



**BUĞDAYDA (*Triticum aestivum* L.)
KURAKLIK STRESİNDE α -TOKOFEROL
UYGULAMASININ BAZI FİZYOLOJİK VE
MOLEKÜLER ÖZELLİKLER ÜZERİNE ETKİSİ**

Tûba KAVUKÇU

**Yüksek Lisans Tezi
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı
Tahıllar ve Yemelik Baklagiller Bilim Dalı
Yrd. Doç. Dr. Murat AYDIN**

2016

Her hakkı saklıdır

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BUĞDAYDA (*Triticum aestivum* L.) KURAKLIK STRESİNDE α -
TOKOFEROL UYGULAMASININ BAZI FİZYOLOJİK VE
MOLEKÜLER ÖZELLİKLER ÜZERİNE ETKİSİ**

Tüba KAVUKÇU

TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI
Tahıllar ve Yemelik Baklagiller Bilim Dalı

ERZURUM
2016

Her hakkı saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

BUĞDAYDA (*Triticum aestivum* L.) KURAKLIK STRESİNDE α -TOKOFEROL UYGULAMASININ BAZI FİZYOLOJİK VE MOLEKÜLER ÖZELLİKLER ÜZERİNE ETKİSİ

Yrd. Doç. Dr. Murat AYDIN danışmanlığında, Tuba KAVUKÇU tarafından hazırlanan bu çalışma 20/06/2016 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Tarla Bitkileri Anabilim Dalı – Tahıllar ve Yemelik Baklagiller Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak ~~oybirliği/oy çokluğu~~ (.../...) ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Güleray AĞAR

İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. Murat AYDIN

İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. İsmail BEZİRGANOĞLU

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulunun 30.../ 06.../ 2016... tarih ve 27.../ 40... nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ertan YILDIRIM
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BUĞDAYDA (*Triticum aestivum* L.) KURAKLIK STRESİNDE α -TOKOFEROL UYGULAMASININ BAZI FİZYOLOJİK VE MOLEKÜLER ÖZELLİKLER ÜZERİNE ETKİSİ

Tûba KAVUKÇU

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı
Tahıllar ve Yemelik Baklagiller Bilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Murat AYDIN

Buğday tarımsal üretimde ilk akla gelen, oldukça önemli bir serin iklim tahılıdır. Bu önemli tahılın verimini sınırlandıran en önemli etken ise kuraklıktır. Bu araştırmada kuraklığa hassas Karasu 90 ve toleranslı Kırac 66 olmak üzere iki ayrı buğday çeşidi kullanılarak PEG 6000 ile oluşturulan kuraklık stresinin [0 (saf su), -6 ve -8 bar] ve α -tokoferol uygulamasının (0, 50 ve 100 mg/L) yaprak klorofil miktarı (SPAD), hücre membran hasarı (%) ve nispi su içeriği (%) ile retrotranspozon kaynaklı polimorfizme olan etkisi incelenmiştir.

Araştırma sonucunda buğdayda kuraklık stresıyla yaprak klorofil miktarı, hücre membran hasarı ve nispi su içeriği değerleri çeşitler arası farklılık göstermekle beraber her iki çeşitte de azalmış, α -tokoferol uygulamasıyla bu değerlerde iyileşme gözlenmiştir. Yine, kuraklığın retrotranspozon polimorfizminde artışa ve GTS (Genomik Kalıp Kararlılığı) oranında azalışa neden olduğu, kuraklık stresinde uygulanan α -tokoferol uygulamasının ise retrotranspozon polimorfizminde azalışa ve aynı zamanda GTS oranında artışa neden olduğu belirlenmiştir.

2016, 110 sayfa

Anahtar Kelimeler: SPAD, hücre membran hasarı, nispi su içeriği, retrotranspozon, IRAP

ABSTRACT

Master Thesis

EFFECT OF α -TOCOPHEROL TREATMENT ON SOME PHYSIOLOGICAL AND MOLECULAR PROPERTIES IN WHEAT (*Triticum aestivum* L.) UNDER DROUGHT STRESS

Tüba KAVUKÇU

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Field Crops
Cereals and Pulse Crops

Supervisor: Yrd. Doç. Dr. Murat AYDIN

Wheat that come to mind first in agricultural production is a very important cool season cereal. The drought is the most important factor restrict yield of this cereal. In this study, effects of drought stress formed with PEG 6000 [0 (distilled water), -6 and -8 bar] and α -tocopherol treatments (0, 50 and 100 mg/L) on leaf chlorophyll content (SPAD), cell membrane damage (%) and relative water content (%) as well as retrotransposon induced polymorphism were investigated using two wheat cultivars, drought-sensitive Karasu 90 and tolerant Kırac 66.

