üzerinde var olan nadir toprak elementlerinin sayısı 17'e ulaşmıştır (Damhus ve ark., 2005). Nadir toprak elementleri günümüzde ihtiyaç duyduğumuz birçok elektronik eşyanın yapımında kullanılmaktadır. Ayrıca, yolların ve binaların temelleri için kullanılan bazı nadir toprak elementleri de mevcut olup çevredeki tarımsal alanlar bu durumdan etkilenmektedir. Ancak nadir toprak elementleri ve bu elementlerden biri olan skandiyum ile yapılan az sayıdaki çalışmadan dolayı bu elementlerin olumlu veya olumsuz yanları hakkında çelişkiler mevcuttur. Nadir toprak elementlerin keşfi eskiye dayanmasına rağmen, 2009 tarihinden itibaren önemli tartışma konusu haline gelmiştir (De Lima ve Leal Filho, 2015). NTE'leri, hafif, orta ve ağır nadir toprak elementi olarak 3 kategoriye ayrılmaktadır (Haxel ve ark., 2002). Bunlar;

- **Hafif nadir toprak elementleri:** Lantan (La), seryum (Ce), praseodimyum (Pr), neodimyum (Nd) ve prometyum (Pm).
- **Orta nadir toprak elementleri:** Samaryum (Sm), europium (Eu) ve gadolinyum (Gd).
- **Ağır nadir toprak elementleri:** Terbiyum (Tb), disprosiyum (Dy), holmiyum (Ho), erbiyum (Er), tülyum (Tm), ytterbiyum (Yb), lutetium (Lu), skandiyum (Sc) ve yitriyum (Y).

Dünya nüfusunun yarısından fazlası için çeltik (*Oryza sativa*), temel gıda ürünüdür. Dünya çeltik üretiminin % 50'sinin kuraklıktan ve tuz varlığından az ya da çok şekilde etkilendiği tahmin edilmektedir (Bouman ve ark., 2005). Kuraklık, yağmursuz bir süreyi ifade eden ve su eksikliği stresine neden olan meteorolojik bir terimdir (Blum, 2011). Verim potansiyelinin tam ifadesi ise optimum gereksinimin altında su mevcudiyeti ile çevresel olayların bütünüdür (Blum, 2011). Kuraklık, çeltikte önemli fizyolojik süreçleri değiştirerek ürün kayıplarına yol açan abiyotik stres etmenidir (Todaka ve ark., 2017). Kuraklık stresi çeltik verimliliğini kısıtlar, genellikle su emilimini ve besin alımını olumsuz yönde etkileyerek büyümesini engeller. Bitkide morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler tepkileri değiştirir (Swamy ve ark.,

2017). Kuraklık faktörü kök büyümesini, besin hareketliliğini ve topraktan su alımını etkileyerek bitkinde geri dönülmeyecek fizyolojik hasarlar meydana getirebilir. Kurak bitkilerde reaktif oksijen türleri (ROS) birikimini teşvik ederek antioksidan savunma sistemini bozar. Kuraklığa neden olan ROS, genlerin ve proteinlerin yukarı ve aşağı regülasyonlarının bir sonucu olarak morfolojik, biyokimyasal, fizyolojik ve moleküler tepkilerle sonuçlanır. Bu şartlarda bitkide çeşitli fonksiyonel genomik, proteomik ve metabolomik yaklaşımlarla çeşitli genleri ve proteinleri oluşturan fonksiyonlar ortaya çıkarılmıştır (Upadhyaya ve Panda, 2019). Kuraklık, çeltik bitkisindeki çeşitli fizyolojik süreçleri etkiler ve bu nedenle ekinlerdeki büyüme ve üretkenliği olumsuz yönde değiştirir. Su içeriği (RWC), yaprak su potansiyeli, stoma direnci, transpirasyon hızı ve yaprak sıcaklığı gibi fizyolojik özelliklerin bitkiyle su arasındaki ilişkileri büyük ölçüde etkilemektedir. Bitki yapraklarının RWC'si yaprak gelişimi sırasında başlangıçta yüksektir ve kuru madde biriktikçe azalır. Kuraklık stresinde bulunan çeltik bitkilerinin, yaprak sıcaklığına ve transpirasyon hızının azaltılmamış olanlara göre daha düşük bir RWC'ye sahip olması ve yaprak sıcaklığındaki artışla birlikte azalması olağandır (Farooq ve ark., 2009b; Fahad ve ark., 2017). Bitkilerin kuraklık stresi ile ilgili önemli fizyolojik tepkilerden biri, ozmotik biyosentez ile ozmotik düzenlemedir. Ozmotik regülasyon birçok türde bulunmaktadır ve bitkilerde iletkenlik, fotosentez, yaprak su hacmi ve büyümenin sürdürülmesinde rol oynamaktadır. Yaprak su potansiyeli ve stoma açılımındaki azalma, fotosentezle ilişkili genlerin aşağı regülasyonu ve stomaların kapatılmasıyla CO_2'in daha az bulunabilirliği, kuraklık stresinin önemli etkileri olarak bildirilmiştir (Farooq ve ark., 2009b). Kuraklık, dünyanın yağmur suyuyla beslenen bölgelerinde çeltik büyümesi ve üretkenliği için büyük bir çevresel tehlike olarak görülmektedir (Pandey ve ark., 2007). Suyun eksikliği, çeltik fidelerinin büyümesini ve üretimini ciddi şekilde engellemektedir (Bhattacharjee ve ark., 2018; Rizwan ve ark., 2018b). Çeltik verimliliğindeki hasarlar büyük ölçüde ROS kaynaklı oksidasyon stresinden kaynaklanmaktadır (Faize ve ark., 2011b). Kuraklık stresi durumundaki bitkilerde aşırı ROS üretimi, fotosentez karbon oksidasyon döngüleri ile birlikte solunum ve fotosentetik kademelerdeki aksaklıklardan dolayı meydana gelir (Li ve Liu, 2016; Bhattacharjee ve ark., 2018). Bu nedenle, ROS'un antioksidan savunma sistemi ile etkileşimi bitkilerin kuraklık tolerans yeteneklerini belirgin bir şekilde belirlemektedir. Bitkiler ROS seviyelerini kontrol etmek için enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma mekanizmalarına sahiptir (Foyer ve ark., 2005).

Tuz stresi bir diğer önemli abiyotik stres etmeni olmakla birlikte, bu duruma maruz kalan çeltik bitkilerinde, tepki olarak aynı şekilde reaktif oksijen türlerinin oluşumu meydana gelmektedir. Mitokondri ve kloroplast gibi organeller ROS üretimi ile ilgili en önemli hücreler arası organellerdir. Normal şartlar altındaki aerobik metabolizma sırasında oksijen, elektron taşıma zincirinden sızan elektronlarla reaksiyona girer ve böylece süperoksit radikali ($O_2^{\bullet -}$), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali ($OH^{\bullet}$) ve tekli oksijen ($^1O_2$) gibi reaktif oksijen türlerinin üretimi ile sonuçlanır. Temel durum, O_2'nin enerjisel aktivasyonu, ölümcül bir ROS olan $^1O_2$ oluşumuna neden olabilir. Bu ROS üretimi sonrasında, ROS'lerini süpürmek için bünyesinde bulunan mekanizmalar düzgün şekilde çalışmazsa, bitki metabolizmasındaki nükleik asit, lipidler, proteinler ve pigmentlere zarar verebilmektedir (Dionisio-Sese ve Tobita, 1998b). Ancak, iyi şekilde çalışan bir antioksidan sistemi, ROS kaynaklı oksidatif hasardan koruyarak bitkilerin yaşamlarına devam etmesini sağlamaktadır. Bu antioksidan sisteminde süperoksit dismutaz (SOD) peroksidaz (POX), katalaz (CAT), askorbat peroksidaz (APX) ve glutatyon redüktaz enzimleri bulunur ve bunlar ROS'u temizleyen önemli enzimlerdir. Antioksidan savunmada ayrıca ROS'u da temizleyen düşük moleküler ağırlıklı enzimatik olmayan antioksidan savunma bileşikleri de vardır. Karotenoidler, fenolikler, flavonoidler, askorbik asit, glutatyon ve antosiyaninler enzimatik olmayan antioksidanların önemli bileşenleridir (Kaya ve ark., 2018). Diğer antioksidan yolakları arasında, askorbat-glutatyon döngüsü, diğer H_2O_2 detoksifiye edici enzimler ile birlikte oldukça önemli bir yer tutmaktadır (Seckin Dinler ve ark., 2013).

Bu çalışmadaki amacımız kuraklık ve/veya tuzluluk stresi altındaki çeltik fidelerinde skandiyumun etkilerini incelemektir. Yapılan önceki çalışmalarda skandiyumun bitkiler üzerinde olumlu ve olumsuz sonuçları belirtilmiştir. Ancak, bu veriler aralarındaki çelişkiler ve az sayıdaki bilgi doğrultusunda skandiyumun bitkiler üzerindeki etkilerinin belirsizliği hala mevcuttur. Bitkilerde stres şartlarına karşı toleransın sağlanması amacıyla dışarıdan skandiyum uygulamalarının antioksidan savunma sistemi ve reaktif oksijen türleri arasındaki etkileşim konusu hakkında bilgi bulunmamaktadır. Bu nedenle bu çalışmanın hedefi tuzluluk ve/veya kuraklık stresi altındaki çeltik bitkilerine skandiyum uygulanması sonucu, antioksidan ve skandiyum arasındaki etkileşimi araştırmak ve rapor etmektir. Bu amaçla, stres altındaki çeltik bitkilerine skandiyum uygulanarak H_2O_2 gibi ROS ve süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), peroksidaz (POX), askorbat peroksidaz ve glutatyon redüktaz gibi

antioksidan enzim / izozim aktiviteleri belirlenmiştir. Ayrıca bu parametreler büyüme, yaprak su potansiyeli, fotosentetik verim, bağıl su içeriği, lipid peroksidasyonu gibi diğer fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerle de ilişkilendirilmiştir.

Gerçekleştirilen tüm bu analizlerle;

i. Skandiyumun bitki gelişimindeki rolü,

ii. Skandiyumun tuzluluk ve/veya kuraklık stresini azaltıcı özellikleri,

iii. Bitkilere uygulanacak en uygun skandiyum dozları,

iv. Skandiyum uygulamalarının fizyolojik ve biyokimyasal parametreler üzerine etkisinin belirlenmesiyle nadir toprak elementi olan skandiyum ile bitkiler arasındaki etkileşiminin aydınlatılmasına literatürlere katkı sağlaması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Abiyotik stres faktörleri tuzluluk, yüksek/düşük sıcaklık, kuraklık, su fazlalığı, radyasyon, çeşitli kimyasallar, rüzgâr ve toprakta besin yetersizliği gibi çevresel faktörlerdir. Tuzluluk ve kuraklık, hem tarım yapılan toprakları olumsuz etkilemekte hem de canlıların pek çoğunda olumsuzluklara neden olmaktadır. Ayrıca bitkinin fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler süreçlerini değiştirerek bitki verimliliğini ciddi ölçüde düşürmektedir (Mickelbart ve ark., 2015). Çeltik (*Oryza sativa*), dünya nüfusunun yarısından fazlasının önemli bir temel besin maddesi olarak bilinir ve abiyotik streslerle verimliliği önemli oranda düşmektedir. Çeltik özellikle genç fide ve üreme aşamaları sırasında tuz stresine karşı oldukça hassastır (Reddy ve ark., 2017). Kuraklık stresi çeltik büyümesinin her aşamasını etkiler; özellikle genç fide ve vejetatif organların etkilenme oranları yüksektir (Basu ve ark., 2016). Çevresel iklim değişiklikleri ile artan kuraklık ve yağışsız sezon bitkilerin yaşama şansını azaltmaktadır (Dai, 2013). Ekonomik öneme sahip çeşitli bitkiler kuraklığa maruz kaldıklarında bitkide büyüme ve gelişim olumsuz yönde etkilenir ve bitkinin verimliliği düşer (Seki ve ark., 2003; Farooq ve ark., 2009c; Farooq ve ark., 2011). Kuraklık ekolojik verimliliği diğer tüm streslerden daha fazla etkilediği düşünülmektedir (Lambers ve ark., 2008). Bitkilerde kuraklık stresinin etkisi, hücrenin normal regülasyonla ile gerçekleştirdiği mekanizmaları bozar, yaprak boyutu, kök gelişiminde ciddi olumsuzlukların ortaya çıkmasına neden olur (Farooq ve ark., 2009a; Li ve ark., 2009). İklim değişikliği çalışmaları, kuraklığın gelecekte şiddetini ve sıklığını artıracağını öngörmektedir (Walter ve ark., 2011). Ülkemizde de var olan bu problem son yıllarda tarımsal üretimi kısıtlayan önemli bir çevresel faktör haline gelmiştir. Her yıl giderek büyüyen verim kayıplarına neden olan toprak kuraklığındaki bu artış, ülkemiz için dikkate alınması ve üzerinde çalışılması gereken öncelikli konulardan birisidir.

Su, tarım ve gıda üretiminde önemli bir faktör olmasına rağmen, varlığı gün geçtikçe azalan bir kaynak durumuna gelmektedir (Wang ve ark., 2012). Sürekli artan dünya popülasyonundan dolayı, kuru ortamlara adapte olabilen zirai çeşitlerin gerekliliği artmaktadır (Foley ve ark., 2011). Çeltik, üç milyardan fazla kişiyi besinsel olarak destekleyen ve günlük kalori alımlarının %50 ila %80'ini içeren temel bir gıda maddesi olarak önemli bir rol oynamaktadır (Khush, 2005). Kuraklık, dünya çapında

yaklaşık 23 milyon hektar yağmur suyuyla sulanan alanlarda yetiştirilen çeltik üretimini etkilemektedir (Serraj ve ark., 2011).

Prolin, çok önemli bir ozmolit olup bitkilerde oldukça faydalı bir rol oynamaktadır (Verbruggen ve Hermans, 2008). Stres kaynaklı serbest prolin birikimi ile ilgili ilk rapor, çavdar bitkilerinde Kemble ve Macpherson (1954) tarafından bildirilmiştir. Prolin, ozmolit görevi görür ve birikmesi daha iyi performansa ve bitkide kuraklığa tolerans gösterilmesine katkıda bulunur (Vajrabhaya ve ark., 2001). Çeşitli çalışmalarda kuraklık stresine maruz kalan çeltik bitkilerinde prolin konsantrasyonunda değişiklikler gözlenmiştir (Sheela ve Alexander, 1995; Mostajeran ve Rahimi-Eichi, 2009; Bunnag ve Pongthai, 2013; Kumar ve ark., 2014; Lum ve ark., 2014) Prolinin bir ozmolit olarak hareket etmesinin yanı sıra, stres sırasında üç ana rol oynamaktadır. Bunlar; i) metal şelatör, ii) antioksidan savunma molekülü, iii) sinyal molekülü olarak (Hayat ve ark., 2012). Prolin birikmesi, kuraklık stresi sırasında antioksidan aktiviteyi artırarak bitkinin hasar onarım yeteneğini artırabilir. Su stresi altındaki bitkilerde, prolin içeriği diğer aminoasitlerden daha fazla artar ve bu etki, olumsuz koşullara dayanmayı amaçlayan çeşitlerin seçilmesinde biyokimyasal bir işaretleyici olarak kulanılmaktadır (Fahramand ve ark., 2014).

ROS'lar süperoksit radikalini, hidroksil serbest radikalini, hidrojen peroksit ve tekli oksijeni içerir ve lipidlerin peroksidasyonuna, proteinlerin denatürasyonuna, DNA'nın mutasyonuna, hücresel hemeostazın bozulmasına ve çeşitli hücresel oksidatif hasar tiplerine neden olur (Faize ve ark., 2011a). Bitki hücreleri, ROS'un zararlı etkilerine karşı, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlardan oluşan kompleks bir antioksidan sistemi ile korunmaktadır. Askorbat (AsA) ve glutatyon (GSH), hücre içinde güçlü enzimatik olmayan antioksidanlar olarak işlev görürler. Enzimatik antioksidanlar arasında süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), peroksidaz (POX), glutatyon S- transferaz (GST), askorbat-glutatyon siklusu enzimleri olan askorbat peroksidaz (APX), glutatyon redüktaz (GR), monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR) ve dehidroaskorbat redüktaz (DHAR) örnek verilebilir (Çizelge 2.1) (Mhamdi ve Van Breusegem, 2018). Bu antioksidanlar, bitkideki ROS süpürme sisteminin kritik bileşenleridir ve ifadeleri çeltikte kuraklık ve tuzluluk toleransını artırabilir (Wang ve ark., 2005). Çeltikte kuraklık stresinin artmasıyla birlikte, AsA, GSH, APX'ın faaliyetleri (Selote ve Khanna-Chopra, 2004), SOD, MDHAR, DHAR, GR (Sharma ve Dubey, 2005), ve CAT (Shehab ve ark., 2010) aktivitelerinde artışlar bildirilmiştir. Bu antioksidan savunma enzimlerinin aktivitelerindeki artış, çeltikte kuraklık koşullarının

teşvik ettiği oksidatif hasarı önlemek için koruyucu aktiviteyi temsil eder. SOD, POX ve CAT faaliyetleri ROS'u etkili bir şekilde azaltabilir ve böylece kuraklığın olumsuz etkisini hafifletebilir (Lum ve ark., 2014).

Çizelge 2.1. Bitkilerde ROS detoksifikasyonunda rol oynayan başlıca enzimler

Enzim	**Reaksiyon**	**Bulunduğu yerler**
Süperoksit dismutaz (SOD)	$O_2^{\bullet-} + O_2^{\bullet-} + 2H^+ = 2H_2O_2 + O_2$	Sitozol (Cu/Zn-SOD) Kloroplast (Cu/Zn-SOD, Fe-SOD) mitokondri ve peroksizom (Mn-SOD)
Katalaz (CAT)	$H_2O_2 = H_2O + {}^{½}O_2$	Peroksizom
Askorbat peroksidaz (APX)	H_2O_2 + AsA =H_2O + DHA	Kloroplast, sitozol, mitokondri
Monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR)	MDHA + NAD(P)H = AsA + $NAD(P)^+$	Kloroplast, mitokondri, sitozol
Dehidroaskorbat redüktaz (DHAR)	DHA + 2GSH = AsA+ GSSG	Kloroplast, sitozol
Glutatyon redüktaz (GR)	GSSG + NAD(P)H = 2GSH + $NAD(P)^+$	Sitozol, peroksizom (AtGR1) kloroplast, mitokondri (AtGR2)

Dünya nüfusundaki hızlı artışla, mevcut arazi ve su kaynaklarının kullanımıyla 2050 yılına kadar çeltik, buğday, soya ve mısır gibi birincil derecede tüketilen besinlerde tahmini %87 oranında daha fazla ürün ihtiyacına neden olacaktır (Kromdijk ve Long, 2016). Bununla birlikte, abiyotik stresler, özellikle de toprak tuzluluğunun dahil olduğu bazı bölgelerde, iklimsel değişikliklerin küresel ölçekte tuzdan etkilenen toprakların artması gerçeği nedeniyle gıda elde edilebilirlik oranının azalması muhtemeldir. Dünya genelinde 1.083.108 km^2'den fazla alan tuzluluktan etkilenmektedir (Fao, 2008). Son veriler, 75 ülkeyi kapsayan ortalama 2000 km^2'lik sulanan arazinin sürekli olarak tuzluluktan zarar gördüğünü doğrulamaktadır (Reddy ve ark., 2017).

Tuzluluğun çektik bitkisinin büyümesi, gelişimi ve verimi üzerindeki etkileri, özellikle tozlaşma ve döllenme aşamalarında çok şiddetlidir (Reddy ve ark., 2017). Tuzluluk, genellikle bitkide besin alımında aksamalara neden olur (Grattan ve ark., 2002). Ek olarak, tuz stresi genellikle tohum çimlenmesini, fide büyümesini, yaprak büyüklüğünü, sürgün büyümesini, kök uzunluğunu, kuru ağırlığı, yaş ağırlığı, çiçeklenme aşamasını ve biyolojik verimi olumsuz yönde etkiler (Läuchli ve Grattan, 2007). Tuz stresi sonucunda kök bölgesinden fazla tuzların alınmasını önlemek için,

geleneksel tarım yönetimi uygulamalarının değiştirilmesi ve tuza toleranslı çeltik çeşitlerinin benimsenmesi ile iyileştirilmeler yapılabilir (Manchanda ve Garg, 2008).

SOD, süperoksitleri H_2O_2 ve O_2'ye dönüştüren ve hücreleri süperoksitin neden olduğu oksidatif strese karşı koruyan bir grup metaloenzimi içeren ve ROS'un detoksifikasyonunda kullanılan büyük bir temizleyicidir (Lee ve ark., 2001). SOD, süperoksit radikallerini detoksifiye eden H_2O_2'nin aşırı üretilmesinden sorumluyken, H_2O_2 ayrıca belirli APX izoformlarının indüksiyonu yoluyla bir tuz stresi göstergesi olarak da işlev görülmektedir (Mandhania ve ark., 2006).

2.1. Tuzluluğun Bitki Büyüme Parametreleri ve Reaktif Oksijen Türleri Üzerine Etkileri

Tuzluluğun bitki büyümesi üzerindeki etkisi, uygulandığı bitki gelişimi aşaması ile yakından ilgilidir. Çeşitli bitki büyüme parametreleri ve gelişme süreçlerinde tuzluluk stresi tohum çimlenmesini, tohum büyümesini, çiçeklenmeyi ve meyve oluşumunu olumsuz yönde etkileyerek verim ve kalitenin düşmesine neden olur (Jampeetong ve Brix, 2009; Gorai ve ark., 2010). Su kaynağı ve toprakta bulunan NaCl konsantrasyonları, bitkilerin normal fizyolojik aktivitelerini sürdürmelerini engeller. Toprak suyunda bulunan tuzlar bitkinin su alma kabiliyetini (ozmotik stres) ya da transpirasyon akışını (iyonik stres) aşırı miktarda etkilemekte ve bu iki faktör, bitkiler üzerindeki tuz stresiyle ortaya çıkan birincil etkiler olarak kabul edilmektedir (Yang ve Guo, 2018). Kök ortamındaki tuz konsantrasyonunun artması nedeniyle gelişen ozmotik stres, bitki büyümesinin ilk aşamalarında büyümenin azalmasında ana etkendir (Munns ve Tester, 2008). Bu aşama, bitkilerde yeni yaprak oluşumu, yaprak genişlemesi, daha az dallanma veya yan dallanma oluşumuna yol açan yan tomurcukların gelişimini azaltması ile karakterize edildiği Munns ve Tester (2008) tarafından bildirilmiştir. Volkmar ve ark. (1998) yaptıkları çalışmada, toprak ortamındaki tuz konsantrasyonu arttıkça, ozmotik potansiyeli, kök zarından su ve besin maddelerinin akışını kısıtlayarak bitkinin büyümesinde ve gelişmesinde genel bir azalmaya yol açtığını bildirmişlerdir. Ozmotik stresin diğer etkileri arasında kök büyümesinin inhibisyonu, stoma iletkenliğinde azalma ve fotosentez oranında düşüş yer almaktadır (Munns, 2002).

İyonik stres, sulama suyundan belirli iyonik elementleri bitkide taşınması, Na^+/K^+ oranlarını değiştirmesi, sodyum ve klorür iyon konsantrasyonlarını bitkilerde zararlı seviyelere yükseltmesi, fotosentez ve metabolizma üzerinde olumsuz etkileri

olduğu için önemli bir unsurdur (Yang ve Guo, 2018). Bu evre, renk değişikliği, uç yanması, marjinal nekroz gibi yapraklarda bazı bitki hasarı semptomlarının ortaya çıkmasıyla tanımlanmaktır (Munns ve Tester, 2008). Ozmotik stres, hücre içi sodyum iyonunu depolayamayan veya büyüme ortamındaki tuz konsantrasyonlarının çok yüksek olduğu durumlarda, bitki türlerinden iyonik strese göre daha zararlıdır (Tester ve Davenport, 2003). Tuzluluk stresinin bu birincil etkileri, hücre genişlemesinin azalması, üretimi ve zar fonksiyonunu asimile etmenin yanı sıra azalan sitozolik metabolizma ve reaktif oksijen türlerinin üretimi gibi bazı ikincil etkilere neden olmaktadır (Mhamdi ve Van Breusegem, 2018).

Dionisio-Sese ve Tobita (1998a) tarafından yapılan bir çalışmaya göre, ROS'un dört çeltik (*Oryza sativa* L.) çeşidinde tuzluluğa bağlı hasar ile tuzluluğa karşı toleransı çeşitler arasındaki ilişki incelenmiştir. Büyümedeki tuzluluk kaynaklı azalma, minimal büyüme baskılaması olan toleranslı çeltik çeşidi Pokkali hariç tüm çeltik çeşitlerinde belirgin şekilde ortaya konmaktadır. Araştırmacılar SOD'da bir düşüş ve tuzluluk duyarlı kültür bitkilerinde POX aktivitesinde bir artış kaydetmiştir. Tuzluluk şartlarına duyarlı çeltik çeşitlerinde, ayrıca yapraklarda artan Na^+ (sodyum) birikiminin yanı sıra elektrolit sızıntısı ve lipid peroksidasyonunuda hızlandırmıştır. Ancak, tuza karşı toleranslı çeltik çeşidinde, SOD, POX, elektrolit sızıntısı, lipid peroksidasyonu ve toksik Na^+ birikimi aktivitelerinde asgari oranda bir değişiklik olmuştur. Bu çalışmanın sonucuna göre, çeltikteki tuzluluk toksisitesinin derecesinin, hassas çeltik çeşitlerinde membranlara ROS aracılı oksidatif hasara dayandığını gösterirken, toleranslı çeşitlerde, daha fazla antioksidan enzim aktivitesiyle ROS oluşumunu ve birikimini azaltarak membranlarda oksidatif hasara karşı daha iyi koruma gösterdiği bildirilmiştir.

Abdallah ve ark. (2016), trehaloz uygulamasının çeltik bitkilerini tuzluluğun zararlı etkilerinden koruduğunu bildirmiştir. Araştırmacılar, Giza 178 ve Giza 177 olmak üzere iki çeltik çeşidini kullanarak, 25 mM trehaloz ile ekim öncesi tohum muamelesi gerçekleştirip daha sonra fideler, tuzluluk stresine tabi tutulmuştur. Tuzlulukla, prolin ve toplam çözünebilir şekerde azalma sonucu fotosentetik pigmentlerde azalmaya sebebiyet verdiği bildirilmiştir. Tuzluluk nedeniyle antioksidan enzimlerin (SOD ve POX) daha yüksek aktivite gösterdiği rapor edilmiştir. Araştırmacılar, trehaloz tohum astarının tuzluluk altındaki çeltik için koruyucu bir strateji olarak kullanılmasını önermiştir.

Kibria ve ark. (2017), oksidatif savunma mekanizmasının tuzluluk ile çeltikte fizyolojik ve biyokimyasal mekanizmaların rolünü açıklamıştır. Deneyde dört çeltik

çeşidi kullanılmıştır (tuza toleranslı çeşitler; BINA dhna 10, BINA dhna 8, BINA dhna 47 ve tuzluluk duyarlı çeltik kültürü BRRI dhna 28). Saksılara ekilen çeltik bitkileri (30 günlük), kardeşlenme aşamasında tuz stresine tabi tutulmuştur. Tuzluluk stresi, tüm çeltik çeşitlerinde büyümeyi azaltmış ve bu baskılanma, tuza duyarlı çeltik çeşitlerinde daha fazla olmuştur. BINA dhna 10 hariç tüm çeltik çeşitlerinde klorofil içeriğinde azalma görülmüştür. Tuzluluk stresi, prolin seviyelerinde bir artışa neden olmuş ve maksimum tuza bağlı prolin birikimi "cv" olarak kaydetmişlerdir. Oksidatif savunma mekanizması, CAT ve POX enzim aktiviteleri üzerindeki değişimleri inceleyen araştırmacılar, tuz toleranslı çeltik çeşitlerinde daha fazla oksidatif strese karşı artan savunma tepkilerinin olduğunu ve diğer çeşitlerin bu bağlamda yetersiz kaldığını çalışmalarında göstermişlerdir.

