



T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KURAKLIK STRESİ ALTINDAKİ MISIR (*ZEA MAYS* L.) FİDELERİNE DIŞARIDAN UYGULANAN SODYUM NİTROPRUSSİD' İN (SNP) KLOROPLASTİK ANTİOKSİDAN ENZİM AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Yağmur DURAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalını

Eylül-2019
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KURAKLIK STRESİ ALTINDAKİ MISIR (*ZEA MAYS* L.) FİDELERİNE DIŞARIDAN UYGULANAN SODYUM NİTROPRUSSİD' İN (SNP) KLOROPLASTİK ANTİOKSİDAN ENZİM AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Yağmur DURAN

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mustafa KÜÇÜKÖDÜK

2019, XII + 56 Sayfa

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

Bu çalışmanın amacı, kuraklık stresi altındaki *Zea mays* L. cv *FRB73* fidelerine dışarıdan sodyum nitroprussid (SNP) uygulamalarının etkilerini araştırmaktır. Hidroponik olarak yetiştirilen mısır yapraklarına polietilen glikol (PEG 6000; -0.5 MPa (%20) ve -1.76 MPa (%40)) ve 150 ve 300 µM SNP yalnız ve kombinasyonlarıyla birlikte 72 saat süresince uygulanmıştır. PEG stresi büyümeyi (taze ve kuru ağırlık, sürgün uzunluğunu), su içeriğini (RWC), nisbi büyüme oranını (RGR), yaprak su potansiyelini (Ψ_{Π}), maksimum fotokimyasal verimliliği (F_v/F_m), fotokimyasal sönümleme katsayısını (qP) ve gerçek kuantum verimini (Φ_{PSII}) azaltmıştır ve bu azalma oranının % 40 PEG uygulamalarında daha şiddetli olduğu görülmüştür. Kuraklık stresi H_2O_2 ve MDA içeriğini artırmıştır. Bunun yanı sıra kuraklık stresi prolin içeriklerinde (Pro) kayda değer bir artışa neden oldu, bu artış oranları %20 PEG (2.5 kat)' de %40 PEG (2.3 kat) uygulanan yapraklardan daha fazla olduğu gözlenmiştir. Fakat PEG ile SNP uygulamaları stresle ortaya çıkan zararı; etkin su kullanımı, artan büyüme ve fotosentetik verimlilik aracılığıyla önemli bir biçimde azaltabilmiştir. Stres altında dışarıdan SNP uygulamaları RGR, RWC, Ψ_{Π}, F_v/F_m, qP ve Φ_{PSII}, $^{\bullet}OH$ süpürülme aktivitesi ve kloroplastik SOD enzim aktivitelerinde artışla sonuçlanmıştır. Bununla birlikte sadece (her iki konsantrasyonda) SNP' ye maruz bırakılan mısır yapraklarında RGR, RWC, Ψ_{Π}, F_v/F_m, H_2O_2 ve MDA değişmemiştir. Yukarıdaki sonuçlara bağlı olarak, mısır yapraklarında PEG indüklü toksisiteden hem 150 µM hemde 300 µM SNP uygulamaları koruma sağlamış, özellikle düşük PEG konsantrasyonu altında uygulanan 150 µM SNP daha fazla korunma sağlanmıştır. Bu çalışma hidroponik olarak yetiştirilen mısır yapraklarında PEG indüklü ozmotik stresin azaltılmasında SNP mekanizmalarıyla ilgili yeni görüşler sağlayabilir. Kuraklığın tarımsal üretimde bitki gelişimi ve veriminde ciddi kayıplara neden olduğu düşünülürse, SNP uygulamalarının kuraklık stresi koşullarında, bitki savunma mekanizmalarını tetiklemesi ve bitkilerin strese adaptasyonuna yardımcı olması açısından kullanılabileceğini yaptığımız çalışmalar sonucunda görebilmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Kloroplast izolasyonu, Kuraklık stresi, Fotosentetik verimlilik, Prolin, Sodyum nitroprussid, Su yönetimi

ABSTRACT

MASTER THESIS

DETERMINATION OF EFFECTS ON CHLOROPLASTIC ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITIES OF EXOGENOUS SODIUM NITROPRUSSIDE (SNP) APPLICATION IN MAIZE (*ZEA MAYS* L.) SEEDLINGS UNDER DROUGHT STRESS

Yağmur DURAN

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN BIOLOGY

Advisor: Prof. Dr. Mustafa KÜÇÜKÖDÜK

2019, XII + 56 Pages

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

The aim of this study was to investigate the effects of exogenous Sodium Nitroprusside (SNP) applications on *Zea mays* L. cv FRB73 seedling under drought stress. Polyethylene glycol (PEG 6000; -0.5 MPa (20%) and -1.76 MPa (40%)) and SNP (150 μM and 300 μM) to hydroponically grown maize leaves were applied alone and with together during 72 hours. PEG stress decreased growth (fresh and dry weight, shoot length), water content (RWC), relative growth rate (RGR), leaf osmotic potential (Ψ_{Π}), maximum photochemical efficiency (F_v/F_m), the photochemical quenching coefficient (qP) and real quantum yield(Φ_{PSII}), and this reduction rate was observed to be more severe at 40% PEG applications. Drought stress increased H_2O_2 and MDA contents. In addition, drought stress caused a significant increase in proline content (Pro), which was observed to be higher in 20% PEG (2.5 times) than in leaves with 40% PEG (2.3 times). However, PEG and SNP applications have been able to significantly reduce stress-induced damage through effective water use, improved growth and photosynthetic efficiency. Exogenously SNP applications under stress resulted in increased RGR, RWC, Ψ_{Π}, F_v/F_m, qP, Φ_{PSII}, $^{\bullet}OH$ scavenging activity and chloroplastic SOD enzyme activities. On the other hand, RGR, RWC, Ψ_{Π}, F_v/F_m H_2O_2 and MDA did not change in maize leaves exposed to SNP alone at the concentrations. Based on the above results, an exogenous supply of both 150 and 300 μM SNP treatments provided protection from PEG-induced toxicity in maize leaves, especially in 150 μM SNP treated under low PEG concentration. This study provides new insights into the mechanisms of SNP in reducing PEG-induced osmotic stress in hydroponically grown maize leaves. Considering that drought causes serious losses in plant development and yield in agricultural production, we can see that SNP aplications under drought stress conditions can be used to trigger plant defense mechanisms and help adaptation of plants to stress.

Keywords: Chloroplast isolation, Drought stress, Photosynthetic efficiency, Proline, Sodium nitroprusside, Water management

ÖNSÖZ

Lisansüstü öğrenimim boyunca engin bilgisini, deneyimini ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mustafa KÜÇÜKÖDÜK' e en içten teşekkürlerimi sunarım. Tez konumun belirlenmesinde, yürütülmesinde, laboratuvar çalışmalarımda, tez yazım aşamamda deneyimi ve paylaşımcı tavrıyla, sürekli yardımlarını aldığım değerli hocam Doç. Dr. Evren YILDIZTUGAY' a en içten teşekkürlerimi sunarım. Bana her türlü konuda yardımcı olan deneyimlerinden yararlandığım değerli hocam Doç. Dr. Ceyda ÖZFİDAN KONAKÇI' ya, ders dönemimde bilgi ve görüşlerinden yararlandığım Prof. Dr. Yavuz BAĞCI, Doç. Dr. Ahmet UYSAL' a ve Doç. Dr. Mehtap AKIN' a teşekkürü bir borç bilirim.

Eğitim hayatım boyunca sonsuz sabır, sevgi ve anlayış ile desteklerini gördüğüm, her zaman yanımda olan aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yağmur DURAN

KONYA

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **iv**

ABSTRACT ..... **v**

ÖNSÖZ ..... **vi**

İÇİNDEKİLER ..... **vii**

ÇİZELGELER ..... **ix**

ŞEKİLLER ..... **x**

SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **xii**

1. GİRİŞ **1**

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI **6**

2.1. Mısır Bitkisinin Genel Özellikleri 6
2.2. Çeşitli Araştırmacılar Tarafından Yapılan Çalışmalar 7

3. MATERYAL VE YÖNTEM **21**

3.1. Bitki Materyalinin Materyallerinin Temini ve Saklanması 21
3.2. Deneme Serilerinin Hazırlanması 21
3.2.1. Fidelere uygun SNP ve PEG konsantrasyonunun belirlenmesi 21
3.2.2. Denemenin kurulması 22
3.3. Analiz Yöntemleri 23
3.3.1. Büyüme parametreleri 23
3.3.2. Yaprakların klorofil flüoresans ölçümleri 24
3.3.3. Yapraklarda prolin içeriklerinin belirlenmesi 25
3.3.4. Yaprakların hidrojen peroksit (H_2O_2) içeriklerinin belirlenmesi 25
3.3.5. Yaprakların hidroksil ($^{\bullet}OH$) radikali süpürülme aktivitelerinin belirlenmesi 25
3.3.6. Yaprakların lipid peroksidasyon seviyelerinin belirlenmesi 26
3.3.7. Kloroplast izolasyonu 26
3.3.7. Kloroplastik süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitelerinin belirlenmesi 27
3.3.8. İstatistiksel Analizler 27

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA **28**

4.1. Gövde Uzunluklarında Meydana Gelen Değişimler 28
4.2. Sürgün Yaş ve Kuru Ağırlıklarında Meydana Gelen Değişimler 29
4.3. Yaprakların Bağıl Su İçerikleri (RWC) 31
4.4. Sürgünlerin Bağıl Büyüme Oranları (RGR) 32
4.5. Yaprak Ozmotik Potansiyellerinde Meydana Gelen Değişimler 33
4.6. Klorofil Fluoresans Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler 34
4.7. Yaprakların Prolin İçeriklerinde Meydana Gelen Değişimler 37
4.8. Yaprakların H_2O_2 İçeriklerinde Meydana Gelen Değişimler 39

4.9. Yaprakların Hidroksil (•OH) Radikali Süpürülme Aktivitelerin Meydana Gelen Değişimler 40
4.10. Yaprakların Lipid Peroksidasyon (MDA) Seviyelerinde Meydana Gelen Değişimler 41
4.11. Kloroplastların Total Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivitelerinde Meydana Gelen Değişimler 43

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 45

5.1. Sonuçlar 45
5.2. Öneriler 46

KAYNAKLAR 47

ÖZGEÇMİŞ 54

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Dünya Tahıl Üretim Miktarı (bin ton) ……..10
Çizelge 1.2. Türkiye Tahıl Üretim Miktarı…….10

ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Kuraklık stresinin uzun (sol) ve kısa dönem (sağ)'de bitkilerde yol açtığı metabolik değişimler (Chaves ve ark., 2003) ……...2
Şekil 3.1. 21 günlük mısır fidelerinin genel görünümü……...21
Şekil 4.1. Kuraklık stresi altındaki mısır (*Zea mays* L. cv. FRB 73) fidelerine dışarıdan uygulanan SNP'nin sürgün uzunluklarında meydana gelen değişimler. Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel bakımdan farklı olan değerleri göstermektedir (P<0.05)……...28
Şekil 4.2. Kuraklık stresi altındaki mısır (*Zea mays* L. cv. FRB 73) fidelerine dışarıdan uygulanan SNP'nin sürgün yaş ağırlıklarında meydana gelen değişimler. Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel bakımdan farklı olan değerleri göstermektedir (P<0.05)……...29
Şekil 4.3. Kuraklık stresi altındaki mısır (*Zea mays* L. cv. FRB 73) fidelerine dışarıdan uygulanan SNP'nin sürgün kuru ağırlıklarında meydana gelen değişimler. Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel bakımdan farklı olan değerleri göstermektedir (P<0.05)……...30
Şekil 4.4. Kuraklık stresi altındaki mısır (*Zea mays* L. cv. FRB 73) fidelerine dışarıdan uygulanan SNP'nin yaprak bağıl su içeriklerindeki (RWC) değişimler. Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel bakımdan farklı olan değerleri göstermektedir (P<0.05)……...31
Şekil 4.5. Kuraklık stresi altındaki mısır (*Zea mays* L. cv. FRB 73) fidelerine dışarıdan uygulanan SNP nin sürgünlerin bağıl büyüme oranlarında meydana gelen değişimler. Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel bakımdan farklı olan değerleri göstermektedir (P<0.05)……..32
Şekil 4.6. Kuraklık stresi altındaki mısır (*Zea mays* L. cv. FRB 73) fidelerine dışarıdan uygulanan SNP'nin yaprakların ozmotik potansiyellerinde meydana gelen değişimler. Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel bakımdan farklı olan değerleri göstermektedir (P<0.05)……..33
Şekil 4.7. Kuraklık stresi altındaki mısır (*Zea mays* L. cv. FRB 73) fidelerine dışarıdan uygulanan SNP'nin PS-II'nin fotokimyasal verimi (Fv/Fm) üzerine meydana gelen değişimler. Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel bakımdan farklı olan değerleri göstermektedir (P<0.05)……..34
Şekil 4.8. Kuraklık stresi altındaki mısır (*Zea mays* L. cv. FRB 73) fidelerine dışarıdan uygulanan SNP'nin fotokimyasal sönümleme katsayısı (qP) üzerine meydana gelen değişimler. Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel bakımdan farklı olan değerleri göstermektedir (P<0.05)……..35
Şekil 4.9. Kuraklık stresi altındaki mısır (*Zea mays* L. cv. FRB 73) fidelerine dışarıdan uygulanan SNP'nin fotokimyasalsız sönümleme değeri (NPQ) üzerine meydan gelen değişimler. Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel bakımdan farklı olan değerleri göstermektedir (P<0.05)……..36
Şekil 4.10. Kuraklık stresi altındaki mısır (*Zea mays* L. cv. FRB 73) fidelerine dışarıdan uygulanan SNP'nin PS-II'nin ışıkla adapte edilmiş kararlı halin gerçek kuantum verimi (ΦPSII) üzerine meydana gelen değişimler. Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel bakımdan farklı olan değerleri göstermektedir (P<0.05)……..37
Şekil 4.11. Kuraklık stresi altındaki mısır (*Zea mays* L. cv. FRB 73) fidelerine dışarıdan uygulanan SNP'nin yaprakların prolin içeriklerinde meydana gelen değişimler. Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel bakımdan farklı olan değerleri göstermektedir (P<0.05)……..38

Şekil 4.12. Kuraklık stresi altındaki mısır (*Zea mays* L. cv. FRB 73) fidelerine dışarıdan uygulanan SNP'nin yaprakların H_2O_2 içeriklerinde meydana gelen değişimler. Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel bakımdan farklı olan değerleri göstermektedir (P<0.05)……...39
Şekil 4.13. Kuraklık stresi altındaki mısır (*Zea mays* L. cv. FRB 73) fidelerine dışarıdan uygulanan SNP'nin yaprakların $^{\bullet}OH$ radikali süpürülme aktivitelerinde meydana gelen değişimler. Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel bakımdan farklı olan değerleri göstermektedir (P<0.05)……..40
Şekil 4.14. Kuraklık stresi altındaki mısır (*Zea mays* L. cv. FRB 73) fidelerine dışarıdan uygulanan SNP'nin yaprakların lipid peroksidasyon seviyelerinde meydana gelen değişimler. Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel bakımdan farklı olan değerleri göstermektedir (P<0.05)……..42
Şekil 4.15. Kuraklık stresi altındaki mısır (*Zea mays* L. cv. FRB 73) fidelerine dışarıdan uygulanan SNP'nin kloroplastik total süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktiviteleri üzerinde meydana gelen değişimler. Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel bakımdan farklı olan değerleri gösteremektedir (P<0.05)……...43

SİMGELER VE KISALTMALAR

Kısaltmalar

AA: Askorbik asit

ABA: Absisik asit

APX: Askorbat peroksidaz

DHAR: Dehidroaskorbat redüktaz

GR: Glutasyon redüktaz

GSH: Glutasyon

H_2O_2: Hidrojen peroksit

KA: Kuru ağırlık

MDA: Malondialdehit

MDHAR: Monodehidroaskorbat redüktaz

$O_2^{\bullet -}$: Süperoksit radikali

$^{\bullet}OH$: Hidroksil radikali

PEG: Polietilen glikol

PSII: Fotosistem II

ROS: Reaktif oksijen türleri

RuBPCase: Ribuloz bifosfat karboksilaz

SNP: Sodyum nidroprussid

SOD: Süperoksit dismutaz

CAT: Katalaz

YA: Yaş ağırlık

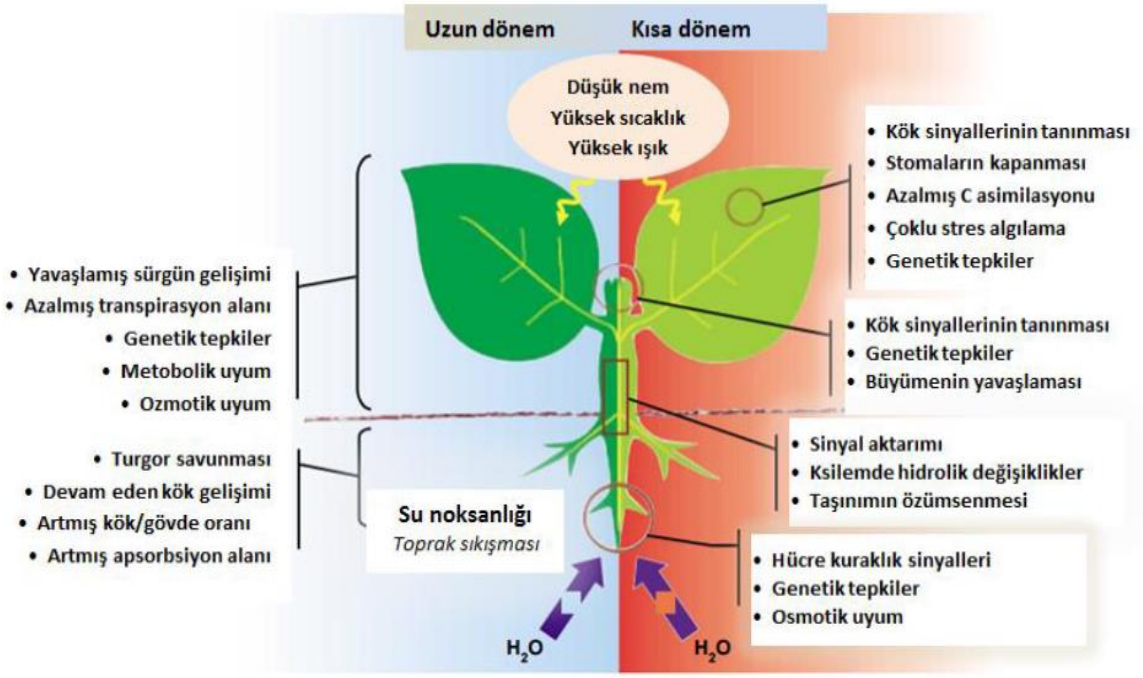
1. GİRİŞ

Çevresel ve biyolojik faktörlerin ayrı ayrı ya da birlikte fizyolojik olaylarda belirgin değişimler oluşturması, bitki büyüme ve gelişimini belirli oranda etkilemekte ve stresi ortaya çıkarmaktadır. Tarımsal alanda stres, abiyotik (tuzluluk, kuraklık, düşük ve yüksek sıcaklık, besin elementlerinin eksiklik veya fazlalıkları, ağır metaller, hava kirliliği, radyasyon gibi) ve biyotik (hastalık oluşturan mantar, bakteri, virüs vb. zararlılar) koşullar nedeniyle bitkinin büyüme ve gelişmesinde olumsuzluklara, bunlara bağlı olarak da verim düşüklüğü ile sonuçlanan bir gerilemeye neden olması biçiminde tanımlanabilir (Ashraf ve Wu, 1994).

Doğal ortamlarda meydana gelen çevresel değişimlere (Ashraf ve Wu, 1994) karşı canlılar çeşitli içsel tepkiler gösterirler (Edreva, 1998). Herhangi bir stres faktörü ile karşılaşan bitkilerde biyokimyasal ve fizyolojik olarak çeşitli tepkiler oluşmaktadır. Oluşan stres faktörleri, gen/genlerin fizyolojik etkileri ile hücresel metabolizma değişimlerine, büyüme oranları ve ürün miktarlarının değişimine kadar çok çeşitli tepkiler göstermektedirler (Bray, 2000).

Strese karşı gösterilen tepki; stresin şiddetine, süresine, stresten etkilenmiş olan bitkilerin gelişim aşamasına, doku tipine ve birçok stresin etkileşimlerine bağlıdır (Koca ve ark., 2006). Bitkilerde stresten korunma mekanizmaları, bitki dokularında stres faktörlerinin azaltılmasına veya önlenmesine yönelik olmaktadır. Strese tepki olarak bitkilerde, yaprak ayasının kalınlığı, stomaların büyüklüğü ve sıklığı ve kütikulanın kalınlığı değişmektedir (Acar ve ark., 2001). Bitkilerde strese tolerans mekanizması, doku ile organel düzeyinde moleküler seviyede gerçekleşir (Edreva, 1998).

Kuraklık ve tuzluluk dünyada tarımsal üretimi sınırlandıran en önemli abiyotik stres faktörleri olarak görülmektedir. Kuraklık, dünya tarım alanlarının büyük bir bölümünde bitkisel üretimi sınırlandıran önemli bir strestir. Dünya üzerindeki ekilebilir tarım alanlarının yaklaşık olarak % 45’ i sürekli olarak kuraklık stresine maruz kalırken, dünya yüzeyinde bulunan alanların yaklaşık % 6’ sı tuzluluk sorunu ile karşı karşıyadır (Ashraf ve Foolad, 2007).



Şeki 1.1. Kuraklık stresinin uzun (sol) ve kısa dönem (sağ) bitkilerde meydana getirdiği metabolik değişimler (Chaves ve ark., 2003)

Kuraklık stresi bitkilerde birçok fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler etki oluşturmakta ve buna bağlı olarak bitkiler, sınırlı çevresel koşullara adapte olmayı sağlayacak strese tolerans mekanizmaları geliştirebilmektedirler (Arora ve ark., 2002; Kalefetoğlu ve Ekmekci, 2005). Kuraklık, toprağın sahip olduğu suyun bitkilerin gelişiminde yetersiz kalmasına ve gelişmelerinde etkili bir azalmaya neden olacak kadar uzun süren yağışsız dönemdir. Yağışsız dönemin kuraklık oluşturması, toprağın su tutma kapasitesi ve evapo-transpirasyon hızına bağlıdır (Levitt, 1980).