In the result of the study, leaf chlorophyll content, cell membrane damage and relative water content values were decreased in both cultivars under drought stress although there are differences between cultivars. These values were improved with α -tocopherol treatments. Also, it was determined that drought caused an increase in retrotransposon polymorphism and a decrease in GTS (Genomic Template Stability) value, but α -tocopherol treatment caused a decrease in retrotransposon polymorphism and an increase in GTS (Genomic Template Stability) value under drought stress.

2016, 110 pages

Key Words: SPAD, cell membrane damage, relative water content, retrotransposon, IRAP

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum bu çalışma, Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji ve Bakteriyoloji Laboratuvarı'nda yürütülmüştür.

Yüksek lisans tez çalışmam boyunca değerli yardım ve katkılarıyla bana yol gösteren tez danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Murat AYDIN'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım süresince destek ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Güleray AĞAR'a, Sayın Doç. Dr. Mahmut Sinan TAŞPINAR'a, Sayın Arş. Gör. Esra ARSLAN'a, Sayın Biyolog Semra YAĞCI'ya ayrıca Bitki Moleküler Moleküler Genetiği Laboratuvarı ve Moleküler Biyoloji ve Bakteriyoloji Laboratuvarı'nda çalışan hocalarım ve arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Hayatımın her anında benden desteğini esirgemeyen, tez çalışmalarım sırasında ve her zaman yardımları ve desteğiyle bu günlere gelmemi sağlayan çok kıymetli eşim Volkan KAVUKÇU'ya hep yanımda olduğu ve bana güvendiği için sonsuz teşekkürler.

Kızlarım; Sude, Simla ve Eylül'e yaşama sevincim oldukları ve manevi destekleri için çok teşekkür ederim...

Tûba KAVUKÇU

Haziran 2016

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	24
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	44
3.1. Materyal.....	44
3.1.1. Kullanılan bitkisel materyal	44
3.1.2. Çalışmada kullanılan alet ve cihazlar	46
3.1.3. Kullanılan çözelti ve solüsyonlar	46
3.1.3.a. Kullanılan Polietilen glikol (PEG 6000) çözeltilerinin hazırlanışı.....	47
3.1.3.b. Kullanılan α - tokoferol çözeltilerinin hazırlanışı	47
3.1.3.c. DNA izolasyonunda kullanılan çözeltiler.....	47
3.1.3.d. PCR ve elektroforez işlemleri için kullanılan çözeltiler	50
3.1.3.e. Sterilizasyon işlemleri için kullanılan çözeltiler	51
3.2. Yöntem	51
3.2.1. α -Tokoferol ve PEG6000 çözeltilerinin bitkiye uygulanması.....	51
3.2.2. Klorofil Miktarı (SPAD)	52
3.2.3. Yaprak nispi su içeriği (%).....	52
3.2.4. Hücre Membran Hasarı (%)	53
3.2.5. DNA İzolasyonu.....	53
3.2.6. IRAP	55
3.2.6.a. IRAP primerleri	55
3.2.6.b. IRAP PCR protokolü.....	55
3.2.7. Agaroz jel elektroforezi.....	57
3.2.8. IRAP analizleri ve genomik kalıp sabitliğinin (%GTS) belirlenmesi	57

3.2.9. Klorofil miktarı (SPAD), yaprak nispi su içeriği (%) ve hücre membran hasarı (%) ait verilerinin istatistiksel analizi.....	58
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	59
4.1. Klorofil Miktarı (SPAD)	59
4.1.1. Beşinci gündeki klorofil miktarı (SPAD).....	59
4.1.2. Onuncu gündeki klorofil miktarı (SPAD)	64
4.2. Nispi su içeriği (%).....	69
4.3. Hücre membran hasarı (%).....	74
4.4. IRAP Analizleri ve Genomik Kalıp Sabitliliği (Genomik Template Stability; GTS%)	79
4.5. IRAP Jel Görüntüleri.....	85
5. TARTIŞMA	86
5.1. Sonuç ve Öneriler	94
KAYNAKLAR	95
ÖZGEÇMİŞ	111