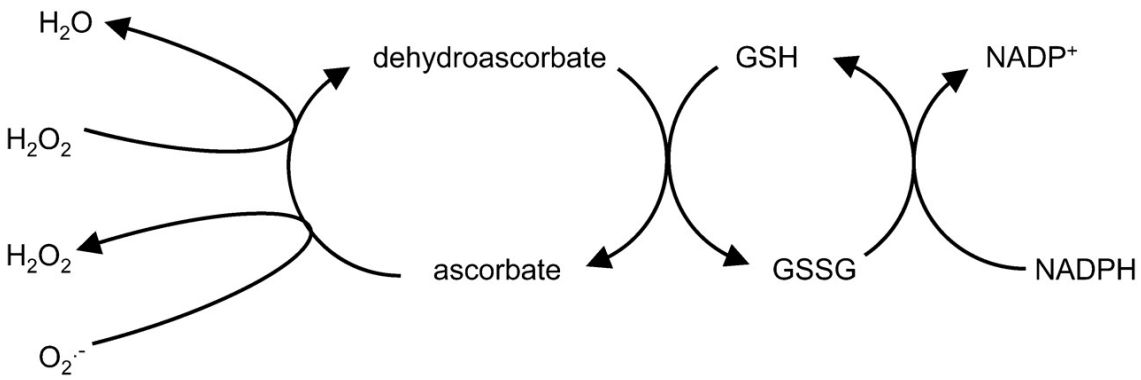
Abdel-Haliem ve ark. (2017), tuzluluk altındaki çeltik bitkilerine silika ve nano silika işlemlerini uygulamıştır. Stresin MDA (malondialdehit) ve H_2O_2 seviyelerinde artışa ve oksidatif hasarda önemli bir indüksiyona neden olduğunu bildirmişlerdir. H_2O_2 ve MDA birikimi, silika ve nano silika ile işlenmiş bitkilerde daha düşük olmuştur. Ayrıca silikalarla işlem görmüş bitkilerin daha iyi oksidan savunma sistemlerine sahip oldukları da kaydedilmiştir.

Paul ve Roychoudhury (2017), poliaminlerle astarlanan çeltik tohumların, ROS kaynaklı oksidatif hasarı azaltarak ve oksidatif savunma sistemini artırarak çeltikte tuzluluk toleransını arttırdığını bildirmiştir. Mostofa ve ark. (2015b) yapmış oldukları çalışmada, aynı şekilde tuzluluk kaynaklı oksidatif hasar nedeniyle çeltikte büyüme parametrelerinde bir azalma olduğunu rapor etmişlerdir. Bu çalışmada, hidrojen sülfit (H_2S) ön işlemi ile çeltik fidelerinde oksidatif hasardan koruyan oksidatif savunmayı arttırdığı tespit edilmiştir.

Mishra ve ark. (2013), çeltikte tuz stresine yanıt olarak SOD, APX ve GPX aktivitesinde bir artış bulmuş, ancak CAT aktivitesi için zıt bir etki olduğu bildirilmiştir. Başka bir araştırmada, Lin ve Kao (2000), çeltik fidelerinde APX aktivitesinin belirgin şekilde daha yüksek olduğunu gözlemlemiş ve bu etkinin, AsA'nın tuz stresi altındaki H_2O_2'e aracılık etmesinden kaynaklanabileceğini ileri sürmüştür. Bu enzimin işleyişi, bitkilerde bulunan en büyük antioksidan konsantrasyonunu temsil eden nispeten büyük bir AsA havuzuna (10-300 mM) bağlıdır (Chen ve Gallie, 2004).

2.2.Kuraklık stresinin bitki büyüme parametreleri ve reaktif oksijen türleri üzerine etkileri

Su noksanlığı, çeltik bitkilerinde büyüme ve üretim oranında ciddi şekilde engeller teşkil etmektedir (Bhattacharjee ve Dey, 2018; Rizwan ve ark., 2018a). Çeltik verimliliğindeki hasarlar büyük ölçüde ROS kaynaklı oksidasyon stresinden kaynaklanmaktadır (Faize ve ark., 2011a). Kuraklık stresli bitkilerde aşırı ROS üretimi, fotosentez karbon oksidasyon döngüleri ile birlikte solunum ve fotosentetik aşamalarda meydana gelir (Li ve Liu, 2016; Bhattacharjee ve Dey, 2018). Metabolik bozulma ve oksidatif stres sıklıkla hücre redoks durumundaki değişiklikler nedeniyle oluşur. Bu nedenle, ROS'un antioksidan savunma sistemi ile etkileşimi bitkilerin kuraklık tolerans yeteneklerini belirgin bir şekilde belirlemektedir. Bitkiler, ROS seviyelerini kontrol etmek için enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar içerir (Foyer ve Noctor, 2005). Diğer antioksidan yolaklar arasında, askorbat-glutatyon döngüsü, diğer H_2O_2 detoksifiye edici enzimler ile birlikte önemlidir (Şekil 2.1) (Seckin Dinler ve ark., 2013). Kuraklık koşulları altındaki çeltik bitkilerinin, askorbat-glutatyon döngüsünün antioksidan enzimlerinin uyarıcı aktivitesinin yanı sıra glutatyon ve askorbat için hücresel seviyeleri arttırdığı bulunmuştur (Sharma ve Dubey, 2005). Gelişmiş antioksidan savunma sistemleri, çeltikte kuraklığa bağlı oksidatif stresin etkilerini önlemek için etkili bir yöntemdir (Ray ve ark., 2015).



Şekil 2.1. Askorbat-glutatyon döngüsünün genel görünümü (Foyer ve Noctor, 2011)

Bu bağlamda Mishra ve Panda (2017), Haladichudi, Machakanta ve Kalajeera gibi üç çeltik çeşidinde polietilen glikol (PEG) kaynaklı kuraklık stresi üzerinde çalışmışlardır. Kuraklık, çeltik bitkilerinde çimlenme ve büyümede belirgin bir düşüşle sonuçlanmıştır. Klorofil indeksi ile birleştiğinde klorofil floresan özelliklerinde önemli

farklılıklar vardır. Ek olarak, kuraklık stresi, antioksidan sistemleri, protein ve prolin içeriğini önemli ölçüde arttırmıştır. Duyarlı çeltik çeşitlerinin, toleranslı çeşitlerine kıyasla kuraklık nedeniyle daha fazla oksidatif hasar görüldüğü sonucuna varmışlardır. Wang ve ark. (2017), çalışmalarında kuraklığın, bitki gelişimi aşamasında çeltikte bodurluğa neden olduğunu ve dolayısıyla ciddi verim kayıplarına sebebiyet verdiğini bildirmiştir. Ayrıca aynı çalışmada çeltik bitkilerinde ROS süpürücü proteinlerin aktif birikiminin olduğu tespit edilmiştir. Başka bir çalışmada, kuraklığa maruz kalmış çeltikte başak verimliliği incelemişlerdir. İki ebeveynin rekombinant doğal hatları Nagina 22 (tuza toleranslı) ve IR-64 (tuza duyarlı) çeşitler kullanılmıştır. Antioksidan enzimlerin (SOD, GR ve APX) aktivitelerinde tuza duyarlı ve toleranslı çeşitler arasında bariz farklılıklar olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde, PEG tarafından indüklenen farklı su stresi seviyelerinin oksidatif stres özellikleri (lipid peroksidasyonu ve ROS), antioksidan enzimlerin aktivitesi (SOD, POX, CAT, APX, GR, DHAR) ve enzimatik olmayan konsantrasyonlar üzerindeki etkisi üzerine çalışılmışlardır. Kuraklığın uygulanması, lipid peroksidasyonunu ve ROS birikimini önemli ölçüde arttırdığı bildirilmiştir. Kuraklık stresinin, çeltik bitkilerini etkili bir şekilde oksidatif hasardan koruyan antioksidan enzimlerin aktivitesini de indüklediği gözlenmiştir (Ding ve ark., 2016). Pyngrope ve ark. (2013), kuraklığa toleranslı (Malviya-36) ve hassas (Brown Gora) çeltik çeşitlerinde, su eksikliği koşullarına ve glutatyon-askorbat gibi enzimatik olmayan antioksidanların ve askorbat ile ilişkili enzim aktivitesinde önemli değişikliklerin olduğunu bildirmişlerdir. Çeltik bitkilerinde hücresel ROS seviyelerinde belirgin bir artış olduğu ve bu artış hassas çeltik çeşitlerinde daha yüksek seviyelerde olduğu ölçmüşlerdir. Su eksikliği, askorbat-glutatyon döngüsünde yer alan enzimlerin aktivitesinin azalması ile birlikte endojen askorbat ve glutatyon seviyelerinde belirgin bir düşüşe yol açmıştır (Pyngrope ve ark., 2013). Benzer şekilde, Shehab ve ark. (2010), önemli bir nitrik oksit (NO) vericisi olan eksojen olarak uygulanan sodyum nitroprussid (SNP), büyüme ve oksidatif savunma sistemi üzerindeki etkisini araştırmıştır. Çeltikteki kuraklık etkilerini azaltmak için SNP (100 μM) uygulanmıştır. Sonuçlar, bitkilerde aşırı H_2O_2 ve MDA birikmesi açısından kuraklık altındaki çeltik bitkilerinde daha yüksek oksidatif hasar olduğunu göstermiştir. Su eksikliği koşullarında yetişen çeltik bitkileri, askorbat ve glutatyon birikiminin arttığı belirlenmiştir. Üstelik, NO ile muamele edilmiş bitkiler, oksidatif zararla mücadele eden çeşitli antioksidan enzimlerin aktivitesini artırdığı bildirilmiştir. Bir başka çalışmada, kuraklığa bağlı oksidatif hasar ile antioksidan sistemde meydana gelen değişiklikler ile aromatik Pusa Basmati (PB),

Pokkali (tuza toleranslı) ve IR-29 (tuza duyarlı) olmak üzere üç çeşit çeltik çeşidinde antioksidan sistemdeki değişiklikler arasındaki ilişki gözlenmiştir. Kuraklık stresine karşı antioksidanların koruyucu mekanizmasını açıklamak için yapılan bu araştırmada kuraklık stresi, PEG-6000'in yardımıyla uygulanmış olup, kuraklık koşulları altında diğer türlerin Pokkali ile karşılaştırıldığında, H_2O_2 ve MDA seviyelerinin arttığı bildirilmiştir. Ayrıca fenolikler ve flavonoidlerde kuraklığa bağlı artışlar Pokkali ile IR-29 karşılaştırıldığında anlamlı derecede farklılıkların olduğu tespit edilmişlerdir. Ayrıca, antioksidan enzimlerin SOD ve CAT aktivitesi, PB ve IR-29'da belirgin bir şekilde azalırken, Pokkali'de etkilenmeden kalmıştır. Ancak, kuraklık koşulları PB ve IR-29'da GPX'in aktivitesinde önemli bir artışa neden olmuştur. Pokkali çeltik çeşidinin diğer çeşitlerine göre daha fazla kuraklığa bağlı oksidatif strese geçiş kabiliyetine sahip olduğu öne sürülmüştür (Basu ve ark., 2010).

2.3. Skandiyumun Bitki Üzerine Etkileri

Skandiyumun (Sc) toksisitesi hakkında henüz çok az şey bilinmektedir. Bowen (1966), Sc'nin bitkiler için toksik olabileceğini bildirmiştir. Horovitz (2012) ise nispeten yüksek konsantrasyonlarda bile, skandiyumun çok sayıda organizma üzerinde toksik etkisi olmadığını belirtmiştir. Dahası, belirli koşullar altında skandiyumun farklı bitki türleri üzerinde uyarıcı etkilere sahip olabileceği de bildirilmiştir (Horovitz, 2012). Öte yandan, Sc'nin bitkiler için kanserojen olduğu da rapor edilmiştir (Shtangeeva). Soğan (*Allium cepa*) ile yapılan kısa süreli deneylerde, skandiyumun, alüminyumun neden olduğu fitotoksik etkilere benzer etki gösterdiği bildirilmiş olup, metal iyonları, mitoz ve kök uzaması üzerinde engelleyici etki sergilediği ifade edilmiştir (Clarkson ve Sanderson, 1969). Birçok çalışmada Sc'nin bitkiler tarafından aktif olarak alınamayacağı da bildirilmiştir (Wyttenbach ve ark., 1994; Shtangeeva ve ark., 2002).

Wen ve ark. (2001), buğday ve çeltik fidelerine uygulanan NTE'lerin, farklı bitki kısımlarında farklı konsantrasyonlarda biriktiğini ve akümülasyon oranlarının kök> yaprak> gövde şeklinde sıralandığını rapor etmişlerdir. Shtangeeva ve ark. (2004), buğday bitkisine uygulanan skandiyumun akümülasyon, büyüme ve iyon değişimi üzerine etkilerini incelemişlerdir. Bu çalışmaya göre, buğday tohumlarının filizlenmesinin ardından 6 gün boyunca skandiyumlu ortamda yetiştirilip normal toprağa aktarılarak 1 hafta süresince gözlem yapılmıştır. Sonuçlara göre, Sc uygulanmış tohumlarda skandiyum konsantrasyonu ciddi şekilde artmıştır. Normal toprağa

aktarıldıktan sonra bitkinin üst kısımlarındaki Sc miktarı azalmasına rağmen kökteki Sc konsantrasyonu bitkinin diğer kısımlarına göre daha yüksek seviyede olduğu bildirilmiştir. Ayrıca bitkinin skandiyumlu fidelerinin farklı bölgelerinde Na, K, Ca ve Zn içeriklerinde farklılıkların olduğu tespit edilmiştir.

Maksimovic ve ark. (2014), nadir toprak elementlerinden olan yttriumu mısır bitkisine uygulayarak fizyolojik parametreler üzerine olan etkilerini incelemişlerdir. Su kültüründe yetiştirilen bitkilere belirli konsantrasyonlarda yttrium uygulaması yapılmıştır. Bu çalışmanın sonucunda yttriumun varlığı fotosentetik aktiviteyi düşürmüştür. Bitki boyu, kök uzunluğu, toplam yaprak alanı ve kuru ağırlıkta azalma gözlemlenmiştir. Yttrium konsantrasyonu köklerde sürgünlerden çok daha yüksek olmasına rağmen, sürgün metabolizması ve büyümesi daha fazla bozulmuştur. Sonuçlar, genç mısır bitkilerinin önemli miktarda yttrium biriktirmesi ve bu biriken yttrium konsantrasyonun artması durumunda fizyolojik süreçler ve dolayısıyla bitki büyümesi üzerine olumsuz etkileri olduğu belirtilmiştir. Zhang ve ark. (2013), NTE'lerin, tohum çimlenmesi, köklerin büyümesi, sekonder metabolit üretimi ve tıbbi bitkiler için mineral ve metallerin emilimi üzerinde farklı etkilere sahip olduğu ifade edilmiştir. Düşük konsantrasyonlarda olumlu etkileri artarken, yüksek konsantrasyonda olumsuz etkilere yol açtığı rapor edilmiştir. Gao ve Xia (1988), NTE'lerin fotosenteze olan etkileri ile kloroplast gelişimi, klorofil içeriği ve enzim aktivite değişiklikleri bildirilmiştir. NTE uygulanmış buğday bitkilerinde kloroplast sayısı ve yoğunluğunda artış gözlemlenmiştir. Fan ve ark. (2012), NTE'lerinden olan Lantan'ın tuz şartları altındaki sebzelere düşük dozda uygulanmasının, bitki gelişimi ve klorofil içeriği açısından bitkiye olumlu etkilerinin olduğunu rapor etmişlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Tohumların Temini ve Saklanması

Tez çalışmamızda kullandığımız çeltik çeşidi olan Gönen (*Oryza sativa* L. cv. gonen) tohumları Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden Eylül 2017'da temin edilmiştir. Laboratuvara getirilen tohumlar denemenin kurulması aşamasına kadar +4 ◦C'de saklanmıştır.

3.2. Uygulama Dozlarının Belirlenmesi ve Denemelerin Kurulması

Ana deneme kurulmadan önce çalışmamız için en uygun skandiyum ve stres etmeni uygulama dozlarının belirlemek amacıyla ön deneme kurulmuştur. Laboratuar şartlarında olgun, aynı boyutta ve sağlıklı çeltik tohumları seçilerek sterilizasyon işlemlerine geçilmiştir. Ardından, tohumlara bu aşamada %2.5'lik sodyum hipoklorid içerisinde 10 dakika tutulduktan sonra steril deiyonize su ile yıkama yapılmıştır. İleriki aşamada, steril olan tohumlarımız, 20'şerli gruplar şeklinde, saf su ve kurutma kâğıdı içeren petri kaplarına (24±1 ^{o}C'de) ekilerek inkübatör içerisinde çimlenmeye bırakılmıştır. Üç günün (72 saat) sonunda çimlenen tohumlar, 12 saatlik aydınlık evre (350 μmol $m^{-2}s^{-1}$ ışık şiddetinde, 24 ^{o}C sıcaklık, % 50 nem) ve 12 saat karanlık evre (21 ^{o}C sıcaklık ve % 60 nem) koşullarındaki su kültürü ortamına aktarılarak iklimlendirme kabinine alınıp, 21 günlük fideler haline getirilmiştir. Çeltik fideleri belirli gruplara ayrılarak çeşitli skandiyum dozlarına maruz bırakılmıştır. (5-10-25-50-100μM). Tuz ve/veya kuraklık stresi koşulları için ise belirli doz aralıkları belirlenmiş ve uygulanmıştır. (PEG%2.5, PEG%5, PEG%10, PEG%15-25mM NaCl, 50mM NaCl-75mM NaCl-100mM NaCl) Bu dozlar 3 gün boyunca çeltik fidelerine uygulanmıştır. Fideler 3. günde hasat edilmiş ve ardından -86 $^{\circ}$C'de saklanmıştır. Ön deneme çalışmamız için, TBARS ve H_2O_2 çalışmaları gerçekleştirilmiş ve sonuçlar doğrultusunda en uygun dozların skandiyum için 25-50μM, tuzluluk stresi için 100 mM ve kuraklık stresi için ise PEG %5 oranında kullanılmasına karar verilmiştir.

Tez çalışmamızın ana denemesinde ise, çeltik tohumlarına yukarıda belirtilen ön muameleler yapılmış ve çimlenen tohumlar yarım kuvvet uyguladığımız hoagland çözeltisi içeren hidroponik koşullara aktarılarak, fideler kontrollü şartlarda 21 günlük

hale getirilmiştir. 21. günde fidelere kontrol, skandiyum, yalnız NaCl ve PEG dışında kombine gruplar olarak skandiyum ile birlikte NaCl+PEG uygulamalarına çeltik fideleri 3 gün süresince maruz bırakılmıştır. 3 günün sonunda hasat işlemi sırasında fizyolojik parametreler ve klorofil flüoresans ölçümlerinin ardından sıvı azotla ile muamele edilen örnekler analizlere kadar -86 °C'de saklanmıştır.



Şekil 3.1. Tuz ve/veya kuraklık stresi altındaki çeltik yapraklarında skandiyum uygulamalarının sürgün boyutlarında meydana getirdiği ortalama değişimler

3.3. Fizyolojik Ölçümler

3.3.1. Yaprakların nisbi su içerikleri

Tuz ve/veya kuraklık stresli çeltik yapraklarına skandiyum uygulamalarının yaprak nisbi su içeriklerinde meydana gelen değişimleri belirlemek için her bir gruptan eşit uzunlukta 6'şar yaprak alınarak yaş (YA), turgorlu (TA) ve kuru (KA) ağırlıkları ölçülmüştür. Ardından yaprak su içerikleri;

$$\text{Nisbi Su İçeriği} = [(YA-KA)/(TA-KA)]x100$$

formülüne göre % olarak hesaplanmıştır (Smart ve Bingham, 1974).

3.3.2. Bağıl sürgün büyüme oranı

3 gün süresince kontrol, yalnız strese ve stresle birlikte skandiyum'a maruz bırakılan çeltik fidelerinin bağıl sürgün büyüme oranları; 0. ve 3. günde hasat edilen sürgünlerin kuru sürgün ağırlıkları alınarak;

Bağıl Sürgün Büyüme oranı: $(KA_2 – KA_1)/(H_2 - H_1)$

(KA_1: 1. Hasattaki sürgün ağırlığı (g), KA_2: 2. Hasattaki sürgün ağırlığı (g), H_1: 1. Hasat süresi, H_2: 2. Hasat süresi)

formülüne göre hesaplanmıştır (Hunt ve ark., 2002).

3.3.3. Yaprakların ozmotik potansiyel değişimleri

Stres ve skandiyum uygulamalarının sonrasında her bir gruba ait 5'er yaprağın ozmotik potansiyellerinde meydana gelen değişimler Wescor 5600 marka ozmometre ile mmol kg^{-1} olarak ölçülmüştür. Ardından ölçülen değerler Santa-Cruz ve ark. (2002)'a göre 2.408 x 10^{-3} katsayısıyla çarpılarak MPa'ya dönüştürülmüştür.

3.4. Klorofil Fluoresans Ölçümleri

Hasat işlemleri sırasında klorofil fluoresans ölçümleri, tuz ve/veya kuraklık stresine maruz kalmış çeltik fidelerine dışarıdan uygulanan skandiyumun 3. gününde, her bir gruba ait 5 farklı bitkinin en genç katlanmamış yaprakları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her gruptan yaklaşık 1 cm^2 yüzey alanına sahip yaprak örnekleri alınarak, 20 dakika boyunca karanlıkta bekletilmiştir. Çeltik fidelerinin tuz ve kuraklık stresine gösterdiği yanıtları ve skandiyumun fotosentetik aygıtların korunmasında önemli rolünün olup olmadığını anlamak için bitki verim analiz cihazı (Plant Efficiency Analyser-Hansatech Instruments Ltd.) ile PS-II'nin fotokimyasal verimi (*Fv/Fm*)'nin tespiti önemli bir parametredir.

3.5. Çeltik Yapraklarında Gerçekleştirilen Biyokimyasal Parametre Ölçümleri

Tez çalışmamızda skandiyumların tuz ve/veya kuraklık stresi altındaki çeltik yapraklarında stresin olumsuz etkilerini azaltmadaki rollerini tespit edebilmemiz için yapraklarda;

1- Yaprakların protein içeriklerinin tespiti,
2- Lipid peroksidasyon oranlarının belirlenmesi,
3- Yapraklardaki prolin değişimlerinin belirlenmesi,
4- Yaprakların hidrojen peroksit içeriklerinin belirlenmesi,

5- Yaprak enzim ekstraktlarının hazırlanması,

6- Antioksidan enzim aktivitelerinde meydana gelen değişimlerin belirlenmesi;

7.1. Süperoksit dismutaz enzim aktivitesinin densitometrik olarak belirlenmesi,

7.2. Katalaz enzim aktivitesinin belirlenmesi,

7.3. Peroksidaz enzim aktivitesinin belirlenmesi,

7.4. Askorbat peroksidaz enziminin aktivite tayini,

7.5. Glutatyon redüktaz enziminin aktivite tayini,

7.6. Monodehidroaskorbat redüktaz enziminin aktivite tayini,

7.7. Dehidroaskorbat redüktaz enziminin aktivite tayini,

7.8. Glutatyon S-transferaz enziminin aktivite tayini,

7.9. NADPH oksidaz aktivitesi gibi biyokimyasal ölçümler gerçekleştirilmiştir.

3.5.1. Yaprakların protein içeriklerinin tespiti

Stres ve skandiyuma maruz bırakılan çeltik yaprakların protein içerikleri, modifiye edilmiş Bradford (1976)'a göre, bovin serum albümin (BSA) standart olarak kullanılarak belirlenmiştir. Standartlar 0.01-0.8 mg/ml aralığında hazırlanmıştır.

3.5.2. Lipid peroksidasyon oranlarının belirlenmesi

Stres altında meydana gelen hasarın şiddetini en iyi şekilde gösteren lipid peroksidasyon (TBARS) değişimleri, malondialdehit (MDA) içeriğinin ölçülmesiyle belirlenmiştir. TBARS içeriği, Rao ve Sresty (2000)'nin metodunda ufak değişiklikler yapılarak tespit edilmiştir. Bunun için şoklanmış halde bulunan 0.5 g yaprak örneği, trikloroasetik asit (TCA) ile homojenize edilmiştir. 10.000g x 5 dk santrifüjden sonra tüplere aktarılan süpernatanta, tiobarbitürik asit (TBA) ve TCA içeren reaksiyon karışımı pipetlenmiş ve 95 °C'de 45 dk ısıtılmıştır. Soğutma işleminden sonra karışım 10.000g x 15 dk santrifüjlenmiştir. Ardından süpernatantın 532 ve 600 nm'deki absorbans değerleri okunmuştur. TBARS konsantrasyonu, ϵ=155 mM^{-1} cm^{-1} ekstinksiyon katsayısı kullanılarak hesaplanmış ve nmol g^{-1} YA olarak ifade edilmiştir.

3.5.3. Yapraklardaki prolin değişimlerinin belirlenmesi

Bates ve ark. (1973)'nın metoduna göre yapılmış olan prolin içeriklerinde meydana gelen değişimler gözlenmesi strese tolerans açısından büyük öneme sahiptir. Hasat edilen çeltik yapraklarından 0.1'er g alınarak % 3'lük 5-sülfosalisilik asit hidrat ile homojenize edilmiştir. 6.000g x 5 dk santrifüjden sonra süpernatanta asit ninhidrin ve glasiyel asetik asit eklenerek 95 °C'de 90 dk süre su banyosunda bekletilmiştir. Soğutma işlemi gerçekleştirildikten sonra karışıma toluen ilave edilerek, sıvı fazdan aspire edilen toluen fraksiyonunun 520 nm'deki absorbansı spektrofotometrede okunmuştur. Prolin içerikleri daha önceden hazırlanmış olan kalibrasyon eğrisi yardımıyla hesaplanmıştır ve μmol prolin g^{-1} YA olarak belirtilmiştir.

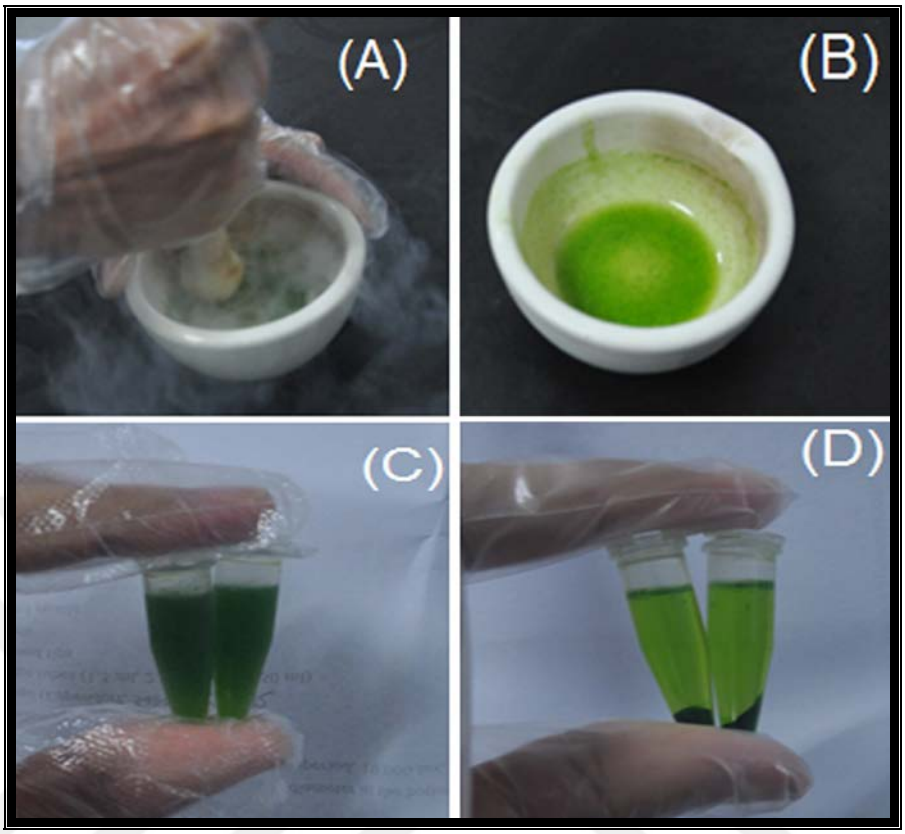
3.5.4. Yaprakların hidrojen peroksit içeriklerinin belirlenmesi

Reaktif oksijen türlerinden birisi olan H_2O_2 içerikleri, Cheeseman (2006)'nın yöntemine göre yapılmıştır. Yaprakların H_2O_2 içeriği eFOX reaktifi (250 μM ferro amonyum sülfat, 100 μM xylenol orange, 100 μM sorbitol ve % 1 etanol (v/v)) kullanılarak ölçülmüştür. Ekstraksiyon için 25 mM H_2SO_4 içeren soğuk aseton kullanılmıştır. Numuneler 5 dakika boyunca 3.000 x g'de 4 ° C'de santrifüj edilmiş ve 50 μL süpernatant için 950 μL eFOX reaktifi kullanılmıştır. Reaksiyon karışımı 30 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. Ardından 550 ve 800 nm'de absorbans ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Örneklerdeki H_2O_2 konsantrasyonları, bilinen H_2O_2 miktarlarına göre hazırlanan standart eğim grafiğine göre hesaplanmıştır.