Bitki hücrelerinden belirgin bir su kaybı gerçekleştiği zaman, bitkide turgor basıncında azalma gözlenir (Eriş, 1990). Hücreden su kaybıyla birlikte, membran yapısı değişikliğe uğramakta ve bu yeni yapıda membran lipidleri sıvı-katı fazında olduğundan daha az kinetik enerji ile lateral ve rotasyonal hareket göstermektedir. Su kaybına bağlı olarak hücrede hacim azalmakta ve plazma membranı hücre duvarından ayrılarak yalnız plazmodezmler aracılığıyla ilişkisini sürdürmektedir. Gerilim altındaki plazma membranı ve tonoplastta çökme ve yırtılmalar oluşabilmekte ve bu zarar, normal hücre metabolizmasını kalıcı olarak bozabilmektedir (McKersie ve Lesheim, 1994).

Kuraklık stresine maruz kalan bitkiler, turgor basıncını koruyabilmek için, hücreleri içinde bazı organik çözeltileri biriktirerek ozmotik potansiyellerini düzenlemeye çalışırlar. Kuraklık stresi altında çözelti artışının başlıca kaynağı çözünebilir karbonhidratların ortaya çıkmasıdır. Özellikle glikoz, sakkaroz gibi çözünür

şekerler ve malat birikmesi görülür. Bunlar dışında potasyum (K), şeker alkolleri ve bazı organik asitler de ozmotik düzenleyici olarak birikmektedir. Ozmotik düzenlemenin derecesi üzerine bitkilerin yaşı, özellikle de generatif gelişme dönemi etkili olmaktadır. Çiçeklenme öncesinde bitkide, yavaş seyreden ozmotik düzenleme, çiçeklenmeden sonra hızlanmaktadır (Çırak ve Esendal, 2006).

Diğer stres faktörlerinde olduğu gibi kuraklık stresinde bitkiler su kaybını azaltmak için stoma hücrelerini kapatmakta ve su kullanım düzeyini en aza indirmeye çalışmaktadırlar. Ancak stomaların kapanması ile yeteri kadar CO_2 fiksasyonu sağlanamamaktadır. Bunun sonucu olarak CO_2 indirgenmesinde kullanılmayan elektronlar, O_2' nin indirgenmesinde rol alarak serbest radikallerin oluşumuna neden olmakta ve oksidatif hasar meydana getirmektedirler (Asada, 1994; Foyer ve ark., 1994; Mäkelä ve ark., 1999).

Nitrik oksit (NO), düşük molekül ağırlıklı, lipofilik özellikte olan, hücre membranlarından kolayca difüzyona uğrayabilen, renksiz ve gaz yapısında bir moleküldür. Ayrıca çiftlenmemiş elektron taşıması nedeniyle serbest radikal olarak kabul edilen NO başka moleküllerle kuvvetli reaksiyonlara girebilen, birkaç saniye yarı ömrü olan fizyolojik haberci molekül olarak tanımlanmaktadır (Durner ve Klessig, 1999; Neill ve ark., 2002).

Mısır bitkisi, dünyada stratejik öneme sahip önemli bitkilerden biridir (Panda ve ark., 2004). Dünya da tahıllar içerisinde 883 milyon ton üretimle mısır (*Zea mays* L.) birinci sırada (Anonymous, 2012) yer almakta olup üretim miktarları Çizelge 1.1' de verilmiştir. Ülkemizde ise tahıllar arasında üretim miktarı bakımından buğday (20.1 milyon ton) ve arpadan (7.1 milyon ton) sonra üçüncü sırada 4.6 milyon ton üretimle yer alır (Anonymous, 2012). Ülkemizin tahıl üretim miktarı Çizelge 1.2' de verilmiştir.

Çizelge 1.1. Dünya Tahıl Üretim Miktarı (bin ton)

Ürün	**2011/2012**	**2012/2013[2]**	**2013/2014[3]**
Buğday	697.155	655.270	705.378
Arpa	134.290	129.320	140.096
Mısır	883.281	858.778	957.146
Yulaf	22.480	21.010	22.493
Çavdar	12.185	14.164	15.637
Diğer[1]	568.129	574.153	588.180
Dünya toplam	**2317.520**	**2252.695**	**2428.930**

Kaynak: USDA PSD Tabloları, 2013
[1]Diğer: Darı, Karma Hububat, Değirmenlenmiş Pirinç, Sorgun
[2]Ağustos Ayı Tahmini (18.08.2013)
[3]Ağustos Ayı Öngörüsü (18.08.2013)

Çizelge 1.2. Türkiye Tahıl Üretim Miktarı

Ürün	Üretim Miktarı (ton)	% oran
Buğday	20.100.000	5.2
Arpa	7.100.000	2.8
Mısır	4.600.000	2.5
Çeltik	880.000	0.9
Diğer	697.430	13.3
Toplam	**33.377.430**	**4.1**

Kaynak: TÜİK, Bitkisel Üretim Veri Tabanı, 2013 (2012 yılı verileri)

2050 yılına kadar artan dünya nüfusu ihtiyacının karşılanması için üç önemli tahıl (mısır, buğday, çeltik) bitkisinde üretimin yaklaşık % 70 artırılması gerektiği bildirilmektedir (Cairns ve ark., 2013). Üretimin arttırılması için tarım alanlarında verimliliği ön plana çıkaran ıslah çalışmaları tüm dünyada yoğun bir şekilde devam etmektedir. Üretimi sınırlandıran en önemli etkenlerin başında ise biyotik ve abiyotik stresler gelmektedir (Erdal, 2014).

Tüm dünyada mısır verimi ve kalitesini olumsuz şekilde etkileyen en önemli abiyotik streslerin başında kuraklık stresi gelmektedir (Erdal, 2014). Kurak ve yarı kurak iklim kuşağında yer alan bölgelerde optimum bitki gelişimi yönünden yağışın yetersiz, dağılışının düzensiz oluşu mısır tarımında büyük bir risk oluşturmakta ve sulamayı önemli bir verim etmeni durumuna getirmektedir. Ancak, sulamanın öneminin her geçen gün artmasına karşılık, dünyanın birçok bölgesinde tarımsal amaçla kullanılan su kaynaklarının giderek azalması sorunu yaşanmaktadır. Artan dünya nüfusunun su kullanımı ve endüstriyel gereksinimleri de bu azalmayı belirli ölçüde hızlandırmaktadır (Guitjens, 1982).

Kuraklık stresi mısır bitkisinin gelişimini olumsuz etkilemektedir. Tohumların ekimi ile birlikte toprakta yeterince nem yoksa düzensiz bitki gelişimleri arazide kendini gösterecektir. Çiçeklenme öncesi yaprak alanının gelişiminin zayıf olması ve fotosentez oranının azalması kuraklığın önemli etkilerindendir. Çiçeklenme ve tane doldurma döneminde erken yaprak kurumaları ve fotosentez oranının azalması ile koçan ve tane sayısında azalma sıklıkla görülen durumlardır. Bitki gelişiminde ve döllenme döneminde, kuraklığın şiddeti ve zamanına göre tane verimi önemli ölçüde etkilenir (Banziger ve ark., 2000). Ancak, en önemli zarar çiçeklenme döneminde olmaktadır (Denmead ve Shaw, 1960; Claassen ve Shaw, 1970; Grant ve ark., 1989; Banziger ve ark., 2000).

Kuraklık stresinde morfolojik olarak yapraklarda kuruma başlar ve bu durum bitki kök bölgesinden yukarıya doğru olmaktadır. Çiçeklenme döneminde görülen aşırı kuraklık stresi, koçanın oluşmasını tamamen engelleyebilir ve koçansız bitkiler meydana gelebilir. Tane doldurma dönemini de kapsayan kuraklık stresi sonucunda kuraklıktan etkilenmiş koçanlarda genel olarak birkaç adet tane bulunması tipiktir (Edmeades ve ark., 2000).

Tezimizde kuraklık stresi altındaki mısır fidelerine dışarıdan sodyum nidroprusid (SNP) uygulayarak fidelerin, kuraklık stresiyle büyüme parametreleri, bağıl su içerikleri ve oksidatif zararın önemli belirtilerinden biri olan kloroplastik enzimatik aktivite seviyelerinde meydana gelen değişimlerin tespiti ve bir nitrik asit donörü olan sodyum nitroprussid (SNP)' in koruyucu etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. SNP bir nitrik oksit donörü olduğu bilinerek, kuraklık stresi altındaki mısır fidelerine dışarıdan belirli konsantrasyonlarda uygulandığında kuraklığın yıkıcı etkilerini hafifleteceği ve tolerans artırıcı özelliklerinin ortaya çıkarılması temel amaçlarımız arasındadır. Böylece kuraklıkla ortaya çıkan verim kayıplarının SNP uygulamasıyla bir dereceye kadar azaltılması, artan nüfusa bağlı gıda ihtiyacının karşılanmasında büyük önem taşıyacağı düşüncesindeyiz. Yaptığımız bu çalışma mısır fidelerinin kuraklık stresinin zararlarının iyileştirilmesinde sodyum nidroprussid (SNP)' in etkileri ile ilgili bilgilere büyük katkı sağlayacağı görüşündeyiz.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Mısır Bitkisinin Genel Özellikleri

Mısır, Poaceae (buğdaygiller) familyasına ait tek çenekli bir bitkidir. Çiçeklenmesi buğdaygiller familyasının diğer üyelerinden farklıdır. Mısır 2n=20 kromozoma sahip diploid bir bitkidir. Çiçekleri tek evcikli olup, erkek (tepe püskülü) ve dişi çiçekler (koçan) aynı bitki üzerinde fakat farklı yerlerde bulunmaktadır (Morris, 2002).

Mısır, doğada yüksek enerji içeriğine sahip bitkilerinden biri olup, tohumlarının kolay temin edilmesi, yüksek kuru madde içeriği, katkı maddesine gerek duymadan depolanabilmesi gibi nedenlerle ülkemiz tarımında önemli bir yer ihtiva etmektedir (Sade, 1987; Açıkgöz, 1995).

Mısır içerdiği zengin besin maddeleri nedeniyle insan ve hayvan beslenmesinde kullanılan önemli bir üründür. Doğrudan insan beslenmesinde kullanıldığı gibi hayvan beslenmesinde yem bitkisi ve birçok gıda maddesinin üretiminde hammadde olarak kullanılmaktadır. Mısır tanesi kimyasal bileşiminde % 73 nişasta, % 10 protein ve % 5 yağ ihtiva etmektedir (Earle ve ark., 1946).

Mısır dünya genelinde "geleceğin hububatı" olarak görülmektedir. Bunun sebebi, sahip olduğu yüksek besin değeri ile ana ve yan ürünlerinin geniş kullanım alanına sahip olmasıdır (Yuan ve Flores, 1996). Mısır bitkisi günümüzde ve gelecekte dünyanın ihtiyacı olan gıda üretimini karşılama açısından oldukça önemli bir yere sahiptir.

Mısır bitkisi genellikle sıcak ve nemli bölgelerde yetiştirilmektedir. Fazla sayıda çeşidi bulunan mısırın yetişme sahası geniştir. Türlerine ve yetiştirilen alanlarına göre değişmekle birlikte normal mısır bitkisi çimlenme devresinde 10-13°C, yetişme devresinde 10-20°C sıcaklık ister. Sıcaklığın bu değerler dışında seyretmesi bitkilerin gelişimini olumsuz etkiler ve verimin düşük olmasına yol açar (Türkoğlu, 1971). Mısır bitkisi, uygun ve zamanında işlenen, gerekli bitki besin maddeleri verilen değişik tip topraklarda yetiştirilebilir. Ancak en iyi gelişmeyi ve en yüksek verimi, organik madde ve besin maddelerince zengin, drenajı ve havalanması iyi olan, derin, sıcak topraklarda gösterir.

2.2. Çeşitli Araştırmacılar Tarafından Yapılan Çalışmalar

Shehab ve ark. (2010), kuraklık stresi (PEG) altındaki çeltik fidelerine (*Oryza sativa* L.) sodyum nitroprussid (nitrik oksit donorü) uygulayarak bitkide meydana gelen savunma mekanizmasını incelemiştir. Dört farklı konsantrasyondaki (%5, %10, %15, %20) PEG uygulanmış çeltik fidelerine 100 µM SNP uygulamıştır. Dört haftanın sonunda artan kuraklık stresi, lipid peroksidasyonunun yükselmesi ile serbest radikal bileşiklerinin birikimini arttırmış ve oksidatif hasara tepki olarak H_2O_2 ve MDA içeriğinde önemli bir artış olduğunu göstermiştir. MDA içeriğinde en yüksek değere %20 PEG ve %20 PEG + 100 µM SNP uygulamasında ulaşılmıştır. Stres uygulanan bitkilerde MDA seviyesi daha yüksektir (Fu ve Huang, 2001). Ge ve ark. (2006) yaptıkları çalışmada, kuraklık stresi altındaki mısır ve çimenlerin lipid peroksidasyon seviyelerindeki artış, bitkilerdeki oksidatif zararı göstermiştir. Farklı konsantrasyonlardaki PEG ve SNP uygulamaları önemli şekilde artan oksidatif stres koşulları altında toplam çözünebilir fenol ve PAL içeriğini artırmış ve SNP sinyalinin etkisi oksidatif zararı düzenlemiştir. Ek olarak, SOD, APX, GR ve CAT gibi antioksidan savunma enzimlerinin aktivitelerinin artması, kuraklık stresinin neden olduğu oksidatif hasarın etkisizleştirmek için koruyucu bir görev üstlenmiştir.

Kuraklık stresi, bitkide stomaların hücresel hareketleri üzerine de etkide bulunmaktadır. Kuraklık stresi altında bitkilerde stomaların kapanmasını kontrol eden iki mekanizma gelişmiştir. Bunlar, hormonal kontrol ve iyon kontrol mekanizmalarıdır. Kuraklık stresine uğrayan bitkilerde stoma hücrelerinde absisik asit (ABA) miktarı artmakta, bunun sonucu olarak suda çözünmeyen nişasta oluşmakta ve K iyonu azalmaktadır. Böylece ozmotik basıncı azalan stoma hücreleri turgor basıncını kaybederek kapanmaktadır. Bu mekanizma, hormonal bir kontrol olarak kabul edilmektedir. Stoma hücrelerindeki K iyonu miktarı da stoma hareketleri üzerine etkide bulunmaktadır. Bitki turgor durumunda iken stoma hücrelerine bitişik hücrelerden K iyonları alınır. Böylece ozmotik basıncı artan stoma hücreleri açılır. Bitkide turgor sona erdiğinde ise stoma hücrelerindeki K iyonları tekrar bitişik hücrelere geçer ve bu şekilde ozmotik basıncı azalan stoma hücreleri turgorunu kaybederek kapanır. Bu mekanizma iyon kontrolü olarak adlandırılır (Bradley ve Lang, 1994).

Kurak koşullarda yapraklarda meydana gelen morfolojik değişimler, genelde transpirasyonla kaybedilen su miktarını azaltmaya; köklerde oluşan morfolojik değişimler ise topraktaki suyu daha yüksek bir kuvvetle emmeye yöneliktir. Kuraklık

stresi altında ilk olarak kök gelişimi hızlanır ve kökün gövdeye oranı artar. Kuraklık koşullarında fotosentez yavaşlar ve bunun sonucu olarak fide gelişimi zayıflar. Kısa süreli kurak periyotlarda bile yaprak büyümesi yavaşlar. Kuraklık stresine diğer bir tepki ise, bazı bitkilerde yaprakların üzerinin sık tüylerle kaplanmasıdır. Bu tüyler, alttaki hücrelerin sıcaklığını 1–2°C düşürerek, transpirasyon hızını azaltır. Ayrıca yaprak yüzeyinde mumsu bir tabaka oluşur, bu kütikula tabakası güneş ışınlarını yansıtarak sıcaklığın etkisini azaltır ve böylece transpirasyon hızı yavaşlar (Göksoy ve Turan, 1991).

Nitrik oksit (NO), oksidatif stres koşulları tarafından tahrip edilen hasarlara karşı koruyucu olduğu kanıtlanan, çok çeşitli biyolojik yollarla ilgili çok aktif bir moleküldür (García Mata ve Lamattina, 2001).

Bilim dünyasında önemli bir yere sahip olan nitrik oksit (NO), son yıllarda yapılan çalışmalar sonucunda hem memelilerde hem de bitkilerde hücresel reaksiyonların gerçekleşmesini sağlayan anahtar haberci molekül olarak dikkatleri çekmektedir (Anderson ve Mansfield, 1979; Klepper, 1979).

Son yıllarda NO' in buğday fidelerinde kuraklıktan kaynaklanan oksidatif strese karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir. Kuraklığa maruz kalan bitkilerde, turgor kaybını takiben, bekçi hücrelerinde absisik asit, NO üretimini teşvik etmektedir (García Mata ve Lamattina, 2001).

Leshem ve Haramaty (1996) bezelye bitkilerinde solma ile NO salınımının arttığını, Magalhaes ve ark. (2000) ise *Arabidopsis*' te bu çalışmaya zıt sonuçlar bulmuşlardır. NO' nun stoma hücrelerinin kapanmasına neden olarak, birkaç bitki türünde transpirasyonu indirgediği gösterilmiştir (García Mata ve Lamattina, 2001). Önemli derecede gözlenen kuraklık stresine karşı toleransı arttıran NO' nun, tek başına etkili olmadığı, örneğin *Arabidopsis*' te stoma kapanmasında H_2O_2 ile birlikte çalıştığı gözlenmiştir (García Mata ve Lamattina, 2001).

NO bitkilerde kuraklık, tuzluluk, düşük sıcaklık, ultraviyole (UV), ozon, yaralanma ve enfeksiyon gibi çeşitli abiyotik ve biyotik streslere karşı bitki cevaplarında hem antioksidan hemde antistres ajanı olarak görev yapmaktadır (Neill, 2003). Bu şekilde stres altında yetişen bitkilerde NO miktarında aşırı derecede bir artış gözlenmektedir (Garcês ve ark., 2001). Bu tip stres koşulları altında reaktif oksijen türleri ortaya çıkmakta ve hücrelerde birçok oksidatif yıkım olayı başlamaktadır. Stres koşulları altında sinyal iletim yolunda görev alan NO, reaktif oksijen türleri ile karşılıklı

etkileşim halindedir. NO tarafından lipid peroksidasyonunun inhibisyonu, NO' nun en önemli antioksidanlardan biri olduğunu göstermektedir (Beligni ve Lamattina, 1999; Boveris ve ark., 2000; Vranova ve ark., 2002).

Farooq ve ark. (2009), çeltik bitkisinde nitrik oksit donörü olan sodyum nitroprussid (SNP)' i hem tohumun ön çimlendirmesinde hem de yapraklara sprey olarak 50, 100 ve 150 µM konsantrasyonlarında uygulamıştır. Başlangıçta, tohumlar 48 saat SNP solüsyonunda ayrı ayrı bekletilmiş ve sonra kurutulmuştur. Ön uygulamaya bırakılan tohumlar ile ön uygulama yapılmayan tohumlar sera etkisi gösteren bir ortamda normal sulama ile plastik kaplara ekilmiştir. Kontrol grubu dışındaki çimlenen bitkiler kuraklık stresine maruz bırakılmıştır. İlki kuraklık koşulları altında diğeri iyi sulanmış bir ortamda olan hiçbir şekilde SNP uygulanmamış iki kontrol gurubu oluşturulmuştur. Kuraklık stresi ile H_2O_2, MDA ve membran permeabilitesi artmış, ancak yapraklara 100 ve 150 µM SNP, tohuma ise 100 µM SNP uygulaması kuraklık stresi altındaki yapraklarda H_2O_2, MDA ve membran permeabilitesini azaltmıştır. SNP uygulaması yaprakta serbest prolin içeriğini arttırmıştır. SOD aktivitesi kuraklık stresi tarafından azalmasına rağmen SNP uygulamalarıyla birlikte SOD aktivitelerinde önemli oranda artış tespit edilmiştir. Maksimum düzeyde CAT aktivitesi yeterli sulanmış çeltiklerde gözlenmiş, kuraklığa maruz bırakılmış bitkilerde ise önemli şekilde azalmıştır. Bunun yanı sıra SNP uygulaması kuraklık stresindeki bitkilerin CAT aktivitesini artırmıştır. Benzer şekilde APX aktivitesi kuraklık stresinde azalmış, yaprağa 100 µM SNP uygulamasında ise artmıştır. Kuraklık stresi ciddi ölçüde çeltik büyümesini azaltmış fakat SNP uygulamaları stres etkilerini azaltarak verimi yükseltmiştir. Çeltikte kuraklığa tolerans önemli ölçüde, antioksidan savunma sisteminin artmasına, hücre membranının stabilitesinin korunmasına ve gelişen fotosentetik kapasite ile ilişkilidir. Yaprağa uygulanan SNP'nin tohuma uygulanan SNP'den daha etkili olduğu kanıtlanmıştır. 100 µM' lık SNP uygulamasının yapraklarda daha etkili olduğu görülmüştür.

NO tek başına yüksek konsantrasyonlarda hücrelere zarar vermez. Ancak hücrelerde kontrolsüz olarak artan NO, süperoksit anyonları ile reaksiyona girerek peroksinitriti oluşturması sonucunda toksik etki göstermektedir. NO' nun reseptör molekülleri aktive etmediği, bunun yerine birkaç farklı mekanizma yolu ile hedef moleküllere kovalent bağlanarak hücrelerin yaşaması için temel biyokimyasal süreçlerden biri olan mitokondrilerde solunumu baskıladığı, demir sülfür içeren

enzimlerle etkileşime girerek bunların etkinliğini engellediği ve DNA' da yıkımlara yol açtığı bilinmektedir (Van Der Vliet ve ark., 1996; StoÈhr ve Ullrich, 2002).

Bitkiler için temel bileşenlerden biri olan oksijen, moleküler oksijenin (O_2) suya (H_2O) indirgenmesi yoluyla bitkilerin metabolizmasında kullanılmaktadır. Oksijenin indirgenmediği durumlarda ise biyolojik molekülleri okside edebilen reaktif oksijen türleri (ROS) oluşmaktadır (Seckin ve ark., 2009). Reaktif oksijen türlerinden hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit ($O_2^{\bullet -}$), hidroksil ($^{\bullet}OH$) ve tek değerlikli oksijen ($^1O_2$), bitki hücrelerinde kloroplastlarda, mitokondrilerde ve peroksizomlarda meydana gelen oksidatif reaksiyonlarla üretilmektedirler. Moleküler oksijen (O_2) oldukça kararlı bir yapıya sahip olmasına rağmen, yaşamsal reaksiyonların bir sonucu olarak veya streslerin etkisiyle oluşan bu reaktif oksijen türleri, koruyucu mekanizmaların işlev görmediği durumlarda, sadece bitkilerin değil, herhangi bir aerobik organizmanın hücre yapı ve işlevlerine de zarar verebilmektedirler (Demiral ve Türkan, 2004). Stressiz koşullarda, bitkilerin antioksidan savunma sistemleri, reaktif oksijen türlerine karşı gerekli korunmayı sağlamaktadırlar (Cakmak ve ark., 1993). Bitkilerin stres altında, dokularına zarar veren ROS' ların üretimini arttırma potansiyeline sahip oldukları yapılan çalışmalarla gözlemlenmiştir (Sairam ve Srivastava, 2002).