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ABA	: Absisik Asit
AFLP	: Amplified fragment length polymorphism (Çoğaltılan parça uzunluğu farklılığı)
bp	: Base pair (baz çifti)
°C	: Sıcaklık
CAT	: Katalaz
CO ₂	: Karbondioksit
CpG	: Guanozin tarafından takip edilen metillenen sitozin bölgesi
CRED-RA	: Coupled restriction enzyme digestion-random amplification (Çift restriksiyon enzimi kesimi ve rastgele çoğaltım)
CTAB	: Setil trimetil amonyum bromür çoğaltım polimorfizmi
da	: Dekar
2,4-D	: 2,4-diklorofenoksasetik asit
dH ₂ O	: Distile Su
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EC	: Elektriksel İletkenlik
EDTA	: Etilendiamintetraasetik Asit elementler
ETS	: Elektron Taşınım Sistemi
FAO	: Food and Agriculture Organization of the United Nations (Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü)
Fm	: Maksimum floresans (maximum fluorescence)
Fo	: İlk floresans (initial- minimal fluorescence)
Fv	: Değişken floresans (variable fluorescence)
g	: Gram
GPx	: Glutatyon Peroksidaz
GTS	: Genomic Template Stability (Genomik Kararlılık Sabitliği)
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
HCl	: Hidroklorik Asit

IRAP	: Inter-Retrotransposon Amplified Polymorphism (İç-Retrotranspozon Çoğaltma Polimorfizmi)
ISSR	: Inter-Simple Sequence Repeat
iPBS	: inter-Primer Binding Site (primer bağlanma bölgeleri arası çoğaltım yöntemi)
kcal	: Kilokalori
kg	: Kilogram
L	: Litre
LEA	: Late Embryogenesis Abundance (Geç Embryogenezis Proteinleri)
LOO [•]	: Lipid Peroksil
LPO	: Lipid Peroksidasyon
LTR	: Long terminal repeats (Uzun Uç Tekrarlar)
M	: Molar
MDA	: Malondialdehit
m ²	: Metrekare
Mg	: Magnezyum
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
mPa	: Mega Pascal
NaCl	: Sodyum Klorür
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NaOCl	: Sodyum Hipoklorit
ng	: Nanogram
NNİ	: Nispi (Oransal) nem içeriği
NO ₃	: Nitrat
O ₂	: Oksijen
O ₂ ⁻	: Süperoksit
OD	: Okuma değeri
OH [°]	: Hidroksil Radikali
PBS	: Primer Binding Site (Primer Bağlanma Bölgesi)
PCR	: Polymerase Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

PEG 6000	: Polietilen Glikol
PH	: Power of Hydrogen (Çözeltinin asitlik veya bazlık derecesi)
PIC	: Polymorphic Information Content (Polimorfik Bilgi İçeriği)
ppm	: Parts per million (milyonda bir birim)
PSII	: Fotosistem II
qPCR	: Quantitative PCR (real-time PCR Polymerase Chain Reaction (Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu))
RAPD	: Randomly amplified polymorphic DNA (Rasgele çoğaltılmış)
RBIP	: Retrotransposon Based Insertional Polymorphism (Retrotranspozon Temelli İnsersiyonel Polimorfizm)
REMAP	: Retrotransposon-Microsatellite Amplified Polymorphism (Retrotranspozon Mikrosatellit Çoğaltma Polimorfizmi)
RFLP	: Restriction fragment length polymorphism (Kesilmiş parça uzunluk)
RNA	: Ribonükleik asit
RNAi	: RNA-interferaz
RNA-seq	: RNA sequencing (Sıralı RNA)
RO	: Alkoksil Radikali
ROT	: Reaktif oksijen türleri
Rubisco	: Ribulazbifosfat karboksilaz/oksijenaz
SPAD	: Soil Plant Analysis Division Value
SOD	: Süperoksit Dismutaz
S-SAP	: Sequence-Specific Amplified Polymorphism
SSR	: Simple Sequence Repeat (Mikrosatelit)
Ta	: Bağlanma Sıcaklığı
TE	: Tris-EDTA tamponu
Tm	: Erime Sıcaklığı
TOH [•]	: Tocopheroxyl Radical (Tokoferoksil Radikali)
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
UV	: Ultraviyole
UV-C	: Ultraviyole (200-280 nm)
V	: Volt
v/v	: Hacim/Hacim