3.5.5. Yaprak enzim ekstraktlarının hazırlanması

Enzim ekstraksiyonları ±4 ^{o}C'de gerçekleştirilmiştir. Hasat edilen herbir gruptaki 0.5'er gram yaprak örneği, soğutulmuş havanda sıvı azot yardımıyla, 0.1 mM EDTA, % 0.1 (v/v) Triton-X 100, 1 mM PMSF, ve % 2 (w/v) PVPP içeren 50 mM Tris-HCl (pH 7.8) tamponuyla homojenize edilmiştir. APX ekstraksiyonu için 5 mM askorbat içeren homojenizasyon tamponu kullanılmıştır (pH 7.8). Homojenant 4 $^{\circ}$C'de 10.000 rpm'de 20 dk santrifüj edilmiş ve oluşan süpernatant, protein içeriğinin belirlenmesinde ve enzim aktivitelerinin tayin edilmesinde kullanılmıştır. Tüm

spektrofotometrik ölçümler Shimadzu UV-1800 ve Thermo Multiskan GO ile yapılmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Enzim ekstraktlarının hazırlanması. **A.** 0.5'er gram yaprak alınarak havanda sıvı azot yardımıyla **B.** homojenizasyon tamponuyla homojenize edilir. **C.** Ardından elde edilen homojenantlar 4 °C'de 10.000 rpm'de 20 dk santrifüj edilir. **D.** Oluşan süpernatant, protein içeriğinin belirlenmesinde ve enzim aktivitelerinin tayin edilmesi için hazır hale gelmiş olur.

3.5.6. Antioksidan enzim aktivitelerinde meydana gelen değişimlerin belirlenmesi

3.5.6.1. Süperoksit dismutaz enzim aktivitelerinin ve izozim profillerinin belirlenmesi

Beauchamp ve Fridovich (1971)'e göre Süperoksit dismutaz (SOD) izozimlerinin elektroforetik ayrımı riboflavin ve NBT ile boyama yapılarak gerçekleştirilmiştir. 60 μg protein içeren örnekler, denatüre olmayan (SDS içermeyen) poliakrilamid jel elektroforezi (PAGE)'ne tabi tutulmuştur (Laemmli, 1970). SOD örnekleri 4 ^{o}C'de sabit akım altında (120 mA), % 5 toplayıcı jel (stacking gel) ve % 12 ayırıcı jelde (seperating gel) yürütülmüştür. Elektroforezden sonra farklı SOD izozimleri, boya çözeltisine inhibitörler eklenerek belirlenmiştir. Potasyum siyanür (KCN), Cu/Zn-SOD inhibisyonu için, H_2O_2 ise Fe-SOD ve Cu/Zn-SOD inhibisyonu

için boya çözeltisine eklenmiştir. Mn-SOD aktivitesi ise her iki inhibitöre de direnç göstermiştir. Total SOD aktiviteleri Biorad Image Lab. Version 4.01 software programıyla densitometrik yöntemle tespit edilmiştir.

3.5.6.2. Katalaz enzim aktivitesinin belirlenmesi

Yaprakların katalaz (CAT) enzim aktivitelerinde gözlenen değişimler, Bergmeyer (1970)'in metoduna göre gerçekleştirilmiştir. H_2O_2'in miktarında oluşan azalma, 240 nm'de maksimum absorbanstaki düşüşle belirlenmiştir. 250 µl'lik son hacme sahip küvetlerdeki reaksiyon karışımı; 0.1 mM EDTA, 50 mM Na-fosfat tamponu (pH 7), deiyonize su ve %0.3 H_2O_2'den oluşmaktadır. 180 sn boyunca absorbansta oluşan düşüş takip edilmiştir. CAT aktivitesi, dakikada harcanan µmol H_2O_2 olarak ifade edilmiştir.

3.5.6.3. Peroksidaz enzim aktivitesinin belirlenmesi

Yaprakların peroksidaz (POX) aktivitesi Herzog ve Fahimi (1973)'ye göre belirlenmiştir. Spektrofotometrede 465 nm dalga boyunda DAB'ın oksidasyonuyla birlikte absorbansta meydana gelen artış takip edilerek POX enzim aktivitesi hesaplanmıştır. Reaksiyon karışımı, DAB, % 0.6'lık H_2O_2, deiyonize su ve enzim ekstraktından oluşmaktadır. Reaksiyon, ortama H_2O_2'in katılmasıyla başlatılmış ve 180 sn boyunca absorbans artışı takip edilmiştir. Spesifik enzim aktivitesi, dakikada tüketilen µmol ml^{-1} H_2O_2 olarak ifade edilmiştir.

Peroksidaz izozimlerinin elektroforetik ayrımı Seevers ve ark. (1971)'na göre yapılmıştır. 40 µg protein içeren örnekler % 10'luk nativePAGE'e yüklenerek sabit akım altında (120 mA) yürütülmüştür. Yürütme işleminden sonra oluşan bantları görebilmek için jeller 15 dakika boyunca, benzidin ve hidrojen peroksit içeren 200 mM Na-asetat tamponunda (pH 5.0) inkübe edilmiştir. Daha sonra jeller deiyonize su ile yıkanmıştır.

3.5.6.4. Askorbat peroksidaz enziminin aktivite tayini

Askorbat peroksidaz (APX) enziminde meydana gelen aktivite değişimleri Nakano ve Asada (1981)'ya göre gerçekleştirilmiştir. Askorbat okside oldukça, 290

nm'deki absorbansta oluşan azalma okunmuş ve hesaplamalar askorbatın ekstinksiyon katsayısı olan 2.8 $mM^{-1}cm^{-1}$ kullanılarak yapılmıştır. Reaksiyon karışımı içerisinde; 50 mM Na-P tamponu (pH 7), 0.5 mM askorbat, 0.1 mM EDTA Na_2 ve 1.2 mM H_2O_2 bulunmaktadır. Askorbatın oksidasyonu, enzim ekstraktının katılmasıyla başlatılmış ve absorbanstaki azalma 180 sn boyunca takip edilmiştir. 1 birim APX aktivitesi, dakikada okside olan 1 mmol ml^{-1} askorbat olarak ifade edilmektedir.

Mittler ve Zilinskas (1993)'ın yöntemine göre APX izozimlerinin belirlenmesinde küçük modifikasyonlar yapılmıştır. Örnekler yüklenmeden önce jeller 2 mM askorbat içeren tamponda 30 dakika yürütülmüştür. Daha sonra 50 µg protein içeren örnekler jele yüklenerek sabit akım altında (60 mA) yürütülmüştür. Yürütme işleminin ardından jeller 2 mM askorbat içeren 50 mM K-P (pH 7) tamponunda 20 dakika inkübe edilmiş ve sonra 4 mM askorbat ve 2 mM H_2O_2 içeren 50 mM K-P (pH 7.8) tamponunda 15 dakika bekletilmiştir. Ardından jeller tamponla 1 dakika yıkanmış ve 28 mM TEMED ve 2.5 mM NBT içeren 50 mM K-P tamponuna alınmış ve ışıkta 10-20 dakika bekletilerek bantların görünür hale gelmesi sağlanmıştır.

3.5.6.5. Glutatyon redüktaz enziminin aktivite tayini

Foyer ve Halliwell (1976)'in metoduna göre yapılan glutatyon redüktaz (GR) aktivitesi, spektrofotometrede 340 nm dalga boyundaki absorbans azalmasından yola çıkılarak tespit edilmiştir. NADPH varlığında, GSSG miktarındaki azalma, kuvartz küvette, 180 sn boyunca takip edilmiştir. Hesaplamalar, GR enziminin ekstinksiyon katsayısı ε=6.2 mM^{-1} cm^{-1} kullanılarak yapılmıştır. Spesifik enzim aktivitesi, dakikada indirgenen 1 mmol ml^{-1} GSSG miktarı olarak ifade edilmektedir.

3.5.6.6. Monodehidroaskorbat redüktaz enziminin aktivite tayini

Hossain ve ark. (1984)'nın yöntemi izlenerek gerçekleştirilen monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR) aktivite değişimlerinin reaksiyon karışımı; 50 mM Tris-HCl (pH 7.5), 0.2 mM NADPH, 2.5 mM AsA, 0.5 ünite askorbat oksidaz (AO) içermektedir. Reaksiyon AO'nun eklenmesiyle başlamıştır. MDHAR aktivitesi 340 nm'de 1 dakika süresince absorbansta meydana gelen değişim izlenip 6.2 $mM^{-1}cm^{-1}$ ekstinksiyon katsayısı kullanılarak hesaplanmıştır.

3.5.6.7. Dehidroaskorbat redüktaz enzim aktivitesinin belirlenmesi

Nakano ve Asada (1981)'nın yöntemine göre tespit edilen dehidroaskorbat redüktaz (DHAR) aktivitesinin reaksiyon karışımı; 50 mM K-P (pH 7.0), 2.5 mM GSH ve 0.1 mM DHA içermektedir. Aktivite örnek solüsyonuna reaksiyon karışımının eklenmesiyle başlamıştır. Aktivite 265 nm'de 1 dakika absorbansta meydana gelecek değişime göre 14 $mM^{-1}cm^{-1}$ ekstinksiyon katsayısı kullanılarak hesaplanmıştır.

3.5.6.8. NADPH oksidaz aktivitesi

XTT'nin 470 nm'de indirgenmesi izlenerek gerçekleştirilen total NADPH oksidaz (NOX) aktivitesinde, Jiang ve Zhang (2002b)'ın yöntemi takip edilmiştir. NOX izozim profilleri Sagi ve Fluhr (2001)'un metodu ile ortaya konulmuştur. Jellere 50 μg protein içeren örnekler yüklenmiştir.

3.5.6.9. Glutathione -S- Transferaz aktivitesinin belirlenmesi

GST aktivitesi, Habig ve ark. (1974) yöntemine göre gerçekleştirilmiştir. 0.1 M Na-fosfat (pH 6.5), 1 mM GSH ve 1 mM CDNB içeren reaksiyon karışımı hazırlanmış ve 340 nm'de absorsbansda meydana gelen değişim takip edilmiştir. GST izozimleri, Ricci ve ark. (1984)'nın metoduna göre %10 native page elektroforetik ayrımı ile gerçekleştirilmiştir.

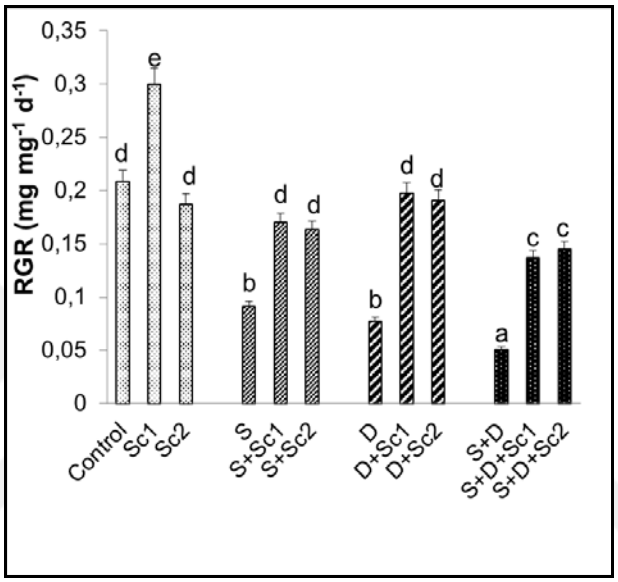
3.6. İstatistiksel Analizler

Tez çalışması süresince deneme en az 3 kez tekrar edilmiş ve büyüme parametreleri dışında (n=10) her bir analiz 2 tekrardan oluşmaktadır (n=6). Elde edilen veriler ANOVA ile analiz edilmiş ve ortalamalar arasındaki farklılıklar LSD testi ile karşılaştırılmıştır. $P< 0.05$ olan değerler istatistiksel bakımdan anlamlı kabul edilmiştir. İstatistiksel analizler SPSS programı (versiyon 23.0) ile gerçekleştirilmiştir. Bütün şekillerdeki hata çubukları ortalama standart hatayı göstermektedir ve çizelgelerdeki değerler ortalama şeklinde verilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Büyüme Parametrelerinde Meydana Gelen Değişimler

3 gün boyunca tuz ve/veya kuraklık stresine maruz bırakılan çeltik yapraklarında skandiyum uygulamalarının bağıl sürgün büyüme oranlarında (RGR) gözlenen ortalama değişimler Şekil 4.1'de verilmiştir.



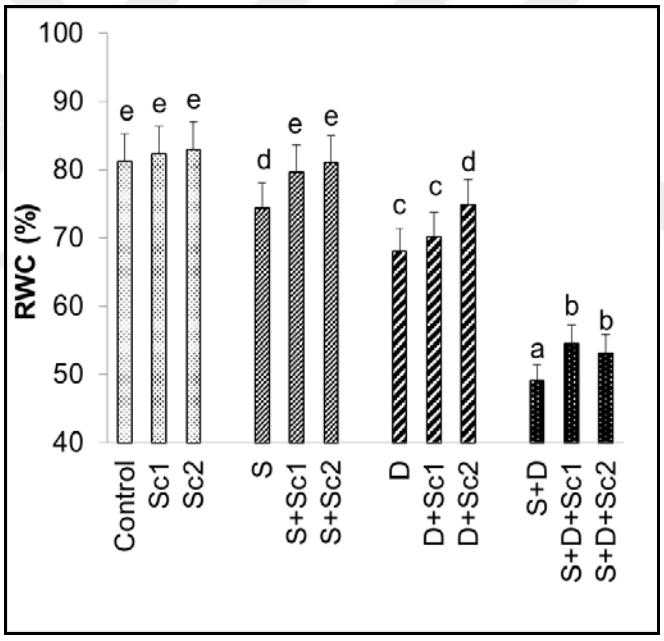
Şekil 4.1. Tuz ve/veya kuraklık stresi altındaki çeltik yapraklarında dışarıdan uygulanan skandiyumun bağıl sürgün büyüme oranlarında (RGR) meydana getirdiği ortalama değişimler (n=5). Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel bakımdan farklı olan değerleri göstermektedir (P< 0.05).

Tüm stres uygulamalarımızda RGR'lerde ciddi oranda azalmalar meydana geldiği tespit edilmiştir. Yalnız skandiyum uygulamalarında ise kontrol grubuna göre yüksek konsantrasyon Sc (50µM Sc) uygulamasında önemli bir değişim görülmezken, düşük konsantrasyon skandiyum uygulamasında (25µM Sc) %43.61 oranında artış olduğu görülmektedir. Stres ile birlikte uygulanan skandiyumlu grupların tamamında (yalnız stres grubuyla kıyaslandığında) skandiyumun tüm dozlarında olumlu etki yaptığı ve stresle birlikte azalan RGR oranını artırdığı tespit edilmiştir.

Sakthivelu ve ark. (2008)'nın yapmış olduğu çalışmaya göre, kullandıkları soya çeşitlerinin tümünde dışarıdan uyguladıkları kuraklıktan dolayı RGR'de düşüş olduğunu bildirmişlerdir. Bir diğer çalışmaya göre Bajji ve ark. (2000), buğday bitkisine uygulanan PEG kaynaklı su noksanlığı doğrultusunda RGR'de azalma olduğu tespit etmişlerdir. *C. humilis* bitkisinde yapılan bir çalışmaya göre ise, kullandıkları iki

genotipin kontrol gruplarında önemli bir fark görülmezken, kuraklık uygulaması yapılmış gruplarda RGR'lerde ciddi bir düşüş olduğunu rapor etmişlerdir (Ren ve ark., 2016). Yapılan çeşitli çalışmalarda ise, Mathur ve ark. (2006) fasulye, Jamil ve ark. (2007) turp bitkisi, Taffouo ve ark. (2009) börülce ve Kapoor ve Srivastava (2010) *Vigna mungo* L.'de NaCl konsantrasyonlarında bitkilerin uzunluğunda ve RGR oranlarında düşüşler gözlenmiştir. Al-Tamimi ve ark. (2016) kullandıkları 2 çeltik çeşidine uyguladıkları tuz konsantrasyonlarındaki dozlar ayırt edilmeksizin tüm gruplarda RGR oranlarında azalma olduğunu bildirmişlerdir. Tüm bu çalışmaların RGR verileri bulgularımızı destekler niteliktedir.

Tuz ve/veya kuraklık stresine maruz bırakılan çeltik yapraklarına dışarından uygulanan skandiyumun nisbi su içeriklerinde (RWC) meydana getirdiği değişimler Şekil 4.2'de verilmiştir.

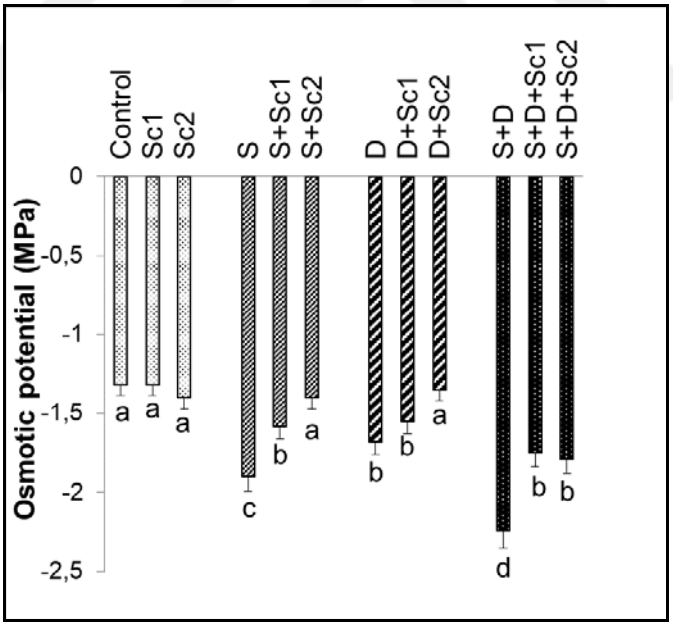


Şekil 4.2. Tuz ve/veya kuraklık stresi altındaki çeltik yapraklarında skandiyum uygulamalarının nisbi su içeriklerinde (RWC) meydana getirdiği ortalama değişimler (n=5). Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel bakımdan farklı olan değerleri göstermektedir ($P< 0.05$).

Yalnız skandiyum uygulamalarını kontrol grubu ile kıyasladığımızda önemli bir değişiklik gözlemlenmemiştir. Tüm stresli gruplarda RWC oranlarında azalmalar meydana gelmiştir. Yalnız tuz ve kuraklık stresiyle kombine stres grubunun, kontrol grubuyla kıyaslandığında RWC miktarları %8.46, %16.26 ve %39.66 oranında azalmıştır. Tüm stresle birlikte skandiyum uygulamaları çeltik fidelerindeki RWC olumlu yönde etkilemiştir.

Nisbi su içeriği (RWC) yaprak su potansiyelini, stoma direncini ve transpirasyon oranını belirler (Anjum ve ark., 2011). Bitki hücresinin su içeriği kuraklık koşullarında oldukça etkilenmektedir (Nayyar ve Gupta, 2006). Artan yaprak sıcaklığı, RWC değerlerinin kuraklık stresi altında yaprak su durumunu kontrol etmede önemli bir faktördür (Anjum ve ark., 2011). Bitki yapraklarının RWC'si başlangıçta yaprak gelişimi sırasında yüksektir ve kuru madde biriktikçe azalır. Kuraklık stresli çeltik bitkilerinde, yaprak sıcaklığındaki artışla birlikte yaprak RWC miktarında azalışlar meydana gelmektedir (Farooq ve ark., 2009c; Fahad ve ark., 2017). Kuraklık altındaki RWC için var olan farklılıklar çeltikte (Courtois ve ark., 2000), buğdayda (Schonfeld ve ark., 1988), soya fasulyesinde (Carter Jr ve Patterson, 1985; James ve ark., 2008) iyi bir şekilde çalışılmıştır. Shobbar ve ark. (2012), kuraklık ve tuz stresine maruz kalmış çeltik fidelerinde RWC değerlerinde düşüş rapor edmişlerdir. Yapılmış olan bu çalışmalar doğrultusunda, tez çalışmamızın sonuçlarının bu raporlar ile uyuştuğu görülmektedir.

Tuz ve/veya kuraklık stresi ile skandiyum uygulamalarının çeltik yapraklarının ozmotik potansiyelleri üzerine meydana gelen değişimleri Şekil 4.3'de gösterilmiştir.



Şekil 4.3. Tuz ve/veya kuraklık stresi altındaki çeltik fidelerinde skandiyum uygulamalarının ozmotik potansiyelde meydana getirdiği değişimler (MPa) (n=5). Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel olarak farklı olan değerleri göstermektedir ($P<0.05$)

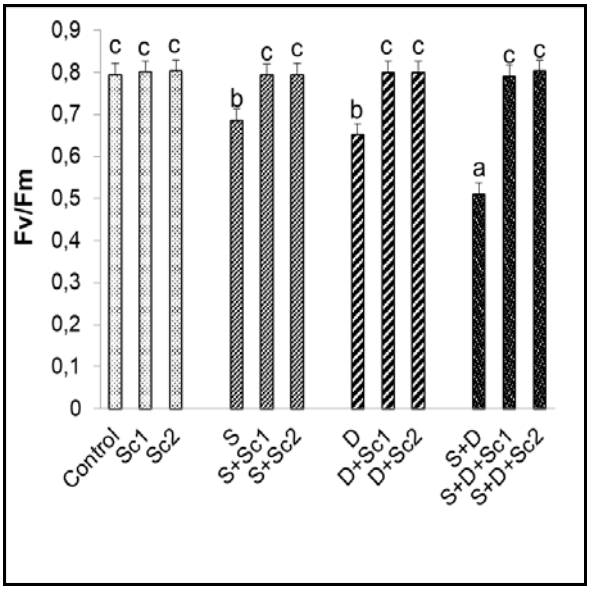
Yalnız skandiyuma maruz kalan çeltik yapraklarında kontrol grubuna göre önemli bir değişiklik olmamıştır. Tekli stres grupları ve kombine stres gruplarında ozmotik potansiyelde kontrol grubuna göre negatif doğrultuda artışlar (%30.53, %21.43,

%41.07) tespit edilmiştir. Yalnız skandiyumlu gruplar hariç, diğer tüm skandiyum uygulamaları çeltik fidelerindeki stresle meydana gelmiş negatif yöndeki ozmotik potansiyel artışını kontrol seviyelerine yaklaştırdığı görülmektedir.

Tuzluluk stresine karşı bitki tepkileri, ozmotik potansiyelin azaltılması ve ardından biriken iyonların toksisitesinin tetiklenmesi sonucunda gerçekleşir (Rahman ve ark., 2000). Çalışmamızda stres koşulları altında bitkimizde ozmotik potansiyelin azaldığı görülmektedir. Dasgupta ve ark. (2015) göre kullandıkları kuraklığa toleranslı iki çeşit çeltik türünde (Vandana ve Swarna) ozmotik potansiyel değerleri kontrol grubuna göre azalma göstermiştir. Çeşitli bitki türlerinde uzun süreli kuraklık şartlarında ozmotik potansiyelde negatif bir artış olduğu tespit edilmiş ve *Vitis vinifera* L. gibi bazı türlerde hem yaprak hem de kök ekstraktlarında benzer değişiklikler olduğu bildirilmiştir (Qaderi ve ark., 2019). Bu literatür çalışmaları tez çalışmamız ile örtüşmektedir.

4.2. Klorofil Fluoresans Ölçümleri

Klorofil floresans analizi, bitki fizyologları ve ekofizyologları için mevcut en güçlü ve yaygın olarak kullanılan tekniklerden biridir. 3 gün süreyle tuz ve/veya kuraklık stresine maruz kalmış çeltik fidelerine dışarıdan uygulanan skandiyumun bitki üzerindeki maksimum kuantum verimi (Fv/Fm)'deki değişimler Şekil 4.4'de gösterilmiştir.



Şekil 4.4. Tuz ve/veya kuraklık stresi altındaki çeltik yapraklarında skandiyum uygulamalarının maksimum kuantum verimi (Fv/Fm)'nde meydana getirdiği ortalama değişimler (n=5). Sütunlar üzerindeki aynı harfler istatistiksel olarak aynı olan değerleri göstermektedir (P>0.05)

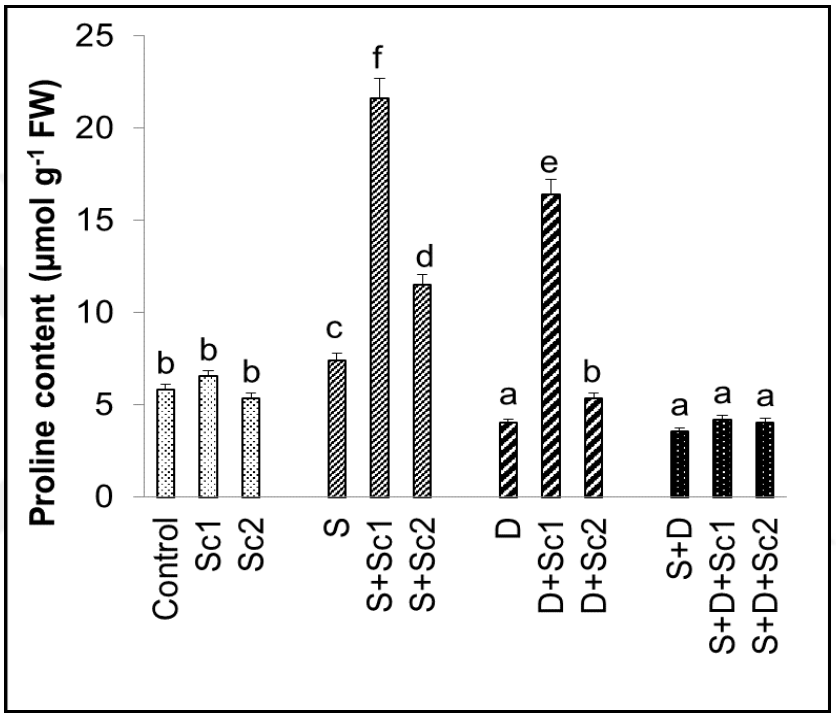
Tüm uygulama süresince yalnızca stresli ve kombine stresli gruplarda maksimum kuantum veriminde kontrole göre azalmalar tespit edilmiştir. Bunların dışında kalan diğer tüm gruplarda kontrol grubuyla kıyasladığımızda önemli bir değişim görülmemektedir. Kombine stres grubu olan S+D (100µM NaCl +% 5 PEG) kontrol grubuna göre en fazla Fv/Fm değerinin azaldığı uygulama olup oransal olarak %35.77'dir. Stresle birlikte skandiyum uygulamalarında Fv/Fm değeri kontrol seviyesine ulaşmıştır. Bu durum fotosentetik aygıtları olumda yönde etkileyerek etkili bir şekilde koruduğunu göstermektedir.