Bitkiler çevresel stres altında oluşan reaktif oksijen türlerini ortadan kaldırmak için hücrede enzimal aktivitelerini artırırlar. Kloroplastların özellikle stroma adı verilen bölgesinde CO_2' i fiske eden ve indirgeyerek organik bileşiklere dönüşmesini sağlayan ribuloz bifosfat karboksilaz oksigenaz (Rubisco) gibi enzimler bulunmaktadır. Su kaybı ile biyokimyasal reaksiyonlar sonucu Rubisco enzim aktivitesi azalmakta, dolayısıyla CO_2 fiksasyonu sekteye uğramaktadır. Başlangıçta fotosentez, stoma hareketleri tarafından azaltılmakta ise de, kuraklık stresinin devam etmesi veya şiddetinin artmasıyla, kloroplastlarda fotosentezle ilgili enzim aktiviteleri inhibe olmakta, bundan dolayı fotosentez, stomalar dışındaki faktörler tarafından olumsuz yönde etkilenmektedir. Enzim aktivitelerinin artışına paralel olarak enzimlere ait proteinlerin ve mRNA' ların miktarları da artar (Satoh ve Murata, 1998). Bitkiler sahip oldukları yüksek antioksidan enzimler sayesinde farklı çevresel streslere karşı cevap ve tolerans sağlamaktadırlar (Cakmak ve ark., 1993; Acar ve ark., 2001; Sato ve ark., 2001; Bor ve ark., 2003; Demiral ve Türkan, 2004).

Bitkiler, kuraklık gibi çeşitli çevresel stresler sonucunda meydana gelen ROS' ları süpürmek için enzimatik ve enzimatik olmayan savunma sistemlerine sahiptir. Enzimatik savunma sistemi; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), askorbat

peroksidaz (APX), glutasyon redüktaz (GR), monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR), dehidroaskorbat redüktaz (DHAR), glutasyon peroksidaz (GPX), guaikol peroksidaz (GOPX) ve glutasyon-S-transferaz (GST) enzimleri aracılığıyla sağlanmaktadır. Enzimatik olmayan savunma sistemi ise askorbik asit (AA), glutasyon (GSH), fenolik bileşikler, alkoloidler, aminoasitler ve α-tokoferollerle sağlanmaktadır. Antioksidan savunma mekanizmaları bitkilerde stres toleranslarını artırıcı bir strateji sağlar (Asada, 1987; Ye ve ark., 2000).

Suyun, hücre içeriğinin büyük bir kısmını oluşturması, taşıyıcı olması, hücresel reaksiyonlar ve işlevler için çözücü rolü oynaması gibi fonksiyonel özelliklerinden dolayı hücreden kaybı durumunda, normal hücresel fonksiyonlar devam edememekte ve metabolizma bozulmaktadır. Su kaybına bağlı olarak gerçekleşen iyon birikimi, membran bütünlüğünün ve proteinlerin yapısının bozulmasına neden olarak hücreye zarar verebilmektedir. Su kaybı sonucunda; proteinlerin yapısında bulunan hidrofobik ve hidrofilik aminoasitlerin su ile etkileşimleri bozulmaktadır. Bu durum protein denatürasyonlarına, enzim aktivitelerinin azalmasına ve inhibe olmasına neden olmaktadır (Kalefetoğlu ve Ekmekci, 2005).

Su stresinin olduğu dönemlerde vejetatif bitki dokularında oksidatif stresin en yaygın nedeni, kloroplastta gerçekleşen ışık-klorofil etkileşimleridir. Su kısıtlı hale gelirken, bitki daha fazla su kaybetmemek için, genelde, stomalarını kapatır, bu da fotosentezle fiksasyon için gerekli CO_2' in alımının kısıtlanmasına neden olur. Birçok türde, kuraklık stresi altında artan $O_2^{\bullet -}$ oluşum hızı, lipid peroksidasyonuna, yağ asidi doygunluğuna ve sonuçta membranların bütünüyle zarar görmesine neden olur (Kalefetoğlu ve Ekmekci, 2005).

Kuralık stresi gibi stres faktörleriyle açığa çıkan süperoksit radikalleri daha çok H_2O_2 ve $^{\bullet}OH$ oluşturmak suretiyle etkili olur. Hidrojen peroksit, süperoksitin ($O_2^{\bullet -}$) yıkılması ile ya kendiliğinden ya da süperoksit dismutaz enziminin (SOD) katalitik etkisiyle oluşmaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 1989).

Hidrojen peroksit, Calvin döngüsünde birçok enziminin inaktivasyonuna yol açmaktadır (Kaiser, 1979; Charles ve Halliwell, 1980). Süperoksit ve hidrojen peroksitin, $^{\bullet}OH$ radikalini oluşturduğu tepkime sırasında (Haber-Weiss reaksiyonu) artan demir ya da bakır gibi geçiş metalleri, bu reaksiyonları hızlandırarak oksidatif hasarı aşırı şekilde artırdığı gözlenmiştir (Fenton reaksiyonu) (Smirnoff, 1993).

Süperoksit radikali bu aşamada etkisiz hale getirilmezse, metabolizmada hidroksil radikali ($^{\bullet}OH$) oluşur. Tilakoid zarında bulunan bir metalloenzim olan süperoksit dismutaz, serbest oksijen radikallerinin, H_2O_2 ve O_2' ne dönüşümünü kataliz eden antioksidan savunma sisteminin en önemli enzimidir (Bowler ve ark., 1992).

Stres altında bitkilerde biriken en yaygın ozmolitlerden birisi prolindir. Prolin sadece bir ozmotik düzenleyici değil aynı zamanda fotosentetik reaksiyonların koruyucusu ve bir antioksidan olarak görev yapmaktadır (Verbruggen ve Hermans, 2008). Prolin birikimi birçok bitkide, biyotik ve abiyotik streslere karşı oluşan yaygın bir fizyolojik tepkidir (Verbruggen ve Hermans, 2008). Prolin genellikle stres koşullarında birikimi artan, bitkinin strese karşı dayanım yeteneğini sağlaması bakımından indikatör görevini yapan suda çözünebilir bir aminoasittir (Bian ve ark., 1988). Ozmolit olarak görev yapmasının yanında, hücrelerin stabilizasyonu, sitozolik pH' ın ayarlanması ve hidroksil radikallerinin düzenlenmesinde etkili bir organik maddedir (Matysik ve ark., 2002).

Bitkilerde prolin birikiminin kuraklık, tuzluluk, yüksek sıcaklık, düşük sıcaklık, ağır metal, patojen enfeksiyonu, besin kıtlığı, atmosferik kirlenme ve UV gibi stres durumlarında arttığı gözlenmiştir (Siripornadulsil ve ark., 2002). Bitkilerde yaygın olarak bulunan ve diğer aminoasitlere oranla daha fazla miktarlarda birikebilen prolin, kullanılabilir azot birikimini düzenlemektedir (Abrahám ve ark., 2003). Prolinin $NADP^+$ gereksinimini iyileştirerek stres altındaki hücrelerde oluşan redoks potansiyeli değişimlerini olumlu etkileyerek iyileştirici etki yaptığı düşünülmektedir (Hare ve ark., 1998).

Prolin aminoasidi, son yıllarda bitki stres fizyolojisinde en çok çalışılan bileşiklerden birisi olmuştur. Bu bileşiğin tuz ve su stresi altındaki bitkilerde önemli oranlarda yükseldiği ve bu sayede bitki savunma mekanizmasını harekete geçirerek bitkinin strese karşı koyma mekanizmasını desteklediği yapılan çalışmalarda gözlenmiştir (Shannon, 1997). Bokhari ve Trent (1985) su stresi altındaki çim bitkisinde, Özdemir ve ark. (2004) ise tuz stresi altındaki pirinç bitkisinde prolin oranlarında önemli derecelerde artış görüldüğünü bildirmişlerdir.

Xiong ve ark. (2012), Nitrik oksit (NO)' in çeltik yapraklarında kuraklığa bağlı prolin birikiminde gerekli bir sinyal molekülü olarak çalışıp çalışmadığını araştırmak için, prolin birikimi ve endojen NO içeriği üzerine kuraklık stresinin etkilerini SNP kullanarak çalışmışlardır. Sonuçlar, çeşitli konsantrasyonlardaki SNP' nin yaprak yüzeyine püskürtülmesi, iyi sulanmış çeltik yapraklarında prolin birikimini uyarmada

başarısız olduğunu, normal çeltik yapraklarında hem endojen NO' i hem de prolin içeriğini arttırarak kuraklığın zararlı etkilerini hafiflettiğini göstermiştir. Endojen NO artışının kuraklık stresi altındaki çeltik yapraklarında prolin birikimi için çok da gerekli olmadığını göstermiştir. Yapılan çalışmalar, NO' in eksojen uygulamasının çeltik yapraklarında transpirasyon oranını düşürerek iyon sızıntısını ve kuraklığa bağlı su kaybını azalttığını göstermektedir.

Katalaz, bitki hücrelerinde genellikle peroksizomlarda ve glioksizomlarda bulunmaktadır. Başlıca görevi, fotorespirasyon ya da glioksizomlarda yağ asitlerinin β oksidasyonu sırasında oluşan H_2O_2' i su ve oksijene ayrıştırarak zararsız hale getirmektir (Lazarow, 1985). Peroksidaz, hem biyokimyasal ve fizyolojik süreçlerde hem de çevresel streslere karşı verilen cevapla ilişkilidir (Matamoros ve ark., 2003).

Işık enerjisinin klorofil tarafından absorbe edilmesi ile meydana gelen aktif triplet klorofil, absorbe ettiği enerjiyi moleküler oksijene aktararak singlet oksijen üretimini sağlamaktadır. Singlet oksijen diğer moleküllerle etkileştiğinde ya içerdiği enerjiyi transfer eder ya da kovalent tepkimelere girer. Özellikle karbon-karbon çift bağları singlet oksijenin tepkimeye girdiği bağlardır. Doymamış yağ asitleri ile de doğrudan tepkimeye girerek peroksi radikalini oluşturur ve $^{\bullet}OH$ kadar etkin bir şekilde lipit peroksidasyonunu başlatabilir (Halliwell ve Gutteridge, 1989).

Lipidlerin peroksidasyonu, her canlı organizmada gerçekleşen en zararlı reaksiyonlardan birisidir. Lipid peroksidasyonu hem hücre hem de organel membranlarında ROS seviyeleri eşik değere ulaştığında meydana gelir (Montillet ve ark., 2005). Lipid peroksidasyonu, serbest radikallerin etkisi ile membran yapısında bulunan doymamış yağ asidi zincirinden bir hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile başlar ve bunun sonucunda yağ asidi zinciri bir lipid radikali niteliği kazanır. Oluşan lipid radikali oksijen ile reaksiyona girer ve lipid peroksil radikalini oluşturur. Lipid peroksil radikali diğer lipidlerle zincir reaksiyonu başlatır ve lipid hidroperoksitler oluşur. Ortamda bulunan demir ve bakır iyonları, lipid peroksidasyonunu hızlandırır (Kaur ve Perkins, 1991). Lipid peroksidasyonun en önemli ürünü malondialdehittir (MDA) (Akkuş, 1995). Oluşan MDA, hücre membranlarından iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasını sağlar ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur (Montillet ve ark., 2005).

Lipid peroksidasyonu, membran bütünlüğünün bozulmasına, hücrenin elektrolitlere permeabilitesinin artmasına neden olur. İçeri özellikle kalsiyum ve

sodyum iyonlarının geçişi hücrenin ATP tüketir hale gelmesine neden olarak hücrenin enerji oluşturan mekanizmasını etkileyebilir. İntraselüler kalsiyum iyonlarındaki artış, protein ve lipidlerde daha fazla hasara neden olabilecek proteaz ve fosfolipazı aktive eder. Bu serbest radikaller aynı zamanda DNA' da yapısal hasar ile hücre ölümüne neden olabilecek enzim inaktivasyonuna neden olabilir (Halliwell ve Gutteridge, 1989; Cummins ve ark., 1994; Bor ve ark., 2003; Pérez López ve ark., 2009).

Lipid peroksidasyonu, hücre düzeyinde kuraklık stresinin neden olduğu hasarın bir göstergesidir. MDA içeriklerinin belirlenmesi ve membran lipidlerinin peroksidasyon seviyeleri, kuraklıkla indüklenen oksidatif stresin şiddetinin ve bitki duyarlılık derecelerinin değerlendirilmesinde önemli bir yere sahiptir (Bor ve ark., 2003; Pérez López ve ark., 2009).

Serbest radikaller, membran lipid ve proteinlerin geri dönüşümsüz şekilde hasara uğratılmasından sorumludur. Reaktif oksijen türleri, kolayca membran lipidlerini etkileyerek doymamış aldehitlerin oluşmasına neden olmaktadır. Stres sonucu oluşan serbest radikallere bağlı doku hasarı oluşumunda en önemli mekanizma hücre zarındaki lipidlerin peroksidasyona uğramasıdır. Oksidanlar, çoklu doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girerek lipid peroksidasyonu başlatırlar. Lipid peroksidasyonun son ürünü, malondialdehid (MDA), eten ve pantendir. Oluşan MDA, hücre membranlarından iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur (Niki, 1987).

Wang ve ark. (2005), kuraklık stresi altındaki kavak yapraklarına sodyum nidroprussid (SNP) uygulayarak fotosentez ve reaktif oksijen türlerini süpürücü enzim aktiviteleri üzerine etkisini çalışmışlardır. Bu sonuçlar SNP' nin yaprak su içeriği üzerinde dikkate değer bir etkinin olduğunu göstermiştir. SNP konsantrasyonun 500 µM' den yüksek olduğu uygulamalar yaprak su içeriğinde anlamlı bir farklılık oluşturmamıştır. SNP fotosentez oranını, PSII (Fv/Fm)' nin fotokimyasal verimliliğini ve Fm/Fo ve Fv/Fo oranlarını artırmış, ancak bu etkiler kuraklık stresinin uzaması ile azalmıştır. Kavak yapraklarının SOD ve POX aktiviteleri 3 saat kuraklık stresine maruz kalmış bitkilerde 1 saate göre daha yüksektir. POX aktivitesi SNP uygulaması ile artırılmışken, SOD aktivitesinde daha az bir değişim gözlenmiştir. Uygulanan SNP konsantrasyonlarının artması ile SOD ve POX aktiviteleri ilk olarak artmış sonra azalmıştır. SNP uygulaması, SOD ve POX aktivitelerini artırarak reaktif oksijen

türlerinin birikimini yavaşlatabilmiş, kuraklık stresinin fotosentez üzerindeki etkilerini azaltmış ve kavakta kuraklığa karşı toleransın artırabileceğini göstermişlerdir.

Proteinler bitkilerin kurak stresi koşullarında, hücre metabolizmasının yeniden düzenlenmesi ve korunmasında önemli bir yere sahiptir. Bu proteinlerden en iyi bilineni dehidrin ve LEA (embriyo oluşumunun son döneminde bol bulunan protein çeşidi) ailelerine ait proteinlerdir. Kuraklık stresinde önemli koruyucu rolleri olan bu proteinlerin ortak özelliği, düşük moleküler ağırlığa sahip çözüne moleküller olmalarıdır. İlk olarak LEA proteinleri tohum embriyolarında tanımlanmıştır. Hidrofilik olmalarından dolayı su bağlama kapasitelerinin yüksek olması bu proteinin bitki stres mekanizmasında koruyucu rol oynadığını göstermektedir (Ergen ve Budak, 2009).

Kuraklık bitkilerde protein kayıplarına da neden olur. Bu durum proteinlerin parçalanması ve protein sentezinin azalması şeklinde görülmektedir. Proteinlerin parçalanmasıyla dokularda aminoasitler birikir, enzim kayıpları ortaya çıkar, ABA artar ve en önemlisi amonyak (NH_3) gibi toksik bileşiğin oluşmasına ve birikmesine neden olur. NH_3 bitkide metabolik düzenin bozulmasına yol açtığı gibi, suyun yukarı doğru taşınmasına da engel olarak, iki yönlü zarar verir. Kuraklık stresiyle artan RNAaz enzim aktivitesi, RNA parçalanmasına neden olduğu gibi, ribozomları tutan messenger RNA' yı da tahrip ederek poliribozom içeriğini azaltır. Kuraklık stresi ile oluşan protein kayıpları RuBPCase enziminin parçalanmasıyla başlar. Bu enzim, yaprakların çözünür proteini olup, CO_2 fiksasyonunda anahtar bir enzim olarak görev alır (Lang ve ark., 1994).

Lamattina ve ark. (2003), su stresi koşullarında buğday (*Triticum aestivum*) bitkisinin oluşturduğu yanıtı, iki tane NO vericisi olan sodyum nidroprussid (SNP) ve S-nitrozo-N-asetilpenisilamin uygulaması ile gözlemlemişlerdir. 2 ve 3 saatlik kuraklığın ardında, 150 µM SNP ile muamele edilmiş buğday yaprakları, su veya NO_2^-/NO_3^- ile hazırlananlara göre %15 daha fazla su tutmuştur. SNP uygulamasının su tutma oranına etkisi, kuraklığın 7 gün sonrasında da buğday fidelerinde etkili olduğunu göstermiştir. SNP ile muamele edilen buğday yapraklarının transpirasyon oranında % 20' lik bir azalma gözlenmiştir. NO aynı zamanda, *Tradescantia* sp. (monokotiledon)' da % 35, *Salpichroa organifolia* (diikotiledon)' da % 30, *Vicia faba* (dikotiledon)' da % 65 oranında stomal kapanmaya neden olmuştur. *Tradescantia* sp.' nin SNP ile muamele edilmiş yapraklarında stomal kapanma, RWC' de % 10' luk bir artış ile ilişkilendirilmiştir. İyon sızıntısı, hücre yaralanmaları SNP ile muamele edilmiş hücre yapraklarında, iyileşme döneminden sonraki bitkiler ile karşılaştırıldığında % 25 daha

düşüktür. Bir NO süpürücüsü olan karboksi-PTIO, transpirasyon oranını, stoma açıklığını ve iyon sızıntısını hasar görmüş yapraklardaki seviyeye getirerek SNP' nin etkisini engellemiştir. Bu çalışmalar, NO vericilerinin ekzojen uygulamasının bitkilerdeki şiddetli kuraklık stresi koşullarında artan bir toleransa sahip olabileceğini göstermektedir.

NO bitkilerde önemli bir sinyal molekülüdür. Lum ve ark. (2005), proteomik çalışmalarla bitkilerdeki NO' in aşağı yönlü (downstream) sinyal yolaklarını araştırmışlardır. *Phaseolus aureus* (mango fasulyesi) yaprakları SNP ile muamele edilmiş ve yaprağın protein ekspresyonundaki değişimler iki boyutlu jel elektroforezi (2-DE) ile analiz edilmiştir. 2-DE elektroprogramlarının karşılaştırılması, bitkiler 6 saat 0.5 mM SNP ile muamele edildikten sonra yedi tane aşağı yönde (downstream) iki tane yukarı yönde (upstream) düzenlenmiş proteinin olduğunu ortaya koymuştur. Protein kimlikleri matrix-assisted-lazer-desorpsiyon-iyonizasyon-time-of-Xight (MALTI-TOF) kütle spektrometresi kullanılarak analiz edilmiştir. Dokuz proteinin altısının fotosentez ya da hücresel metabolizma ile ilgili olduğu görülmüştür ve ayrıca bu proteinlerin dördü kloroplastik izoformlardır. Kullanılan koşullarda sürekli olarak 0.5 mM SNP salınmaktadır. Bu NO konsantrasyonu, çeşitli stres koşulları altındaki bitkiler tarafından in vivo olarak üretilen miktarla aynıdır. Altı saatlik NO muamelesi yapılmıştır. Çünkü daha önceki çalışmalar bitkilerin, belirgin hücre ölümleri olmaksızın bu süre içerisinde NO' lere yanıt oluşturduğunu göstermiştir (Delledonne ve ark., 2001). Mango fasulyesi yaprağının alt epidermal tabakası soyulmuş ve tripan blue ile boyanarak mikroskop altında incelenmiştir. Bitkilerde 6 saatlik 0.5 mM SNP uygulamasının hücre ölümüne sebep olmadığı gözlenmiştir. 0.5 mM SNP muamelesi, sadece su uygulanan kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde hücre ölümüne sebep olmamıştır. Bununla birlikte, 5 mM SNP uygulanmış fasulye yaprakları önemli ölçüde hücre ölümüne sebep olmuştur. Yapılan çalışmalar, fasulye yapraklarına SNP uygulamasının glikoz miktarını hızlı ve büyük ölçüde azalttığını göstermektedir. Bu sonuçlar, bitki kloroplastlarının NO'nun hücresel hedeflerinden biri olabileceğini öne sürmektedir.

Mohammadkhani ve Heidari (2007), kuraklık stresine karşı antioksidan savunma mekanizmalarının oluşturduğu cevabı, kuraklığa duyarlılık bakımından farklı etkiler gösteren iki mısır çeşidinde incelemişlerdir. 6 günlük fideler kuraklık stresi muamelesi için farklı konsantrasyonlarda polietilen glikol 6000 (PEG)' e aktarılmıştır. Bitkilerde 2 saat PEG 6000 uygulamasından sonra, koruyucu enzimler, MDA içeriği ve elektrolit sızıntısı gözlenmiştir. Kuraklık stresi altındaki kök ve sürgünlerde koruyucu enzim

aktiviteleri önemli şekilde artmıştır. Kökteki koruyucu enzim aktivitesi sürgünlerdeki enzim aktivitesinden daha düşüktür. MDA içeriği su stresinin şiddetine göre artmıştır. Köklerde %10 PEG uygulaması, sürgünde ise %20 PEG uygulaması MDA içeriğini arttırdığı görülmüştür. Su stresi altındaki mısır kök ve sürgünlerde koruyucu enzimler (GPX, APX, CAT) her iki varyetede de artmıştır. PEG ile muamelenin başlangıçta kök ve sürgünlerde APX ve CAT aktivitelerini önemli ölçüde artırdığı görülmüştür. Bu artış %10 PEG uygulamasında gözlenmiştir. %10 PEG' de CAT aktivitesi her iki varyetenin sürgününde artmıştır. Bununla birlikte %40 PEG uygulaması koruyucu enzim aktivitesini azaltmıştır. APX aktivitesindeki azalma GPX ve CAT aktivitelerinden daha düşük görülmüştür. Böylece mısır bitkilerine %30 PEG uygulaması, koruyucu enzim aktivitesini artırma açısından diğer konsantrasyonlardan daha uygun görülmüştür. Koruyucu enzim aktiviteleri köklerde daha etkili sonuçlar doğurmuştur çünkü kuraklık köklerde daha ağır ilerlemektedir.