% : Yüzde
 μ l : Mikrolitre
 μ M : Mikromolar



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Metabolik olaylar sonucu oksijen radikallerinin oluşumu.....	12
Şekil 1.2. Abiyotik stres şartlarında hücrenin ölümü.....	14
Şekil 1.3. α -Tokoferolün kimyasal yapısı.....	16
Şekil 1.4. Erken ve geç yanıt genlerinde regülasyonunun transkripsiyon faktörlerini kodlaması.....	21
Şekil 1.5. Retrotranspozon markerlerinin işleyiş esası. IRAP markerleri, LTR hedef sekanslara bağlanan primerler kullanılarak iki LTR'nin yakınlığı tekniği ile meydana gelmektedir.	23
Şekil 4.1. Kuraklık stresine göre çeşitlerin 5. gündeki SPAD değerleri.....	62
Şekil 4.2. α -Tokoferol uygulamasına göre çeşitlerin 5. gündeki SPAD değerleri	62
Şekil 4.3. Kuraklık stresinde uygulanan α -Tokoferolün 5. gündeki SPAD değerlerine etkisi.....	63
Şekil 4.4. Kuraklık stresinde uygulanan α -Tokoferole göre çeşitlerin 5. gündeki SPAD değerleri.....	64
Şekil 4.5. Kuraklık stresine göre çeşitlerin 10. gündeki SPAD değerleri.....	66
Şekil 4.6. α -Tokoferol uygulamasına göre çeşitlerin 10. gündeki SPAD değerleri.....	67
Şekil 4.7. Kuraklık stresinde uygulanan α -Tokoferol'ün 10. gündeki SPAD değerlerine etkisi.....	68
Şekil 4.8. Kuraklık stresinde uygulanan α -tokoferole göre çeşitlerin 10. gündeki SPAD değerleri.....	69
Şekil 4.9. Kuraklık stresine göre çeşitlerin nispi su içerikleri (%)	71
Şekil 4.10. α -Tokoferol uygulamasına göre çeşitlerin nispi su içerikleri (%)	72
Şekil 4.11. Kuraklık stresinde uygulanan α -tokoferolün nispi su içeriğine (%) etkisi ...	73
Şekil 4.12. Kuraklık stresinde uygulanan α -tokoferole göre çeşitlerin nispi su içerikleri (%)	74
Şekil 4.13. Kuraklık stresine göre çeşitlerin membran hasarı oranları (%)	76
Şekil 4.14. α -Tokoferol uygulamasına göre çeşitlerin hücre membran hasarı oranları (%)	77

Şekil 4.15. Kuraklık stresinde uygulanan α -tokoferolün hücre membran hasarı oranına (%) etkisi	78
Şekil 4.16. Kuraklık stresinde uygulanan α -tokoferole göre çeşitlerin hücre membran hasarı oranları (%).....	79
Şekil 4.17. Sukkula primerine karşı Karasu 90 çeşidinde oluşan amplifikasyon ürünleri	85
Şekil 4.18. WLTR 2105 primerine karşı Kırac 66 çeşidinde oluşan amplifikasyon ürünleri	85



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Bitkilerde abiyotik ve biyotik stres oluşturan bazı faktörler	3
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan çeşitlerin özellikleri.....	45
Çizelge 3.2. IRAP-PCR’da kullanılan primer dizileri, erime (T _m) ve bağlanma (T _a) sıcaklıkları	55
Çizelge 3.3. IRAP- PCR bileşenleri ve konsantrasyonları	56
Çizelge 4.1. Kuraklık stresinde uygulanan α -tokoferole göre çeşitlerin 5. gündeki SPAD değerleri	60
Çizelge 4.2. Kuraklık stresinde uygulanan α -tokoferole göre çeşitlerin 10. gündeki SPAD değerleri	65
Çizelge 4.3. Kuraklık stresinde uygulanan α -tokoferole göre çeşitlerin nispi su içerikleri (%)	70
Çizelge 4.4. Kuraklık stresinde uygulanan α -tokoferole göre çeşitlerin hücre membran hasarı oranları (%).....	75
Çizelge 4.5. Kuraklık stresi ve α -tokoferol uygulamasında kontrole göre Karasu 90 çeşidinde meydana gelen yeni ve kaybolan bantların moleküler ağırlıkları (bp)	81
Çizelge 4.6. Kuraklık stresi ve α -tokoferol uygulamasına göre Karasu 90 çeşidinin GTS oranı (%)	82
Çizelge 4.7. Kuraklık stresi ve α -tokoferol uygulamasında kontrole göre Kırac 66 çeşidinde meydana gelen yeni ve kaybolan bantların moleküler ağırlıkları (bp)	83
Çizelge 4.8. Kuraklık stresi ve α -tokoferol uygulamasına göre Kırac 66 çeşidinin GTS oranı (%)	84

1. GİRİŞ

Gerek uygun iklim koşulları, gerekse coğrafi durumu, zengin toprak yapısı ve ürün çeşitliliğine sahip ülkemiz için tarım en önemli geçim kaynaklarından biridir. Ülkemizde tarım sektörü, elde edilen mahsullerin beslenme ve sanayide hammadde olarak kullanımı, sağladığı iş imkanı ve ihracat olanakları sağlaması açısından ekonomik anlamda da oldukça önemli bir sektördür (Koca vd 2010). Tarım sektöründe insan beslenmesinde kullanılan en önemli ürün beslenmemizde geniş yer tutan ekmeğinde hammaddesi olan buğdaydır (Dhanda *et al.* 2004).