Bazı klorofil flüoresans verileri olmadan saha koşullarında bitkilerin fotosentetik performansına ilişkin hiçbir araştırma tamamlanmış gibi görünmemektedir. Klorofil flüoresans indüksiyon eğrileri, bitkilerin fotosentetik performansını taramak için hassas bir araç olarak kullanılmaktadır. PSII'nin kuantum verimi olarak ölçülen klorofil flüoresansı, bitki stresinin bir ölçüsü olarak görülmektedir. Flüoresansdaki değişiklikler, gaz değişimindeki ve biyokütlede meydana gelen değişikliklerle ilişkilidir. Fv/Fm ve F0'daki değişiklikler günümüzde geçerliliğini hala korumakta ve yaygın olarak foto inhibisyonun güvenilir tanısal göstergeleri olarak kullanılmaktadır (Dames ve ark., 2004). Puteh ve ark. (2013) yapmış oldukları çalışmaya göre, kullandıkları 2 çeşit çeltik fidelerine uyguladıkları kuraklık stresi sonucunda Fv/Fm oranlarında azalma gözlemlemişlerdir. Bu çalışma bizim sonuçlarımızla örtüşmektedir. Senguttuvel ve ark. (2014), çeltik bitkisine uygulanan belirli tuz konsantrasyonlarında Fv/Fm oranlarında düşüş olduğu bildirilmişlerdir. Bu çalışmada ayrıca Fv/Fm oranlarındaki düşüşün hem klorofil a hem de b konsantrasyonundaki düşüşle çakıştığı dikkat çekicidir. Fv/Fm'deki düşüş, pigmentlerden reaksiyon merkezine enerji aktarımı kaybının olduğunu gösterir. NaCl stresli bitkilerde Fv/Fm oranının azalması, Fm değerindeki düşüşe bağlı olabilmektedir (Maxwell ve Johnson, 2000; Santos ve ark., 2001). Bir diğer çalışmada ise çeşitli çeltik çeşitlerinin kullanıldığı ve 100 mM NaCl ile yapılan tuz muamelesinde Fv/Fm ve qP değerlerinde önemli ölçüde azaldığı görülmektedir (Lee ve ark., 2013). Guan ve ark. (2015) kullandıkları 6 çeşit buğday fidelerine uyguladıkları kuraklık stresi sonucunda buğdayın hem büyüme aşamasında hem de fide aşamasında Fv/Fm'de belirgin bir azalmanın olduğunu bildirmişlerdir. Yukarıda yapılan tüm çalışmalar bulgularımızı destelemektedir.

4.3. Çeltik Yapraklarında Gerçekleştirilen Biyokimyasal Analizlerin Sonuçları

4.3.1. Prolin içeriği

Tuz ve/veya kuraklık stresi altındaki çeltik fidelerinin dışarıdan skandiyum uygulamalarıyla birlikte yaprak prolin (Pro) içeriklerinde meydana gelen değişimler Şekil 4.5'de verilmiştir.



Şekil 4.5. Tuz ve/veya kuraklık stresi altındaki çeltik yapraklarında dışarıdan uygulanan skandiyumun yaprak prolin içeriklerinde gözlenen ortalama değişimler (n=3). Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel olarak farklı olan değerleri göstermektedir ($P<0.05$)

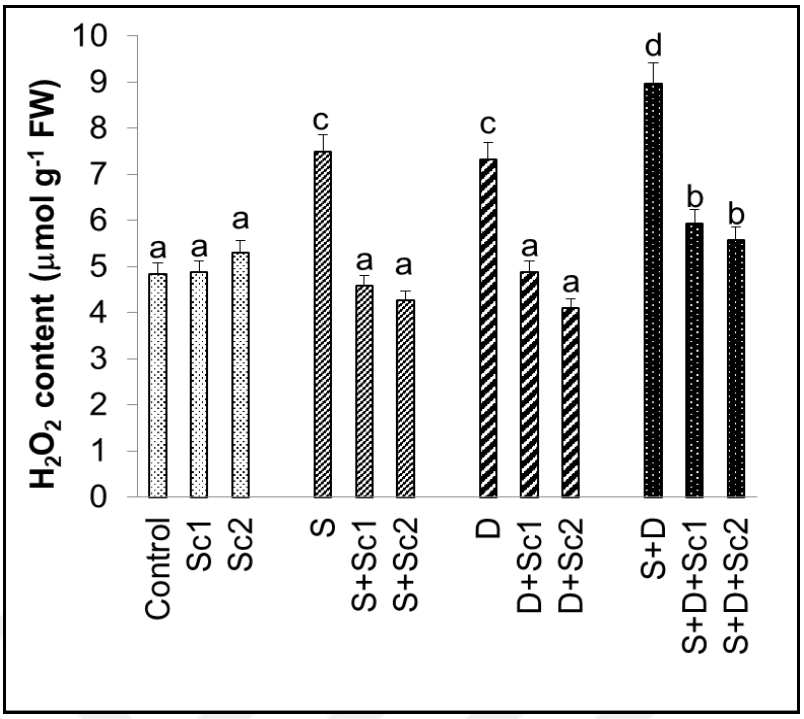
Kombine stres grupları ve yalnız kuraklık uygulanmış grup dışındaki diğer gruplar, kontrol grubuna göre prolin içeriklerinde artış gözlemlenmiştir. Tuz+Sc1 grubu yalnız tuz uygulamasına göre prolin içeriğini ciddi oranda artırdığı belirlenmiştir. En büyük oransal artışın, D-Sc1 grubunda yalnız kuraklık stresine göre olduğu görülmektedir. İlginç bir şekilde, kombine stres guruplarıyla birlikte skandiyum uygulamalarında prolin içeriklerinde kendi kontrol grubuna göre anlamlı bir değişiklik olmadığı tespit edilmiştir.

Prolin, mikropların, hayvanların ve bitkilerin ROS'un olumsuz etkilerini hafifletmek için ihtiyaç duydukları güçlü ve enzimatik olmayan bir antioksidan olarak kabul edilmektedir (Chen ve Dickman, 2005). L-prolin, bitkilerde Δ-pyrolline-5-

karboksilat sentaz (P5CS) ve Δ-pirolin-5-karboksilat redüktaz (P5CR) ile glutamik asitten sentezlenir (Verbruggen ve Hermans, 2008). Prolin iyi bilinen ozmolitlerden biridir. Bir ozmolit olarak hareket etmenin yanı sıra, birkaç olası fizyolojik rolde protein düzenleyicisi ve çoğu bitkide tuz ve kuraklık stres koşulları altında oluşturulan ROS'un etkili bir uzaklaştırıcısı olarak iş görmektedir (Hsu ve ark., 2003). Bu görevlerinin yanı sıra, membran yapısını korurlar, lipid peroksidasyonunu önleyen serbest radikal temizleyebilmektedirler ve stomalardaki K^+ kanallarının düzenleyicileri olarak görev yapabilmektedirler (Hasegawa ve ark., 2000). Yapılan bazı çalışmalarda tuz stresine maruz kalmış çeltik bitkilerin çoğunda prolin birikiminde artışların olduğu belirmişlerdir (Kant ve ark., 2006). Ayrıca pamukta (Zhang ve ark., 2014) ve buğdayda da aynı durumlar rapor edilmiştir (Chutipaijit ve ark., 2011). Prolin birikimi ve stres arasında iyi bir korelasyon literatürde her zaman açık değildir (Chen ve ark., 2007; Ghars ve ark., 2008). Ancak Kibria ve ark. (2017) tarafından çalışılan 7 çeşit çeltik bitkisinden tuza duyarlı kültürler dışındaki 4 çeşitte prolin artışı olduğu rapor edilmiştir. Aynı şekilde Mostofa ve ark. (2015a) çeltik fidelerine çift dozda uyguladıkları 150 ve 250 mM NaCl sonucunda prolin içeriklerinde anlamlı bir artış gözlemlemişlerdir. Ayrıca tuz stresinin, tuz toleransında farklılık gösteren iki çeltik çeşidinin yapraklarında Pro birikimini artırdığı da kaydedilmiştir (Demiral ve Türkan, 2005). Bu sonuçlar doğrulta bulgularımız bu çalışmalarla örtüşmektedir. Çeşitli kanıtlar, Pro sentezinde pentoz-fosfat yolu aktivitesini güçlendirmede önemli rol oynadığını göstermiştir. Çünkü bu yol, GSH'ı indirgenmiş durumda tutmak için NADPH'a ihtiyaç duyan antioksidan savunma mekanizmalarının önemli bir bileşenidir (Chen ve Dickman, 2005).

4.3.2. Yaprakların hidrojen peroksit içeriklerinde meydana gelen değişimler

Tuz ve/veya kuraklık stresi ile yalnız veya stresle birlikte uygulanan skandiyum uygulamalarının yaprakların H_2O_2 içeriğinde meydana gelen değişimler Şekil 4.6'da gösterilmiştir.



Şekil 4.6. Tuz ve/veya kuraklık stresi altındaki çeltik yapraklarında skandiyum uygulamalarının yaprak H_2O_2 içeriklerinde gözlenen ortalama değişimler (n=3). Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel olarak farklı olan değerleri göstermektedir ($P<0.05$)

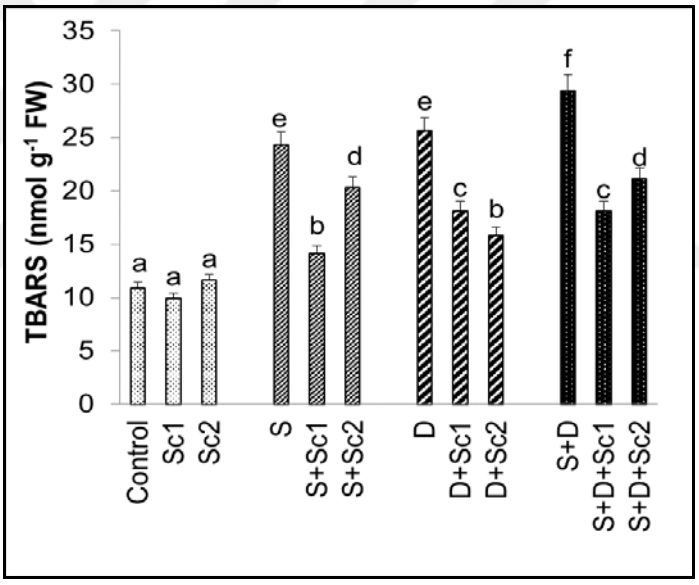
Tüm stres uygulamalarımızda H_2O_2 içeriğinde anlamlı bir artış olduğu görülmektedir. Stresli gruplar arasında kontrol grubuna göre H_2O_2 akümülasyonu en fazla kombine stres uygulamasında tespit edilmiştir. Yalnız skandiyum uygulamaları kontrol grubuna göre önemli bir değişim göstermezken, stres gruplarıyla birlikte uygulanan skandiyumlar çeltik fidelerinde H_2O_2 seviyelerini kontrol grubu seviyelerine düşürmüştür.

Hidrojen peroksit, temel biyolojik fonksiyonları olan muhtemelen en stabil ROS'lardan biridir (Foyer ve Noctor, 2009). H_2O_2 eşleşmemiş elektronları olmayan zayıf bir asittir (bu nedenle radikal değildir) ve kısa ömürlü süperoksit, hidroksil ve tekli oksijene kıyasla nispeten kararlı bir moleküldür. Bununla birlikte, hücrelerdeki H_2O_2'nin ömrü, bu oksijen türevini detoksifiye eden katalaz ve peroksitlerin durumuna göre değişim göstermektedir (Foyer ve Noctor, 2009). ROS'lar arasında en kararlı molekül olduğundan çeşitli fizyolojik işlemlerde bir sinyal molekülü olarak önemli bir rol oynar. Çevresel stres etmenleri sırasında hücre içi H_2O_2 seviyeleri artar (Slesak ve ark., 2007). Çoğu çalışmada tuz ve kuraklık stresine cevap olarak H_2O_2 içeriğinde artış olduğu bildirilmiş ve bu çalışmalar bulgularımızla uyuşmaktadır (Lin ve Kao, 2001; Vaidyanathan ve ark., 2003). Aynı şekilde bir diğer çalışmada domates ve çeltikte küçük sıcaklık şokları uygulanmış ve H_2O_2 akümülasyonunda artış olduğu tespit

edilmiştir (Lui ve Shono, 1999; Lee ve ark., 2000). Dolayısıyla, H_2O_2 abiyotik stres toleransı için sinyal iletiminde önemli bir rol oynamaktadır ve bu durum bizim tez çalışmamızla da paraleldir.

4.3.3. Lipid peroksidasyon seviyelerinde meydana gelen değişimler

Malondialdehit (MDA), polisatüre yağ asidi peroksidasyonu ve arakidonik asit metabolizmasının bir yan ürünü olarak üretilen oldukça reaktif bir üç karbonlu dialdehittir, ayrıca hücrelerde ve dokularda oksidatif stresin önemli bir göstergesi olarak kullanılır. Tuz ve/veya kuraklık stresi ile yalnız veya stresle birlikte uygulanan skandiyum uygulamalarının çeltik fidelerindeki lipid peroksidasyon (TBARS) içeriğinde meydana gelen değişimler Şekil 4.7'de gösterilmiştir.



Şekil 4.7. Tuz ve/veya kuraklık stresi altındaki çeltik yapraklarında skandiyum uygulamalarının yaprak TBARS içeriklerinde (nmol g^{-1} YA) meydana getirdiği değişimler (n=4). Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel olarak farklı olan değerleri göstermektedir ($P<0.05$)

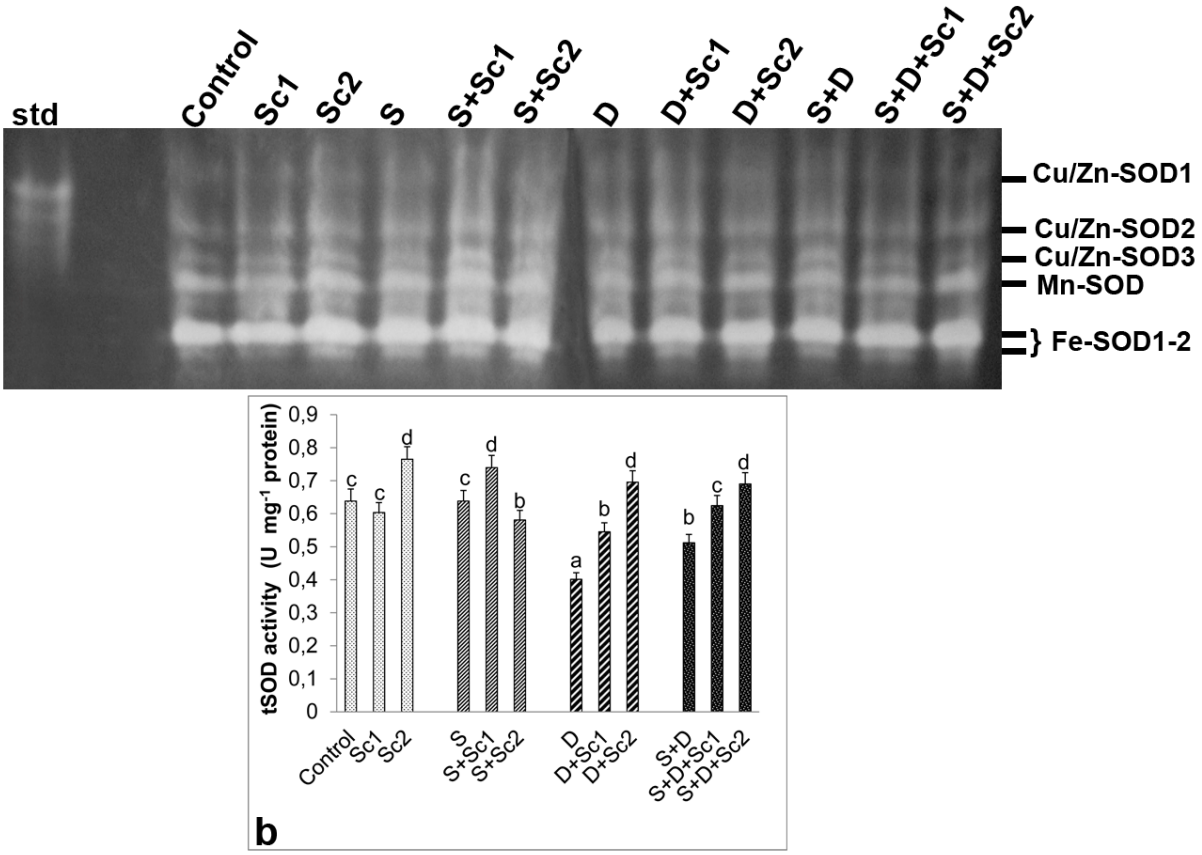
Yalnız skandiyum uygulanmış grupların TBARS içeriklerinde önemli bir değişim olmamasına rağmen, tüm stresli gruplarda TBARS içeriğinde ciddi artışlar olmuştur. Kontrol grubuyla kıyasladığımızda en çok artış yalnız çoklu stres gruplarında olmuştur (%62.93). Tekli stres gruplarına baktığımızda (Tuz ve Kuraklık) kontrol grubuna göre sırasıyla TBARS içeriklerinde %55.14 ve %57.42 oranında artış belirlenmiştir. Tüm stresle birlikte uygulanmış skandiyum dozlarında TBARS içeriklerinde olumlu bir etki yaptığı görülmektedir.

Hücre zarı, lipidlerden oluşmaktadır ve ROS hasarının en fazla etkilediği yerlerin başında gelmektedir. ROS birikiminin, lipidler üzerindeki diğer indirgeyici etkilerin hepsinden daha kötü olduğu düşünülmektedir (Gill ve ark., 2010). Hasar sırasında küçük hidrokarbon molekülleri, çoklu doymamış moleküllerden ketonlar ve malondialdehit (MDA) gibi yapılar oluşturulur (Garg ve Manchanda, 2009). Hücresel ve organel membranların her ikisi de lipid peroksidasyonundan etkilenir, bu nedenle hücre fonksiyonlarını engeller ve oksidatif stresi hızlandırır (Montillet ve ark., 2005). Başlama, ilerleme ve sonlandırma, lipid peroksidasyonunda yer alan üç farklı adımdır (Gill ve ark., 2010). Emam (2012), gelişmiş çeltik fidelerine uyguladıkları kuraklık stresi sonucunda TBARS içeriklerinde ciddi artışlar olduğunu tespit etmiştir. Kuraklık stresinin, çeltik bitkilerini etkili bir şekilde oksidatif hasardan koruyan antioksidan enzimlerin aktivitesini indüklediği görülmüştür (Ding ve ark., 2016). Pehlivan ve ark. (2018) domateste yaptıkları kuraklık direnci denemelerinde TBARS içeriklerinde artış gözlemlemişlerdir. Bu çalışmaların dışında, *Vitis vinifera* L. (Ju ve ark., 2018), *Amaranthus tricolor* L. (Sarker ve Oba, 2018), *Achillea* türleri (Gharibi ve ark., 2016), *Scutellaria baicalensis* Georgi (Cheng ve ark., 2018) ve *Cucumis sativus* L. (Nie ve ark., 2018)'da yapılan çalışmalarda, MDA içerikleri kuraklık stresi altında arttığı bildirilmiştir. Andrade ve ark. (2018) kuraklık stresi uygulanmış çeltik bitkilerine dışarıdan selenyum uygulayarak, kuraklık şartlarında artan MDA aktivitesini selenyum yardımıyla azaltmışlardır. El-Esawi ve Alayafi (2019) kuraklık stresine karşı MDA aktivitesindeki değişimlere bakmak için bir yabani tip ve üç transgenik çeltik çeşidi kullanmıştır. Çalışma sonucunda, tüm çeşitlerde MDA seviyelerinde artışlar olduğunu saptamışlardır. Nounjan ve ark. (2018) 3 çeşit çeltik bitkisinde MDA içeriklerini incelemişlerdir. Bu doğrultuda 2 çeşidin tuza duyarlı olduğu çalışmada (CSSL8-94 ve CSSL8-95), MDA içeriklerinde tuza karşı duyarlı olmayan diğer çeşitle kıyaslandığında daha fazla artış olduğunu belirtmişlerdir.

4.3.4. Antioksidan enzim aktivite sonuçları

4.3.4.1. Süperoksit dismutaz enzim aktivitesinde gözlenen değişimler

Çeltik yapraklarına uygulanan tuz ve/veya kuraklık streslerine karşın dışarıdan uygulanan skandiyum sonucunda süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitelerinde ve izozim profillerinde meydana gelen değişimler Şekil 4.8'de verilmiştir.



Şekil 4.8. Tuz ve/veya kuraklık stresleri altındaki çeltik yapraklarında dışarıdan skandiyum uygulamalarının yaprak SOD izozimlerinde **(a)** ve total SOD (U mg^{-1} protein) aktivitelerinde **(b)** meydana gelen değişimler (n=4). Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel olarak farklı olan değerleri göstermektedir ($P<0.05$)

Çeltik örneklerine ait SOD izozimlerinin belirlenmesinde dikey elektroforetik ayrımda 60 µg protein içeren örneklerle 0.5 ünite SOD standartı kullanılmıştır. Elektroforetik ayrımın ardından Biorad Image Lab Version 4.0.1 yazılımı kullanılarak densitometrik çalışma sonucunda standarta karşılık gelen total SOD aktivitesi hesaplanmıştır.

Yalnız skandiyum uygulamalarında yüksek dozlu (50µM) skandiyum, kontrol grubuna göre kıyasladığımızda %19.79 oranında tSOD aktivitesini artırdığı görülmektedir. Bunun dışında düşük dozlu (25µM) skandiyum uygulaması kontrol grubuna göre önemli bir değişim görülmemiştir. Yalnız tuz stresi uygulaması dışındaki tüm stres uygulamalarında tSOD aktivitesinde düşüş olduğu tespit edilmiştir. Skandiyum + stres uygulamaların tümü (S-Sc2 hariç) tSOD aktivitesinde artışa sebebiyet vererek olumlu bir etki yaptığı görülmektedir. Bu oransal artışın en yüksek olduğu grup (yalnız stres grubu ile kıyasladığımızda) %73.34 ile K+Sc2 fidelerinde belirlenmiştir.

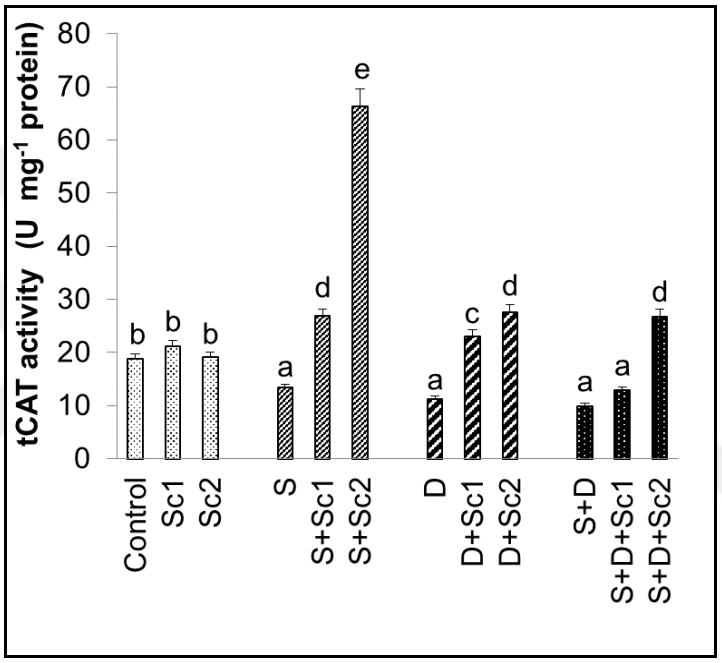
Tuz ve/veya kuraklık stresi uygulamalarına karşın dışarıdan uygulanan skandiyumun çeltik fidelerinde 3 gün süre sonunda hasat edilmesiyle elde ettiğimiz SOD enzimine ait izozim sonuçlarında 6 tane izozim belirlenmiştir (Şekil 4.9). Elde ettiğimiz bu izozim sonuçlarından 1 adet hem KCN hem de H_2O_2'e direnç göstermelerine göre Mn-SOD, 3 tanesi KCN ve H_2O_2'e inhibe olma özelliğinden dolayı Cu/Zn-SOD ve 2 tanesi ise KCN'ye dirençli, H_2O_2'e duyarlı olmasıyla Fe-SOD olarak tanımlanmıştır (Şekil 4.9a). Bu SOD aktivitelerindeki artışın ve azalışın özellikle Fe-SOD ve Mn-SOD izozimlerinde oluşan aktivite değişimlerinden kaynaklandığını söyleyebiliriz.

Süperoksit dismutaz (SOD; EC 1.15.1.1), ROS'a karşı ilk savunma hattını oluşturur. $O_2^{\bullet-}$'yi yıkar ve $OH^{\bullet}$ oluşum riskini azaltır, bu nedenle hücreye zarar gelmesini önler (Gill ve ark., 2010). Enzim tarafından kullanılan metal kofaktör bazında, SOD'lar üç gruba ayrılır: demir SOD (Fe-SOD), mangan SOD (Mn-SOD) ve bakır-çinko SOD (Cu-Zn SOD). Bu SOD'lar farklı bölümlerde bulunur. Fe-SOD kloroplasta, Mn SOD mitokondri ile peroksizomda ve Cu-Zn SOD kloroplast ve sitozolde bulunmaktadır. Yayınlanmış raporlar SOD'un aşırı ekspresyonunun mısır (de Azevedo Neto ve ark., 2006) ve çeltik (Turan ve Tripathy, 2013) gibi bitkilerde NaCl stresine karşı etkili bir koruma ile sonuçlandığını göstermiştir. Böylece SOD aktivitesindeki artış süperoksit anyonunu yıkarak hücresel savunmada rol oynamaktadır (Ort, 2001). PEG tarafından uyarılan farklı kuraklık stresi seviyelerinin oksidatif stres özellikleri (lipid peroksidasyonu ve ROS), antioksidan enzimlerin aktivitesi (SOD, POX, CAT, APX, GR, DHAR) ve enzimatik olmayan antioksidanların konsantrasyonları üzerindeki etkisi (glutatyon ve askorbik asit) çeltik fidelerinde incelenmiştir. Kuraklığın uygulanması, ROS birikimini önemli ölçüde artırmış ve çeltik bitkilerini oksidatif hasardan etkili bir şekilde koruyan antioksidan enzimlerin aktivitesini indüklediği gözlenmiştir (Ding ve ark., 2016). Dionisio-Sese ve Tobita (1998a), dört çeltik (*Oryza sativa* L.) çeşidinde tuz stresi uygulaması ile antioksidan enzim aktivitelerindeki değişimleri incelemiştir. Bu çalışmada tSOD aktivitelerinde düşüş olduğunu belirlemişlerdir ve bu sonuçlar tezimiz ile uyuşmaktadır. Bir diğer çalışmada, Abdallah ve ark. (2016) çeltik bitkisinde, çeşitli tuz konsantrasyonlarında enzim aktivitesindeki değişimlere bakmış ve tuzluluk nedeniyle antioksidan enzimlerin bazılarında (SOD ve POX) daha yüksek aktivite kaydetmişlerdir. Rahman ve ark. (2016) yapmış olduğu bir çalışmada, 12 günlük çeltik bitkilerine uyguladıkları NaCl ile

enzim aktivitelerinde artış olduğunu gözlemlemişlerdir (SOD-DHAR). Bu sonuçlar ise tez verilerimizle ters düşmektedir.

4.3.4.2. Katalaz enzim aktivitesinde gözlenen değişimler

Çeltik yapraklarının katalaz (CAT) enzim aktivitelerinde tuz ve/veya kuraklık stresleriyle skandiyum uygulamalarının meydana getirdiği değişimler Şekil 4.9'da verilmiştir.