Tian ve Lei (2006), PEG tarafından kuraklık stresi indüklenmiş, sodyum nitroprussid (SNP) muamelesinin etkileri farklı zaman periyotlarında buğday fidelerinde incelemişlerdir. %15 PEG' in 2, 4 ve 6 günlük uygulamaları sırasıyla hafif, orta ve ciddi stres koşullarına sebep olmuştur. Kuraklık stresi hidrojen peroksit birikimini ve bunun sonucunda lipid peroksidasyonunu tetiklemiştir. Diğer taraftan, hafif stres koşulunda oluşan SOD, CAT ve PAL aktiviteleri oksidatif hasarı engellemekte ve stresin ciddi boyuta ulaşmasını azaltmaktadır. 0.2 mM SNP uygulaması buğday fidelerinde büyümeyi artırmış ve yüksek nisbi su içeriğini korumuş ve oksidatif zararı azaltmıştır. Ancak 2 mM SNP uygulaması kontrolsüz reaktif oksijen türlerinin oluşmasına ve antioksidan sistemin etkisizliğine neden olarak stresi artırmıştır. Stres sonrası nisbi su içeriği (RWC) 0. gün ile kıyaslandığında 2 4 ve 6. günlerdeki sonuçlar sırasıyla %10.19, %22.4 ve %37.35 azalmıştır. Kuraklık stresi H_2O_2 içeriğini belirgin miktarda artırmış ve TBARS içeriğine bakılarak lipid peroksidasyon oranları belirlemiştir. 6 günlük muameleden sonra H_2O_2 içeriği 0. gün ile kıyaslandığında önemli oranda artış gözlenmiştir. SOD enzim aktivitesinde hafif ve orta şiddetli stres altında belirgin artış belirlenmiş, ciddi kuraklık stresi altında SOD aktivitesi oldukça azalmıştır. Kuraklık GPX aktivitesinde devamlı bir artışa neden olmuştur. 6 gün stres uygulamasından sonra 0. güne kıyasla 1.52 kat aktivite artışı gözlenmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, CAT sadece hafif stres altında bir miktar artmıştır sonra H_2O_2 içeriğinin artmasına bağlı olarak belirgin şekilde azalmıştır. Stres altında CAT enzim aktiviteleri olumsuz etkilenmiş ve ciddi kuraklık stresi altında bitkilerde ROS'lara karşı korunmanın

sağlanmasında yetersiz kalmıştır. Yüksek su stresi altında CAT aktivitesinin azalması önceki çalışmalarda da rapor edilmiştir (Baisak ve ark., 1994; Huang ve Guo, 2005). PAL aktivitesindeki değişim SOD ile benzerlik göstermiş, ilk önce biraz artmış 4 günlük muamelede en yüksek seviyeye ulaşmış ve sonra yüksek konsantrasyondaki stres altında azalmıştır. Bitkilerde 0.2 mM SNP muamelesi H_2O_2 içeriğini düşürmüştür ve GPX hariç en yüksek antioksidan enzim aktivitesini sağladığı gözlenmiştir. Sonuç olarak yapılan çalışma ile, bitkilerde NO' nun ikinci haberci olarak kabul edilmek ve düşük konsantrasyonda SOD ve CAT' ın dahil olduğu birçok antioksidan enzim ekspresyonunu tetikleyen yada stabilize eden bir sinyal molekülü olduğunu kanıtlamıştır. NO' nun koruyucu etkisi, $O_2^{\bullet-}$ gibi bazı ROS' lar ile reaksiyon yeteneğine bağlı olabilir. Bu durum NO' in antioksidan özelliğini kanıtladığını göstermektedir.

Lei ve ark. (2007), NO' nun odunsu bitkilerde kuraklık toleransına etkisini ve NO verici olarak SNP uygulamasının kuraklık stresine yanıtta fizyolojik ve biyokimyasal tepkimelerini belirlemek amacıyla Maximowicz olarak bilinen *Populus prezewalskii* bitkisi parçalarını kullanmışlardır. Elde edilen bulgularda, kuraklık stresi sadece biyokütle üretimini önemli ölçüde azaltmakla kalmamış aynı zamanda hidrojen peroksit içeriğini artırmış ve sırasıyla malondialdehit ve toplam karbonil içeriğinde artmaya bağlı olarak değerlendirilen protein ve lipidlerde oksidatif strese neden olmuştur. Bitki parçaları düşük su potansiyelinde ozmotik dengeyi ayarlamak için bünyesinde birçok aminoasit biriktirmiş ve reaktif oksijen türlerinin elemine edilmesinde süperoksit dismutaz, guaiakol peroksidaz ve askorbat peroksidaz gibi antioksidan enzimleri aktive ettiği görülmüştür. *P. prezewalkii* parçalarına eksojen 0.2 mM SNP uygulaması, iyi sulanmış koşullarda etkisini daha az göstermiş, kuraklık stresi altında, antioksidan enzim aktivitelerinin aktifleştirilmesi, prolin birikiminin artırılması ile bitki parçalarında büyümeyi önemli ölçüde artırmıştır. Kuraklık, serbest prolin ve toplam aminoasit miktarını önemli derecede artırmıştır. SNP uygulaması da, hem kuraklık hem de iyi sulanmış koşullarda toplam aminoasit miktarını dikkate değer şekilde artırmıştır. Aynı zamanda SNP uygulaması, iyi sulanmış koşullarda prolin içeriği üzerinde çok az etki oluşturuken, kuraklık koşulları altında prolin içeriğini önemli ölçüde artırdığı gözlenmiştir. SOD, CAT ve APX gibi antioksidan enzimlerin aktiviteleri kuraklıkla birlikte artmıştır.

Simaei ve ark. (2011), tuz ve normal koşullar altında 23 gün yetiştirilen soya fidelerinin salisilik asit (SA), sodyum nidroprussid (SNP) ve bunların kombinasyonlarının (SA+SNP) bazı fizyolojik parametreler üzerine olan etkilerini

çalışmışlardır. Yaprak yüzeyindeki değişimler, sürgün taze ve kuru ağırlıkları, klorofil ve karotenoidlerin içeriği, MDA ve hidrojen peroksit miktarları göstermiştir ki, 50 µM ve 100 µM NaCl içerisindeki soya fasulyelerinin 100 µM SA ve 100 µM SNP'nin birlikte eklenmesi oksidatif hasarın belirgin şekilde azaldığını göstermiştir. Sonuçlar, SA ve SNP 'nin kombine etkisinin aşırı tuz stresi altındaki soya fasulyesi yapraklarında H_2O_2' in parçalanmasında etkili olan CAT, APX ve GPX' ı önemli ölçüde aktive ettiğini kanıtlamıştır. Tuz stresine bağlı oluşan oksidatif hasara karşı SA ve SNP' nin kombine koruyucu etkisi yalnız SA ve yalnız SNP uygulamasıyla oluşan koruyucu etkiden daha etkilidir. Ayrıca, tuz stresi altındaki fidelere bu maddelerin uygulanması prolin birikimini artırmıştır. Bununla birlikte SA ve nitrik oksit arasındaki etkileşimin, tuzluluktan kaynaklanan zararın azaltılmasında karşılıklı olarak etkilerinin olduğu gözlemlenmiştir.

Arasimowicz Jelonek ve ark. (2009), kuraklık stresi altındaki hıyar (*Cucumis sativus* cv. Dar) fide köklerinde, bu şartların nitrik oksit (NO) üretimine etkisini araştırmışlardır. Kurak şartlara maruz bırakılan bitki kök uçlarındaki hücrelerde NO sentezinin yoğun şekilde gerçekleştiği gözlenmiştir. Çalışmada, NO donörü olarak 100 µM SNP ve 100 µM S-nitrosoglutathione (GSNO) uygulamalarıyla yaprak oransal su içeriğinin arttığı belirlenmiştir. NO uygulamalarının lipoxygenase (LOX) aktivitesini ve lipit peroksidasyonunu azalttığı NO mekanizmasının bitkilerin dehidrasyonunun ilk aşamasında etkili mekanizmaların tetiklenmesine ve bitki köklerindeki kurak etkilerinin azaltılmasında etkili olduğu gösterilmiştir.

Boogar ve ark. (2014) kuraklık stresi altında yetiştirilen *Poa pratensis* L. 'Balin', *Lolium perenne* L. 'Numan' ve *Cynodon dactylon* L. Pers. çim türlerine 150, 200 ve 250 µM konsantrasyonlarında uygulanan SNP' nin antioksidan enzim aktivitesini kayda değer ölçüde artırdığını gözlemişlerdir. Katalaz (CAT), peroksidaz (POD), süperoksit dismutaz (SOD) ve askorbat peroksidaz (APX) enzim aktivitelerinin özellikle 200 µM SNP uygulamasında maksimum seviyeye ulaştığı tesbit edilmiştir.

Gao ve ark. (2012), alkali stres altındaki salatalık yapraklarına bir NO vericisi olan SNP uygulayarak, antioksidan savunma sistemi ve kloroplastın yapısı üzerindeki etkilerini çalışmışlardır. 30 mM sodyum bikarbonat ($NaHCO_3$) uygulaması, salatalık yapraklarında TBARS ve H_2O_2 birikimini artırmış ve ciddi şekilde elektrolit sızıntısına yol açmıştır. 100 µM SNP uygulaması, ROS-süpürücü enzimleri uyarmış ve artan antioksidan enzim aktivitesi alkali stres tarafından uyarılmış membran hasarı ve düşük lipid peroksidasyonu ile sonuçlanmıştır. ROS oluşumunda temel bir organel olarak

kloroplast, alkali stres altında önemli ölçüde zarara uğramıştır ve SNP uygulaması bu zararı açık şekilde tersine çevirmiştir. Ancak SNP'nin bir analoğu olan fakat NO' dan salınmayan potasyum ferrosiyanid uygulaması SNP' nin bu etkilerini açık olarak göstermemiştir. Bundan dolayı, NO' den oluşan SNP, salatalık bitkisinde alkali stresin etkisinin azaltılmasını açıklayabileceği sonucuna varılmıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Bitki Materyalinin Materyallerinin Temini ve Saklanması

Tez çalışmasında kullandığımız mısır çeşidi olan FRB 73 (*Zea mays* L. cv. *FRB 73*) tohumları Konya Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü' nden Eylül 2012' de temin edilmiştir. Laboratuvara getirilen tohumlar denemenin kurulması aşamasına kadar +4 °C' de saklanmıştır.

3.2. Deneme Serilerinin Hazırlanması

Mısır fideleri kontrol altında olan stabil koşullara sahip iklim odasında su kültürü ortamında yetiştirilmiştir. Gerekli ısı, ışık, nem ve ayrıca sterilizasyon kontrolleri yapılmıştır. Mısır tohumlarının çimlendirilmesi ve çimlenme sonrası fidelerin uygulama boyutuna getirilmesi % 70 nem, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık fotoperyotta, 24±1°C sıcaklık ile 350 µmol $m^{-2}s^{-1}$ ışık intensitesi olacak şekilde iklim kabini içerisinde sağlanmıştır.

3.2.1. Fidelere uygun SNP ve PEG konsantrasyonunun belirlenmesi

Fidelere uygun konsantrasyonda SNP ve PEG dozlarını belirlemek için ön deneme kurulmuştur. Dolgun görünüşlü sağlam ve birbirine benzer büyüklükte olan mısır tohumları seçilerek kullanılmadan önce yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuştur. Sterilizasyon için tohumlar % 3' lük sodyum hipoklorid içerisinde 10 dakika tutulduktan sonra steril deiyonize su ile yıkanmıştır. Tohumlar 15' er adet gruplandırılarak içerisinde deiyonize su bulunan petri kutularında kurutma kağıdı üzerinde 24±1°C' de, karanlık ortamda iklim odasında çimlenmeye bırakılmıştır. Çimlendirilen tohumlar, su kültürü ortamına aktarılmıştır. Fideler 21 gün süresince su kültürü ortamında kontrollü şartlar altında (12 saat ışık/12 saat karanlık, 24±°C sıcaklık, % 70 nem, 350 µmol $m^{-2}s^{-1}$ ışık yoğunluğu) büyütülmüş SNP ve PEG uygulamasına geçilmeden önce fideler gruplandırılmıştır. Gruplandırılan fidelere 50, 100, 150, 300 ve 500 µM SNP dozları ile % 10, % 20 ve % 40 konsantrasyonlarda PEG uygulanmıştır ve uygulama süresinin 72 saat olmasına karar verilmiştir. Süre sonunda fideler hasat

edilerek malondialdehit (MDA) içerikleri belirlenmiştir. Fidelerin lipid peroksidasyon seviyelerinin belirlenmesi ile en uygun SNP ve PEG dozları tespit edilmiştir.

3.2.2. Denemenin kurulması

Sağlam, düzgün görünüşlü ve az çok birbirine benzer büyüklükte olan mısır tohumları seçilerek %1' lik sodyum hipoklorit çözeltisi ile 20 dk yüzey sterilizasyonu yapılmıştır. Çimlendirilen tohumlar, su kültürü ortamına aktarılmıştır. Fideler kontrollü şartlar altında büyütülmüş (21 gün) ve kuraklık uygulamasına geçilmeden önce gruplandırılarak 9 farklı bitki grubu oluşturulmuştur. Kuraklık uygulaması için PEG 6000 (Merck), 72 saat süresince hoagland çözeltisine % 20 ve % 40 oranında, SNP ise yine aynı saat süresince 150 ve 300 µM dozlarında karıştırılarak uygulanmıştır. Kuraklık uygulamasının 72. saatinde bitkiler hasat edilmiştir. Hasat edilen örnekler yapılacak analizlere kadar -86 ˚C' de saklanmıştır.



Şekil 3.1. 21 günlük mısır fidelerinin genel görünümü

3.3. Analiz Yöntemleri

Kuraklığın bitki türlerindeki fizyolojik etkileşimlerini belirlemek ve amaçta belirtilen hedeflere ulaşabilmek için bitkilerde aşağıda belirtilen analizler yapılmıştır;

- Yaprakların bağıl su içeriklerinin (RWC) belirlenmesi,
- Yaprakların bağıl büyüme oranlarının (RGR) belirlenmesi,
- Yaprakların ozmotik potansiyellerinin belirlenmesi,
- Yaprakların klorofil flüoresans ölçümleri,
- Yaprakların prolin içeriklerinin belirlenmesi,
- Yaprakların hidrojen peroksit (H_2O_2) içeriklerinin belirlenmesi,
- Yaprakların hidroksil ($^{\bullet}OH$) radikali süpürülme aktivitelerinin belirlenmesi,
- Yaprakların lipid peroksidasyon (MDA) seviyelerinin belirlenmesi,
- Kloroplast izolasyonu,
- Kloroplastik süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitelerinin belirlenmesi,

3.3.1. Büyüme parametreleri

3.3.1.1. Yaprakların bağıl su içerikleri (RWC)

Yaprakların bağıl su içeriklerini belirlemek için her bir gruptan 6 yaprak örneği alınarak yaş ağırlıkları (YA) belirlenmiştir. Yaş ağırlıkları belirlenen yapraklar düşük ışık altında deiyonize su içinde petrilerde 6 saat boyunca bekletilerek turgorlu ağırlıkları (TA) tespit edilmiştir. Turgorlu yapraklar 72 saat boyunca 70^{o}C' de bekletilerek kuru ağırlıkları (KA) ölçülmüştür. Her bir gruba ait yaprak örneklerinin bağıl su içerikleri aşağıdaki formüle göre % olarak hesaplanmıştır (Smart ve Bingham, 1974).

$$\text{Bağıl Su İçeriği} = [(YA-KA) / (TA-KA)] \times 100$$

3.3.1.2. Yaprakların bağıl büyüme oranları (RGR)

Yaprakların bağıl büyüme oranını belirlemek için bitkilerden 6 yaprak örneği alarak örnekler 70˚C' de 72 saat etüvde bekletilmiş ve ardından kuru ağırlıkları alınarak, aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Hunt ve ark., 2002).

Bağıl Büyüme Oranı: $(KA_2 - KA_1)/(H_2 - H_1)$

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

3.3.1.3. Yaprakların ozmotik potansiyellerinin belirlenmesi

Yaprakların ozmotik potansiyelleri, Wescor 5600 marka ozmotik potansiyel cihazı ile mmol kg^{-1} olarak ölçülmüştür. Ölçümler her bir gruptan beşer tekrarlı olarak kaydedilmiştir. Sonuçlar, Santa-Cruz ve ark. (2002)' a göre $2.408x10^{-3}$ katsayısıyla çarpılarak MPa' a çevrilmiştir.

3.3.2. Yaprakların klorofil flüoresans ölçümleri

Klorofil flüoresans ölçümleri, kontrol, SNP, PEG ve SNP + PEG uygulanmış gruplardan; kuraklık uygulamasının 72. saatinde, uygulamaya ait her gruptan 5 farklı bitkinin en üstteki katlanmamış yaprakları kullanılarak yapılmıştır. Her gruptan yaklaşık 1 cm^2 yüzey alanına sahip yaprak örnekleri alınarak, yaprak flüoresansının daha önceden tespit edilen en yüksek değere ulaştığı süre boyunca karanlıkta bekletilmiştir. Bitki verim analiz cihazı (Plant Efficiency Analyser-Hansatech Instruments Ltd.) ile yaprakların doygun ışık demetine maruz bırakılmasıyla, değişken olmayan bazal klorofil flüoresansı (*Fo*), maksimum flüoresans indüksiyonu (*Fm*), değişken flüoresans (*Fv*) ve *Fv*/*Fm* oranları belirlenmiştir. Bitkinin strese gösterdiği yanıtı belirlemek için özellikle PS-II'nin fotokimyasal verimi (Maksimum kuantum verimi *Fv/Fm*) dikkate alınmıştır.

3.3.3. Yapraklarda prolin içeriklerinin belirlenmesi

Yaprakların prolin miktarının belirlenmesi Bates ve ark. (1973)' nın metoduna göre yapılmıştır. Her gruptan 0.1 g yaprak örnekleri alınarak % 3' lük sülfosalisilik asit ile homojenize edildikten sonra süzülerek filtre edilmiştir. Elde edilen homojenata asit ninhidrin ve glasiyelasetik asit ilave edilerek 100˚C' de 1 saat süre ile su banyosunda bekletilmiştir. Daha sonra reaksiyonun durdurulması amacıyla karışım buz banyosunda soğuyuncaya kadar tutulmuştur. Soğutma işleminden sonra karışıma tolüen ekstrakte edilmiştir. Tolüen sıvı fazdan aspire edilmiş ve oda sıcaklığında soğutulup absorbans değerleri spektrofotometrede 520 nm dalga boyunda okunmuştur. Prolin konsantrasyonu kalibrasyon eğrisi yardımıyla hesaplanmış ve µmol prolin g^{-1} YA olarak belirtilmiştir.

3.3.4. Yaprakların hidrojen peroksit (H_2O_2) içeriklerinin belirlenmesi

H_2O_2 tayini Liu ve ark. (2010)' a göre yapılmıştır. Örnekleme sonrasında yapraklar sıvı azot içerisinde bekletilmiştir. 0.5 g yaprak örnekleri sıvı azotta öğütüldükten sonra -20^{o}C' de bekletilmiş asetonun 3 ml' si ile homojenize edilerek 3000 g' de 4^{o}C' de 10 dakika santrifüjlenmiştir. 1 ml süpernatanta 0.1 ml titanyum karışımı (%20 (v/v) titantum tetraklorid içeren ve hidroklorik asit ile hazırlanan) eklenmiştir. Sonrasında 0.2 ml amonyum hidroksit titanyum-peroksit kompleksiyle karıştırılmıştır. Reaksiyon karışımı 16000 g' de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Pellet kısmı -20 ^{o}C' ye soğutulmuş aseton ile yıkanmıştır. Sonrasında pellet 1 M H_2SO_4' ün 2 ml' si ile çözülmüştür. Solüsyonun absorbansı 410 nm' de suya karşı okunmuştur. Örneklerdeki H_2O_2 konsantrasyonları, bilinen H_2O_2 miktarlarına göre hazırlanan standart eğim grafiğine göre hesaplanmıştır.

3.3.5. Yaprakların hidroksil (•OH) radikali süpürülme aktivitelerinin belirlenmesi

Yaprakların •OH radikali süpürülme aktiviteleri, Kim ve Minamikawa (1997)' nın belirttiği yöntemde küçük modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirilmiştir. Çözeltilerin tümü analiz süresince taze olarak hazırlanmıştır. Fe^{+3}/askorbat/EDTA/H_2O_2 sisteminden üretilen •OH radikallerine karşı deoksiriboz ve örnek arasındaki rekabet •OH süpürme aktivitesinin belirlenmesi için ölçülmüştür. Reaksiyon karşımı; 0.3 ml 20

mM sodyum fosfat tamponu (pH: 7.0), 0.15 ml 10 mM 2-deoksiriboz, 0.15 ml 10 mM $FeSO_4$, 0.15 ml 10 mM EDTA, 0.15 ml 10 mM H_2O_2, 0.525 ml H_2O ve 75 µl örnek içermektedir. Reaksiyon karışımı 37 °C' de 2 saat inkübe edilmiştir. Test tüplerine 0.75 ml % 2.8' lik TCA ve 0.75 ml % 1' lik TBA eklenmiş ve 20 dakika kaynatılmıştır. Soğutma işleminden sonra karışımın, 520 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülmüştür.

$^{\bullet}OH$ süpürülme yeteneği hidroksil radikali tarafından 2-deoksiriboz oksidasyonunun inhibisyon oranı olarak aşağıdaki formüle göre değerlendirilmiştir.

$$\text{Hidroksil radikali süpürülme aktivitesi (\%)} = [(A_0 - A_1)/A_0]*100$$

A_0 = Körün Absorbansı, A_1= Örnek Absorbansı

3.3.6. Yaprakların lipid peroksidasyon seviyelerinin belirlenmesi

Lipid peroksidasyon içeriklerinin belirlenmesi için, zincir reaksiyonunun son ürünü olan malondialdehit (MDA) seviyesi ölçülmüştür. MDA içeriği, Madhava Rao ve Sresty (2000)' e göre belirlenmiştir. Bunun için 0.1 g yaprak örneği, trikloroasetik asit (TCA) ile homojenize edilmiştir. Santrifüjden sonra tüplere aktarılan süpernatanta, tiobarbitürik asit (TBA) ve TCA içeren reaksiyon karışımı pipetlenmiş ve tüm deney tüpleri 95°C' de 30 dk ısıtılmıştır. Karışım 10.000g x 15 dk santrifüjlenmiştir. Oluşan süpernatantın 532 ve 600 nm' deki absorbans değerleri okunmuştur. MDA konsantrasyonu, ekstinksiyon katsayısı (ϵ=155 mM^{-1} cm^{-1}) kullanılarak hesaplanmış ve nmol g^{-1} YA olarak ifade edilmiştir.