Buğday (*Triticum aestivum* L.), arpa (*Hordeum vulgare* L.), yulaf (*Avena sativa* L.), çavdar (*Secale cereale* L.), mısır (*Zea mays* L.) ve çeltik (*Oryza sativa* L.) buğdaygiller (*Poaceae*) familyasının ıslahı yapılmış tek yıllık otsu bitkileridir. *Triticeae* takımı buğday ve arpa da dâhil olmak üzere 15'den fazla cins ve 300 tür içeren takımlardan biridir. *Poaceae* familyasının *Triticeae* takımına ait olan buğdayın çiçekleri başakçıklardan meydana gelmiştir. Her başakçık 2-5 çiçek taşır ve her başakçığın dibinde karşılıklı iki taşıyıcı yaprak vardır (Briggle and Reitz 1963). Kromozom sayılarına göre buğday, diploit ($2n=14$), tetraploit ($2n=28$) ve hekzaploit ($2n=42$) olarak üç gruba ayrılır. Ekmeklik buğday (*Triticum aestivum*), makarnalık buğday (*Triticum durum*) ve *Triticum compactum* önemli türlerdir (Briggle 1967).

Buğday dünya nüfusu için oldukça önemli ve stratejik bir tahıl ürünüdür. Dünyadaki 2 milyar insan (Dünya nüfusunun %36'sı) için temel besin kaynağı olan buğday tanesinin yapı olarak bileşiminde karbonhidrat, yağ ve protein ve hatta insan ve hayvan beslenmesinde de önemi fazlaca olan vitaminler de bulunmaktadır (Kün 1988). Dünya nüfusu beslenmesinde gerekli karbonhidratın %55'ini, kalori ihtiyacının ise %20'sini buğdaydan karşılamaktadır (Breiman and Graur 1995).

Buğday, dünyada kültürü yapılan tahıl bitkileri arasında yaklaşık 218,5 milyon hektarlık ekilişi ile ilk sırada, 713,2 milyon tonluk üretimle mısırdan sonra ikinci sırada yer alan

en önemli tarım ürünüdür (FAO 2013). TÜİK 2015 yılı verilerine göre ülkemizde toplam arazimizin (38,566 milyon hektar) 15,378 milyon hektarında tahıl üretimi yapılmaktadır. Bu alanın %67'sinde buğday üretimi (7,867 milyon hektar) gerçekleştirilirken, %24'ünde arpa, %6'sında mısır üretimi yapılmaktadır. Bu ürünleri sırasıyla çavdar (%1,3), çeltik (%1,1), yulaf (%0,8) ve tritikale (%0,3) üretimi takip etmektedir. Üretim açısından ise; 2015 yılı toplam tahıl üretimi 38.637.138 ton, buğday üretimi ise 22.600.000 tondur. Verim konusunda ise 2015 yılı için buğday 287 kg/da'dır (TÜİK 2015) . Bu verilerden de anlaşılacağı gibi başta buğday olmak üzere hububat ürünlerinin, ülkemiz için hem ekonomik hem de sosyal açıdan önemi oldukça fazladır.

Dünyada ve ülkemizde buğdayın üretiminde özellikle çevresel faktörler gibi farklı sebeplerle yaşanacak düşüş, buğdayın hammadde olarak kullanıldığı çeşitli gıdalarda ve özellikle ekmek fiyatında yükselmeye neden olacak bunun sonucunda bu olumsuzluğu yaşayan ülke ekonomisini kötü yönde etkileyecektir (Yıldız vd 2010). Çünkü ülkemizde buğdayın tarımı büyük oranda kuru koşullarda gerçekleşmekte, dolayısıyla verim ve çiftçinin bu üretimden elde ettiği gelir düşük olmaktadır. Küresel iklim değişikliğine bağlı olarak kuraklığın etkisinin daha da artacağı dikkat edildiğinde bu sorunlar ciddi boyutlara ulaşacaktır (Kaplukan 2013) .