Şekil 4.9. Tuz ve/veya kuraklık stresi altındaki çeltik yapraklarında skandiyum uygulamalarının yaprak total CAT (U mg^{-1} protein) aktivitelerinde meydana gelen değişimler (n=4). Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel olarak farklı olan değerleri göstermektedir ($P<0.05$)

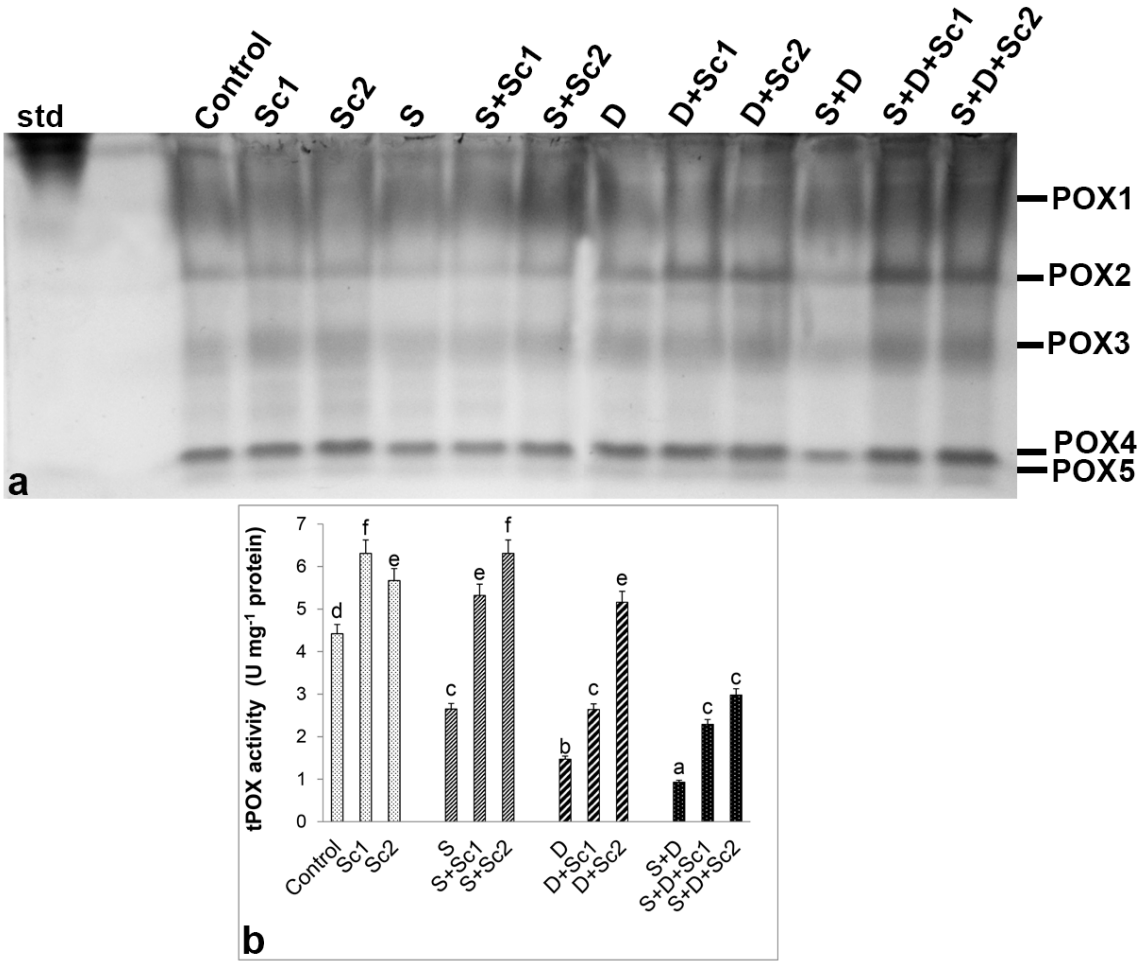
Tezimizde yalnız skandiyum uygulanmış grupları (25µM Sc ve 50µM Sc) kontrol grubuyla kıyasladığımızda önemli bir değişim görülmemesine rağmen, tüm stresli gruplarda tCAT aktivitelerinde kontrol grubuna göre önemli oranda azalmaların olduğu tespit edilmiştir. % 5 PEG+100µM+NaCl+25µM Sc kombine uygulaması dışındaki tüm stres ile birlikte skandiyum uygulamalarında tCAT aktivitelerinde artış olduğu görülmektedir.

Katalaz H_2O_2'i H_2O ve O_2'e doğrudan ayırma potansiyeline sahip enzimleri içeren tetramerik bir yapıda olup stresli koşullarda reaktif oksijen türlerin detoksifikasyonunda kaçınılmaz bir rol oynamaktadır. CAT, dakikada 6 milyon H_2O_2'yi H_2O ve O_2 molekülüne dönüştürebilir (Garg ve Manchanda, 2009). CAT,

peroksizomlarda üretilen H_2O_2'in yağ asitlerinin β-oksidasyonunda, fotorespirasyonda ve pürin katabolizmasında rol oynayan oksidazlar tarafından uzaklaştırılmasında önemlidir. CAT, yapraklarda en önemli H_2O_2 tutucu enzim olduğu varsayılmaktadır (de Azevedo Neto ve ark., 2006). Yüksek CAT aktivitesi, hücrede H_2O_2 içeriğini azaltır ve böylece membran stabilitesini arttırır (Esfandiari ve ark., 2007). Farklı NaCl konsantrasyonları altındaki tütün bitkisinde CAT aktivitesi değerlendirmeleri sonucunda tüm NaCl konsantrasyonları kontrollere kıyasla CAT aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı düşüşler gözlenmiştir. NaCl konsantrasyonlarının artması, daha düşük CAT aktivitesine neden olduğu bildirilmiştir (Çelik ve Atak, 2012). Yildiz ve Terzi (2013) yaptıkları çalışmada kullandıkları tuza toleranslı (Avcı-2002) ve tuza duyarlı (Tokak157 / 37) arpa çeşitlerinde 100, 200 and 300 mM NaCl streslerinde, Avcı-2002, Tokak 157/37'den nispeten daha düşük SOD ve CAT aktiviteleri ile daha yüksek POX ve APX aktivitelerine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan birçok çalışmada ise, tuza toleranslı çeşitlerin genellikle bu antioksidan enzimlerin, tuza duyarlı olanlara kıyasla daha yüksek aktivite gösterdiğini bildirmiştir (Ashraf ve Ali, 2008; Zheng ve ark., 2008; Kholova ve ark., 2010). Shehab ve ark. (2010), çeltik bitkisine farklı konsantrasyonlardaki polietilen glikol (PEG) ile (% 5,% 10,% 15 ve% 20) ile birlikte dışarıdan Sodyum Nitroprussid (SNP) uygulaması sonucunda, kuraklık şartlarında düşen tCAT aktivitesi, SNP'li gruplarda aktivite artışı olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıcı birçok çalışmada (Wang ve ark., 2005; Tian ve Lei, 2006; Yang ve ark., 2008) kuraklık stresi altındaki, CAT aktivitesinde düşüşler tespit edilmiştir. Bu veriler tez çalışmamız ile uyuşmaktadır.

4.3.4.3. Peroksidaz enzim aktivitesinde gözlenen değişimler

Tuz ve/veya kuraklık stresine maruz kalmış çeltik fidelerine bir nadir toprak elementi olan skandiyumun dışarıdan uygulanmasının yapraklarının total peroksidaz (POX) ve izozim profilleri Şekil 4.10'da verilmiştir.



Şekil 4.10. Tuz ve/veya kuraklık stresi altındaki çeltik yapraklarında skandiyum uygulamalarının yaprak POX izozimlerinde **(a)** ve total POX (U mg^{-1} protein) aktivitelerinde **(b)** meydana gelen değişimler (n=4). Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel olarak farklı olan değerleri göstermektedir ($P<0.05$)

Tüm skandiyum uygulamaları olumlu bir etki gösterip tPOX aktivitesinde artışa neden olmuştur. Yalnız stres gruplarının hepsinde tPOX aktivitesi kontrol grubuna göre sırasıyla %40.05, %66.74, %78.96 oranlarında azalmıştır. Stres+skandiyum uygulamaları arasında D+Sc2 yalnız stres grubuna göre en büyük artışın olduğu uygulama grubu olmuş olup bu oran yaklaşık olarak 2.5 kat seviyesindedir.

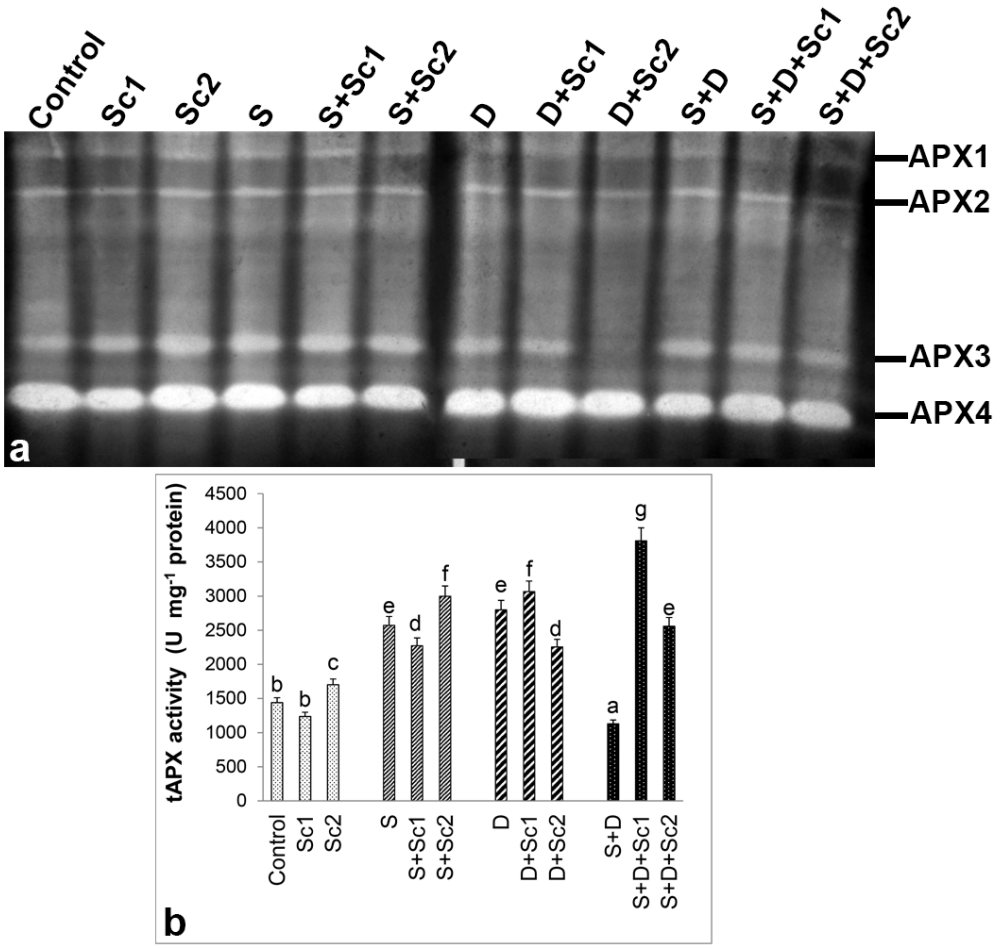
İzozim profillerinin belirlenmesi için native PAGE elektroforetik ayrımı gerçekleştirilmiştir. Stres ve/veya Sc, 3 gün süresince muamele edilmiş ve 5'er POX izozimi belirlenmiştir (Şekil 4.10a). POX enzim aktivitesinde görünen değişimlerin belirleyicisi olarak POX2 ve POX4 izozimlerinin ifade oranlarından kaynaklanmaktadır. Densitometrik analizler doğrultusunda tPOX ve izozimlerde meydana gelen değişimlerin birbiri ile uyum içinde olduğu görülmektedir (Şekil 4.10).

Peroksidaz, stres koşullarında H_2O_2'in süpürülmesinde rol oynar. Peroksidaz, H_2O_2 için CAT ve SOD'dan daha yüksek bir afiniteye sahiptir ve stres sırasında reaktif

oksijen türlerinin yönetiminde daha önemli bir role sahip olabilmektedir (Schuller ve ark., 1996). Peroksidaz üretimi, reaktif oksijen türlerini temizleme sistemini güçlendirir ve oksidatif stres toleransı ve patojen direncine yol açar (Gill ve ark., 2010). Birçok POX izozimi, vakuollerde, hücre duvarında ve sitozolde lokalize olmuş halde bitki dokularında bulunur. POX birçok önemli biyosentetik süreç, etilen biyosentezi, yara iyileşmesiyle biyotik ve abiyotik strese karşı savunma ile ilişkilidir (Asada, 1992). Çevrenin çeşitli stresli koşullarına cevap olarak POX aktivitesini tetiklediği birçok çalışmada gösterilmiştir (Shah ve ark., 2001; Verma ve Dubey, 2003; Sharma ve Dubey, 2005). POX aktivitesinin tuzlulukla artması, çeltikte (Lee ve ark., 2001) ve bezelyede (Shahid ve ark., 2011) gözlenmiştir. Mittal ve Dubey (1991) çeltikte tuz stresine duyarlı kültür bitkilerinde peroksidaz aktivitesinde bir artış olduğunu bildirmişlerdir. Aynı zamanda tuzluluğun, POX enzimin oluşumunu etkilediği bildirilmiş ve bu durum in vitro koşullarda inhibisyonun ve in vivo koşullarda aktivasyonun, tuza duyarlı çeşitlerde gözlendiğini göstermiştir (Dionisio-Sese ve Tobita, 1998a). POX'lar sadece H_2O_2 temizlemesinde değil, aynı zamanda bitki büyümesi, gelişimi, lignifikasyonları, süberinizasyonu ve hücre duvarı bileşiklerinin çapraz bağlanmasında da rol oynar (Passardi ve ark., 2005). Emam (2012) yapmış olduğu çalışmada, çeltik fidelerine uyguladığı çeşitli dozlardaki kuraklık streslerinde POX aktivitesinde artışın olduğunun belirtmiştir. Bir diğer çalışmada ise, 12 çeşit çeltik fidelerine uyguladıkları tuz stresi sonucunda POX aktivitelerinde artış olduğu bildirilmiştir (Chunthaburee ve ark., 2016). Bu iki çalışma bizim sonuçlarımızla ters düşmektedir. Ancak, Kibria ve ark. (2017) yapmış olduğu çalışmada kullandıkları tüm çeltik çeşitlerinde POX aktivitesinin tuz stresine karşılık olarak önemli ölçüde azaldığının rapor edilmesi bulgularımızla örtüşmektedir.

4.3.4.4. Askorbat peroksidaz enzim aktivitesinde gözlenen değişimler

Tuz ve/veya kuraklık stresine maruz bırakılan çeltik fidelerindeki askorbat peroksidaz (APX) ve APX izozimlerinin elektroforetik ayrımları neticesinde elde etmiş olduğumuz sonuçlar Şekil 4.11'de gösterilmiştir.



Şekil 4.11. Tuz ve/veya kuraklık stresi altındaki çeltik yapraklarında dışarıdan skandiyum uygulamalarının yaprak APX izozimlerinde **(a)** ve total APX (U mg^{-1} protein) aktivitelerinde **(b)** meydana gelen değişimler (n=4). Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel olarak farklı olan değerleri göstermektedir ($P<0.05$)

Tüm gruplar içersin de yalnız çoklu stres grup dışında (100µM NaCl +% 5 PEG) kalan tüm grupların kontrol grubuyla karşılaştırıldığında APX aktivitesinde artış olduğu görülmektedir. Yalnız kombine grubunda ise kontrole göre APX aktivitesinde azalış tespit edilmiştir. (%21.60). En yüksek APX aktivitesindeki artış (kendi stres grubuyla kıyaslandığında) S-D-Sc1 grubunda tespit edilmiş olup bu artış yaklaşık olarak 3.4 kat seviyesindedir.

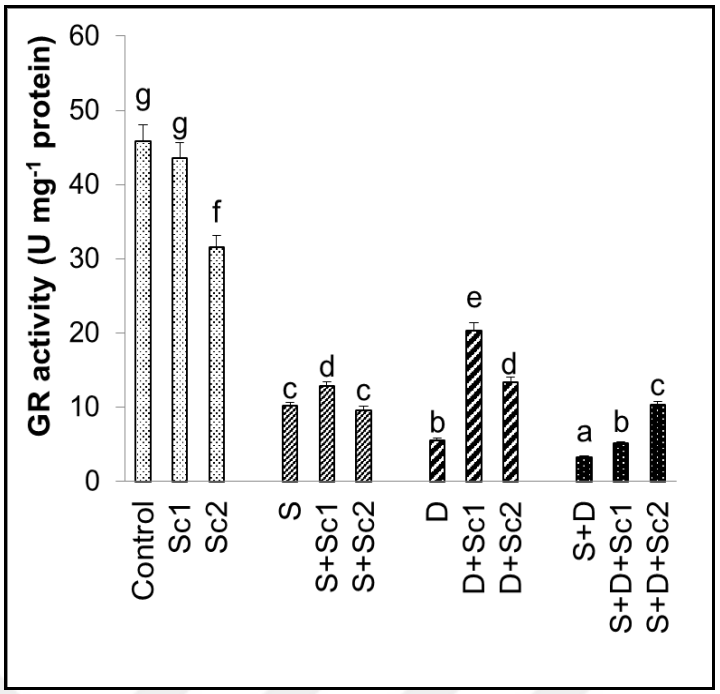
Elektroforetik ayrım sonucunda 4 farklı APX izozim tanımlanmış ve bu izozim profilleri Şekil 4.11'de verilmiştir. Şekilde de gördüğümüz gibi APX aktivitesindeki meydana gelen değişimlerin göstergesi APX3 ve APX4 izozimlerin de meydana gelen artış ve azalıştan kaynaklandığını söyleyebiliriz.

Askorbat peroksidazın (APX; EC 1.11.1.1), ROS'un süpürülmesinde ve bitki hücrelerin korunmasında önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Suda ve Ash-GSH döngülerinde H_2O_2'in süpürülmesinde yer alır ve elektron verici olarak AsA'ı kullanır.

APX ailesi, thylakoid (tAPX) ve glikozizom membran (gmAPX) formlarının yanı sıra kloroplast, stromal çözünür formun (sAPX) ve sitozolik formun (cAPX) dahil olmak üzere en az beş farklı formundan oluşur. APX, H_2O_2 için CAT ve POX'tan daha yüksek afiniteye sahiptir ve stres sırasında ROS süpürülmesinde daha önemli bir rol oynayabilir. Kloroplastlarda, mitokondrilerde, peroksizomlarda ve sitozolde bulunur. APX, askorbat-glutatyon döngüsünün ayrılmaz bir bileşenidir. Tuz stresine maruz kalan bitkilerde hücre arası boşluğunda üretilen H_2O_2, ilk olarak sitozolik APX'ın lokalize olduğu sitozole, ardından katalazın bulunduğu peroksizoma girer (Asada, 1992). APX aktivitesinin artması ve oksidatif stres ile ekspresyonu, çimlenmekte olan çeltik embriyolarında (Morita ve ark., 1999) ve çeltik fidelerinin yapraklarında (Lee ve ark., 2001) gözlenmiştir. Vaidyanathan ve ark. (2003), bitkilerde APX tarafından H_2O_2'in detoksifikasyonunun tuz stresi sırasında önemli bir rol oynadığını bildirmişlerdir. APX aktivitesinin artması, susamda yüksek tuzluluk toleransının önemli bir işaretidir (Koca ve ark., 2006). Bu çalışma tez sonuçları ile uyuşmaktadır. APX, kuraklık stres yanıtlarında ve kuraklıktan geri kazanılmasının ardından kilit bir rol oynayan bir antioksidan enzimdir (Mittler ve Zilinskas, 1994; Faize ve ark., 2011a; Fini ve ark., 2012). Örneğin, Kausar ve ark. (2012) PEG uygulanmış soya fasulyesinde enzim aktiviteleri tespit edilmiş ve artan kuraklık dozları ile birlikte APX ve aktivitesinde belirgin bir artış olduğunu bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada Ehsanpour ve ark. (2012) tütün bitkisinde, bir transgenik ve kontrol olarak transgenik olmayan bitkileri (*Nicotiana tabacum*, cv. *Wisconsin*)'nde APX aktivitesini çalışmışlardır. Kuraklık stresi, farklı konsantrasyonlarda polietilen glikol (PEG 6000) kullanılarak uygulanmış olup, araştırmacılar APX aktivitesinin kuraklık stresi altında arttığını ve en yüksek aktivitenin PEG uygulamalarının % 10 ve % 20'sinde gözlendiğini ileri sürmüşlerdir. Mırzaı ve ark. (2013) göre ise, 2 çeşit kanola bitkisinde yaptıkları çalışmada PEG %0-5-10-15 uygulamalarında, 24 gün sonunda APX aktivitesinde artışlar olduğunu bildirmişlerdir. Bu literatürler tez çalışmamız ile birebir örtüşmektedir.

4.3.4.5. Glutatyon redüktaz enzim aktivitesinde gözlenen değişimler

Glutatyon redüktaz (GR) enzim aktivitelerinin tuz ve/veya kuraklık stresine maruz kalmış çeltik yapraklarında dışarıdan skandiyum uygulamaları sonucunda oluşan değişimleri Şekil 4.12'de verilmiştir.



Şekil 4.12. Tuz ve/veya kuraklık stresi altındaki çeltik yapraklarında skandiyum uygulamalarının GR (U mg^{-1} protein) aktivitelerinde meydana getirdiği değişimler (n=4). Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel olarak farklı olan değerleri göstermektedir ($P<0.05$)

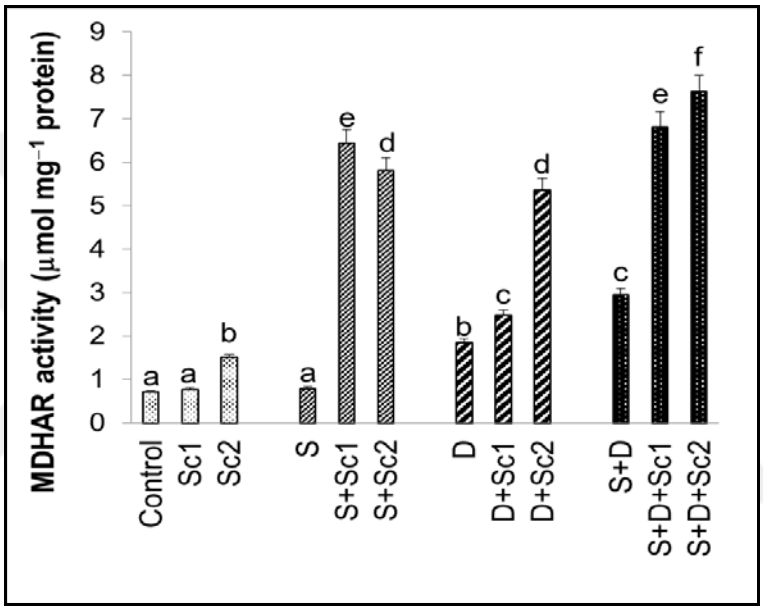
Tüm deneme aşamasında tüm gruplarda GR aktivitesinin kontrol grubuna göre azalmış olduğu belirlenmiştir. Tüm stresli gruplarla birlikte uygulanmış skandiyum dozları GR aktivitesini artırmış olsa da en büyük artışın kendi kontrol grubuna (% 5 PEG) göre D+Sc1 (% 5 PEG+25µM Sc) uygulamasında olduğu görülmüş ve bu oran yaklaşık 4.5 kat olarak belirlenmiştir. En düşük GR aktivitesinin ise kontrol grubuna kıyasla çoklu stres (% 5 PEG+100µM NaCl) uygulamasında olduğu görülmektedir.

Glutatyon redüktaz (GR, EC 1.6.4.2), GSSG'yi GSH'a indirgemek için bir elektron donörü olarak NADPH kullanan bir flavoprotein oksidoredüktazdır. Genellikle GR, yaprak dokularındaki kloroplastlarda bulunur. Bununla birlikte, sitozol, mitokondri, gliyoksizom ve peroksizomlarda da az miktarda bulunur (Jiménez ve ark., 1998). APX gibi, GR'de, askorbat-glutatyon döngüsündeki ana bileşenlerden biridir ve glutatyonun verimli bir şekilde geri dönüşümü GR tarafından sağlanır. Bir hücrede yüksek indirgenmiş/oksitlenmiş glutatyon (GSH/GSSG) oranını koruyarak oksidatif stres sırasında kloroplastların korunmasında GR önemli bir rol oynar (Noctor ve Foyer, 1998). Eyidogan ve Öz (2007) yaptıkları çalışmada, tuzluluk stresi uyguladıkları *C. arietinum* L. yaprak dokusunda GR aktivitesinin arttığını gözlemlemişlerdir. Nikolaeva ve ark. (2010) yaptıkları çalışmada 2 çeşit buğdaya uyguladıkları kuraklık stresini 3., 5. ve 7. günlerde hasat ederek elde ettikleri sonuçlar doğrultusunda, en yüksek GR

aktivitesindeki artışın 3. günde olduğunu bildirmişlerdir. Bu veriler tez sonuçlarımızla ters düşmektedir.

4.3.4.6. Monodehidroaskorbat redüktaz enzim aktivitesinde gözlenen değişimler

Tuz ve/veya kuraklık stresine maruz bırakılan çeltik fidelerindeki monodehidroaskorbat redüktaz enzim aktivitesinde elde etmiş olduğumuz sonuçlar Şekil 4.13'de gösterilmiştir.



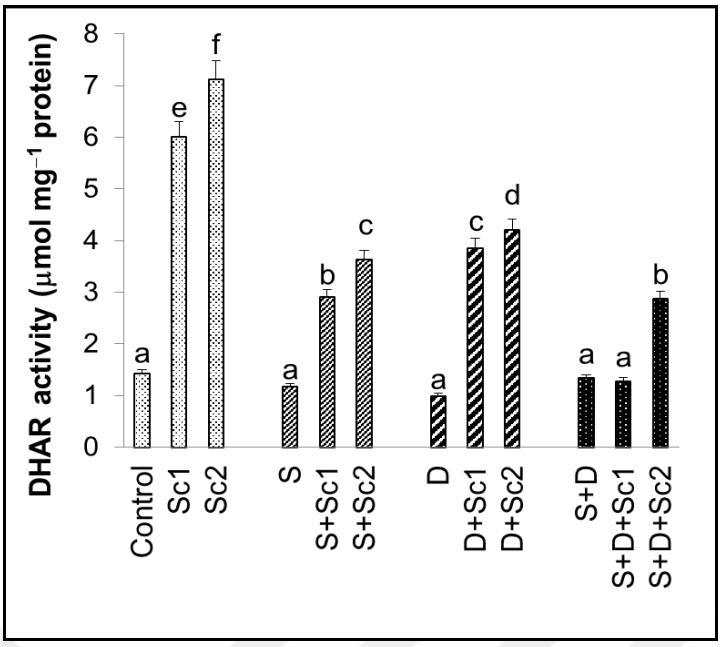
Şekil 4.13. Tuz ve/veya kuraklık stresi altındaki çeltik yapraklarında dışarıdan skandiyum uygulamalarının yaprak total MDHAR (U mg^{-1} protein) aktivitelerinde meydana gelen değişimler (n=4). Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel olarak farklı olan değerleri göstermektedir ($P<0.05$)

Deneme sürecindeki gruplarda yalnız tuz ve Sc1 (25mM-Sc) uygulaması hariç diğer tüm gruplarda MDHAR aktivitelerinde artışlar olduğu gözlemlenmiştir. Tekli tuz uygulamasının kontrol grubu ile kıyaslandığında fark görülmezken, tuz+skandiyum uygulamalarının her iki konsantrasyonunda da (S-Sc1 ve S-Sc2) ciddi şekilde artış olduğu tespit edilmiştir. Ancak bu durum yalnız kuraklık stresi uygulamasında farklılık göstermektedir. Yalnız kuraklık stresi uygulanmış çeltik fidelerinin kontrol grubuna göre 2.5 kat oranında bir artış tespit edilmiştir. Çoklu stres gruplarını (S+D) incelediğimizde ise MDHAR aktivitesi, kontrol grubuna göre yaklaşık 4 kat artmıştır. Çoklu stres gruplarının kombine stres + skandiyum (S+D-Sc1 ve S+D-Sc2) grupları ile kıyaslandığında, skandiyumlu gruplarda MDHAR aktivitesinde ciddi oranda artış tespit edilmiştir.