3.3.7. Kloroplast izolasyonu

Kloroplastlar mısır yapraklarından Wang ve ark. (2009) ve Sgherri ve ark. (2000) tarafından yapılan metodun modifiye edilmesiyle izole edilmiştir. Hasat edilen fidelere ait her bir gruptan 5' er g yaprak, izolasyon tamponun (0.33 M sorbitol, 2 mM EDTA, 50 mM Hepes–KOH (pH 7.5), 0.1% (w/v) BSA, 1 mM $MgCl_2$, 1 mM $MnCl_2$, 1 mM DTT) 20 ml' si ile blender içerisinde homojenize edilmiştir. Homojenat kurutma kağıdından süzdürülüp, kalan solüsyon 4^{o}C' de 200 g' de 3 dakika santrifüj edilmiştir. Pellet kısmı izolasyon tamponu (5 ml) ile tekrardan süspande edilip 2500 g' de 5 dakika

santrifüj edilmiştir. Kalan pellet %25 (v/v) Percoll (12.5 ml) içeren izolasyon tamponu ile üçüncü kez süspande edilip 15800 g' de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Elde edilen pellet, BSA ve $MnCl_2$ içermeyen izolasyon tamponunda 2500 g' de 5 dakika santrifüjlenmiş, kalan pellet 50 mM fosfat tamponu (pH 7.8), 0.1 mM EDTA ve 1 mM $MgCl_2$ içeren tamponda homojenize edilmiştir. Elde edilen süpernatant, enzim/izoenzim aktivitesinde kullanılmıştır. Ekstraksiyon prosedürünün tümü +4^oC' de gerçekleştirilmiştir.

3.3.7. Kloroplastik süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitelerinin belirlenmesi

SOD aktivitesi, Beauchamp ve Fridovich (1971)' e göre, SOD' un fotokimyasal olarak nitro blue tetrazolium (NBT)' un indirgenmesini inhibe etme yeteneğinin ölçülmesiyle tayin edilmiştir. 3 ml reaksiyon karışımı; 50 mM fosfat tamponu (pH: 7.8), 33 µM NBT, 10 mM L-metionin, 0.66 mM EDTA Na_2, 0.0033 mM riboflavin içermektedir. Süpernatant seyreltildikten sonra karışım 10 dk 300 µmol $m^{-2}s^{-1}$ ışık şiddeti altında bekletildi. Daha sonra reaksiyon karışımının 560 nm' de verdiği absorbans değerleri okunmuştur. SOD için 1 enzim birimi; ışıkla indirgenmenin % 50 engellenmesine neden olan protein miktarı (mg) olarak tanımlandığından yaprak örneklerindeki SOD aktiviteleri buna göre belirlenmiştir.

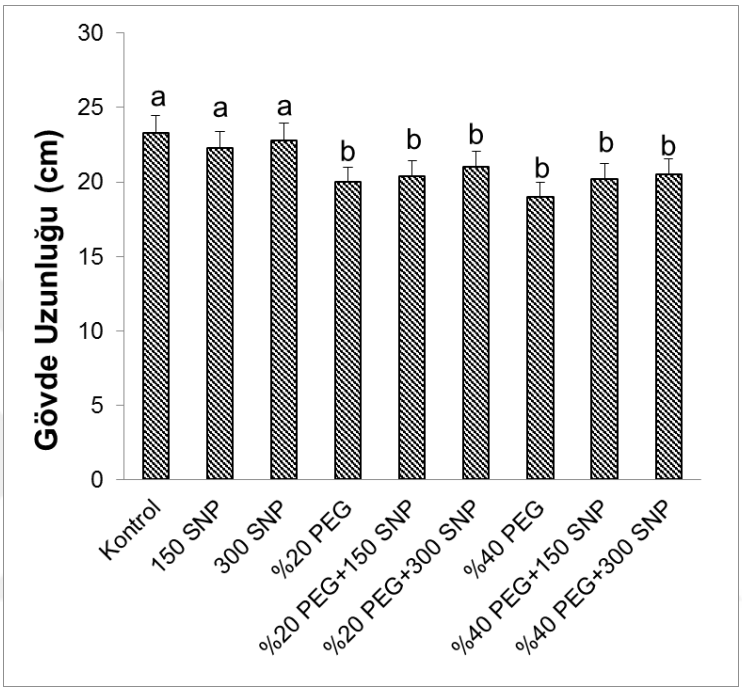
3.3.8. İstatistiksel Analizler

Tüm uygulamalar birbirinden bağımsız olarak en az 3 kez tekrar edilmiştir ve her bir bulgu, büyüme parametreleri dışında (n=10) 2 tekrardan oluşmaktadır (n=6). Elde edilen sonuçlar tek-yönlü varyans analizi (One−way ANOVA) ile analiz edilmiş ve ortalamalar arasındaki farklılıklar Lowest Standart Deviations (LSD) testi ile karşılaştırılmıştır. Analizlerde $P< 0.05$ olan değerler istatistiksel bakımdan anlamlı kabul edilmiştir. İstatistiksel analizler SPSS programı (standart versiyon 13.0) ile gerçekleştirilmiştir. Bütün şekillerdeki hata çubukları ortalama standart hatayı göstermektedir ve çizelgelerdeki değerler ortalama şeklinde verilmiştir.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Gövde Uzunluklarında Meydana Gelen Değişimler

Kuraklık stresi altındaki mısır fidelerine dışarıdan uygulanan SNP' nin gövde uzunlukları üzerine meydana getirdiği değişimler Şekil 4.1' de verilmiştir.

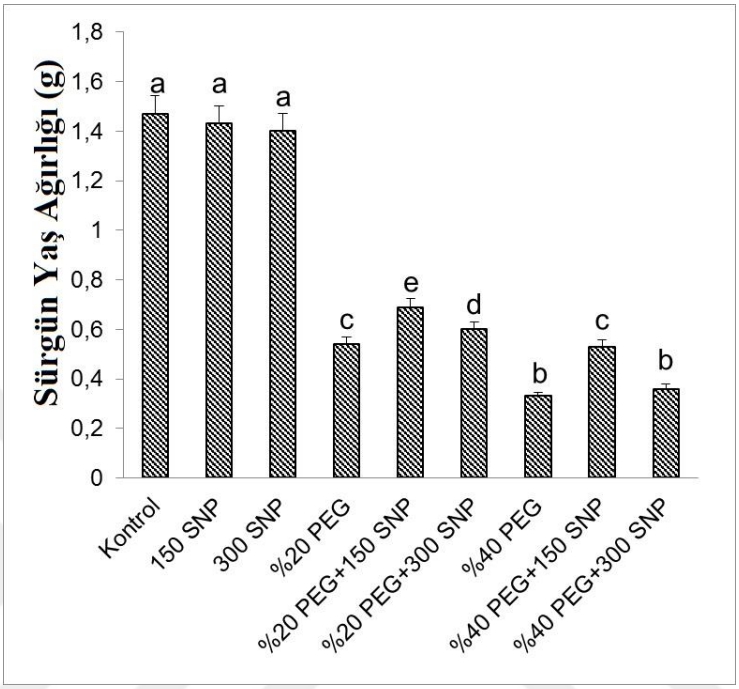


Şekil 4.1. Kuraklık stresi altındaki mısır (*Zea mays* L. cv. FRB 73) fidelerine dışarıdan uygulanan SNP' nin gövde uzunluklarında meydana gelen değişimler. Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel bakımdan farklı olan değerleri göstermektedir ($P < 0.05$).

Mısır fidelerine yalnız SNP uygulanan gruplar haricinde diğer tüm uygulamalarda fidelerin gövde uzunluklarında kontrole göre önemli oranda azalmaların olduğu tespit edilmiştir. Yalnız PEG uygulamaları kontrole göre gövde uzunluklarını sırasıyla % 14.2 (% 20 PEG) ve % 18.5 (% 40 PEG) oranlarında azaltmıştır. Kuraklık uygulamalarıyla birlikte SNP uygulamaları, yalnız kuraklığa maruz bırakılan gruplarla karşılaştırıldığında azda olsa artışların olduğu Şekil 4.1' de görülmesine rağmen istatistiki açıdan önemsiz olduğu belirlenmiştir.

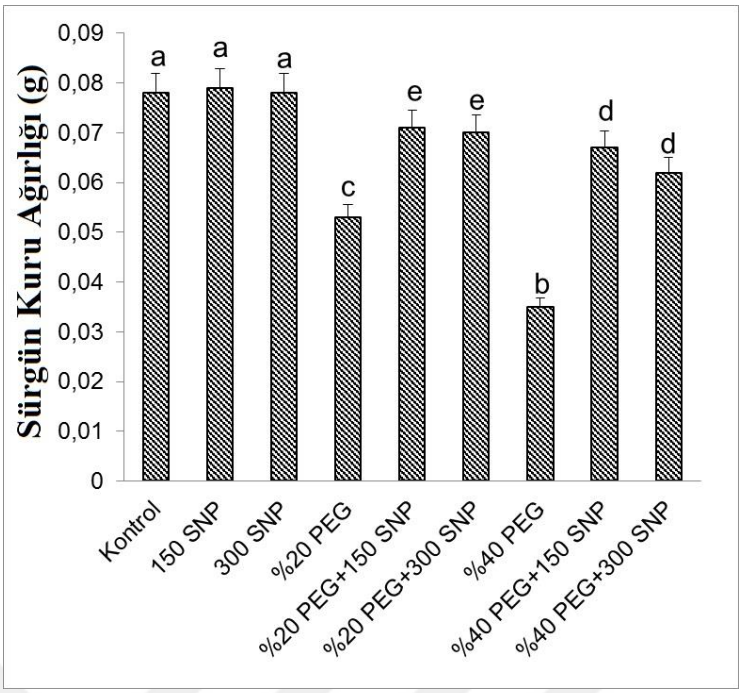
4.2. Sürgün Yaş ve Kuru Ağırlıklarında Meydana Gelen Değişimler

Ozmotik stres altındaki mısır fidelerine dışarıdan uygulanan SNP' nin sürgün yaş ağırlıkları üzerine meydana getirdiği değişimler Şekil 4.2' de verilmiştir.



Şekil 4.2. Kuraklık stresi altındaki mısır (*Zea mays* L. cv. FRB 73) fidelerine dışarıdan uygulanan SNP' nin sürgün yaş ağırlıklarında meydana gelen değişimler. Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel bakımdan farklı olan değerleri göstermektedir ($P< 0.05$).

Kuraklık stresiyle birlikte sürgün yaş ağırlıklarında önemli azalmalar tespit edilmiştir. PEG konsantrasyonundaki artışla, sürgün yaş ağırlıklarında azalma ters orantılı olduğu Şekil 4.2' de görülmektedir. PEG + SNP uygulamaları yalnız PEG uygulanan gruplarla karşılaştırıldığında %40 PEG+300 μM SNP uygulanan grup hariç tüm gruplarda önemli oranda sürgün yaş ağırlıklarında artış olduğu belirlenmiştir. Yalnız SNP' ye maruz bırakılan mısır fidelerinin sürgün yaş ağırlıklarında ise kontrole göre önemli değişim gözlenmemiştir (Şekil 4.2).



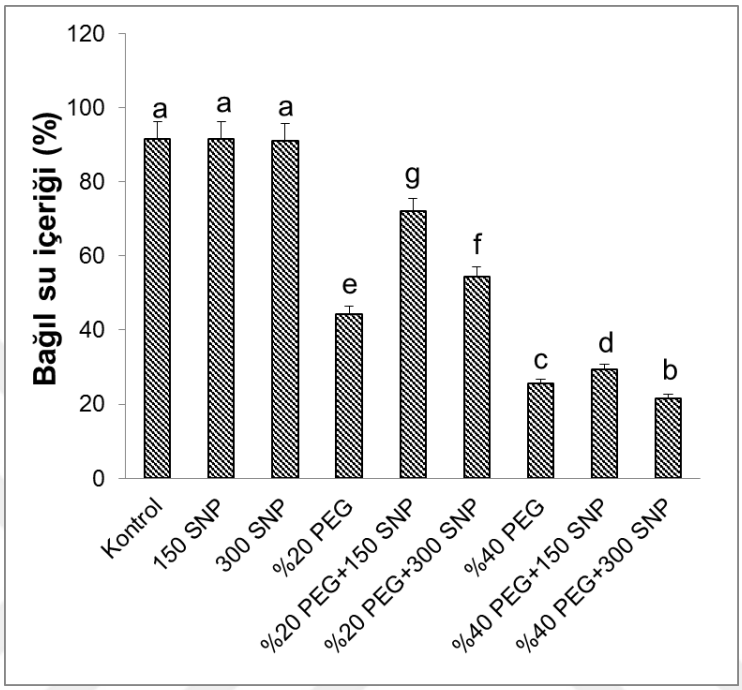
Şekil 4.3. Kuraklık stresi altındaki mısır (*Zea mays* L. cv. FRB 73) fidelerine dışarıdan uygulanan SNP' nin sürgün kuru ağırlıklarında meydana gelen değişimler. Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel bakımdan farklı olan değerleri göstermektedir (P< 0.05).

Kuraklıkla birlikte sürgün kuru ağırlıklarında önemli azalmalar tespit edilmiştir. sürgün kuru ağırlıklarında en düşük yaprak kuru ağırlığı, kontrole göre % 55.1' lik azalma ile yalnız % 40 PEG' e maruz bırakılan mısır fidelerinde gözlenmiştir (Şekil 4.3). Yalnız SNP' ye maruz bırakılan mısır sürgünlerinin kuru ağırlıklarında ise kontrole göre önemli değişim gözlenmemiştir. Kuraklıkla birlikte SNP uygulamaları yalnız kuraklık uygulanan gruplarla karşılaştırıldığında tüm gruplarda önemli oranda sürgün kuru ağırlıklarında artış olduğu tespit edilmiştir. Yalnız kuraklık uygulanan gruplarla karşılaştırıldığında en yüksek artışlara % 191.4 ve % 177.1 oranlarıyla %40 PEG+150 μM SNP ve %40 PEG+300 μM SNP uygulanan mısır fidelerinde rastlanmıştır.

Sonuçlarımızda görüldüğü gibi, Xu ve ark. (2005) *Catharanthus roseus* bitkisine yalnız SNP uygulamaları, büyüme indüksiyonunu daha fazla artırmıştır. Bu indüksiyona NO (nitrik oksit) bırakan bileşiklerin kök ve sürgün ucu uzamasını teşvik etmesi (Gouvea ve ark., 1997), SNP tarafından oksin sinyal yollarının uyarılması neden olmuş olabilir (Pagnussat ve ark., 2002).

4.3. Yaprakların Bağıl Su İçerikleri (RWC)

Kuraklık stresi altındaki mısır fidelerine dışarıdan uygulanan SNP' nin yaprak bağıl su içerikleri (RWC) üzerine meydana getirdiği değişimler Şekil 4.4' de verilmiştir.



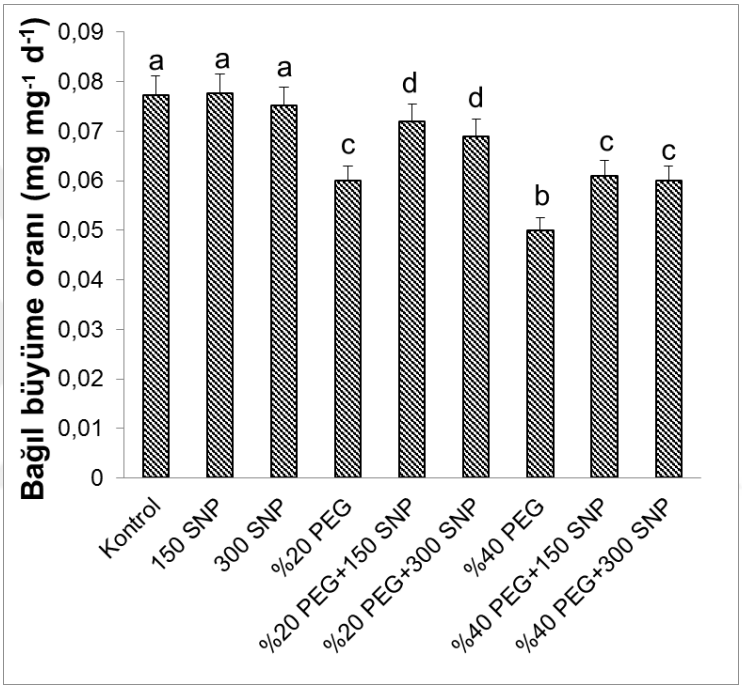
Şekil 4.4. Kuraklık stresi altındaki mısır (*Zea mays* L. cv. FRB 73) fidelerine dışarıdan uygulanan SNP' nin yaprak bağıl su içeriklerindeki (RWC) değişimler. Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel bakımdan farklı olan değerleri göstermektedir (P< 0.05).

Kuraklık uygulamalarına bağlı olarak yaprakların bağıl su içerikleri önemli oranda azalmıştır. Kuraklık dozundaki artışa paralel şekilde RWC' deki azalma oranları da artmıştır. PEG ile birlikte SNP uygulamaları % 40 PEG+300 μM SNP' ye maruz bırakılan grup haricinde RWC' de önemli oranda iyileşmeye neden olmuştur. Kuraklıkla birlikte RWC' deki en fazla iyileşme oranları her iki kuraklık konsantrasyonunda da 150 μM SNP uygulanan mısır yapraklarında olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.4). Yanız SNP uygulamaları sonucunda RWC' de kontrole göre önemli değişim meydana getirmemiştir. Merewitz ve ark. (2011)' nın yapmış oldukları çalışmayla uygun olarak, PEG indüklü ozmotik stres altındaki mısır bitkilerinin büyüme inhibisyonuna benzer şekilde RWC' de azalmıştır. Ortama SNP eklenmesi, su içeriğinde PEG indüklü toksik semptomların azalmasına yol açmıştır. Bu sonuçlar SNP uygulanan kuraklık stresli buğday fidelerinin su içeriklerinin daha iyi korunduğunu gösteren önceki çalışma ile benzerlik göstermektedir (García Mata ve Lamattina, 2001). Stres uygulanan bitkilere SNP eklenmesiyle su kaybının etkili bir şekilde önlenmesi

stoma kapanması, transpirasyon oranında azalma veya adventif kök gelişimiyle bağlantılı olabilir.

4.4. Sürgünlerin Bağıl Büyüme Oranları (RGR)

Ozmotik stres altındaki mısır fidelerine dışarıdan uygulanan SNP' nin sürgün bağıl büyüme oranları (RGR) üzerine meydana getirdiği değişimler Şekil 4.5' de verilmiştir.

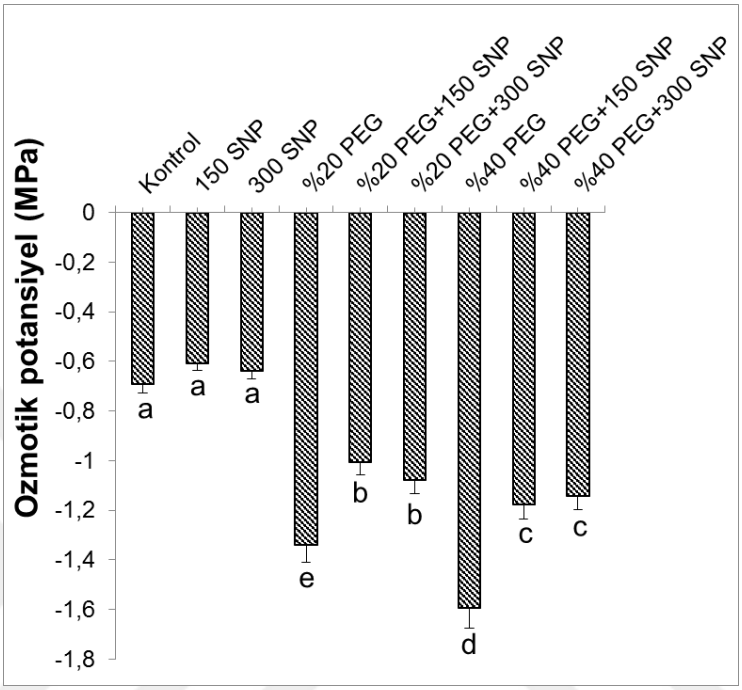


Şekil 4.5. Kuraklık stresi altındaki mısır (*Zea mays* L. cv. FRB 73) fidelerine dışarıdan uygulanan SNP' nin sürgünlerin bağıl büyüme oranları meydana gelen değişimler. Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel bakımdan farklı olan değerleri göstermektedir ($P< 0.05$).

Kuraklık ve kuraklıkla birlikte SNP uygulamalarının tamamında RGR' de önemli oranda azalmaların olduğu tespit edilmiştir. En düşük RGR' ye kontrole göre sırasıyla %22.4 (%20 PEG) ve %35.3 (%40 PEG) azalma oranlarıyla yalnız PEG uygulanan gruplarda belirlenmiştir. SNP uygulamalarıyla birlikte kuraklık stresi altındaki sürgünlerin RGR değerleri istatistiki açıdan önemli derecede artış göstermiştir. Hatta %40 PEG + SNP uygulamaları sonucunda RGR değerleri %20 PEG uygulanan fidelelerin RGR değerinin seviyesinde olduğu gözlenmiştir.

4.5. Yaprak Ozmotik Potansiyellerinde Meydana Gelen Değişimler

PEG stresi altındaki mısır fidelerine dışarıdan uygulanan SNP' nin yaprak ozmotik potansiyelleri üzerine meydana getirdiği değişimler Şekil 4.6' da verilmiştir.