Bütün canlılar yaşam evreleri boyunca çevreleri ile devamlı etkileşim halinde bulunmaktadır. Canlılarda stres ise canlının olumsuz çevre koşullarına maruz kaldığı andaki yani strese girdiğinde dışarıya verdiği tepkidir (Lewitt 1972). Biyolojik stres, bitkilerin biyolojik olarak görevlerini gerçekleştirememesi ve kendi sistemlerinde bozulmalara sebep olması olarak tanımlanır. Bitkilerde stres; bitkilerin elverişsiz çevre koşullarında yaşaması nedeniyle büyümesinin herhangi bir evresinde ortaya çıkan ve bitkinin yapısında olumsuz değişikliğe neden olarak bitkinin büyüme ve gelişmesinde gerilemeye sebep olan faktörlerdir (Lewitt 1972). Dolayısıyla stres bitkinin biyolojik aktivitesinin azalmasına, normal fonksiyonlarında değişime neden olarak, bitkinin ölümüne sebep olacak zararlara neden olmaktadır (Kalefetoğlu ve Ekmekçi 2005).

Abiyotik ve biyotik olmak üzere stres faktörleri iki gruba ayrılır (Lewitt 1972; Mahajan and Tuteja 2005). Çizelge 1.1’de belirtildiği üzere, abiyotik stres faktörleri kendi arasında ise fiziksel (kuraklık, mekanik etkiler, tuz, ışık, yüksek sıcaklık, düşük sıcaklık, su baskını vb) ve kimyasal (toksinler, zirai ilaç, hava kirliliği vb) stres olarak ikiye ayrılır. Biyotik stres faktörleri ise yabancı otlar, böcekler, hayvanlar, mikroorganizmalar, patajonler (bitki hastalıkları)’dır. Abiyotik stres faktörlerinden fiziksel stres, bitkinin büyüme ve gelişmesinin gerçekleştiği ortamlarda fiziksel olarak; kimyasal stres ise bitkinin büyüme ve gelişmesinin gerçekleştiği ortamlarda kimyasal olarak zarar gördüğü koşullardır.

Çizelge 1.1. Bitkilerde abiyotik ve biyotik stres oluşturan bazı faktörler (Lewitt 1980)

ABİYOTİK FAKTÖRLER		BİYOTİK FAKTÖRLER
FİZİKSEL	KİMYASAL	
Su	Hava kirliliği	Hastalık etmenleri (patojenler)
Tuzluluk	Tuzlar	Yabani bitkiler
Sıcaklık	Pestisitler	Böcekler
Işık	Toksinler	Mikroorganizmalar
Bitki besin maddeleri	Bitki besin elementleri	Hayvanlar
Radyasyon	Toprak pH’sı	
Mekanik etkiler (kar,buz örtüsü)		

Tuzluluk, kuraklık, düşük ve yüksek sıcaklık gibi abiyotik stres koşulları ve oksidatif stres, tüm dünyadaki tarımı ve bitki üretiminden elde edilen verimi olumsuz yönde etkilemektedir (Wang *et al.* 2003). Bu stres faktörleri arasında kuraklık, %26 ile dünya tarım alanlarında bitki üretimini kısıtlayan en önemli stres faktörüdür (Kutlu 2010). Ashraf and Foolad (2007), Dünya tarım alanlarının yaklaşık %45’nin kuraklık stresine maruz kaldığını belirtmişlerdir.

Kuraklık etkileri bakımından farklı şekillerde tanımlanmıştır. Şahin ve Sipahioğlu (2003)’na göre kuraklık; stres halindeki canlının yaşamını olumsuz yönde etkileyen, ciddi derecede iklimsel sorunların oluşmasına neden olan, afete sebebiyet veren, suya bağımlı olan insanlığın yaşam şartlarını zorlaştıran çevresel kaynaklı bir doğa olayıdır.

Bir başka araştırmacıya (Kalefetoğlu ve Ekmekçi 2005) göre kuraklık, stres altındaki bitkinin hücre yapısının, metabolizmasının bozulmaya uğramasının yanı sıra enzimatik faaliyetlerinin durmasına sebep olacak kadar fazla su kaybetmesidir. Govender (2009) ise kuraklık stresini, bitkinin büyüme ve gelişmesi, hayatını sürdürebilmesi için gerekli olan suya ulaşamaması olarak tanımlamıştır. Kuraklığın oluşması yağışın bulunmadığı zamanda evapo-transpirasyon hızına ve toprağın su tutma durumuna bağlıdır (Shiklomanov and Balonishnikova 2003; Kutlu 2010).