MDHAR, askorbatın MDHA'dan rejenerasyonunu katalize eder. MDHAR'lar kloroplastlarda, sitozol, mitokondri ve peroksizomlarda bulunan flavin nükleotit (FAD) içeren enzimlerdir (Asada, 1999). APX'ın eşlik etmesiyle MDHAR ayrıca, H_2O_2'i süpürmede de rol oynamaktadır (Del Río ve ark., 2002). *Brassica rapa*'daki MDHAR aktivitelerinde değişimler, H_2O_2, salisilik asit, parakuat ve ozonun yanı sıra, farklı oksidatif streslere cevap olarak tespit edilmiştir (Yoon ve ark., 2004). APX reaksiyonundan sonra üretilen MDHAR, yarılanma ömrü çok kısadır; hızla azaltılmazsa AsA ve DHA'ya dönüşür (Ushimaru ve ark., 1997). Kloroplastlarda MDHAR'ın iki ana rolü vardır; Bunlardan ilki MDHAR'dan AsA oluşumu, ikincisi MDHAR yokluğunda O_2'nin $O_2^{\bullet-}$'e indirgenmesidir (Miyake ve ark., 1998). MDHAR'ın aşırı ekspresyonu, domateste üreme stresine (Stevens ve ark., 2008) ve patateste tuzluluk stresine (Eltayeb ve ark., 2007) karşı tolerans sağlamaktadır. APX, MDHAR ve DHAR ile birlikte askorbat olarak doğrudan ROS'u süpürme kabiliyeti, bitki hücrelerinde askorbat-glutatyon döngüsünün başlıca H_2O_2 tutucu yollarından birine katılır. Bitki hücrelerinde H_2O_2 yıkılması için en önemli indirgeyici substrat AsA'dır ve yüksek düzeyde AsA, bitkileri biyotik ve abiyotik stresler nedeniyle oksidatif hasardan koruyan antioksidan sistemi korumak için gereklidir (Reddy ve ark., 2004). Guo ve ark. (2006) çeşitli çeltik bitkilerinde PEG-6000 kullanarak elde ettikleri kuraklık seviyelerine göre MDHAR seviyelerinde artışlar kaydetmişlerdir. Murshed ve ark. (2013) domates bitkilerine uyguladıkları 3 farklı kuraklık dozlarına ek olarak 3-6 ve 10. günlerde yaptıkları hasatlar sonucunda, üçüncü günde hasat edilen fidelerin tüm çeşidinde MDHAR seviyesi azalmışken, 6 ve 10. günlerde çeşitlerde ise artış olduğunu bildirmişlerdir. Bu veriler sonuçlarımızı doğrular niteliktedir.

4.3.4.7. Dehidroaskorbat redüktaz enzim aktivitesinde gözlenen değişimler

Tuz ve/veya kuraklık stresine maruz bırakılmış çeltik fidelerine dışarıdan uygulanan skandiyum doğrultusunda gözlemlenen dehidroaskorbat redüktaz (DHAR) enzim aktivitelerindeki değişimler Şekil 4.14 verilmiştir.



Şekil 4.14. Tuz ve/veya kuraklık stresi altındaki çeltik yapraklarında skandiyum uygulaması sonucunda DHAR (µmol mg^{-1} protein) aktivitelerinde meydana getirdiği değişimler (n=4). Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel olarak farklı olan değerleri göstermektedir ($P<0.05$)

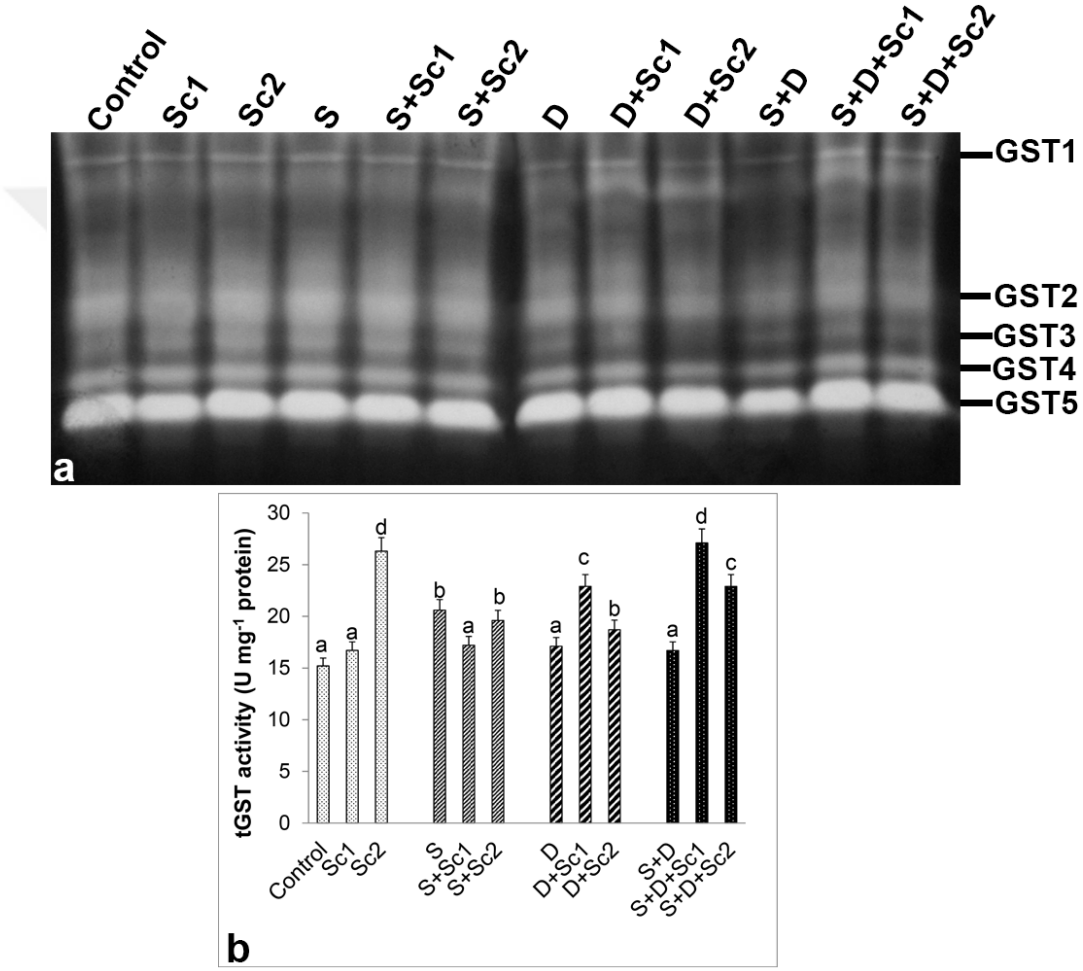
Yalnız skandiyum uygulamalarını kontrol grubuna göre kıyasladığımızda sırasıyla yaklaşık olarak DHAR aktivitelerinde 6.5 ve 7.5 kat seviyesinde artış olduğu tespit edilmiştir. Bunun aksine yalnız stres uygulamaları ve kombine stres uygulamalarındaki DHAR aktiviteleri kontrol grubu ile yaklaşık olarak aynı seviyededir. Ancak, tüm stresle birlikte skandiyum uygulamalarında (S+D+Sc1 grubu hariç) DHAR aktivitesi kontrol grubuna göre artış göstermiştir.

Dehidroaskorbat redüktaz (E.C. 1.8.5.1), DHA'yı AsA'ya dönüştürmek için GSH'ı elektron verici olarak kullanır. Böylece, MDHAR ile birlikte, hücresel AsA havuzunu da doldurur ve özellikle apoplasttaki AsA havuzunun seviyesini düzenler. DHAR, hücrede redoks homeostazını sürdürür. DHAR izozimleri tohumlarda, köklerde ve yeşil sürgünlerde bol miktarda bulunur (Eltayeb ve ark., 2007). GSH'ın substrat olarak kullanılması yoluyla dehidroaskorbatın (DHA) askorbik aside (AsA) dönüşümünü katalizler (Ushimaru ve ark., 1997). DHAR aşırı ekspresyonu, bitkilerin çeşitli streslere karşı toleransına yol açar. Ayrıca, DHAR'ın aşırı ekspresyonu, AsA havuz büyüklüğünün arttırılması ve sürdürülmesi ile ilgilidir (Chen ve ark., 2003; Qin ve ark., 2011). DHAR ayrıca, AsA'yı oksitlenmiş durumdan (DHA) yeniden düzenleyen ve hücresel AsA redoks durumunu düzenleyen AsA geri dönüşüm sisteminin (Martínez ve Araya, 2010) önemli bir bileşenidir. Bu nedenle ROS üretimine yol açan çeşitli abiyotik streslere tolerans için çok önemlidir. Artan DHAR aktivitesi,

çeşitli ROS-indükleyici streslere cevap olarak bildirilmiştir (Lee ve ark., 2007; Hossain ve ark., 2010; Hasanuzzaman ve ark., 2011).

4.5.4.8. Glutatyon S-transferaz aktivitesinin Belirlenmesi

Tuz ve/veya kuraklık stresine maruz bırakılan çeltik fidelerindeki glutatyon S-transferaz (GST) ve GST izozimlerinin elektroforetik ayrımları neticesinde elde etmiş olduğumuz sonuçlar Şekil 4.15'de gösterilmiştir.



Şekil 4.15. Tuz ve/veya kuraklık stresi altındaki çeltik yapraklarında dışarıdan skandiyum uygulamalarının yaprak GST izozimlerinde **(a)** ve total GST (U mg^{-1} protein) aktivitelerinde **(b)** meydana gelen değişimler (n=4). Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel olarak farklı olan değerleri göstermektedir ($P<0.05$)

Yalnız skandiyum uygulamalarının yüksek konsantrasyonlu doza (50mM-Sc) maruz kalan çeltik fidelerinde GST aktivitesi kontrole göre % 73.03 artmışken düşük dozdaki skandiyum uygulamasında (25mM-Sc) ise değişim gözlenmemiştir (Şekil 4.15b). Tuz ve/veya kuraklık stresi uygulanmış çeltik fideleri arasında, yalnız tekli tuz uygulamasında (100mM) GST aktivitesinin kontrol grubuna göre % 35.53 oranın artış

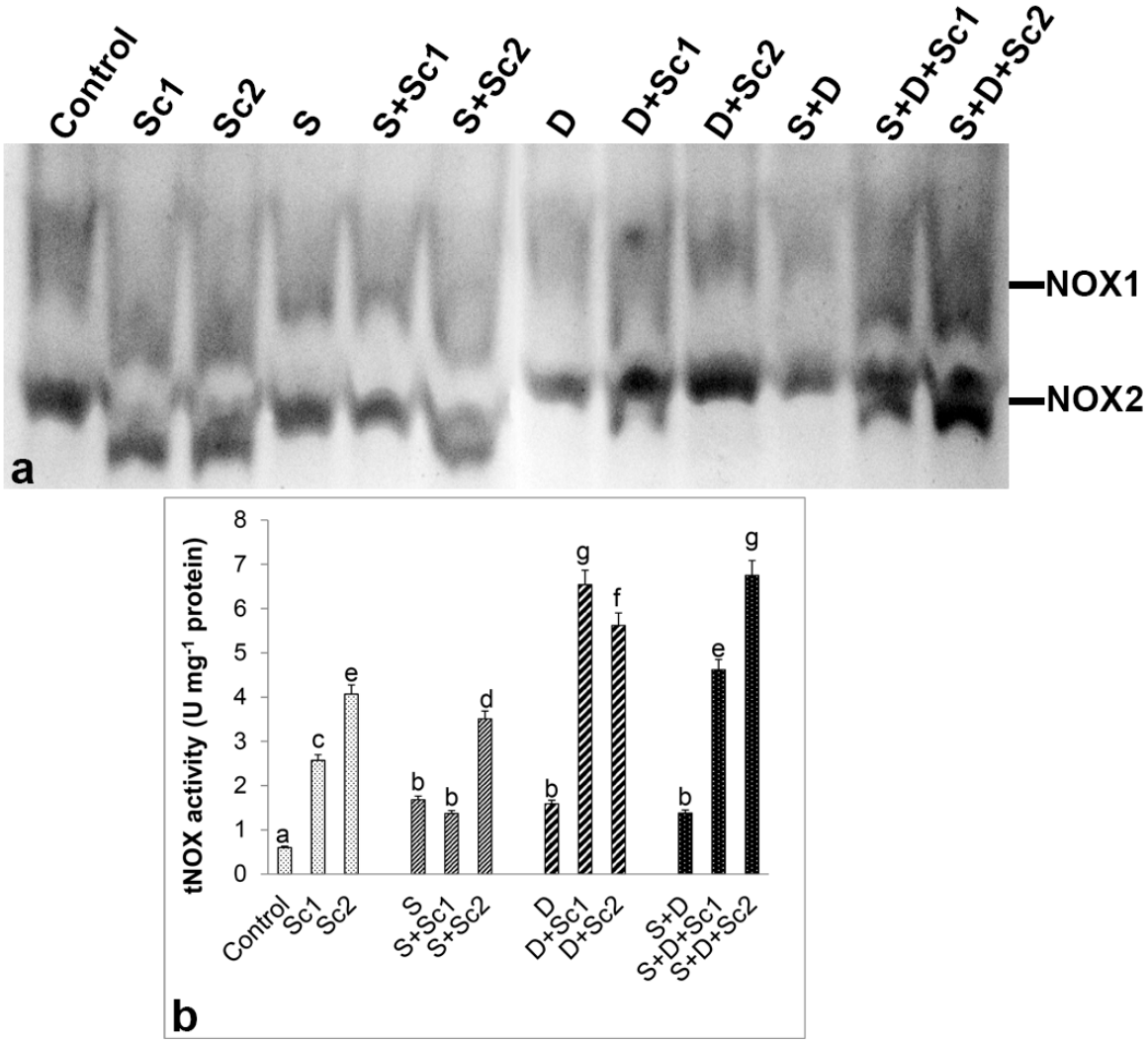
olduğu tespit edilmiştir. Kombine gruplar içerisinde S-Sc1 ve S-Sc2 gruplarının yalnız tuz (S) uygulanmış grupla kıyasladığımızda önemli bir değişim görülmemesine rağmen, yalnız kuraklık (D) ve kombine stres gruplarında (Tuz+Kuraklık) ise düşük dozdaki skandiyum uygulamalarında (D-Sc1 ve S-D-Sc1) GST aktivitesinde sırasıyla % 33.92 ve % 62.28 oranında artışlar tespit edilmiştir.

GST izozimlerinin belirlenmesinde native PAGE elektroforetik ayırma yöntemi gerçekleştirilmiştir. Yetiştirmiş olduğumuz çeltik fidelerine 3 gün süresince tuz ve/veya kuraklık stresiyle skandiyum uygulamalarının ardından elektroforetik çalışmalar sonucunda 5 tane GST izozimi tespit edilmiştir. GST enzim aktivitelerindeki değişimler GST 2, 4 ve 5'in yoğunluklarına bağlıdır (Şekil 4.15a).

Glutatyon-S-transferazlar (GST, EC 2.5.1.18) ya da bitki glutatyon transferazları, tripeptit glutatyon ve elektrofilik ksenobiyotik substrat birleşmesini (GSH; g-gluecysegly) katalize eden büyük enzimler grubudur. Bitki GST'leri, herbisit detoksi reaksiyonuna, antosiyaninin vakumlu sekestrasyonuna, hormon homeostazına, hidroksiperoksit detoksi reaksiyonuna, tirozin metabolizmasına ve hücre ölümünün düzenlenmesine yardımcı olur ve bitkilerin biyotik ve abiyotik streslere verdiği tepkileri etkiler (Dixon ve Edwards, 2010). Glutatyon-S-transferaz, olumsuz çevresel koşullara karşı etkili bir enzim grubudur (Iannelli ve ark., 2002; Halušková ve ark., 2009). Genellikle biyotik stres koşullarına karşı değerlendirilmektedir, ancak son zamanlarda abiyotik stres faktörlerine karşı da değerlendirilmiştir. Cetınkaya ve ark. (2014) yaptıkları çalışmada kullandıkları 2 çeşit mısır bitkisine uygulamış oldukları tuzluk sonucunda, tuz stresine duyarlı çeşitte GST enzim aktivitesi azalırken, toleranslı çeşitlerin GST enzim aktivitesinde bir artış gözlenmiştir. Bir diğer çalışmada, Gapińska ve ark. (2008), domateste tuz stresi altında artan GST enzim aktivitelerini bildirmişlerdir. Benzer şekilde, sıcak şoku uygulanmış buğday fideleri için artan GST enzim aktiviteleri de bildirilmiştir (Halušková ve ark., 2009). Mittova ve ark. (2002), tuza bağımlı oksidatif stres altında, ekili domates türlerinin yüksek GST ve GPX aktiviteleri gösterdiğini bulmuşlardır. Gallé (2005), kuraklık koşulları altında, buğday çeşitlerinde (*Triticum aestivum* L. cv. Kobomugi ve cv. Plainsman) yüksek GST enzim aktivitelerinin ölçüldüğünü belirtmiştir. Bu veriler tez sonuçları örtüşmektedir ancak, Chen ve ark. (2004), aynı türler için (*Triticum aestivum* L.), tarla koşullarında kademeli kuraklık stresinin, daha düşük GST ve GPX aktivitesi verdiğini ileri sürmüştür ve bu bulgular çalışmamız ile ters düşmektedir.

4.3.4.8. NADPH oksidaz enzim aktivitesinde gözlenen değişimler

Stres ve/veya skandiyum uygulamalarına maruz bırakılan çeltik fidelerinde total NADPH oksidaz (NOX) aktivitelerinde ve NOX izozim profillerinde meydana gelen değişimler Şekil 4.16'da verilmiştir.



Şekil 4.16. Tuz ve/veya kuraklık stresi altındaki çeltik fidelerine skandiyum uygulamalarının yaprak NOX izozimlerinde **(a)** ve total NOX (U mg^{-1} protein) aktivitelerinde **(b)** meydana gelen değişimler (n=4). Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel olarak farklı olan değerleri göstermektedir ($P<0.05$)

Denememizdeki tüm skandiyum uygulamalarında total NOX aktivitesinin kontrol grubuna göre artış olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızdaki en yüksek skandiyum artışı kombine stres uygulanmış grupla birlikte yüksek dozdaki skandiyum uygulamasında (% 5 PEG+100µM NaCl+50µM Sc) görülmüş olup, bu artışın oran yaklaşık olarak 10 kat seviyelerindedir. NOX izozimlerinin tespiti için gerçekleştirilen

elektroforez ayırma yöntemi sonucunda 2 farklı NOX izoziminin olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.16a). Bu artış ve azalışların özellikle spektrofotmetrik bulgular ve NOX izozimlerinin yoğunluklarıyla ilgili yapılan densitometrik çalışma neticesinde birbirine uyumlu olduğu bant yoğunluklarında Şekil 4.16'da açıkça görülmektedir. NOX enzimine ait aktivite artış ve azalışlarının NOX2'den kaynaklandığını söyleyebiliriz.

NADPH oksidazlar, bitki büyümesinde, gelişiminde ve biyotik ve abiyotik stres yanıtlarında kilit rol oynayan enzimlerdir ve NOX, bitkilerde sinyal iletimi ile stres algılaması için ihtiyaç duyulan bir ROS tedarikçisi olarak hareket eder (Fluhr, 2009). NADPH oksidaz (NOX), bitkilerin stres şartlarında ürettikleri reaktif oksijen türlerinin, bitki savunma tepkisi, hücre ölümü, abiyotik stres, stoma kapanması ve kök gelişimi de dahil olmak üzere bitkilerde sinyalizasyon ve gelişimde birçok kritik rol oynadığı çoğu çalışmada bildirilmiştir (Foreman ve ark., 2003; Jones ve ark., 2007). Uzilday ve ark. (2012) kullandıkları 2 bitki türüne (*Cleome gynandra-Cleome spinosa*) uyguladıkları kuraklık stres koşulları sonucunda NOX aktivitelerinde kontrol gruplarına göre artış olduğunu bildirmişlerdir. Aynı şekilde, Jiang ve Zhang (2002a), kullandıkları mısır bitkisine kuraklık şartlarında NOX aktivitesinde artışların olduğunu bildirmişlerdir. Bir diğer çalışmada ise, Duan ve ark. (2009), çeltik bitkisine kuraklık stresi uygulamış ve aynı şekilde NOX aktivitelerinde artışlar tespit etmişlerdir. Bu veriler çalışma sonuçları tez verilerimizle örtüşmektedir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1.Sonuçlar

Tez çalışmamızda, tuz ve/veya kuraklık stresine maruz bırakılmış çeltik fidelerine dışarıdan uyguladığımız nadir toprak elementlerinden olan skandiyum ile büyüme parametrelerine, antioksidan enzim sistemlerine, ROS içeriğine, klorofil flüoresans değerleriyle lipid peroksidasyon üzerine etkileri araştırılmış ve elde ettiğimiz verilere ulaşmak için çok sayıda ön deneme ve ölçüm yapılmıştır. Bu durumun en önemli nedeni ise skandiyum elementinin bitki üzerinde ne gibi etkisi olduğunun belirsizliğinden kaynaklanmaktadır. Yaptığımız tetkikler ve elde ettiğimiz ön veriler doğrultusunda en uygun doz aralıklarını belirlediğimiz kanaatindeyiz. Bu doğrultuda 2 doz skandiyum (25 ve 50 μM) olmak üzeri uygulamamız gerçekleştirdik. Stres koşullarında durum ise 2 farklı stres grubu altında çalışmamızı yürüttük. Bunlar tuz (100 mM) ve kuraklık (PEG %5)'dır. Deneme aşamamız sonucunda çeşitli enzimatik antioksidan aktivite değişimlerine bakılmıştır (SOD, CAT, POX, APX, GR, MDHAR, GST, DHAR ve NOX). Bu analizlere ek olarak elde ettiğimiz yaprak örneklerinden native-PAGE ile elektroforetik analizler gerçekleştirilmiş ve izozim profilleri tespit edilmiştir. Bu çalışma skandiyumun bitki ile etkileşimlerini aydınlatmasının yanında, çeşitli stres koşullarında ne gibi tepkimeler verdiğini gün yüzüne çıkaracaktır. Mevcut çalışmada kullandığımız *Oryza sativa* L. fidelerinde tuz ve/veya kuraklık stresi uygulamamız sonucunda RGR, RWC, ozmotik potansiyel ve Fv/Fm değerlerinde kontrol grubuyla kıyaslandığında azalmalar olduğu tespit edilmiştir. Stres altında skandiyumlu uygulamalarda ise bu parametrelerde olumlu etkiler yapmıştır. Stres koşulları altında çeltik fidelerinde H_2O_2 içeriğinde artış olduğu tespit edilmiş olup bu durum skandiyumlu uygulamalarda azalma eğilimi göstermiştir. Çeşitli stres koşullarında iyi bir ozmolit olan prolin içeriklerinde ise stres uygulamalarında artış olmuştur. Anca stresle birlikte uygulanmış bazı skandiyumlu gruplarda (D+Sc1 ve S+D+Sc1) skandiyumun olumlu etki yaptığı sonucuna varılmıştır.

Tuz ve/veya kuraklık stresine maruz kalmış çeltik fidelerinde ROS birikimini azaltmak ve uzaklaştırmak için enzimatik (SOD, CAT, POX, APX, GR, MDHAR, GST, DHAR ve NOX) antioksidan aktiviteleri indüklenir. Çalışmamızda kontrol grubuyla kıyaslandığında stres uygulamalarında SOD-CAT-POX-GR aktivitelerinde azalmalar görülmüştür. GST ve NOX aktivitelerinde ise yalnız stres gruplarında önemli

değişimler olmamasına rağmen skandiyumlu gruplar total değerleri artmıştır. MDHAR'da ise, kuraklık stresi ve kombine stres gruplarında aktivite artışı olduğu görülmektedir. Ancak skandiyumlu gruplarda daha yüksek aktivite kaydedilmiştir. Streslerin tekil olarak uygulandığı gruplarda (S yada D) Sc aktivitesi özellikle CAT ve POX enzimleriyle koruyuculuk sağlamıştır. Diğer yandan streslerin kombinasyonlu uygulandığı koşullarda Sc eklenen çeltik yaprakları POX,APX,GR, MDHAR aktivitelerinin artışı yoluyla H_2O_2'yi azaltabilmiştir. Sonuç olarak, stres şartlarında oluşan reaktif oksijen türlerinin süpürülmesinde çoğu enzimatik aktivite üzerine skandiyum uygulamaları pozitif etki göstermiştir.

5.2. Öneriler

Günümüzde dünya genelinde sekiz kişiden biri kronik açlık çekmekte ve 1 milyardan fazla insan yetersiz beslenmektedir. Bundan dolayı artan nüfus doğrultusunda giderek azalan temel besin kaynakları için tarımsal uygulamalarda ve tarımsal üretimde önemli değişimler ve olumsuz çevre şartlarında bitki gelişimini olumlu yönde etkileyecek çalışmalar yapılması gerekmektedir. Oksidatif stres, ROS veya serbest radikallerin hücre içi veya hücre dışı olarak üretildiği ve hücrelere toksik etki gösterebilecekleri bir durumdur. Bu türler hücre zarı özelliklerini etkileyebilen ve nükleik asitlere, lipidlere ve onları işlevsiz hale getirebilecek proteinlere oksidatif hasar verebilmektedir. Bununla birlikte, hücreler, ROS'un zararlı etkilerini detoksifiye etmek için mükemmel antioksidan savunma mekanizmalarına sahiptir.

Nadir toprak elementlerinden olan skandiyumun bitki üzerindeki etkileri hala bir tartışma konusudur. Bu ve buna benzer çalışmalarla, Sc'nin etki mekanizması açığa çıkartılabilir ve gelecekteki çalışmalara ışık tutacak nitelikte olabilir. Çalışmamızda skandiyumun çoğu parametre üzerinde olumlu ve iyileştirici etkileri olduğu görülmektedir. Elde ettiğimiz veriler doğrultusunda skandiyumun ileriki çalışmalara yol gösterici bir kaynak olacağı kanaatindeyiz. Araştırmamız literatür için yeni bilgi ve daha önce buna benzer bir çalışmanın olmayışı, Türkiye ve dünyadaki bu alandaki çalışmalara önemli ölçüde katkı sağlayacağı görüşündeyiz.

6. KAYNAKLAR

Abdallah, M. S., Abdelgawad, Z. ve El-Bassiouny, H., 2016, Alleviation of the adverse effects of salinity stress using trehalose in two rice varieties, *South African Journal of Botany*, 103, 275-282.

Abdel-Haliem, M. E., Hegazy, H. S., Hassan, N. S. ve Naguib, D. M., 2017, Effect of silica ions and nano silica on rice plants under salinity stress, *Ecological Engineering*, 99, 282-289.

Al-Tamimi, N., Brien, C., Oakey, H., Berger, B., Saade, S., Ho, Y. S., Schmöckel, S. M., Tester, M. ve Negrao, S., 2016, Salinity tolerance loci revealed in rice using high-throughput non-invasive phenotyping, *Nature Communications*, 7, 13342.

Andrade, F. R., da Silva, G. N., Guimarães, K. C., Barreto, H. B. F., de Souza, K. R. D., Guilherme, L. R. G., Faquin, V. ve dos Reis, A. R., 2018, Selenium protects rice plants from water deficit stress, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 164, 562-570.