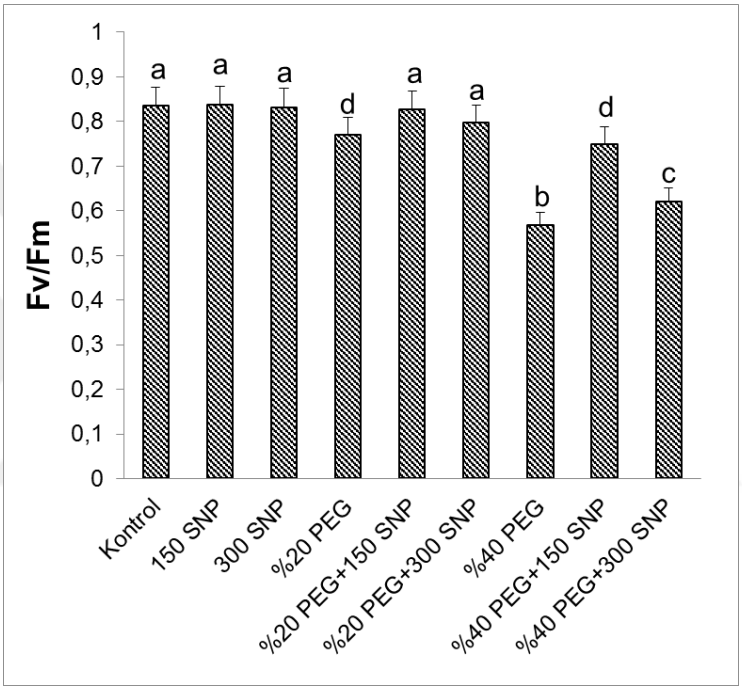
Şekil 4.6. Kuraklık stresi altındaki mısır (*Zea mays* L. cv. FRB 73) fidelerine dışarıdan uygulanan SNP' nin yaprakların ozmotik potansiyellerinde meydana gelen değişimler. Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel bakımdan farklı olan değerleri göstermektedir ($P< 0.05$).

Kuraklık stresi altındaki mısır yapraklarının ozmotik potansiyelleri negatif yönde kontrolün sırasıyla 1.94 ve 2.31 katı olarak tespit edilmiştir. En düşük yaprak ozmotik potansiyeline yalnız %40 PEG uygulanan mısır yapraklarında belirlenmiştir. Kuraklıkla birlikte SNP uygulamaları, yalnız stres altındaki yapraklara oranla pozitif yönde önemli derece ozmotik potansiyel üzerine etki etmiştir. Yalnız SNP' ye maruz bırakılan yapraklarda ise ozmotik potansiyel seviyeleri kontrol grubuyla eş değer seviyede olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.6). Stres şartları altında yaprakların düşük Ψ_{Π}' leri, düşük RWC ile bağlantılıdır. Benzer olarak Lefevre ve ark. (2001), PEG stresli *Oryza sativa'* nın Ψ_{Π}' lerinin yüksek oranda etkilendiğini bildirmişlerdir. Her iki konsantrasyondaki SNP uygulamaları stresten kaynaklanan ozmotik potansiyeldeki azalmayı önemli oranda iyileştirmiştir. 72 saat stres uygulamasının ardından, sadece PEG stresli köklerle karşılaştırıldığında her iki SNP konsantrasyonunlu

kombinasyonlarda Ψ_{Π} artmış ve bu durum suyun yeniden absorbsiyonu ve yaprak RWC'sinde kaydedilen bir artışla açıklanabilir.

4.6. Klorofil Fluoresans Değerlerinde Meydana Gelen Değişimler

Kuraklık stresi altındaki mısır fidelerine dışarıdan uygulanan SNP' nin PS-II' nin fotokimyasal verimi (Fv/Fm) üzerine meydana getirdiği değişimler Şekil 4.7' de verilmiştir.

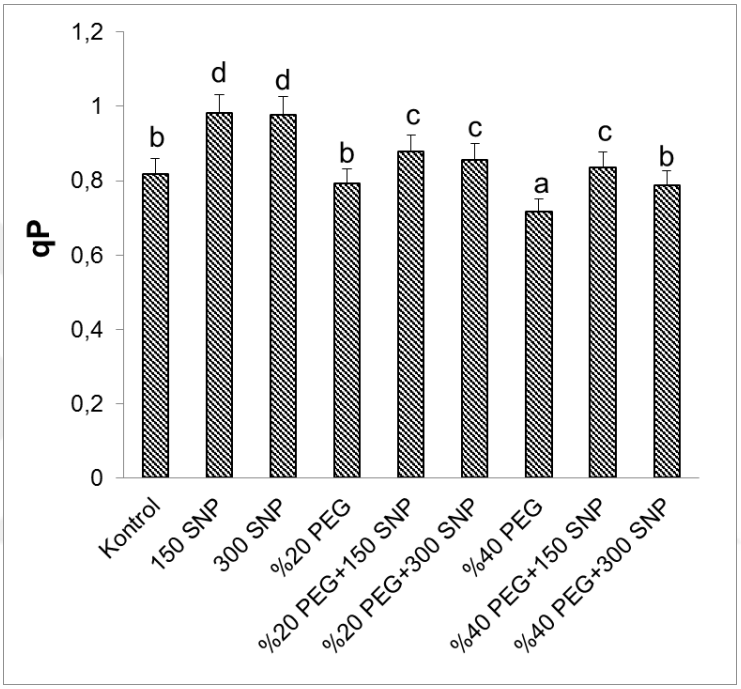


Şekil 4.7. Kuraklık stresi altındaki mısır (*Zea mays* L. cv. FRB 73) fidelerine dışarıdan uygulanan SNP' nin PS-II' nin fotokimyasal verimi (Fv/Fm) üzerine meydana gelen değişimler. Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel bakımdan farklı olan değerleri göstermektedir ($P< 0.05$).

Stresle birlikte fotosentetik aygıtların durumunu en iyi şekilde ifade eden ve ölçülmesi mutlak gerekli olan parametrelerin başında PS-II' nin fotokimyasal verimi (Fv/Fm) gelmektedir. Fv/Fm değerlerine bakarak fotosentetik aygıtların durumu hakkında önemli bilgiye ulaşılabilir. Kuraklık uygulamalarının konsantrasyonuna bağlı olarak Fv/Fm değerlerinde kontrole göre önemli oranda azalmalar tespit edilmiştir. En düşük Fv/Fm değerine, kontrole göre %32.1 azalmayla yalnız %40 PEG uygulanan mısır yapraklarında rastlanmıştır (Şekil 4.7). Kuraklıkla birlikte SNP uygulamaları Fv/Fm değerleri üzerine olumlu yönde etki etki etmiştir. Özellikle düşük konsantrasyondaki kuraklıkla (%20 PEG) birlikte her iki konsantrasyondaki SNP

uygulamaları altındaki fidelerin Fv/Fm değerleri kontrol grubu ile benzer seviyede olduğu Şekil 4.7' te de görülmektedir. Buradan seçilen iki SNP dozununda düşük konsatrasyondaki PEG uygulamalarında fotosentetik aygıtların korunmasında önemli bir role sahip olduğu söylenebilir.

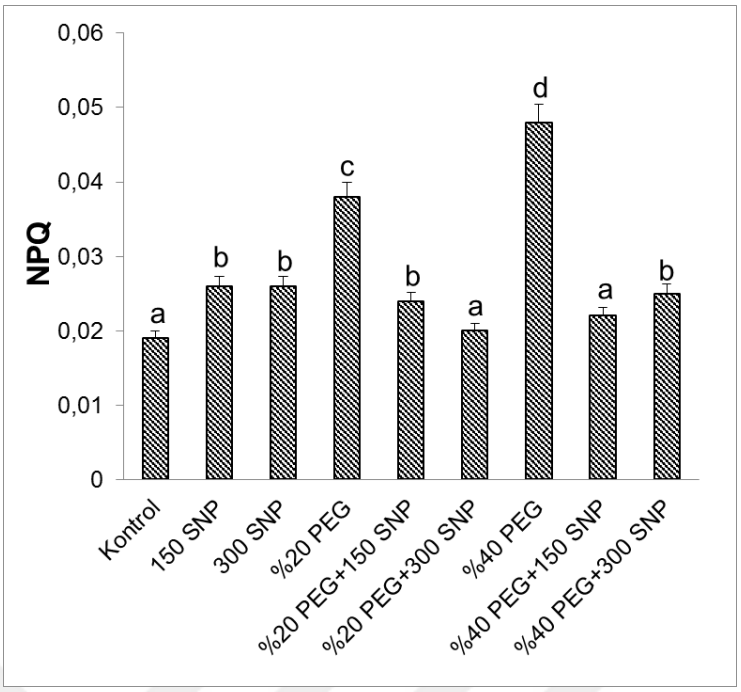
Kuraklık altındaki mısır fidelerine dışarıdan uygulanan SNP' nin fotokimyasal sönümleme katsayısı (qP) üzerine meydana getirdiği değişimler Şekil 4.8' de verilmiştir.



Şekil 4.8. Kuraklık stresi altındaki mısır (*Zea mays* L. cv. FRB 73) fidelerine dışarıdan uygulanan SNP' nin fotokimyasal sönümleme katsayısı (qP) üzerine meydana gelen değişimler. Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel bakımdan farklı olan değerleri göstermektedir (P< 0.05).

Şekil 4.8' de görüldüğü üzere yalnız %40 PEG uygulanan fideler haricinde diğer tüm grupların qP değerleri kontrole göre ya artmış yada kontrol seviyesine benzer seviyede kalmıştır. Yalnız SNP uygulamaları altındaki fidelerin qP değerleri kontrole göre sırasıyla %19.9 ve %19.4 oranında artış göstermiştir.

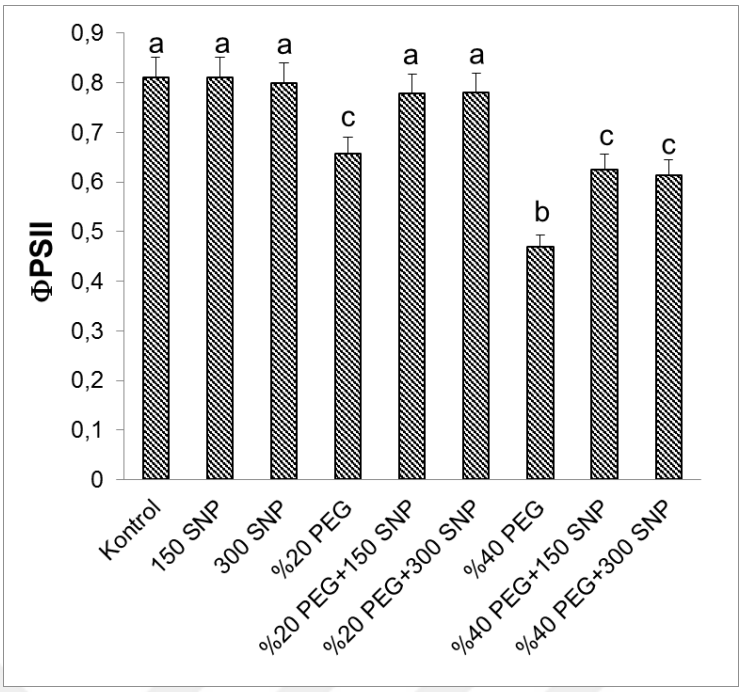
Kuraklık altındaki mısır fidelerine dışarıdan uygulanan SNP' nin fotokimyasalsız sönümleme değeri (NPQ) üzerine meydana getirdiği değişimler Şekil 4.9' de verilmiştir.



Şekil 4.9. Kuraklık stresi altındaki mısır (*Zea mays* L. cv. FRB 73) fidelerine dışarıdan uygulanan SNP' nin fotokimyasalsız sönümleme değeri (NPQ) üzerine meydana gelen değişimler. Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel bakımdan farklı olan değerleri göstermektedir (P< 0.05).

Ozmotik stres altındaki fidelerin NPQ değerleri kontrole göre önemli oranda artış göstermiştir. Artış oranları sonucunda %20' lik PEG' in NPQ değerleri kontrolün 2 katı, %40' lik PEG' de ise 2.5 katı olduğu belirlenmiştir. Kontrole oranla diğer tüm uygulamaların NPQ değerleri ya artış göstermiş yada değişmemiştir.

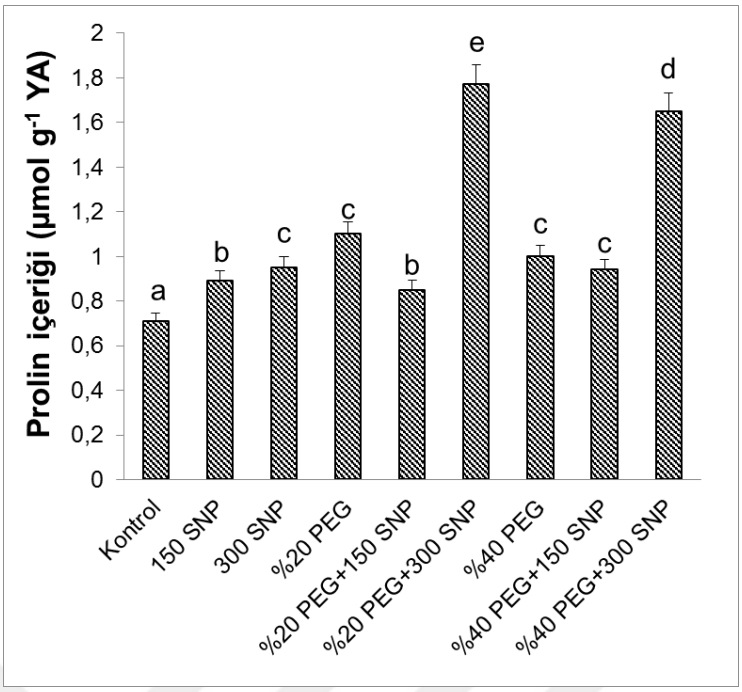
Kuraklık altındaki mısır fidelerine dışarıdan uygulanan SNP' nin PS-II' nin ışıkla adapte edilmiş kararlı halin gerçek kuantum verimi (ΦPSII) üzerine meydana getirdiği değişimler Şekil 4.10' de verilmiştir. %20 ve %40 PEG uygulamaları sonucunda yaprakların ΦPSII değerleri kontrole göre sırasıyla %18.8 ve %42 oranında azalmıştır. Kuraklıkla birlikte SNP uygulamaları yaprakların ΦPSII değerleri üzerine olumlu etki yapmıştır. % 20 PEG konsantrasyonlarında ΦPSII değerlerinde meydana gelen azalma, SNP uygulamalarıyla kontrol seviyesine yükselmiştir (Şekil 4.10). %40 PEG + SNP kombinasyonlarındaki ΦPSII değerleri yalnız %40 PEG stresine maruz bırakılan fidelerden elde edilen verilerle karşılaştırıldığında önemli oranda artışların olduğu gözlenmiştir. Ancak ΦPSII değerlerinde artışların olmasına rağmen kontrol seviyesine ulaşamamıştır.



Şekil 4.10. Kuraklık stresi altındaki mısır (*Zea mays* L. cv. FRB 73) fidelerine dışarıdan uygulanan SNP' nin PS-II' nin ışıkla adapte edilmiş kararlı halin gerçek kuantum verimi (ΦPSII) üzerine meydana gelen değişimler. Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel bakımdan farklı olan değerleri göstermektedir ($P< 0.05$).

4.7. Yaprakların Prolin İçeriklerinde Meydana Gelen Değişimler

Kuraklık stresi gibi çevresel stresler altında bitkilerde biriken en yaygın ozmolitlerden birisi prolindir. Prolin sadece bir ozmotik düzenleyici değil bunun yanı sıra fotosentetik sistemin koruyucusu, bir antioksidan ve karbon kaynağı olarak da görev yapmaktadır. Prolin birikimi, birçok bitkide, biyotik ve abiyotik streslere karşı yaygın bir fizyolojik tepkidir. Kurak stresi altındaki mısır fidelerine dışarıdan uygulanan SNP' nin prolin içerikleri üzerine meydana getirdiği değişimler Şekil 4.11' de verilmiştir.

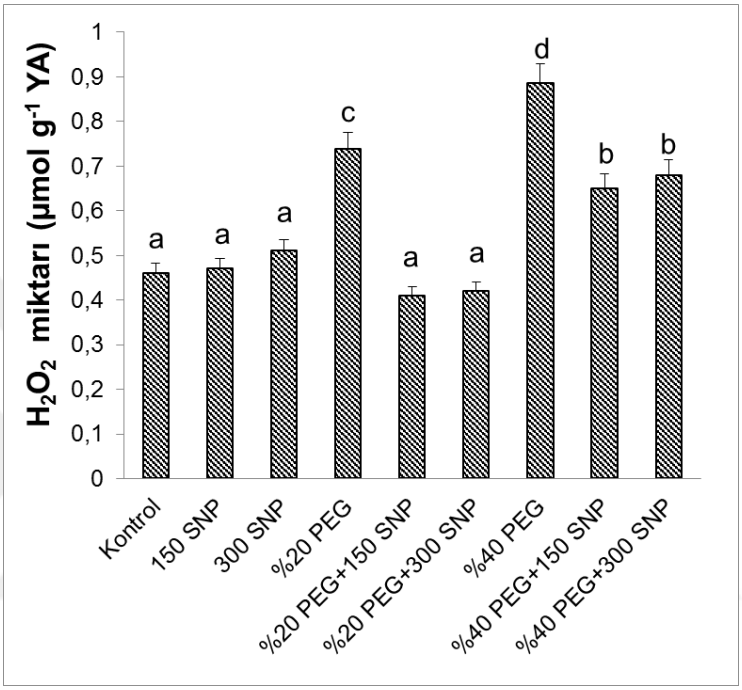


Şekil 4.11. Kuraklık stresi altındaki mısır (*Zea mays* L. cv. FRB 73) fidelerine dışarıdan uygulanan SNP' nin yaprakların prolin içeriklerinde meydana gelen değişimler. Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel bakımdan farklı olan değerleri göstermektedir (P< 0.05).

Tüm deneme sürecinde tüm uygulama gruplarında yaprakların prolin içerikleri kontrole göre önemli oranda artış göstermiştir. Prolin içeriğindeki en yüksek artışlara her iki kuraklık konsantrasyonunda da 300 µM SNP uygulanan mısır fidelerinde belirlenmiştir. %20 PEG + 300 µM SNP uygulanan gruplarda prolin içeriği kontrolün 2.5 katı iken %40 PEG + 300 µM SNP' e maruz bırakılan mısır yapraklarında ise 2.3 katıdır (Şekil 4.11). Yanız SNP uygulamaları da kontrole göre sırasıyla %25.3 ve %33.8 oranında prolin içeriklerini artırmıştır. Kuraklık stresi altındaki mısır yapraklarında Ψ_Π' deki azalma, ozmolit akümülasyonundan kaynaklanmış olabilir. Misra ve Gupta (2005)' nın yapmış oldukları çalışmada da bulgularımızı destekler nitelikte Ψ_Π ve prolin birikimi arasında ters bir ilişkinin olduğu bildirilmiştir. Ozmoprotektan içeriklerindeki artış, ozmotik değişimlere adaptasyonla ilgili olabilir (Meloni ve ark., 2004). Bu bileşiklerin akümülasyonu hem sitosolün Ψ_Π' ni stabilize eder hemde hücre içi yapıların ve hücresel makromoleküllerinin korunmasını sağlayabilir (Munns, 2005). Bulgularımızı destekler nitelikte *Prosopis alba* Griseb.' nın tuz stresine karşı tepkide prolin, kolin ve glisin-betain birikim seviyelerinde artışlar rapor edilmiştir (Meloni ve ark., 2004).

4.8. Yaprakların H_2O_2 İçeriklerinde Meydana Gelen Değişimler

Bitkilerde H_2O_2 içeriğinin belirlenmesi, kuraklık stresinden etkilenme derecelerinin ortaya konulmasında en önemli parametrelerden birisidir. PEG stresi altındaki mısır fidelerine dışarıdan uygulanan SNP' nin H_2O_2 içerikleri üzerine meydana getirdiği değişimler Şekil 4.12' de verilmiştir.



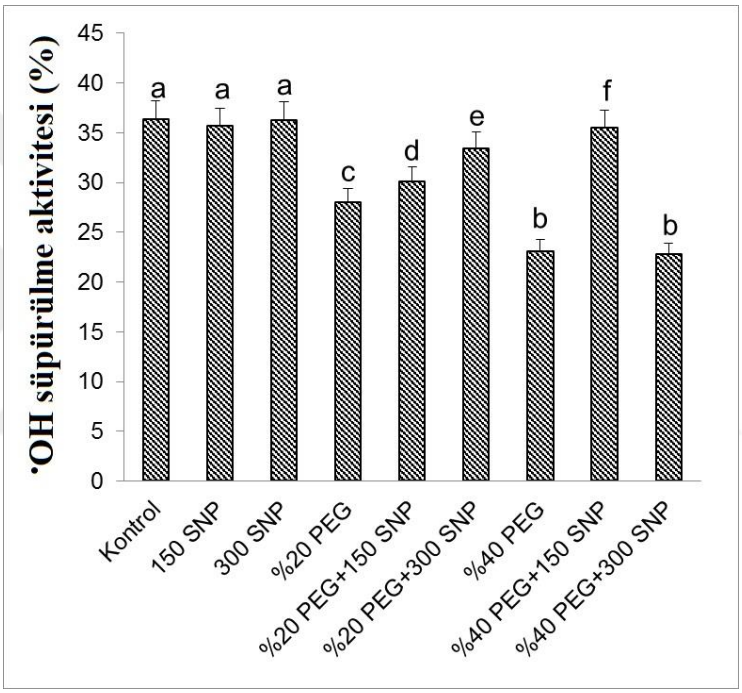
Şekil 4.12. Kuraklık stresi altındaki mısır (*Zea mays* L. cv. FRB 73) fidelerine dışarıdan uygulanan SNP' nin yaprakların H_2O_2 içeriklerinde meydana gelen değişimler. Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel bakımdan farklı olan değerleri göstermektedir ($P< 0.05$).

Kuraklık stresiyle birlikte yaprakların H_2O_2 içerikleri uygulanan PEG konsantrasyonuna bağlı olarak kontrole göre sırasıyla %60.7 (%20 PEG) ve %92.4 (%40 PEG) oranında artış göstermiştir. Kuraklık+SNP uygulamaları yaprakların H_2O_2 içeriklerini önemli oranda azaltmıştır. En yüksek azalma oranlarına düşük konsantrasyonla birlikte SNP uygulanan mısır fidelerinde rastlanmış olup bu gruplardaki yaprakların H_2O_2 içeriklerinin kontrol seviyesinde olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.12). Yalnız SNP' ye maruz bırakılan yapraklarda ise H_2O_2 içerikleri kontrole göre istatistiki açıdan önemli bir değişim göstermemiştir. ROS birkaç oksidatif yıkıcı prosesleri başlatmasıyla birlikte çeşitli sinyal yollarını da tetikler. NO sinyalizasyonu ve onun ROS ile ilişkisi, strese karşı sinyal iletim yollarını etkileyebilir (Grennan, 2007). Ozmotik stresin bitkilerde toksik ROS' nin süpürülmesi için antioksidan enzimlerin

total aktiviteleri ve izozimlerinin aşırı ekspresyonuna ve artışına neden olduğu bildirilmektedir (Mittler ve ark., 2004).