Kuraklık genel özellikleri bakımından değerlendirildiğinde 3 sınıfa ayrılır. Birincisi ağır kuraklık (ivegen, akut) yani kuraklığın şiddetinin fazla olduğu kuraklık, ikincisi sürekli kuraklık (kronik) yani kuraklığın süresinin fazla olduğu kuraklık, üçüncüsü ise fizyolojik kuraklık yani ortamda yeterli su bulunmasına rağmen bitkinin bu sudan fizyolojik durumu sebebiyle yararlanamadığı kuraklık çeşididir (Eriş 1990).

Kuraklık, bitkinin yetiştirme koşullarının bozulmasıyla beraber ürün yetiştiriciliğini olumsuz yönde etkileyerek, bitkinin fizyolojik, morfolojik, biyokimyasal ve moleküler yapısını bozar (Wang *et al.* 2001). Bu stres şartları dünya üzerinde yetiştirilen ürünlerde azalma ve ürün veriminde yarıdan fazla düşüklüğe neden olmaktadır (Wang *et al.* 2003).

Stres koşulları altında bulunan bitki, stres altında geçen süreye ve stresin şiddetine bağlı olarak gelişmesinde, veriminde, ürün miktarı ve kalitesinde gerileme olur. Stresin arttığı durumlarda bitkinin ölümüne dahi sebep olur. Sonuç olarak kuraklığın etkisi süreye bağlıdır (Öztürk 2015). Fakat kuraklığa dayanıklı bitki çeşitleri aynı stres şartlarında metabolik faaliyetlerini sürdürmektedirler (Sairam *et al.* 1990; Mosaad *et al.* 1993). Bitki yaşama evresinin ilk dönemi olan büyümesinde kuraklık stresine maruz kalırsa, bitkinin diğer yaşam evreleri olan gelişmesi ve verimlerinde önemli derecede düşüşlere sebep olur (Tuberosa 2012; Turner *et al.* 2014).

Kuraklık stresinin süresi hücre bazında da olumsuz etkilere sahiptir. Bitkinin kuraklık stresi altında geçirdiği süre arttıkça hücre büyümesinde azalma görülür. Bunun dışında

diğer etkilere, tohum çimlenme oranında azalma, solunum oranında düşüş, bununla bağlantılı olarak fotosentez mekanizmasında da düşüş veya stres şartları arttıkça durma, klorofil yapısında bozulma, yaprak büyüklüğünde düşüş, meyve ve tane yapısı ve bunların veriminde azalma, enzim aktivitesi ve ürün kalitesinde azalma verilebilir (Blum 1988).

Kuraklık stresi altındaki bitki ilk evrelerinde metabolizması için gerekli olan suya daha fazla ihtiyaç duyması nedeni ile gövdesi ile paralel olarak bitki boyunun uzamasını geriletip, köklerinin uzamasını teşvik eder (Öztürk 2015). Kurak şartlarda fotosentezde bir gerileme olur ve bununla beraber bitkinin sürgün gelişimi azalır. Fotosentez mekanizmasında rol alan ürünler, kuraklık stresi altındaki bitkinin kök gelişimi için kök bölgesine iletilir. Ayrıca kökteki canlı ve aktif hücreleri sıcak ve kurak toprağın olumsuzluklarından korumak için bu bölgede kalın ve mantarimsı bir doku tabakası oluşur (Öztürk ve Seçmen 1992). Kuraklık stresinde yüzey genişliği arttıkça su kaybında aynı oranda artacağından strese maruz kalan bitkilerde yaprak kaybı veya ilk aşamalarda yaprak büyümesinde yavaşlama görülür (Göksoy ve Turan 1991).

Kuraklık stresinin olduğu durumlarda bitkinin gövde hatta yaprak büyümesi kök gelişimine göre daha hassastır (Sağlam 2004). Kuraklık şiddetinin daha da artması durumunda yaprak sayısı ve alanı azalır, kök ve gövde gelişiminde tamamen durma olur (Anjum *et al.* 2011; Öztürk 2015). Kuraklık stresıyla bitkide kök sisteminin gelişmesi, yaprak büyümesinin durması ve üzerinin tüylerle ya da mumsu tabakayla kaplanması, bitkinin stomalarını kapatarak su kaybını azaltması gibi etkiler görülür (Göksoy ve Turan 1991).

Kuraklık stresi yaprak büyüklüğünü, gövde uzamasını, kök çoğaltımını azaltmaktadır. Kuraklığın en önemli etkisi bitki gelişimi ve verime olan etkisidir. Kuraklığın öncelikli etkisi çimlenmeyi ve fide tesisinin kurulumunu engellemesidir. Kuraklık stresinin çimlenmeyi ve fide tesisini ciddi bir şekilde azalttığı bildirilmiştir (Gülbüz vd 2009). Çeltikte yapılan çalışmalarda (Tripathy *et al.* 2000; Manikavelu *et al.* 2006) vejetatif dönemdeki kuraklık stresinin bitki gelişimini ve büyümesini azalttığı belirlenmiştir.