Anjum, S. A., Xie, X. Y., Wang, L. C., Saleem, M. F., Man, C. ve Lei, W., 2011, Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress, *African Journal of Agricultural Research*, 6 (9), 2026-2032.

Asada, K., 1992, Ascorbate peroxidase–a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants, *Physiologia Plantarum*, 85 (2), 235-241.

Asada, K., 1999, The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons, *Annual Review of Plant Biology*, 50 (1), 601-639.

Ashraf, M. ve Ali, Q., 2008, Relative membrane permeability and activities of some antioxidant enzymes as the key determinants of salt tolerance in canola (*Brassica napus* L.), *Environmental and Experimental Botany*, 63 (1-3), 266-273.

Bajji, M., Lutts, S. ve Kinet, J. M., 2000, Physiological changes after exposure to and recovery from polyethylene glycol-induced water deficit in callus cultures issued from durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars differing in drought resistance, *Journal of Plant Physiology*, 156 (1), 75-83.

Basu, S., Roychoudhury, A., Saha, P. P. ve Sengupta, D. N., 2010, Differential antioxidative responses of indica rice cultivars to drought stress, *Plant Growth Regulation*, 60 (1), 51.

Basu, S., Ramegowda, V., Kumar, A. ve Pereira, A., 2016, Plant adaptation to drought stress, *F1000Research*, 5.

Bates, L., Waldren, R. ve Teare, I., 1973, Rapid determination of free proline for water-stress studies, *Plant and Soil*, 39 (1), 205-207.

Beauchamp, C. ve Fridovich, I., 1971, Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels, *Analytical Biochemistry*, 44 (1), 276-287.

Bergmeyer, H. U., 1970, Methoden der enzymatischen Analyse. *Verlag Chemie*.

Bhattacharjee, S. ve Dey, N., 2018, Redox metabolic and molecular parameters for screening drought tolerant indigenous aromatic rice cultivars, *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 24 (1), 7-23.

Blum, A., 2011, Plant water relations, plant stress and plant production, In: Plant breeding for water-limited environments, Eds: Springer, p. 11-52.

Bouman, B., Peng, S., Castaneda, A. ve Visperas, R., 2005, Yield and water use of irrigated tropical aerobic rice systems, *Agricultural Water Management*, 74 (2), 87-105.

Bowen, H. J. M., 1966, Trace elements in biochemistry, *Trace Elements in Biochemistry, Academic Press, London, 241*.

Bradford, M. M., 1976, A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Analytical Biochemistry*, 72 (1-2), 248-254.

Bunnag, S. ve Pongthai, P., 2013, Selection of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars tolerant to drought stress at the vegetative stage under field conditions, *American Journal of Plant Sciences*, 4 (09), 1701.

Carter, J. ve Patterson, R., 1985, Use of relative water content as a selection tool for drought tolerance in soybean, *Fide Agron Abstract 77th Annu Meeting*.

Cetinkaya, H., Tasci, E. ve Dinler, B. S., 2014, Regulation of glutathione S-transferase enzyme activity with salt pre-treatment under heat stress in maize leaves, *Research in Plant Biology*, 4 (5).

Cheeseman, J. M., 2006, Hydrogen peroxide concentrations in leaves under natural conditions, *Journal of Experimental Botany*, 57 (10), 2435-2444.

Chen, C. ve Dickman, M. B., 2005, Proline suppresses apoptosis in the fungal pathogen *Colletotrichum trifolii*, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102 (9), 3459-3464.

Chen, K. M., Gong, H. J., Chen, G. C., Wang, S. M. ve Zhang, C. L., 2004, Gradual drought under field conditions influences the glutathione metabolism, redox balance and energy supply in spring wheat, *Journal of Plant Growth Regulation*, 23 (1), 20-28.

Chen, Z., Young, T. E., Ling, J., Chang, S. C. ve Gallie, D. R., 2003, Increasing vitamin C content of plants through enhanced ascorbate recycling, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100 (6), 3525-3530.

Chen, Z. ve Gallie, D. R., 2004, The ascorbic acid redox state controls guard cell signaling and stomatal movement, *The Plant Cell*, 16 (5), 1143-1162.

Chen, Z., Cuin, T. A., Zhou, M., Twomey, A., Naidu, B. P. ve Shabala, S., 2007, Compatible solute accumulation and stress-mitigating effects in barley genotypes contrasting in their salt tolerance, *Journal of Experimental Botany*, 58 (15-16), 4245-4255.

Cheng, L., Han, M., Yang, L. M., Li, Y., Sun, Z. ve Zhang, T., 2018, Changes in the physiological characteristics and baicalin biosynthesis metabolism of *Scutellaria baicalensis* Georgi under drought stress, *Industrial Crops and Products*, 122, 473-482.

Chunthaburee, S., Dongsansuk, A., Sanitchon, J., Pattanagul, W. ve Theerakulpisut, P., 2016, Physiological and biochemical parameters for evaluation and clustering of rice cultivars differing in salt tolerance at seedling stage, *Saudi Journal of Biological Sciences*, 23 (4), 467-477.

Chutipaijit, S., Chaum, S. ve Sompornpailin, K., 2011, High contents of proline and anthocyanin increase protective response to salinity in *Oryza sativa* L. spp. *indica*, *Australian Journal of Crop Science*, 5 (10), 1191.

Clarkson, D. T. ve Sanderson, J., 1969, The uptake of a polyvalent cation and its distribution in the root apices of *Allium cepa*: Tracer and autoradiographic studies, *Planta*, 89 (2), 136-154.

Courtois, B., McLaren, G., Sinha, P., Prasad, K., Yadav, R. ve Shen, L., 2000, Mapping QTLs associated with drought avoidance in upland rice, *Molecular Breeding*, 6 (1), 55-66.

Çelik, Ö. ve Atak, Ç., 2012, The effect of salt stress on antioxidative enzymes and proline content of two Turkish tobacco varieties, *Turkish Journal of Biology*, 36 (3), 339-356.

Dai, A., 2013, Increasing drought under global warming in observations and models, *Nature Climate Change*, 3 (1), 52.

Dames, J., Redfern, S. P. ve Ripley, B. S., 2004, Quantification of the photosynthetic performance of phosphorus-deficient Sorghum by means of chlorophyll-a fluorescence kinetics, *South African Journal of Science*, 100 (11), 615-618.

Damhus, T., Hartshorn, R. ve Hutton, A., 2005, Nomenclature of inorganic chemistry: IUPAC recommendations 2005, *Chemistry International*.

Dasgupta, P., Das, B. S. ve Sen, S. K., 2015, Soil water potential and recoverable water stress in drought tolerant and susceptible rice varieties, *Agricultural Water Management*, 152, 110-118.

De Azevedo Neto, A. D., Prisco, J. T., Enéas-Filho, J., de Abreu, C. E. B. ve Gomes-Filho, E., 2006, Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes, *Environmental and Experimental Botany*, 56 (1), 87-94.

De Lima, I. B. ve Leal Filho, W., 2015, Rare earths industry: Technological, economic, and environmental implications, Elsevier, p.

Del Río, L. A., Corpas, F. J., Sandalio, L. M., Palma, J. M., Gómez, M. ve Barroso, J. B., 2002, Reactive oxygen species, antioxidant systems and nitric oxide in peroxisomes, *Journal of Experimental Botany*, 53 (372), 1255-1272.

Demiral, T. ve Türkan, I., 2005, Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance, *Environmental and Experimental Botany*, 53 (3), 247-257.

Ding, G., Yang, G., Zhang, F., Bai, L., Sun, S., Jiang, S., Wang, T., Xia, T., Ma, D. ve Chen, W., 2016, Effect of drought stress on antioxidant mechanisms of weedy rice, *Bangladesh Journal of Botany*, 45 (2), 377-388.

Dionisio Sese, M. L. ve Tobita, S., 1998a, Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress, *Plant Science*, 135 (1), 1-9.

Dionisio Sese, M. L. ve Tobita, S. J. P. S., 1998b, Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress, *Plant Science*, 135(1), 1-9.

Dixon, D. P. ve Edwards, R., 2010, Glutathione transferases, *The Arabidopsis Book/American Society of Plant Biologists*, 8.

Duan, Z. Q., Bai, L., Zhao, Z. G., Zhang, G. P., Cheng, F. M., Jiang, L. X. ve Chen, K. M., 2009, Drought stimulated activity of plasma membrane nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase and its catalytic properties in rice, *Journal of Integrative Plant Biology*, 51 (12), 1104-1115.

Ehsanpour, A., Zarei, S. ve Abbaspour, J., 2012, The role of over expression of P5CS gene on proline, catalase, ascorbate peroxidase activity and lipid peroxidation of transgenic tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) plant under in vitro drought stress, *Journal of Cell and Molecular Research*, 4 (1), 43-49.

El-Esawi, M. A. ve Alayafi, A. A., 2019, Overexpression of rice Rab7 gene improves drought and heat tolerance and increases grain yield in rice (*Oryza sativa* L.), *Genes*, 10 (1), 56.

Eltayeb, A. E., Kawano, N., Badawi, G. H., Kaminaka, H., Sanekata, T., Shibahara, T., Inanaga, S. ve Tanaka, K., 2007, Overexpression of monodehydroascorbate reductase in transgenic tobacco confers enhanced tolerance to ozone, salt and polyethylene glycol stresses, *Planta*, 225 (5), 1255-1264.

Emam, M., 2012, Antioxidant defense system of black rice grown under drought, *The Egyptian Journal of Experimental Biology*, 8 (2), 261-269.

Esfandiari, E., Shekari, F., Shekari, F. ve Esfandiari, M., 2007, The effect of salt stress on antioxidant enzymes'activity and lipid peroxidation on the wheat seedlıng, *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 35 (1), 48.

Eyidogan, F. ve Öz, M. T., 2007, Effect of salinity on antioxidant responses of chickpea seedlings, *Acta Physiologiae Plantarum*, 29 (5), 485.

Fahad, S., Bajwa, A. A., Nazir, U., Anjum, S. A., Farooq, A., Zohaib, A., Sadia, S., Nasim, W., Adkins, S. ve Saud, S., 2017, Crop production under drought and heat stress: plant responses and management options, *Frontiers in Plant Science*, 8, 1147.

Fahramand, M., Mahmoody, M., Keykha, A., Noori, M. ve Rigi, K., 2014, Influence of abiotic stress on proline, photosynthetic enzymes and growth, *International Research Journal of Applied and Basic Sciences* 8 (3), 257-265.

Faize, M., Burgos, L., Faize, L., Piqueras, A., Nicolas, E., Barba Espin, G., Clemente Moreno, M. J., Alcobendas, R., Artlip, T. ve Hernandez, J. A., 2011a, Involvement of cytosolic ascorbate peroxidase and Cu/Zn superoxide dismutase for improved tolerance against drought stress, *Journal of Experimental Botany*, 62 (8), 2599-2613.

Faize, M., Burgos, L., Faize, L., Piqueras, A., Nicolas, E., Barba-Espin, G., Hernandez, J. A. 2011b, Involvement of cytosolic ascorbate peroxidase and Cu/Zn-superoxide dismutase for improved tolerance against drought stress, *Journal of Experimental Botany*, 62 (8), 2599-2613.

Fan, M. H., Liao, Z., Chen, L. Y., Shi, G. ve Wang, J. X., 2012, Effects of rare earth elements lanthanum on growth and antioxidation system of the greengrocery under salt stress, *2012 International Conference on Biomedical Engineering and Biotechnology*, 228-235.

Fao, F., 2008, Agriculture Organization (2009), *State of the World's Forests. FAO, Rome*.

Farooq, M., Basra, S. M. A., Wahid, A., Ahmad, N., & Saleem, B. A., 2009a, Improving the drought tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) by exogenous application of salicylic acid, *Journal of Agronomy and Crop Science*, 195 (4), 237-246.

Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. ve Basra, S., 2009b, Plant drought stress: effects, mechanisms and management, In: *Sustainable Agriculture*, Eds: Springer, p. 153-188.

Farooq, M., Wahid, A., Lee, D. J., Ito, O. ve Siddique, K. H., 2009c, Advances in drought resistance of rice, *Critical Reviews in Plant Sciences*, 28 (4), 199-217.

Farooq, M., Bramley, H., Palta, J. A. ve Siddique, K. H., 2011, Heat stress in wheat during reproductive and grain-filling phases, *Critical Reviews in Plant Sciences*, 30 (6), 491-507.

Fini, A., Guidi, L., Ferrini, F., Brunetti, C., Di Ferdinando, M., Biricolti, S., Pollastri, S., Calamai, L. ve Tattini, M., 2012, Drought stress has contrasting effects on antioxidant enzymes activity and phenylpropanoid biosynthesis in *Fraxinus ornus* leaves: an excess light stress affair?, *Journal of Plant Physiology*, 169 (10), 929-939.

Fluhr, R., 2009, Reactive oxygen-generating NADPH oxidases in plants, In: *Reactive Oxygen Species in Plant Signaling*, Eds: Springer, p. 1-23.

Foley, J. A., Ramankutty, N., Brauman, K. A., Cassidy, E. S., Gerber, J. S., Johnston, M., Mueller, N. D., O'Connell, C., Ray, D. K. ve West, P. C., 2011, Solutions for a cultivated planet, *Nature*, 478 (7369), 337.

Foreman, J., Demidchik, V., Bothwell, J. H., Mylona, P., Miedema, H., Torres, M. A., Linstead, P., Costa, S., Brownlee, C. ve Jones, J. D., 2003, Reactive oxygen species produced by NADPH oxidase regulate plant cell growth, *Nature*, 422 (6930), 442.

Foyer, C. H. ve Halliwell, B., 1976, The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism, *Planta*, 133 (1), 21-25.

Foyer, C. H. ve Noctor, G., 2005, Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context, *Plant, Cell and Environment*, 28 (8), 1056-1071.

Foyer, C. H., Noctor, G. J. P., Cell ve Environment, 2005, Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context, *Plant, Cell and Environment*, 28 (8), 1056-1071.

Foyer, C. H. ve Noctor, G., 2009, Redox regulation in photosynthetic organisms: signaling, acclimation, and practical implications, *Antioxidants and Redox Signaling*, 11 (4), 861-905.

Foyer, C. H. ve Noctor, G., 2011, Ascorbate and glutathione: the heart of the redox hub, *Plant Physiology*, 155 (1), 2-18.

Gallé, Á., 2005, Changes of glutathione S-transferase activities and gene expression in *Triticum aestivum* during polyethylene-glycol induced osmotic stress, *Acta Biologica Szegediensis*, 49 (1-2), 95-96.

Gao, L. ve Xia, R., 1988, Study on the microstructure of wheat treated by REEs, *Chinese Rare Earths*, 4, 26-28.

Gapińska, M., Skłodowska, M. ve Gabara, B., 2008, Effect of short-and long-term salinity on the activities of antioxidative enzymes and lipid peroxidation in tomato roots, *Acta Physiologiae Plantarum*, 30 (1), 11.

Garg, N. ve Manchanda, G., 2009, ROS generation in plants: boon or bane?, *Plant Biosystems*, 143 (1), 81-96.

Gharibi, S., Tabatabaei, B. E. S., Saeidi, G. ve Goli, S. A. H., 2016, Effect of drought stress on total phenolic, lipid peroxidation, and antioxidant activity of *Achillea* species, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 178 (4), 796-809.

Ghars, M. A., Parre, E., Debez, A., Bordenave, M., Richard, L., Leport, L., Bouchereau, A., Savouré, A. ve Abdelly, C., 2008, Comparative salt tolerance analysis between *Arabidopsis thaliana* and *Thellungiella halophila*, with special emphasis on K^+/Na^+ selectivity and proline accumulation, *Journal of Plant Physiology*, 165 (6), 588-599.

Gill, S. S., ve Tuteja, N., 2010, Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants, *Plant Physiology and Biochemistry*, 48 (12), 909-930.

Gorai, M., Ennajeh, M., Khemira, H. ve Neffati, M., 2010, Combined effect of NaCl-salinity and hypoxia on growth, photosynthesis, water relations and solute accumulation in Phragmites australis plants, *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 205 (7), 462-470.

Grattan, S., Zeng, L., Shannon, M. ve Roberts, S., 2002, Rice is more sensitive to salinity than previously thought, *California Agriculture*, 56 (6), 189-198.

Guan, X. K., Song, L., Wang, T. C., Turner, N. ve Li, F. M., 2015, Effect of drought on the gas exchange, chlorophyll fluorescence and yield of six different-era spring wheat cultivars, *Journal of Agronomy and Crop Science*, 201 (4), 253-266.

Guo, Z., Ou, W. Z., Lu, S. Y., ve Zhong, Q., 2006, Differential responses of antioxidative system to chilling and drought in four rice cultivars differing in sensitivity, *Plant Physiology and Biochemistry*, 44 (11-12), 828-836.

Habig, W. H., Pabst, M. J. ve Jakoby, W. B., 1974, Glutathione S-transferases the first enzymatic step in mercapturic acid formation, *Journal of Biological Chemistry*, 249 (22), 7130-7139.

Halušková, L. U., Valentovičová, K., Huttová, J., Mistrík, I. ve Tamás, L., 2009, Effect of abiotic stresses on glutathione peroxidase and glutathione S-transferase activity in barley root tips, *Plant Physiology and Biochemistry*, 47 (11-12), 1069-1074.

Hare, P. ve Cress, W., 1997, Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants, *Plant Growth Regulation*, 21 (2), 79-102.

Hasanuzzaman, M., Hossain, M. A. ve Fujita, M., 2011, Selenium-induced up-regulation of the antioxidant defense and methylglyoxal detoxification system reduces salinity-induced damage in rapeseed seedlings, *Biological Trace Element Research*, 143 (3), 1704-1721.

Hasegawa, P. M., Bressan, R. A., Zhu, J. K. ve Bohnert, H. J., 2000, Plant cellular and molecular responses to high salinity, *Annual Review of Plant Biology*, 51 (1), 463-499.

Haxel, G. B., Hedrick, J. B., Orris, G. J., Stauffer, P. H. ve Hendley, J. W., 2002, Rare earth elements: *Critical Resources for High Technology*.

Hayat, S., Hayat, Q., Alyemeni, M. N., Wani, A. S., Pichtel, J. ve Ahmad, A., 2012, Role of proline under changing environments: a review, *Plant Signaling and Behavior*, 7 (11), 1456-1466.

Herzog, V. ve Fahimi, H., 1973, Determination of the activity of peroxidase, *Analytical Biochemistry*, 55 (554), e62.

Horovitz, C. T., 2012, Biochemistry of scandium and yttrium, Part 1: physical and chemical fundamentals, Springer Science and Business Media.

Hossain, M. A., Nakano, Y. ve Asada, K., 1984, Monodehydroascorbate reductase in spinach chloroplasts and its participation in regeneration of ascorbate for scavenging hydrogen peroxide, *Plant and Cell Physiology*, 25 (3), 385-395.

Hossain, M. A., Hasanuzzaman, M. ve Fujita, M., 2010, Up-regulation of antioxidant and glyoxalase systems by exogenous glycinebetaine and proline in mung bean confer tolerance to cadmium stress, *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 16 (3), 259-272.

Hsu, S., Hsu, Y. ve Kao, C., 2003, The effect of polyethylene glycol on proline accumulation in rice leaves, *Biologia Plantarum*, 46 (1), 73-78.

Hunt, R., Causton, D. R., Shipley, B. ve Askew, A. P., 2002, A modern tool for classical plant growth analysis, *Annals of Botany*, 90 (4), 485-488.

Iannelli, M. A., Pietrini, F., Fiore, L., Petrilli, L. ve Massacci, A., 2002, Antioxidant response to cadmium in *Phragmites australis* plants, *Plant Physiology and Biochemistry*, 40 (11), 977-982.

James, A., Lawn, R. ve Cooper, M., 2008, Genotypic variation for drought stress response traits in soybean. II. Inter-relations between epidermal conductance, osmotic potential, relative water content, and plant survival, *Australian Journal of Agricultural Research*, 59 (7), 670-678.

Jamil, M., Lee, K. J., Kim, J. M., Kim, H. S. ve Rha, E. S., 2007, Salinity reduced growth PS2 photochemistry and chlorophyll content in radish, *Scientia Agricola*, 64 (2), 111-118.

Jampeetong, A. ve Brix, H., 2009, Effects of NaCl salinity on growth, morphology, photosynthesis and proline accumulation of *Salvinia natans*, *Aquatic Botany*, 91 (3), 181-186.

Jiang, M. ve Zhang, J., 2002a, Involvement of plasma-membrane NADPH oxidase in abscisic acid-and water stress-induced antioxidant defense in leaves of maize seedlings, *Planta*, 215 (6), 1022-1030.

Jiang, M. Y. ve Zhang, J. H., 2002b, Involvement of plasma-membrane NADPH oxidase in abscisic acid- and water stress-induced antioxidant defense in leaves of maize seedlings, *Planta*, 215 (6), 1022-1030.

Jiménez, A., Hernández, J. A., Pastori, G., del Rıo, L. A. ve Sevilla, F., 1998, Role of the ascorbate-glutathione cycle of mitochondria and peroxisomes in the senescence of pea leaves, *Plant Physiology*, 118 (4), 1327-1335.

Jones, M. A., Raymond, M. J., Yang, Z. ve Smirnoff, N., 2007, NADPH oxidase-dependent reactive oxygen species formation required for root hair growth depends on ROP GTPase, *Journal of Experimental Botany*, 58 (6), 1261-1270.

Ju, Y. L., Yue, X. F., Zhao, X. F., Zhao, H., ve Fang, Y. L., 2018, Physiological, micro-morphological and metabolomic analysis of grapevine (*Vitis vinifera* L.) leaf of plants under water stress, *Plant Physiology and Biochemistry*, 130, 501-510.

Kant, S., Kant, P., Raveh, E. ve Barak, S., 2006, Evidence that differential gene expression between the halophyte, *Thellungiella halophila*, and *Arabidopsis thaliana* is responsible for higher levels of the compatible osmolyte proline and tight control of Na^+ uptake in *T. halophila*, *Plant, Cell & Environment*, 29 (7), 1220-1234.

Kapoor, K. ve Srivastava, A., 2010, Assessment of salinity tolerance of *Vinga mungo* var. Pu-19 using ex vitro and in vitro methods, *Asian Journal of Biotechnology*, 2 (2), 73-85.

Kausar, R., Hossain, Z., Makino, T. ve Komatsu, S., 2012, Characterization of ascorbate peroxidase in soybean under flooding and drought stresses, *Molecular Biology Reports*, 39 (12), 10573-10579.

Kaya, C., Akram, N. A., Ashraf, M., ve Sonmez, O., 2018, Exogenous application of humic acid mitigates salinity stress in maize (*Zea mays* L.) plants by improving some key physico-biochemical attributes, *Cereal Research Communications*, 46 (1), 67-78.

Kemble, A. ve Macpherson, H. T., 1954, Liberation of amino acids in perennial rye grass during wilting, *Biochemical Journal*, 58 (1), 46.

Kholova, J., Sairam, R. K. ve Meena, R. C., 2010, Osmolytes and metal ions accumulation, oxidative stress and antioxidant enzymes activity as determinants of salinity stress tolerance in maize genotypes, *Acta Physiologiae Plantarum*, 32 (3), 477-486.

Khush, G. S., 2005, What it will take to feed 5.0 billion rice consumers in 2030, *Plant Molecular Biology*, 59 (1), 1-6.

Kibria, M. G., Hossain, M., Murata, Y. ve Hoque, M. A., 2017, Antioxidant defense mechanisms of salinity tolerance in rice genotypes, *Rice Science*, 24 (3), 155-162.

Koca, H., Ozdemir, F. ve Turkan, I., 2006, Effect of salt stress on lipid peroxidation and superoxide dismutase and peroxidase activities of *Lycopersicon esculentum* and L. *pennellii*, *Biologia Plantarum*, 50 (4), 745-748.

Kromdijk, J. ve Long, S. P., 2016, One crop breeding cycle from starvation? How engineering crop photosynthesis for rising CO_2 and temperature could be one important route to alleviation, *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 283 (1826), 20152578.

Kumar, A., Dixit, S., Ram, T., Yadaw, R., Mishra, K. ve Mandal, N., 2014, Breeding high-yielding drought-tolerant rice: genetic variations and conventional and molecular approaches, *Journal of Experimental Botany*, 65 (21), 6265-6278.

Laemmli, U. K., 1970, Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4, *Nature*, 227, 680-685.

Lambers, H., Chapin III, F. S. ve Pons, T. L., 2008, *Plant physiological ecology*, Springer Science & Business Media, p.

Läuchli, A. ve Grattan, S., 2007, Plant growth and development under salinity stress, In: *Advances in Molecular Breeding Toward Drought and Salt Tolerant Crops*, Eds: Springer, p. 1-32.

Lee, B. H., Won, S. H., Lee, H. S., Miyao, M., Chung, W. I., Kim, I. J., ve Jo, J., 2000, Expression of the chloroplast-localized small heat shock protein by oxidative stress in rice, *Gene*, 245 (2), 283-290.

Lee, D. H., Kim, Y. S. ve Lee, C. B., 2001, The inductive responses of the antioxidant enzymes by salt stress in the rice (*Oryza sativa* L.), *Journal of Plant Physiology*, 158 (6), 737-745.

Lee, M. H., Cho, E. J., Wi, S. G., Bae, H., Kim, J. E., Cho, J. Y., ve Chung, B. Y., 2013, Divergences in morphological changes and antioxidant responses in salt-tolerant and salt-sensitive rice seedlings after salt stress, *Plant Physiology and Biochemistry*, 70, 325-335.

Lee, Y. P., Kim, S. H., Bang, J. W., Lee, H. S., Kwak, S. S., ve Kwon, S. Y., 2007, Enhanced tolerance to oxidative stress in transgenic tobacco plants expressing three antioxidant enzymes in chloroplasts, *Plant Cell Reports*, 26 (5), 591-598.

Li, X. ve Liu, F., 2016, Drought stress memory and drought stress tolerance in plants: biochemical and molecular basis, In: *Drought Stress Tolerance in Plants*, Vol 1, Eds: Springer, p. 17-44.

Li, Y., Ye, W., Wang, M. ve Yan, X., 2009, Climate change and drought: a risk assessment of crop-yield impacts, *Climate Research*, 39 (1), 31-46.

Lin, C. C. ve Kao, C. H., 2000, Effect of NaCl stress on H_2O_2 metabolism in rice leaves, *Plant Growth Regulation*, 30 (2), 151-155.

Lin, C. C. ve Kao, C. H., 2001, Cell wall peroxidase activity, hydrogen peroxide level and NaCl-inhibited root growth of rice seedlings, *Plant and Soil*, 230 (1), 135-143.

Lui, J. ve Shono, M., 1999, Characterization of mitochondria-located small heat shock protein from tomato (*Lycopersicon esculentum*), *Plant and Cell Physiology*, 40 (12), 1297-1304.

Lum, M., Hanafi, M., Rafii, Y. ve Akmar, A., 2014, Effect of drought stress on growth, proline and antioxidant enzyme activities of upland rice, *Journal of Animal and Plant Sciences*, 24 (5), 1487-1493.

Maksimovic, I., Kastori, R., Putnik, M. ve Borišev, M., 2014, Effect of yttrium on photosynthesis and water relations in young maize plants, *Journal of Rare Earths*, 32 (4), 372-378.

Manchanda, G. ve Garg, N., 2008, Salinity and its effects on the functional biology of legumes, *Acta Physiologiae Plantarum*, 30 (5), 595-618.

Mandhania, S., Madan, S. ve Sawhney, V., 2006, Antioxidant defense mechanism under salt stress in wheat seedlings, *Biologia Plantarum*, 50 (2), 227-231.

Martínez, J. P. ve Araya, H., 2010, Ascorbate glutathione cycle: enzymatic and non-enzymatic integrated mechanisms and its biomolecular regulation, In: *Ascorbate-glutathione pathway and stress tolerance in plants*, Eds: Springer, p. 303-322.