4.9. Yaprakların Hidroksil (˙OH) Radikali Süpürülme Aktivitelerin Meydana Gelen Değişimler

Kuraklık stresi altındaki mısır fidelerine dışarıdan uygulanan SNP' nin ˙OH radikali süpürülme aktiviteleri üzerine meydana getirdiği değişimler Şekil 4.13' de verilmiştir.



Şekil 4.13. Kuraklık stresi altındaki mısır (*Zea mays* L. cv. FRB 73) fidelerine dışarıdan uygulanan SNP' nin yaprakların ˙OH radikali süpürülme aktivitelerinde meydana gelen değişimler. Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel bakımdan farklı olan değerleri göstermektedir (P< 0.05).

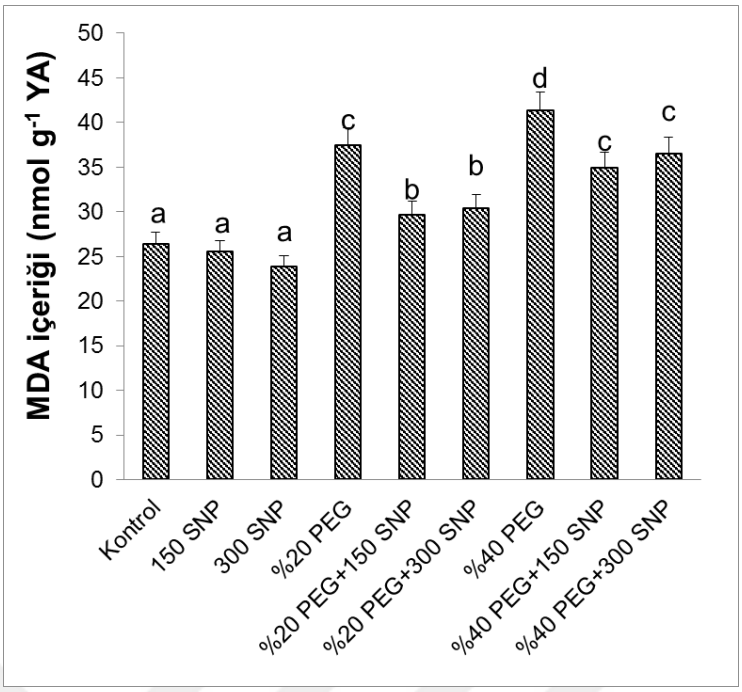
Kuraklıkla birlikte ˙OH radikali süpürülme aktiviteleri önemli oranda azalmıştır. Bu azalma oranları PEG konsantrasyonundaki artışla ters orantılıdır. Azalma oranları kontrole göre sırasıyla %23.1 ve %36.5' dir. PEG ile birlikte SNP uygulamaları ˙OH radikali süpürülme aktivitelerini ya artırmış ya da etki etmemiştir (%40 PEG + 300 µM SNP). Kuraklık stresi altındaki yaprakların ˙OH radikali süpürülme aktivitelerindeki en yüksek artışların %20 PEG uygulanan mısır fidelerinde 300 µM SNP' de, %40 PEG' e maruz bırakılan fidelerinde ise 150 µM SNP' de olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.13).

Yalnız SNP' ye maruz bırakılan yapraklarda ise •OH radikali süpürülme aktivitelerinde kontrole göre istatistiki açıdan önemli bir değişim gözlenmemiştir.

H_2O_2 en reaktif oksidan olan •OH' in üretimini tetikler ve bu radikal önemli biyomoleküller ve membranlar üzerine oldukça reaktiftir (Karuppanapandian ve ark., 2011). •OH süpürülme aktivitesi yüksek PEG konsantrasyonlarında azalmıştır. Stres koşulları altında stresle birlikte uygulanan her iki konsantrasyondaki SNP, yalnız PEG uygulanan gruplara göre •OH süpürülme aktivitesini artırmıştır. Bu yüzden mısır yapraklarında artan •OH süpürülme aktivitesi, ROS' ların birikimini engellemiş ve bu sayede membran sistemlerin lipid peroksidasyonu ve oksidatif zararlardan korunma sağlanmıştır.

4.10. Yaprakların Lipid Peroksidasyon (MDA) Seviyelerinde Meydana Gelen Değişimler

Bitkilerin hücre düzeyinde kuraklık stresinin neden olduğu hasarın göstergelerinden birisi lipid peroksidasyonudur. Lipid peroksidasyon seviyelerinin belirlenmesi için, zincir reaksiyonunun son ürünü olan malondialdehit (MDA) içerikleri ölçülmüştür. MDA içeriklerinin ölçülmesi ve membran lipidlerinin peroksidasyon seviyelerinin belirlenmesi, kuraklıkla indüklenen oksidatif stresin şiddetinin ve bitki duyarlılık derecelerinin değerlendirilmesinde önemli bir parametredir. Kuraklığa maruz altındaki mısır fidelerine dışarıdan uygulanan SNP' nin lipid peroksidasyon seviyeleri üzerine meydana getirdiği değişimler Şekil 4.14' de verilmiştir.



Şekil 4.14. Kuraklık stresi altındaki mısır (*Zea mays* L. cv. FRB 73) fidelerine dışarıdan uygulanan SNP' nin yaprakların lipid peroksidasyon seviyelerinde meydana gelen değişimler. Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel bakımdan farklı olan değerleri göstermektedir (P< 0.05).

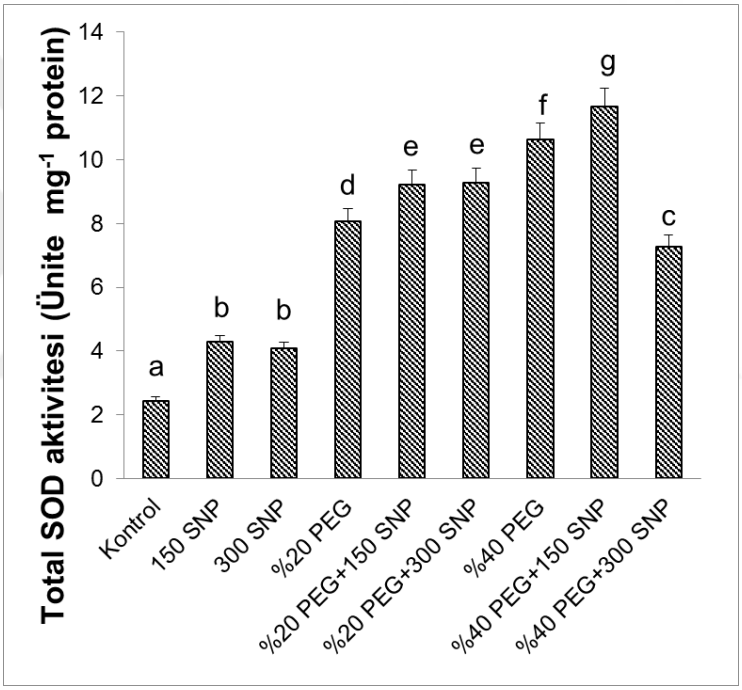
PEG uygulamalarıyla birlikte yaprakların MDA içerikleri PEG konsantrasyonuna bağlı olarak kontrole göre önemli oranda artış göstermiştir. Yalnız kuraklık stresi altındaki yaprakların MDA içerikleri kontrole göre sırasıyla %42.1 ve % %56.4 artmıştır. Ozmotik stresle birlikte SNP uygulamaları yalnız strese maruz bırakılan yapraklarla kıyaslandığında önemli oranda azalmaların olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.14). Yalnız SNP'e maruz bırakılan yapraklarda ise lipid peroksidasyon seviyeleri kontrole göre istatistiki açıdan önemli bir değişim göstermemiştir.

Ozmotik stres altındaki mısır yapraklarının lipid peroksidasyon seviyelerindeki artış, bitkilerde oksidatif zarara neden olabilir ve lipid peroksidasyon, toksik ROS içeriklerinin aşırı üretiminden kaynaklanabilir. Bu çalışmadaki malondialdehit (MDA) içeriklerinde değişimlerin gözlenmesi Zhao ve ark. (2009)' nın çalışmaları ile uyum içerisindedir. NO, lipid peroksidasyonunu engelleyerek, ya lipid peroksil radikallerini süpürülmesini teşvik ederek ya da peroksidasyon enzimlerini inhibe ederek membran bütünlüğünü koruduğu bildirilmektedir. PEG ile birlikte SNP uygulama solüsyonlarının eklenmesi, stresle birlikte MDA akümülasyonunda önemli bir azalmaya neden olmuştur. Sonuçlar Jin ve ark. (2010)' nın lipid radikallerinin reaktivasyonu ve lipid oksidasyonlarının çoğaltımının durdurulmasını sağlayan SNP' nin koruyucu bir role sahip olduğunu bildiren çalışmaları ile benzerlik göstermektedir. Bu durum stres şartları

altında SNP' nin ROS' lara karşı kendi antioksidan aktivitesi, SNP' nin gen ekspresyon ve antioksidan enzimlerin enzim aktivite seviyeleri üzerine sinyalleme etkileri veya yüksek ATPaz aktivitesinin sürdürülmesi aracılığıyla sağlanabilir (Shi ve ark., 2007).

4.11. Kloroplastların Total Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivitelerinde Meydana Gelen Değişimler

Kuraklığa maruz altındaki mısır fidelerine dışarıdan uygulanan SNP' nin kloroplastik total süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitelerinde meydana getirdiği değişimler Şekil 4.15' de verilmiştir.



Şekil 4.15. Kuraklık stresi altındaki mısır (*Zea mays* L. cv. FRB 73) fidelerine dışarıdan uygulanan SNP' nin kloroplastik total süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktiviteleri üzerinde meydana gelen değişimler. Sütunlar üzerindeki farklı harfler istatistiksel bakımdan farklı olan değerleri göstermektedir ($P< 0.05$).

Tüm deneme süresince kontrolle kıyaslandığında tüm uygulamalarda kloroplastik total SOD aktivitesi artış göstermiştir. En yüksek artış oranları kuraklıkla birlikte SNP uygulanan mısır fidelerinde gözlenmiştir. Her iki dozdaki PEG konsantrasyonlarında da en yüksek SOD aktivitesinde gözlenen artış 150 μM SNP uygulanan yapraklarda tespit edilmiştir. Yalnız SNP uygulamaları da kontrole göre kloroplastik SOD aktivitesini önemli oranda artırmıştır (Şekil 4.15). Ozmotik stresin bitkilerde toksik ROS' nin süpürülmesi için antioksidan enzimlerin total aktiviteleri ve

izozimlerinin aşırı ekspresyonuna ve artışına neden olduğu bildirilmektedir (Mittler ve ark., 2004). Bu çalışmada PEG uygulamaları, artan $O_2^{\bullet-}$ ve H_2O_2 içeriği aracılığıyla ROS akümülasyonunda artışa neden olmuştur. SOD enzimi hücrelerde $O_2^{\bullet-}$' in eliminasyonundan sorumludur. Bulgularımıza benzer olarak Li ve ark. (2008) tarafından tuz stresi şartlarında SOD aktivitesi üzerine NO' nun pozitif etkileri rapor edilmiştir.

O_2^{-}' i H_2O_2' ye SOD' ların aktif merkezlerinde yer alan metal iyonlara göre üç izoenzimi vardır. Bunlar bakır ve çinko içeren Cu/Zn SOD, mangan içeren Mn SOD ve demir içeren Fe SOD' dur (Scandalios, 1993; Kukreja ve ark., 2005). Yapılan çalışmalar, SOD' ların ifadesindeki artışın biyotik ve abiyotik strese bağlı oluşan oksidatif stresle başa çıkmada ve bitkilerin stres koşulları altında canlılığı sürdürmesine katkı sağlama da önemli rolleri olduğunu göstermiştir. *Morus alba* L. (dut), *Cicer arietinum* L. (nohut) ve *L. esculentum* (domates) gibi birçok bitkide çeşitli stres koşulları altında gerçekleştirilen çalışmalarda SOD aktivitesinde artışlar meydana geldiği gözlenmiştir (Harinasut ve ark., 2003; Attia ve ark., 2009).

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Bu çalışma *Zea mays* L. cv *FRB73* yapraklarında PEG indüklü ozmotik strese karşı dışarıdan sodyum nitroprussid (SNP) uygulamalarının stres azaltıcı etkilerinin olup olmadığını araştırmak için planlanmıştır. Hidroponik olarak yetiştirilen mısır yapraklarına %20 ve %40 oranında polietilen glikol (PEG 6000; sırasıyla, -0.5 MPa ve -1.76 MPa) uygulamaları yalnız veya 150 ve 300 µM SNP kombinasyonlarıyla birlikte 72 saat süresince ilave edilmiştir. PEG stresi büyümeyi (taze ve kuru ağırlık, sürgün uzunluğunu), su içeriğini (RWC), nisbi büyüme oranını (RGR), yaprak su potansiyelini (Ψ_Π) ve maksimum fotokimyasal verimliliği (F_v/F_m), fotokimyasal sönümleme katsayısını (qP), gerçek kuantum verimini (Φ_{PSII}) azaltmış ve bu azalma oranı %40 PEG uygulamalarında daha şiddetli olmuştur. Kuraklık stresi H_2O_2 ve MDA içeriğini artırmıştır. Bunun yanı sıra stres prolin içeriklerinde (Pro) önemli indüksiyona neden olmuştur. Özellikle 300 µM SNP uygulaması prolin birikiminde kayda değer bir atış göstermiştir. Bu artış oranları %20 PEG + 300 µM SNP (2.5 kat)' de %40 PEG + 300 µM SNP (2.3 kat) uygulanan yapraklardan daha fazladır. Bununla birlikte PEG ile SNP uygulamaları stresle indüklenen zararı; etkili su kullanımı, artan büyüme ve fotosentetik verimlilik aracılığıyla önemli bir biçimde azaltabilmiştir. Stres altında dışarıdan SNP uygulamaları RGR, RWC, Ψ_Π, F_v/F_m, qP ve Φ_{PSII}, $^{\bullet}OH$ süpürülme aktivitesini ve kloroplastik SOD enzim aktivitelerinde artışla sonuçlanmıştır. Bununla birlikte sadece (her iki konsantrasyonda) SNP' ye maruz bırakılan mısır yapraklarında RGR, RWC, Ψ_Π, F_v/F_m H_2O_2 ve MDA değişmemiştir. Yukarıdaki sonuçlara bağlı olarak, mısır yapraklarında PEG indüklü toksisiteden hem 150 hemde 300 µM SNP uygulamaları koruma sağlamış, özellikle düşük konsantrasyonda 150 µM SNP uygulanan bitkilerde daha fazla korunma sağlanmıştır. Bu çalışma ile hidroponik olarak gelişen mısır yapraklarında PEG indüklü ozmotik stresin azaltılmasında SNP mekanizmalarıyla ilgili yeni görüşler sağlanabilir.

5.2. Öneriler

Dünyada ve ülkemizde kuraklık gibi abiyotik stres koşulları bitkilerde gelişimi ve verimliliği etkileyen ve kısıtlayan en önemli etmenlerin başında gelmektedir. Günümüzde giderek artan iklim değişiklikleri ve sürekli kuraklıktan dolayı azalan tarım alanlarında, strese yol açan olumsuz çevre koşullarına karşı bitkisel üretimde verimliliği artırmak önemlidir. Bununda yolu, stres koşullarına dayanıklı bireylerin seçilmesi veya ıslahıdır. Bunun içinde bitkilerin strese tolerans mekanizmalarının bilinmesi gereklidir. Stres koşullarında bütün bitkilerde oksidatif zararlar meydana gelmekte ve stres koşullarına dayanmak veya stresten kaçınmak için bitki türlerinin geliştirmiş oldukları mekanizmalar birbirlerinden farklılık göstermektedir. Bu nedenle kimi bitkiler abiyotik stres koşullarından daha şiddetli etkilenirken kimileri de direnç göstermektedir. Bu tolerans mekanizmalarının anlaşılması stres koşullarına daha dayanıklı bitkiler yetiştirmemizde bize yardımcı olacaktır.

Çalışmamız için seçmiş olduğumuz mısır buğdaydan sonra en fazla tarımı yapılan bitkiler arasında ön sıralarda yer almaktadır. Tezimizde sodyum nitroprussid uygulamalarının kuraklık stresinin etkilerini azaltmada önemi ve kloroplastik SOD enzim aktiviteleri üzerine etkileri açıkça ortaya konulmuştur. Ayrıca elde ettiğimiz bulgularla kuraklık koşullarına dayanıklılıkla sodyum nitroprussid uygulamaları arasındaki ilişki belirlenerek biyoteknolojik çalışmalara da öncülük edecektir.

Çalışmalarımızdan üretilecek bilimsel veriler, başta uluslararası saygın dergilerde yayınlanmak kaydı ile bilimsel makale haline getirilecek ve tüm insanlığın hizmetine sunulacaktır.

KAYNAKLAR

Abrahám, E., Rigó, G., Székely, G., Nagy, R., Koncz, C. ve Szabados, L., 2003, Light-dependent induction of proline biosynthesis by abscisic acid and salt stress is inhibited by brassinosteroid in *Arabidopsis*, *Plant Molecular Biology*, 51 (3), 363-372.

Acar, O., Türkan, I. ve Özdemir, F., 2001, Superoxide dismutase and peroxidase activities in drought sensitive and resistant barley (*Hordeum vulgare* L.) varieties, *Acta Physiologiae Plantarum*, 23 (3), 351-356.

Açıkgöz, E., 1995, *Yem Bitkileri (II. Baskı), Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Basımevi, Bursa,*, 7-025-0210 (456).

Akkuş, İ., 1995, Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, *Mimoza Yayınları, Konya*, 32.

Anderson, L. ve Mansfield, T., 1979, The effects of nitric oxide pollution on the growth of tomato, *Environmental Pollution (1970)*, 20 (2), 113-121.

Anonymous, 2012, Faostat, *http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.asox?Page*.

Arasimowicz Jelonek, M., Floryszak Wieczorek, J. ve Kubiś, J., 2009, Involvement of nitric oxide in water stress-induced responses of cucumber roots, *Plant Science*, 177 (6), 682-690.

Arora, A., Sairam, R. ve Srivastava, G., 2002, Oxidative stress and antioxidative system in plants, *Current Science*, 1227-1238.

Asada, K., 1987, Production and scavenging of active oxygen in photosynthesis, *Photoinhibition*, 227-287.

Asada, K., 1994, Mechanisms for scavenging reactive molecules generated in chloroplasts under light stress, *Photoinhibition of Photosynthesis from Molecular mechanisms to the field*, 129-142.

Ashraf, M. ve Wu, L., 1994, Breeding for salinity tolerance in plants, *Critical Reviews in Plant Sciences*, 13 (1), 17-42.

Ashraf, M. ve Foolad, M., 2007, Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance, *Environmental and Experimental Botany*, 59 (2), 206-216.

Attia, H., Karray, N. ve Lachaâl, M., 2009, Light interacts with salt stress in regulating superoxide dismutase gene expression in *Arabidopsis*, *Plant Science*, 177 (3), 161-167.

Baisak, R., Rana, D., Acharya, P. B. ve Kar, M., 1994, Alterations in the activities of active oxygen scavenging enzymes of wheat leaves subjected to water stress, *Plant and Cell Physiology*, 35 (3), 489-495.

Banziger, M., Edmeades, G., Beck, D. ve Bellon, M., 2000, Breeding for drought and nitrogen stress tolerance in maize, from theory to practice, *Mexico, D.F.: CIMMYT*.

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.

Beligni, M. V. ve Lamattina, L., 1999, Nitric oxide counteracts cytotoxic processes mediated by reactive oxygen species in plant tissues, *Planta*, 208 (3), 337-344.

Bian, Y.-M., Chen, S.-Y., Liu, S.-K. ve Xie, M.-Y., 1988, Effects of HF on praline of some plants, *Plant Physiol Commun*, 6, 19-21.

Bokhari, U. ve Trent, J., 1985, Proline concentrations in water stressed grasses, *J Range Manage*, 38, 37-38.

Boogar, A. R., Salehi, H. ve Jowkar, A., 2014, Exogenous nitric oxide alleviates oxidative damage in turfgrasses under drought stress, *South African journal of botany*, 92, 78-82.

Bor, M., Özdemir, F. ve Türkan, I., 2003, The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritima* L, *Plant Science*, 164 (1), 77-84.

Boveris, A. D., Galatro, A. ve Puntarulo, S., 2000, Effect of nitric oxide and plant antioxidants on microsomal content of lipid radicals, *Biological Research*, 33 (2), 159-165.

Bowler, C., Montagu, M. v. ve Inzé, D., 1992, Superoxide dismutase and stress tolerance, *Annual Review of Plant Biology*, 43 (1), 83-116.

Bradley, M. M. ve Lang, P. J., 1994, Measuring emotion: the self-assessment manikin and the semantic differential, *Journal of Behavior Therapy and Experimental Psychiatry*, 25 (1), 49-59.

Bray, E., Bailey-Serre., I., Weretilnyk, E. , 2000, Response to abiotic stress chapter 22, *In: Biochemistry and molecular biology of plants.B.B.Buchanan, W.Gruissem and R.L. Jones, (ed) American Society Plant Physiology Rockrille MD*

Cairns, J. E., Crossa, J., Zaidi, P., Grudloyma, P., Sanchez, C., Araus, J. L., Thaitad, S., Makumbi, D., Magorokosho, C. ve Bänziger, M., 2013, Identification of drought, heat, and combined drought and heat tolerant donors in maize, *Crop Science*, 53 (4), 1335-1346.

Cakmak, I., Strbac, D. ve Marschner, H., 1993, Activities of hydrogen peroxide-scavenging enzymes in germinating wheat seeds, *Journal of Experimental Botany*, 44 (1), 127-132.

Charles, S. A. ve Halliwell, B., 1980, Effect of hydrogen peroxide on spinach (*Spinacia oleracea*) chloroplast fructose bisphosphatase, *Biochemical Journal*, 189 (2), 373-376.

Chaves, M. M., Maroco, J. P. ve Pereira, J. S., 2003, Understanding plant responses to drought—from genes to the whole plant, *Functional Plant Biology*, 30 (3), 239-264.

Claassen, M. ve Shaw, R. H., 1970, Water deficit effects on corn. I. grain components 1, *Agronomy Journal*, 62 (5), 652-655.

Cummins, J. M., Jequier, A. M. ve Kan, R., 1994, Molecular biology of human male infertility: links with aging, mitochondrial genetics, and oxidative stress?, *Molecular Reproduction and Development*, 37 (3), 345-362.