Mathur, N., Singh, J., Bohra, S., Bohra, A. ve Vyas, A., 2006, Biomass production, productivity and physiological changes in moth bean genotypes at different salinity levels, *American Journal of Plant Physiology*, 1 (2), 210-213.

Maxwell, K. ve Johnson, G. N., 2000, Chlorophyll fluorescence a practical guide, *Journal of Experimental Botany*, 51 (345), 659-668.

Mhamdi, A. ve Van Breusegem, F., 2018, Reactive oxygen species in plant development, *Development*, 145 (15), dev164376.

Mickelbart, M. V., Hasegawa, P. M. ve Bailey-Serres, J., 2015, Genetic mechanisms of abiotic stress tolerance that translate to crop yield stability, *Nature Reviews Genetics*, 16 (4), 237.

Mırzaı, M., Moeini, A. ve Ghanati, F., 2013, Effects of drought stress on the lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in two canola (*Brassica napus* L.) cultivars, *Journal of Agricultural Science and Technology*, (15), 593-602

Mishra, P., Bhoomika, K. ve Dubey, R., 2013, Differential responses of antioxidative defense system to prolonged salinity stress in salt-tolerant and salt-sensitive Indica rice (*Oryza sativa* L.) seedlings, *Protoplasma*, 250 (1), 3-19.

Mishra, S. S. ve Panda, D., 2017, Leaf traits and antioxidant defense for drought tolerance during early growth stage in some popular traditional rice landraces from Koraput, India, *Rice Science*, 24 (4), 207-217.

Mittal, R. ve Dubey, R. S., 1991, Behaviour of peroxidases in rice: changes in enzyme activity and isoforms in relation to salt tolerance, *Plant Physiology and Biochemistry (France)*.

Mittler, R. ve Zilinskas, B. A., 1993, Detection of ascorbate peroxidase-activity in native gels by inhibition of the ascorbate-dependent reduction of nitroblue tetrazolium, *Analytical Biochemistry*, 212 (2), 540-546.

Mittler, R. ve Zilinskas, B. A., 1994, Regulation of pea cytosolic ascorbate peroxidase and other antioxidant enzymes during the progression of drought stress and following recovery from drought, *The Plant Journal*, 5 (3), 397-405.

Mittova, V., Guy, M., Tal, M. ve Volokita, M., 2002, Response of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii* to salt-dependent oxidative stress: increased activities of antioxidant enzymes in root plastids, *Free Radical Research*, 36 (2), 195-202.

Miyake, C., Schreiber, U., Hormann, H., Sano, S. ve Kozi, A., 1998, The FAD-enzyme monodehydroascorbate radical reductase mediates photoproduction of superoxide radicals in spinach thylakoid membranes, *Plant and Cell Physiology*, 39 (8), 821-829.

Montillet, J. L., Chamnongpol, S., Rustérucci, C., Dat, J., Van De Cotte, B., Agnel, J. P., Battesti, C., Inzé, D., Van Breusegem, F. ve Triantaphylides, C., 2005, Fatty acid hydroperoxides and H_2O_2 in the execution of hypersensitive cell death in tobacco leaves, *Plant Physiology*, 138 (3), 1516-1526.

Morita, S., Kaminaka, H., Masumura, T. ve Tanaka, K., 1999, Induction of rice cytosolic ascorbate peroxidase mRNA by oxidative stress; the involvement of hydrogen peroxide in oxidative stress signalling, *Plant and Cell Physiology*, 40 (4), 417-422.

Mostajeran, A. ve Rahimi, V., 2009, Effects of drought stress on growth and yield of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars and accumulation of proline and soluble sugars

in sheath and blades of their different ages leaves, *Journal of Agriculture and Environmental Sciences*, 5 (2), 264-272.

Mostofa, M. G., Hossain, M. A. ve Fujita, M., 2015a, Trehalose pretreatment induces salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings: oxidative damage and co-induction of antioxidant defense and glyoxalase systems, *Protoplasma*, 252 (2), 461-475.

Mostofa, M. G., Saegusa, D., Fujita, M. ve Tran, L. S. P., 2015b, Hydrogen sulfide regulates salt tolerance in rice by maintaining Na^+/K^+ balance, mineral homeostasis and oxidative metabolism under excessive salt stress, *Frontiers in Plant Science*, 6, 1055.

Munns, R., 2002, Comparative physiology of salt and water stress, *Plant, Cell & Environment*, 25 (2), 239-250.

Munns, R. ve Tester, M., 2008, Mechanisms of salinity tolerance, *Annual Review of Plant Biology*, 59, 651-681.

Murshed, R., Lopez-Lauri, F. ve Sallanon, H., 2013, Effect of water stress on antioxidant systems and oxidative parameters in fruits of tomato (*Solanum lycopersicon* L., cv. Micro-tom), *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 19 (3), 363-378.

Nakano, Y. ve Asada, K., 1981, Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts, *Plant and Cell Physiology*, 22 (5), 867-880.

Nayyar, H. ve Gupta, D., 2006, Differential sensitivity of C3 and C4 plants to water deficit stress: association with oxidative stress and antioxidants, *Environmental and Experimental Botany*, 58 (1-3), 106-113.

Nie, W., Gong, B., Chen, Y., Wang, J., Wei, M. ve Shi, Q., 2018, Photosynthetic capacity, ion homeostasis and reactive oxygen metabolism were involved in exogenous salicylic acid increasing cucumber seedlings tolerance to alkaline stress, *Scientia Horticulturae*, 235, 413-423.

Nikolaeva, M., Maevskaya, S., Shugaev, A. ve Bukhov, N., 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.

Noctor, G. ve Foyer, C. H., 1998, A re-evaluation of the ATP: NADPH budget during C3 photosynthesis: a contribution from nitrate assimilation and its associated respiratory activity?, *Journal of Experimental Botany*, 49 (329), 1895-1908.

Nounjan, N., Chansongkrow, P., Charoensawan, V., Siangliw, J. L., Toojinda, T., Chadchawan, S. ve Theerakulpisut, P., 2018, High performance of photosynthesis and osmotic adjustment are associated with salt tolerance ability in rice carrying drought tolerance QTL: physiological and co-expression network analysis, *Frontiers in Plant Science*, 9.

Ort, D. R., 2001, When there is too much light, *Plant Physiology*, 125 (1), 29-32.

Pandey, S., Bhandari, H. S. ve Hardy, B., 2007, Economic costs of drought and rice farmers' coping mechanisms: a cross-country comparative analysis, *International Rice Research Institute*.

Passardi, F., Cosio, C., Penel, C. ve Dunand, C., 2005, Peroxidases have more functions than a Swiss army knife, *Plant Cell Reports*, 24 (5), 255-265.

Paul, S. ve Roychoudhury, A., 2017, Seed priming with spermine and spermidine regulates the expression of diverse groups of abiotic stress-responsive genes during salinity stress in the seedlings of indica rice varieties, *Plant Gene*, 11, 124-132.

Pehlivan, N., Güler, N. S. ve Karaoglu, S. A., 2018, The Impact of *Trichoderma* seed priming on drought resistance in tomato plants (*Solanum lycopersicum* L.), *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 46 (2), 263-272.

Puteh, A. B., Saragih, A. A., Ismail, M. R. ve Mondal, M. M. A., 2013, Chlorophyll fluorescence parameters of cultivated (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*) and weedy rice (*Oryza sativa* L. var. *nivara*) genotypes under water stress, *Australian Journal of Crop Science*, 7 (9), 1277.

Pyngrope, S., Bhoomika, K. ve Dubey, R., 2013, Reactive oxygen species, ascorbate–glutathione pool, and enzymes of their metabolism in drought sensitive and tolerant indica rice (*Oryza sativa* L.) seedlings subjected to progressing levels of water deficit, *Protoplasma*, 250 (2), 585-600.

Qaderi, M. M., Martel, A. B. ve Dixon, S. L., 2019, Environmental factors influence plant vascular system and water regulation, *Plants*, 8 (3), 65.

Qin, A., Shi, Q. ve Yu, X., 2011, Ascorbic acid contents in transgenic potato plants overexpressing two dehydroascorbate reductase genes, *Molecular Biology Reports*, 38 (3), 1557-1566.

Rahman, A., Hossain, M. S., Mahmud, J. A., Nahar, K., Hasanuzzaman, M. ve Fujita, M., 2016, Manganese-induced salt stress tolerance in rice seedlings: regulation of ion homeostasis, antioxidant defense and glyoxalase systems, *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 22 (3), 291-306.

Rahman, S., Matsumuro, T., Miyake, H. ve Takeoka, Y., 2000, Salinity-induced ultrastructural alterations in leaf cells of rice (*Oryza sativa* L.), *Plant Production Science*, 3 (4), 422-429.

Rao, K. M. ve Sresty, T., 2000, Antioxidative parameters in the seedlings of pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millspaugh) in response to Zn and Ni stresses, *Plant Science*, 157 (1), 113-128.

Ray, D. K., Gerber, J. S., MacDonald, G. K. ve West, P. C., 2015, Climate variation explains a third of global crop yield variability, *Nature Communications*, 6, 5989.

Reddy, A. R., Chaitanya, K. V. ve Vivekanandan, M., 2004, Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants, *Journal of Plant Physiology*, 161 (11), 1189-1202.

Reddy, I. N. B. L., Kim, B. K., Yoon, I. S., Kim, K. H. ve Kwon, T. R., 2017, Salt tolerance in rice: focus on mechanisms and approaches, *Rice Science*, 24 (3), 123-144.

Ren, J., Sun, L. N., Zhang, Q. Y. ve Song, X. S., 2016, Drought tolerance is correlated with the activity of antioxidant enzymes in *Cerasus humilis* seedlings, *BioMed Research International*, 2016.

Ricci, G., Bello, M. L., Caccuri, A. M., Galiazzo, F. ve Federici, G., 1984, Detection of glutathione transferase activity on polyacrylamide gels, *Analytical Biochemistry*, 143 (2), 226-230.

Rizwan, M., Ali, S., Abbas, T., Adrees, M., Rehman, M., Ibrahim, M., Abbas, F., Qayyum, M. F. ve Nawaz, R., 2018a, Residual effects of biochar on growth, photosynthesis and cadmium uptake in rice (*Oryza sativa* L.) under Cd stress with different water conditions, *Journal of Environmental Management*, 206, 676-683.

Rizwan, M., Ali, S., Abbas, T., Adrees, M., Rehman, M., Ibrahim, M., ve Nawaz, R., 2018b, Residual effects of biochar on growth, photosynthesis and cadmium uptake in rice (*Oryza sativa* L.) under Cd stress with different water conditions, *Journal of Environmental Management*, 206, 676-683.

Sagi, M. ve Fluhr, R., 2001, Superoxide production by plant homologues of the gp91phox NADPH oxidase. Modulation of activity by calcium and by tobacco mosaic virus infection, *Plant Physiology*, 126 (3), 1281-1290.

Sakthivelu, G., Devi, M. A., Giridhar, P., Rajasekaran, T., Ravishankar, G., Nedev, T. ve Kosturkova, G., 2008, Drought-induced alterations in growth, osmotic potential and in vitro regeneration of soybean cultivars, *General and Applied Plant Physiology*, 34 (1-2), 103-112.

Santa-Cruz, A., Rodriguez, M. M., Alfocea, F., Romero-Aranda, R. ve Bolarin, M. C., 2002, The rootstock effect on the tomato salinity response depends on the shoot genotype, *Plant Science*, 162 (5), 825-831.

Santos, C. V., Campos, A., Azevedo, H. ve Caldeira, G., 2001, In situ and in vitro senescence induced by KCl stress: nutritional imbalance, lipid peroxidation and antioxidant metabolism, *Journal of Experimental Botany*, 52 (355), 351-360.

Sarker, U. ve Oba, S., 2018, Drought stress effects on growth, ROS markers, compatible solutes, phenolics, flavonoids, and antioxidant activity in *Amaranthus tricolor*, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 186 (4), 999-1016.

Schonfeld, M. A., Johnson, R. C., Carver, B. F. ve Mornhinweg, D. W., 1988, Water relations in winter wheat as drought resistance indicators, *Crop Science*, 28 (3), 526-531.

Schuller, D. J., Ban, N., van Huystee, R. B., Mcpherson, A. ve Poulos, T. L., 1996, The crystal structure of peanut peroxidase, *Structure*, 4 (3), 311-321.

Seckin-Dinler, B., ve Aksoy, M., 2013, The responses of ascorbate glutathione cycle enzymes in seedlings of *Pancratium maritimum* L. under drought treatments, *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 9 (2).

Seevers, P., Daly, J. ve Catedral, F., 1971, The role of peroxidase isozymes in resistance to wheat stem rust disease, *Plant Physiology*, 48 (3), 353-360.

Seki, M., Kamei, A., Shinozaki, K. ve Shinozaki, K., 2003, Molecular responses to drought, salinity and frost: common and different paths for plant protection, *Current Opinion in Biotechnology*, 14 (2), 194-199.

Selote, D. S. ve Chopra, R., 2004, Drought-induced spikelet sterility is associated with an inefficient antioxidant defence in rice panicles, *Physiologia Plantarum*, 121 (3), 462-471.

Senguttuvel, P., Vijayalakshmi, C., Thiyagarajan, K., Kannanbapu, J., KOTA, S., Padmavathi, G., Geetha, S., Sritharan, N. ve Viraktamath, B., 2014, Changes in photosynthesis, chlorophyll fluorescence, gas exchange parameters and osmotic potential to salt stress during early seedling stage in rice (*Oryza sativa* L.), *SABRAO Journal of Breeding & Genetics*, 46 (1).

Serraj, R., McNally, K. L., Loedin, I., Kohli, A., Haefele, S. M., Atlin, G. ve Kumar, A., 2011, Drought resistance improvement in rice: an integrated genetic and resource management strategy, *Plant Production Science*, 14 (1), 1-14.

Shah, K., Kumar, R. G., Verma, S. ve Dubey, R., 2001, Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings, *Plant Science*, 161 (6), 1135-1144.

Shahid, M., Pervez, M., Balal, R., Mattson, N., Rashid, A., Ahmad, R., Ayyub, C. ve Abbas, T., 2011, Brassinosteroid (24-epibrassinolide) enhances growth and alleviates the deleterious effects induced by salt stress in pea (*Pisum sativum* L.), *Australian Journal of Crop Science*, 5 (5), 500.

Sharma, P. ve Dubey, R. S., 2005, Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings, *Plant Growth Regulation*, 46 (3), 209-221.

Sheela, K. ve Alexander, V. T., 1995, Physiological response of rice varieties as influenced by soil moisture and seed hardening, *Indian Journal of Plant Physiology*, 38, 269-271.

Shehab, G. G., Ahmed, O. K. ve El-Beltagi, H. S., 2010, Effects of various chemical agents for alleviation of drought stress in rice plants (*Oryza sativa* L.), *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 38 (1), 139-148.

Shobbar, M. S., Azhari, O., Shobbar, Z. S., Niknam, V., Askari, H., Pessarakli, M. ve Ebrahimzadeh, H., 2012, Comparative analysis of some physiological responses of rice seedlings to cold, salt, and drought stresses, *Journal of Plant Nutrition*, 35 (7), 1037-1052.

Shtangeeva, I., St. Petersburg State University, Russia.

Shtangeeva, I., Ayrault, S. ve Lissitskaia, T., 2002, Effect of different growth media on uptake of elements by wheat, *Metal Ions in Biology and Medicine-International Symposium*, 289-295.

Shtangeeva, I., Ayrault, S. ve Jain, J., 2004, Scandium bioaccumulation and its effect on uptake of macro-and trace elements during initial phases of plant growth, *Soil Science and Plant Nutrition*, 50 (6), 877-883.

Slesak, I., Libik, M., Karpinska, B., Karpinski, S. ve Miszalski, Z., 2007, The role of hydrogen peroxide in regulation of plant metabolism and cellular signalling in response to environmental stresses, *Acta Biochimica Polonica*, 54 (1), 39.

Smart, R. E. ve Bingham, G. E., 1974, Rapid estimates of relative water content, *Plant Physiology*, 53 (2), 258-260.

Stevens, R., Page, D., Gouble, B., Garchery, C., Zamir, D. ve Causse, M., 2008, Tomato fruit ascorbic acid content is linked with monodehydroascorbate reductase activity and tolerance to chilling stress, *Plant, Cell & Environment*, 31 (8), 1086-1096.

Swamy, B. M., Shamsudin, N. A. A., Rahman, S. N. A., Mauleon, R., Ratnam, W., Cruz, M. T. S. ve Kumar, A. J. R., 2017, Association mapping of yield and yield-related traits under reproductive stage drought stress in rice (*Oryza sativa* L.), 10 (1), 21.

Taffouo, V. D., Kouamou, J. K., Ngalangue, L. M. T., Ndjeudji, B. A. N. ve Akoa, A., 2009, Effects of salinity stress on growth, ions partitioning and yield of some cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) cultivars, *International Journal of Botany*, 5 (2), 135-143.

Tester, M. ve Davenport, R., 2003, Na^+ tolerance and Na^+ transport in higher plants, *Annals of Botany*, 91 (5), 503-527.

Tian, X. ve Lei, Y., 2006, Nitric oxide treatment alleviates drought stress in wheat seedlings, *Biologia Plantarum*, 50 (4), 775-778.

Todaka, D., Zhao, Y., Yoshida, T., Kudo, M., Kidokoro, S., Mizoi, J., Kodaira, K. S., Takebayashi, Y., Kojima, M. ve Sakakibara, H., 2017, Temporal and spatial changes in gene expression, metabolite accumulation and phytohormone content in rice seedlings grown under drought stress conditions, *The Plant Journal*, 90 (1), 61-78.

Turan, S. ve Tripathy, B. C., 2013, Salt and genotype impact on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in two rice cultivars during de-etiolation, *Protoplasma*, 250 (1), 209-222.

Upadhyaya, H. ve Panda, S. K., 2019, Drought stress responses and its management in rice, In: *Advances in Rice Research for Abiotic Stress Tolerance*, Eds: Elsevier, p. 177-200.

Ushimaru, T., Maki, Y., Sano, S., Koshiba, K., Asada, K. ve Tsuji, H., 1997, Induction of enzymes involved in the ascorbate-dependent antioxidative system, namely, ascorbate peroxidase, monodehydroascorbate reductase and dehydroascorbate reductase, after exposure to air of rice (*Oryza sativa*) seedlings germinated under water, *Plant and Cell Physiology*, 38 (5), 541-549.

Uzilday, B., Turkan, I., Sekmen, A. H., Ozgur, R. ve Karakaya, H., 2012, Comparison of ROS formation and antioxidant enzymes in *Cleome gynandra* (C4) and *Cleome spinosa* (C3) under drought stress, *Plant Science*, 182, 59-70.

Vaidyanathan, H., Sivakumar, P., Chakrabarty, R. ve Thomas, G., 2003, Scavenging of reactive oxygen species in NaCl-stressed rice (*Oryza sativa* L.) differential response in salt-tolerant and sensitive varieties, *Plant Science*, 165 (6), 1411-1418.

Vajrabhaya, M., Kumpun, W. ve Chadchawan, S., 2001, The solute accumulation: The mechanism for drought tolerance in RD23 rice (*Oryza sativa* L.) lines, *American Spinal Injury Association*, 27, 93-97.

Verbruggen, N. ve Hermans, C., 2008, Proline accumulation in plants: a review, *Amino Acids*, 35 (4), 753-759.

Verma, S. ve Dubey, R., 2003, Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants, *Plant Science*, 164 (4), 645-655.

Volkmar, K., Hu, Y. ve Steppuhn, H., 1998, Physiological responses of plants to salinity: a review, *Canadian Journal of Plant Science*, 78 (1), 19-27.

Walter, J., Nagy, L., Hein, R., Rascher, U., Beierkuhnlein, C., Willner, E. ve Jentsch, A., 2011, Do plants remember drought? Hints towards a drought-memory in grasses, *Environmental and Experimental Botany*, 71 (1), 34-40.

Wang, F. Z., Wang, Q. B., Kwon, S. Y., Kwak, S. S. ve Su, W. A., 2005, Enhanced drought tolerance of transgenic rice plants expressing a pea manganese superoxide dismutase, *Journal of Plant Physiology*, 162 (4), 465-472.

Wang, J. H., Geng, L. H. ve Zhang, C. M., 2012, Research on the weak signal detecting technique for crop water stress based on wavelet denoising, *Advanced Materials Research*, 966-970.

Wang, Y., Xu, C., Zhang, B., Wu, M. ve Chen, G., 2017, Physiological and proteomic analysis of rice (*Oryza sativa* L.) in flag leaf during flowering stage and milk stage under drought stress, *Plant Growth Regulation*, 82 (2), 201-218.

Wen, B., Yuan, D. A., Shan, X. Q., Li, F. L., ve Zhang, S. Z., 2001, The influence of rare earth element fertilizer application on the distribution and bioaccumulation of rare earth elements in plants under field conditions, *Chemical Speciation and Bioavailability*, 13 (2), 39-48.

Wyttenbach, A., Schleppi, P., Bucher, J., Furrer, V. ve Tobler, L., 1994, The accumulation of the rare earth elements and of scandium in successive needle age classes of Norway spruce, *Biological Trace Element Research*, 41 (1-2), 13-29.

Yang, Y., Han, C., Liu, Q., Lin, B. ve Wang, J., 2008, Effect of drought and low light on growth and enzymatic antioxidant system of *Picea asperata* seedlings, *Acta Physiologiae Plantarum*, 30 (4), 433-440.

Yang, Y. ve Guo, Y., 2018, Unraveling salt stress signaling in plants, *Journal of Integrative Plant Biology*, 60 (9), 796-804.

Yildiz, M. ve Terzi, H., 2013, Effect of NaCl stress on chlorophyll biosynthesis, proline, lipid peroxidation and antioxidative enzymes in leaves of salt-tolerant and salt-sensitive barley cultivars, *Journal of Agricultural Sciences*, 19 (2).

Yoon, H. S., Lee, H., Lee, I. A., Kim, K. Y., & Jo, J., 2004, Molecular cloning of the monodehydroascorbate reductase gene from *Brassica campestris* and analysis of its mRNA level in response to oxidative stress, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1658 (3), 181-186.

Zhang, C., Li, Q., Zhang, M., Zhang, N. ve Li, M., 2013, Effects of rare earth elements on growth and metabolism of medicinal plants, *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 3 (1), 20-24.

Zhang, L., Ma, H., Chen, T., Pen, J., Yu, S. ve Zhao, X., 2014, Morphological and physiological responses of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) plants to salinity, *Public Library of Science One*, 9 (11), e112807.

Zheng, Y., Jia, A., Ning, T., Xu, J., Li, Z. ve Jiang, G., 2008, Potassium nitrate application alleviates sodium chloride stress in winter wheat cultivars differing in salt tolerance, *Journal of Plant Physiology*, 165 (14), 1455-1465.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Fevzi ELBASAN
Uyruğu : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : Almanya 08 02.1991
Telefon : 05377030063
Faks :
e-mail : fevzi.elba@gmail.com

EĞİTİM

Derece		Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	:	Özel Atalar Anadolu Lisesi, Hatay	2009
Üniversite	:	S. Ü. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Konya	2015
Yüksek Lisans	:	S. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoteknoloji ABD, Konya	2019
Doktora	:		

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi

UZMANLIK ALANI

Bitki Fizyolojisi, Bitkilerde Stres Fizyolojisi, Bitki Biyolojisi, Biyokimya, Bitki Biyoteknolojisi

YABANCI DİLLER

İngilizce, ileri seviye

BELİRTMEK İSTEĞİNİZ DİĞER ÖZELLİKLER

YAYINLAR

C. Ozfidan-Konakci, E. Yıldıztugay, M. Küçüködük, A. Yıldıztugay, **F. Elbasan** (2017). Beneficial Effects of Humic acid on radical scavenging and water management in wheat (*Triticum aestivum*) treated with cadmium stress. *Ecology Symposium* 2017. (11-13 May 2017, Kayseri, Turkey)

M. Küçüködük, A. Yıldıztugay, C. Ozfidan-Konakci, E. Yıldıztugay, **F. Elbasan** (2017). Biochar application affects water content, lipid peroxidation and antioxidant capacity in wheat roots grown in a cobalt contaminated soil. *The 3rd International Symposium on Euro-Asian Biodiversity* (SEAB-2017). (05-08 July 2017, Serbia)

C. Ozfidan-Konakci, M. Küçüködük, **F. Elbasan** (2017). Ectoine improves oxidative damage on water status, photosynthetic efficiency and lipid peroxidation induced by cadmium treatment in *Zea mays* (maize) leaves. *The 3rd International Symposium on Euro-Asian Biodiversity* (SEAB-2017). (05-08 July 2017, Serbia)

C. Ozfidan-Konakci, E. Yıldıztugay, M. Küçüködük, **F. Elbasan** (2017). Rosmarinic acid mediated antioxidant activity against chromium induced oxidative damage in maize leaves. *13th International Conference on Reactive Oxygen and Nitrogen Species in Plant: Emerging Roles in Plant Form and Function* (10-13 September 2017, Aydın, Turkey)

C. Ozfidan-Konakci, E. Yıldıztugay, M. Küçüködük, **F. Elbasan** (2017). Exogenous rosmarinic acid improves the water content, antioxidant activity and lipid peroxidation in response to chromium-induced oxidative stress in maize roots. *XIII. Uluslararası Katılımlı Ekoloji ve Çevre Kongresi* (UKECEK 2017) (12-15 September 2017, Edirne, Turkey)

E. Yıldıztugay, M. Küçüködük, C. Ozfidan-Konakci, **F. Elbasan** (2017). Ectoine application in stress protection: Water relations and photosynthetic efficiency in maize leaves grown under cadmium stress. *XIII. Uluslararası Katılımlı Ekoloji ve Çevre Kongresi* (UKECEK 2017). (12-15 September 2017, Edirne, Turkey)

C. Ozfidan-Konakci, E. Yıldıztugay, M. Küçüködük, **F. Elbasan** (2018). Exogenous application of gallic acid induces the antioxidative responses in cadmium-treated wheat roots. *1st International Congress on Plant Biology,* 313 (10-12 May 2018, Konya, Turkey)

M. Küçüködük, C. Ozfidan-Konakci, E. Yıldıztugay, **F. Elbasan** (2018). The role of rosmarinic acid in protection of oxidatıve damage induced by excessive chromium in maize roots. *7th Balkan Botanical Congress - Novi Sad, Serbia,* p. 30 (10-14 September 2018, Serbia)

C. Ozfidan-Konakci, **F. Elbasan**, E. Yıldıztugay, M. Küçüködük (2018). Humic acid: regulation of growth, water status and non-enzymatic antıoxidant system in wheat leaves exposed to cadmium stress. *7th Balkan Botanical Congress - Novi Sad, Serbia,* p. 31 (10-14 September 2018, Serbia)

F. Elbasan, C. Ozfidan-Konakci, E. Yıldıztugay, M. Küçüködük (2018). High antioxidant capacity and low lipid peroxidation were involved in scandium application increasing tolerance to drought and salt stress in rice. *III. Plant Physiology Symposium with International Participation,* p. 74 (26-29 September 2018, Serbia) **(YÜKSEK LİSANS TEZİNDEN)**

YÜRÜTÜLEN ARAŞTIRMA PROJELERİ

E. Yıldıztugay, C. Özfidan-Konakçı, M. Küçüködük, A. Yıldıztugay, **F. Elbasan** (2017). Kobalt stresi altındaki buğday (*Triticum aestivum* L.) köklerinde biochar uygulamalarının etkileri. *S.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (Yardımcı yürütücü) (Devam ediyor).*

E. Yıldıztugay, **F. Elbasan** (2018). Çoklu streslere maruz bırakılan çeltik (*Oryza sativa* L.) Yapraklarında eksojen skandiyum (Sc)'un reaktif oksijen türleri (ROS), antioksidan savunma sistemi ve gen ekspresyonu üzerine etkileri. *S.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (Yardımcı yürütücü) (Devam ediyor).*