Çırak, C. ve Esendal, E., 2006, Soyada kuraklık stresi, *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21 (2), 231-237.

Delledonne, M., Zeier, J., Marocco, A. ve Lamb, C., 2001, Signal interactions between nitric oxide and reactive oxygen intermediates in the plant hypersensitive disease resistance response, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98 (23), 13454-13459.

Demiral, T. ve Türkan, I., 2004, Does exogenous glycinebetaine affect antioxidative system of rice seedlings under NaCl treatment?, *Journal of Plant Physiology*, 161 (10), 1089-1100.

Denmead, O. ve Shaw, R. H., 1960, The effects of soil moisture stress at different stages of growth on the development and yield of corn 1, *Agronomy Journal*, 52 (5), 272-274.

Durner, J. ve Klessig, D. F., 1999, Nitric oxide as a signal in plants, *Current Opinion in Plant Biology*, 2 (5), 369-374.

Earle, F., Curtis, J. ve Hubbard, J., 1946, Composition of the component parts of the coin kernel, *Cereal Chemistry*, 23, 504-511.

Edmeades, G., Bolanos, J., Elings, A., Ribaut, J.-M., Bänziger, M. ve Westgate, M., 2000, The role and regulation of the anthesis-silking interval in maize, *Physiology and Modeling Kernel Set in Maize* (physiologyandmo), 43-73.

Edreva, A., 1998, Stress physiology, definitions and concepts of stress. classifications of stress factors, approaches applied in stress research, *Bitkilerde Stres Fizyolojisinin Moleküler Temelleri Sempozyumu, Ebiltem*.

Erdal, Ş., 2014, Kendilenmiş Mısır (*Zea mays* L.) hatlarının kuraklık stresine tolerans düzeylerinin belirlenmesi ve moleküler karakterizasyonu, *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Ergen, N. Z. ve Budak, H., 2009, Sequencing over 13 000 expressed sequence tags from six subtractive cDNA libraries of wild and modern wheats following slow drought stress, *Plant, Cell & Environment*, 32 (3), 220-236.

Eriş, A., 1990, Bahçe Bitkileri Fizyolojisi, (No: 11).

Farooq, M., Basra, S., Wahid, A. ve Rehman, H., 2009, Exogenously applied nitric oxide enhances the drought tolerance in fine grain aromatic rice (*Oryza sativa* L.), *Journal of Agronomy and Crop Science*, 195 (4), 254-261.

Foyer, C. H., Lelandais, M. ve Kunert, K. J., 1994, Photooxidative stress in plants, *Physiologia Plantarum*, 92 (4), 696-717.

Fu, J. ve Huang, B., 2001, Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress, *Environmental and Experimental Botany*, 45 (2), 105-114.

Gao, Z., Lin, Y., Wang, X., Wei, M., Yang, F. ve Shi, Q., 2012, Sodium nitroprusside (SNP) alleviates the oxidative stress induced by $NaHCO_3$ and protects chloroplast from damage in cucumber, *African Journal of Biotechnology*, 11 (27), 6974-6982.

Garcês, H., Durzan, D. ve Pedroso, M. C., 2001, Mechanical stress elicits nitric oxide formation and DNA fragmentation in *Arabidopsis thaliana*, *Annals of Botany*, 87 (5), 567-574.

García Mata, C. ve Lamattina, L., 2001, Nitric oxide induces stomatal closure and enhances the adaptive plant responses against drought stress, *Plant Physiology*, 126 (3), 1196-1204.

Ge, T.-D., Sui, F.-G., Bai, L.-P., Lu, Y.-Y. ve Zhou, G.-S., 2006, Effects of water stress on the protective enzyme activities and lipid peroxidation in roots and leaves of summer maize, *Agricultural Sciences in China*, 5 (4), 291-298.

Gouvea, C., Souza, J., Magalhaes, A. ve Martins, I., 1997, NO·–releasing substances that induce growth elongation in maize root segments, *Plant Growth Regulation*, 21 (3), 183-187.

Göksoy, A. ve Turan, Z., 1991, Kuraklığın bitki fizyolojisi ve morfolojisi üzerine etkileri, *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 8, 149-190.

Grant, R., Jackson, B., Kiniry, J. ve Arkin, G., 1989, Water deficit timing effects on yield components in maize, *Agronomy Journal*, 81 (1), 61-65.

Grennan, A. K., 2007, Protein S-nitrosylation: potential targets and roles in signal transduction, *Plant Physiology*, 144 (3), 1237-1239.

Guitjens, J., 1982, Models of alfalfa yield and evapotranspiration [Water use efficiency, irrigation], *Journal American Society of Civil Engineers, Irrigation and Drainage Division*.

Halliwell, B. ve Gutteridge, J. M. C., 1989, The chemistry of oxygen radicals and other oxygen-derived species, , *Free Radicals in Biology and Medicine*.

Hare, P. D., Cress, W. A. ve Van Staden, J., 1998, Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress, *Plant, Cell & Environment*, 21 (6), 535-553.

Harinasut, P., Poonsopa, D., Roengmongkol, K. ve Charoensataporn, R., 2003, Salinity effects on antioxidant enzymes in mulberry cultivar, *Science Asia*, 29 (10).

Huang, M. ve Guo, Z., 2005, Responses of antioxidative system to chilling stress in two rice cultivars differing in sensitivity, *Biologia Plantarum*, 49 (1), 81-84.

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

Jin, J.-W., Xu, Y.-F. ve Huang, Y.-F., 2010, Protective effect of nitric oxide against arsenic-induced oxidative damage in tall fescue leaves, *African Journal of Biotechnology*, 9 (11), 1619-1627.

Kaiser, W. M., 1979, Reversible inhibition of the Calvin cycle and activation of oxidative pentose phosphate cycle in isolated intact chloroplasts by hydrogen peroxide, *Planta*, 145 (4), 377-382.

Kalefetoğlu, T. ve Ekmekci, Y., 2005, The effects of drought on plants and tolerance mechanisms, *Gazi University Journal of Science*, 18 (4), 723-740.

Karuppanapandian, T., Wang, H. W., Prabakaran, N., Jeyalakshmi, K., Kwon, M., Manoharan, K. ve Kim, W., 2011, 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid-induced leaf senescence in mung bean (*Vigna radiata* L. Wilczek) and senescence inhibition by co-treatment with silver nanoparticles, *Plant Physiology and Biochemistry*, 49 (2), 168-177.

Kaur, H. ve Perkins, J., 1991, The free radical chemistry of food additives, *Free Radicals and Food Additives*, 17-35.

Kim, J. W. ve Minamikawa, T., 1997, Hydroxyl radical-scavenging effects of spices and scavengers from brown mustard (*Brassica nigra*), *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 61 (1), 118-123.

Klepper, L., 1979, Nitric oxide (NO) and nitrogen dioxide (NO_2) emissions from herbicide-treated soybean plants, *Atmospheric Environment (1967)*, 13 (4), 537-542.

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 *Lycopersicon pennellii*, *Biologia Plantarum*, 50 (4), 745-748.

Kukreja, S., Nandwal, A., Kumar, N., Sharma, S., Unvi, V. ve Sharma, P., 2005, Plant water status, H_2O_2 scavenging enzymes, ethylene evolution and membrane integrity of *Cicer arietinum* roots as affected by salinity, *Biologia Plantarum*, 49 (2), 305-308.

Lamattina, L., García-Mata, C., Graziano, M. ve Pagnussat, G., 2003, Nitric oxide: the versatility of an extensive signal molecule, *Annual Review of Plant Biology*, 54 (1), 109-136.

Lang, V., Mantyla, E., Welin, B., Sundberg, B. ve Palva, E. T., 1994, Alterations in Water Status, Endogenous Abscisic Acid Content, and Expression of rab18 Gene during the Development of Freezing Tolerance in *Arabidopsis thaliana*, *Plant Physiol*, 104 (4), 1341-1349.

Lazarow, P. B., Fujiki, Y., 1985, Biogenesis of peroxisomes, *Annu. Rev. Ce Biol.*, 1 (489–530).

Lefevre, I., Gratia, E. ve Lutts, S., 2001, Discrimination between the ionic and osmotic components of salt stress in relation to free polyamine level in rice (*Oryza sativa*), *Plant Science*, 161 (5), 943-952.

Lei, Y., Yin, C. ve Li, C., 2007, Adaptive responses of *Populus przewalskii* to drought stress and SNP application, *Acta Physiologiae Plantarum*, 29 (6), 519-526.

Leshem, Y. A. ve Haramaty, E., 1996, The characterization and contrasting effects of the nitric oxide free radical in vegetative stress and senescence of *Pisum sativum* Linn. foliage, *Journal of Plant Physiology*, 148 (3-4), 258-263.

Levitt, J., 1980, Responses of plants to environmental stresses, *Volume II, Water, Radiation, Salt, and Other Stresses, Academic Press.*, 607.

Li, Q.-Y., Niu, H.-B., Yin, J., Wang, M.-B., Shao, H.-B., Deng, D.-Z., Chen, X.-X., Ren, J.-P. ve Li, Y.-C., 2008, Protective role of exogenous nitric oxide against oxidative-stress induced by salt stress in barley (*Hordeum vulgare*), *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 65 (2), 220-225.

Liu, Z.-J., Guo, Y.-K. ve Bai, J.-G., 2010, Exogenous hydrogen peroxide changes antioxidant enzyme activity and protects ultrastructure in leaves of two cucumber ecotypes under osmotic stress, *Journal of Plant Growth Regulation*, 29 (2), 171-183.

Lum, H. K., Lee, C. H., Butt, Y. K. ve Lo, S. C., 2005, Sodium nitroprusside affects the level of photosynthetic enzymes and glucose metabolism in *Phaseolus aureus* (mung bean), *Nitric Oxide*, 12 (4), 220-230.

Madhava Rao, K. 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.

Magalhaes, J., Monte, D. ve Durzan, D., 2000, Nitric oxide and ethylene emission in *Arabidopsis thaliana*, *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 6, 117-127.

Mäkelä, P., Kontturi, M., Pehu, E. ve Somersalo, S., 1999, Photosynthetic response of drought and salt stressed tomato and turnip rape plants to foliar applied glycinebetaine, *Physiologia Plantarum*, 105 (1), 45-50.

Matamoros, M. A., Dalton, D. A., Ramos, J., Clemente, M. R., Rubio, M. C. ve Becana, M., 2003, Biochemistry and molecular biology of antioxidants in the rhizobia-legume symbiosis, *Plant Physiology*, 133 (2), 499-509.

Matysik, J., Alia, Bhalu, B. ve Mohanty, P., 2002, Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants, *Current Science*, 525-532.

McKersie, B. D. ve Lesheim, Y., 1994, Stress and stress coping in cultivated plants, Kluwer Academic Publishers. Springer Science & Business Media, p.

Meloni, D. A., Gulotta, M. R., Martínez, C. A. ve Oliva, M. A., 2004, The effects of salt stress on growth, nitrate reduction and proline and glycinebetaine accumulation in *Prosopis alba*, *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 16 (1), 39-46.

Merewitz, E. B., Gianfagna, T. ve Huang, B., 2011, Protein accumulation in leaves and roots associated with improved drought tolerance in creeping bentgrass expressing an ipt gene for cytokinin synthesis, *Journal of Experimental Botany*, 62 (15), 5311-5333.

Misra, N. ve Gupta, A. K., 2005, Effect of salt stress on proline metabolism in two high yielding genotypes of green gram, *Plant Science*, 169 (2), 331-339.

Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M. ve Van Breusegem, F., 2004, Reactive oxygen gene network of plants, *Trends in Plant Science*, 9 (10), 490-498.

Mohammadkhani, N. ve Heidari, R., 2007, Effects of drought stress on protective enzyme activities and lipid peroxidation in two maize cultivars, *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10 (2), 3835-3840.

Montillet, J.-L., Chamnongpol, S., Rustérucci, C., Dat, J., Van De Cotte, B., Agnel, J.-P., Battesti, C., Inzé, D., Van Breusegem, F. ve Triantaphylidès, 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.

Morris, M. L., 2002, Impacts of international maize breeding research in developing countries, 1966-98, Cimmyt, p.

Munns, R., 2005, Genes and salt tolerance: bringing them together, *New Phytologist*, 167 (3), 645-663.

Neill, S., Desikan, R., Clarke, A., Hurst, R.D., Hancock, J.T., 2003, Nitrix oxide signalling in plants, *New Phytologist*, 159 (1469–1481).

Neill, S. J., Desikan, R., Clarke, A., Hurst, R. D. ve Hancock, J. T., 2002, Hydrogen peroxide and nitric oxide as signalling molecules in plants, *Journal of Experimental Botany*, 53 (372), 1237-1247.

Niki, E., 1987, Antioxidants in relation to lipid peroxidation, *Chemistry and Physics of Lipids*, 44 (2-4), 227-253.

Özdemir, F., Bor, M., Demiral, T. ve Türkan, İ., 2004, Effects of 24-epibrassinolide on seed germination, seedling growth, lipid peroxidation, proline content and antioxidative system of rice (*Oryza sativa* L.) under salinity stress, *Plant Growth Regulation*, 42 (3), 203-211.

Pagnussat, G. C., Simontacchi, M., Puntarulo, S. ve Lamattina, L., 2002, Nitric oxide is required for root organogenesis, *Plant Physiology*, 129 (3), 954-956.

Panda, R., Behera, S. ve Kashyap, P., 2004, Effective management of irrigation water for maize under stressed conditions, *Agricultural Water Management*, 66 (3), 181-203.

Pérez López, U., Robredo, A., Lacuesta, M., Sgherri, C., Muñoz Rueda, A., Navari Izzo, F. ve Mena Petite, A., 2009, The oxidative stress caused by salinity in two barley cultivars is mitigated by elevated CO_2, *Physiologia Plantarum*, 135 (1), 29-42.

Sade, B., 1987, Çumra ilçesi sulu şartlarında bazı melez mısır çeşitlerinin önemli zirai karakterleri üzerinde araştırmalar, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*.

Sairam, R. ve Srivastava, G., 2002, Changes in antioxidant activity in sub-cellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress, *Plant Science*, 162 (6), 897-904.

Santa-Cruz, A., Martinez-Rodriguez, M. M., Perez-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.

Sato, Y., Murakami, T., Funatsuki, H., Matsuba, S., Saruyama, H. ve Tanida, M., 2001, Heat shock mediated APX gene expression and protection against chilling injury in rice seedlings, *J Exp Bot*, 52 (354), 145-151.

Satoh, K. ve Murata, N., 1998, Stress responses of photosynthetic organisms: molecular mechanisms and molecular regulations, *Photosynthetica*, Elsevier, p.

Scandalios, J. G., 1993, Oxygen stress and superoxide dismutases, *Plant Physiology*, 101 (1), 7.

Seckin, B., Sekmen, A. H. ve Türkan, I., 2009, An enhancing effect of exogenous mannitol on the antioxidant enzyme activities in roots of wheat under salt stress, *Journal of Plant Growth Regulation*, 28 (1), 12.

Sgherri, C. L. M., Maffei, M. ve Navari-Izzo, F., 2000, Antioxidative enzymes in wheat subjected to increasing water deficit and rewatering, *Journal of Plant Physiology*, 157 (3), 273-279.

Shannon, M. C., 1997, Adaptation of plants to salinity, In: Advances in agronomy, Eds: Elsevier, p. 75-120.

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.

Shi, Q., Ding, F., Wang, X. ve Wei, M., 2007, Exogenous nitric oxide protect cucumber roots against oxidative stress induced by salt stress, *Plant Physiology and Biochemistry*, 45 (8), 542-550.

Simaei, M., Khavarinejad, R., Saadatmand, S., Bernard, F. ve Fahimi, H., 2011, Interactive effects of salicylic acid and nitric oxide on soybean plants under NaCl salinity, *Russian Journal of Plant Physiology*, 58 (5), 783.

Siripornadulsil, S., Traina, S., Verma, D. P. S. ve Sayre, R. T., 2002, Molecular mechanisms of proline-mediated tolerance to toxic heavy metals in transgenic microalgae, *The Plant Cell*, 14 (11), 2837-2847.

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

Smirnoff, N., 1993, The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation, *New Phytologist*, 125 (1), 27-58.

StoÈhr, C. ve Ullrich, W. R., 2002, Generation and possible roles of NO in plant roots and their apoplastic space, *Journal of Experimental Botany*, 53 (379), 2293-2303.

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

Türkoğlu, A., 1971, Gıda maddeleri iktisadi coğrafya 1, *Kitap. İst Matbaası*.

Van Der Vliet, A., Eiserich, J. P., Kaur, H., Cross, C. E. ve Halliwell, B., 1996, Nitrotyrosine as biomarker for reactive nitrogen species, In: Methods in Enzymology, Eds: Elsevier, p. 175-184.

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

Vranova, E., Inzé, D. ve Van Breusegem, F., 2002, Signal transduction during oxidative stress, *Journal of Experimental Botany*, 53 (372), 1227-1236.

Wang, H., Zhao, S., Liu, R., Zhou, W. ve Jin, J., 2009, Changes of photosynthetic activities of maize *(Zea mays* L.) seedlings in response to cadmium stress, *Photosynthetica*, 47 (2), 277-283.

Wang, M., Li, Q., Fu, S., Xiao, D. ve Dong, B., 2005, [Effects of exogenous nitric oxide on drought-resistance of poplar], *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao*, 16 (5), 805-810.

Xiong, J., Zhang, L., Fu, G., Yang, Y., Zhu, C. ve Tao, L., 2012, Drought-induced proline accumulation is uninvolved with increased nitric oxide, which alleviates drought stress by decreasing transpiration in rice, *Journal of Plant Research*, 125 (1), 155-164.

Xu, M., Dong, J. ve Zhu, M., 2005, Effect of nitric oxide on catharanthine production and growth of *Catharanthus roseus* suspension cells, *Biotechnology and Bioengineering*, 89 (3), 367-371.

Ye, X., Al-Babili, S., Klöti, A., Zhang, J., Lucca, P., Beyer, P. ve Potrykus, I., 2000, Engineering the provitamin A (β-carotene) biosynthetic pathway into (carotenoid-free) rice endosperm, *Science*, 287 (5451), 303-305.

Yuan, J. ve Flores, R. A., 1996, Laboratory dry-milling performance of white corn: Effect of physical and chemical corn characteristics, *Cereal Chemistry*, 73 (5), 574-578.

Zhao, H., Li, Y., Duan, B., Korpelainen, H. ve Li, C., 2009, Sex-related adaptive responses of Populus cathayana to photoperiod transitions, *Plant Cell Environment*, 32 (10), 1401-1411.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Yağmur DURAN
Uyruğu : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : Seydişehir, 28.10.1988
Telefon : 05318247669
Faks :
e-mail : yamurduran1@gmail.com

EĞİTİM

Derece		Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	:	Enis Şanlıoğlu Lisesi, Seydişehir, Konya	2005
Üniversite	:	Selçuk Üniversitesi, Selçuklu, Konya	2011
Yüksek Lisans	:	Selçuk Üniversitesi, Selçuklu, Konya	
Doktora	:		

YABANCI DİLLER

İngilizce

YAYINLAR

ULUSLARARASI HAKEMLİ DERGİLERDE YAYIMLANAN MAKALELER

1. E. Yildiztugay, C. Ozfidan-Konakci, M. Kucukoduk, **Y. Duran** 2014. Variations in osmotic adjustment and water relations of *Sphaerophysa kotschyana*: glycine betaine, proline and choline accumulation in response to salinity. **Botanical Studies,** 55: 6 **(SCI)**.
2. E. Yildiztugay, C. Ozfidan-Konakci, M. Kucukoduk, **Y. Duran** 2014. Modulation of osmotic adjustment and enzymatic antioxidant profiling in *Apera intermedia* exposed to salt stress. **Turkish Journal of Botany,** 38 (1): 99-111 **(SCI-Expanded)**.

GÖREV ALDIĞI PROJELER

1. E. Yildiztugay, C. Ozfidan-Konakci, M. Kucukoduk, **Y. Duran**. Tuz stresi altında ekstremofil *Salsola crassa* Bieb.'nın antioksidan enzim-izozim profillemesi. S.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü, 13401084 2013-2015, Araştırmacı (Tamamlandı).
2. M. Kucukoduk, E. Yildiztugay, C. Ozfidan-Konakci, **Y. Duran**. Kuraklık stresi uygulanan mısır (*Zea mays* L.) köklerinde oksidatif metabolizma üzerine ekzojen nitrik oksitin iyileştirici etkilerinin belirlenmesi. S.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü, 13401087, 2013-2015, Araştırmacı (Tamamlandı).

BİLİMSEL TOPLANTILARDA SUNULAN VE BİLDİRİ KİTABINDA BASILAN BİLDİRİLER

Uluslararası toplantılarda sunulan bildiriler

1. **Y. Duran**, M. Kucukoduk, E. Yildiztugay, C. Ozfidan-Konakci, Effects of nitric oxide (as sodium nitroprusside) on the osmotic stress tolerance associated with photosynthetic capacity and water management in hydroponically grown maize leaves. *22nd International Symposium Biodiversity and Evolutionary Biolog*, Book of Abstracts, 118, 24-27 March 2014, Dresden, GERMANY (**poster**)
2. E. Yildiztugay, C. Ozfidan, M. Kucukoduk, **Y. Duran**, The profiling of osmotic adjustment and water status in *Apera intermedia* exposed to salinity. *11th POG Conference (Reactive Oxygen and Nitrogen Species in Plants)*, Book of Abstracts, 201, 17-19 July 2013, Warsaw, POLAND (**poster**)
3. E. Yıldıztugay, C. Özfidan-Konakçı, M. Küçüködük, **Y. Duran**, Osmotic Adjustment and Water Relations of *Sphaerophysa kotschyana* in Response to Salinity, *3rd BioHydrology Conference*, University of Koblenz-Landau, Landau/Pfalz, Germany, 21-24 May 2013 (**Sözlü sunum**).
4. E. Yıldıztugay, C. Özfidan-Konakçı, Mustafa Küçüködük, **Y. Duran**, Modulation of enzymatic antioxidant profiling in *Apera intermedia* exposed to salt stress, *3rd BioHydrology Conference*, University of Koblenz-Landau, Landau/Pfalz, Germany, 21-24 May 2013 (**poster**).

5. M. Küçüködük, E. Yıldıztugay, C. Özfidan-Konakçı, **Y. Duran**, Up-regulation of osmo-protectant accumulation in salt-stressed Japanese brome (*Bromus japonicus*) growing in Salt Lake, *3rd BioHydrology Conference*, University of Koblenz-Landau, Landau/Pfalz, Germany, 21-24 May 2013 (**poster**).