Büyüme, hücre bölünmesi, hücre büyümesi ve farklılaşması ile gerçekleşir ve büyüme genetik, fizyolojik, ekolojik, morfolojik olayları ve bunların interaksyonunu içerir. Bitki gelişiminin bitki büyümesinin niteliği ve niceliği su eksikliği tarafından etkilenen bu olaylara bağlıdır. Hücre gelişimi turgor basıncındaki azalma nedeniyle kuraklığa en duyarlı fizyolojik süreçlerden biridir (Taiz and Zeiger 2006). Ciddi su eksikliği altında uzayan hücrelere ksilemden su akışının engellenmesi nedeniyle yüksek bitkilerin uzaması engellenebilir (Nonami 1998). Kuraklık stresi altında mitoz, hücre uzaması ve genişlemesindeki bozulmanın bir sonucu olarak bitki boyu yaprak alanı ve ürün gelişimi azalır (Gürbüz vd 2009; Hussain *et al* 2011).

Birçok bitki türünde kuraklığın meydana geldiği zaman ve süresine göre verimde azalışa neden olduğu bildirilmiştir. Kuraklık stresinin bitkiye gösterdiği etkilerden tane verimindeki düşüşü inceleyen farklı araştırmacılar, başaklanma dönemine yakın görülen su stresinin erken dönemde görülen su stresine göre tane verimi üzerine daha etkili olduğunu belirtmişlerdir (Musick *et al.* 1990; Leithold *et al.* 1997; Çetin vd 1999). Arpada tane dolum dönemindeki kuraklığın verimde %49-57 azalttığı bildirilmiştir (Samarah 2005). Yine mısırdaki yapılan çalışmalarda tane dolum dönemindeki kuraklığın %79-81 (Rolando *et al.* 2015), tohum tutma dönemindeki kuraklığın ise verimde %63-87 (Kamara *et al.* 2003) oranında azalmaya sebep olduğu bildirilmiştir. Buğdayda ise kuraklık stresi verimde %63 oranında azalma meydana getirmiştir (Fischer *et al.* 1998). Diyarbakır ekolojik koşullarında makarnalık buğday genotipleri ile yapılan kuraklık çalışmasında genotiplerin veriminde ve verim öğelerinde azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. Çalışmada genotiplerin ortalama veriminde %61 oranında azalma görülmüştür (Kılıç ve Yağbasanlar 2010).

“Doğu-88” buğday çeşidinde kuraklığın bitki verim öğelerine etkisi konusunda araştırma yapılmış ve yapılan denemede tane verimi, birim alandaki tane sayısı ve bin tane ağırlığı kriterleri incelenmiştir. İnceleme neticesinde sil, erken kuraklık stresinin sulu yetiştirme şartlarına göre tane veriminde %40.6, birim alandaki tane sayısında %44.4, 1000 tane ağırlığında %6.9 oranında azalmaya sebep olduğu sonucuna varılmıştır. Geç kurak koşullarıysa, yeşil dokulardaki yaşlanmayı arttırmış, daha kısa yeşil alan süresi

(27.5 gün), daha düşük 1000 tane ağırlığı ve tane veriminde düşüşe sebep olmuştur. Tam kuraklık şartlarının sulu şartlarına göre birim alandaki tane sayısını %54.9, tane ağırlığını %19.9, tane verimini ise %65.6 oranında düşürdüğünü belirlemiştir (Öztürk 1999).

Bitkilerde verimi belirleyici birçok fizyolojik süreçler su stresinden etkilenmektedir. Nispi su içeriği, yaprak su potansiyeli, stoma direnci, transpirasyon oranı, yaprak sıcaklığı ve bitki örtü sıcaklığı bitki-su ilişkisini etkileyen önemli özelliklerdir. Buğday yapraklarının nispi su içeriği yaprak gelişiminin başlangıcında daha yüksektir ve yaprak olgunlaşması ve kuru madde birikimi ile birlikte azalmaya başlamaktadır (Siddique *et al.* 2000). Su stresi altındaki buğdayların nispi su içeriğinin normal koşullardakilerine göre daha düşük su içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir (Siddique *et al.* 2000). Kuraklık stresine maruz kalan buğdayda nispi su içeriği, yaprak su potansiyeli, transpirasyon oranı yaprak sıcaklığındaki artışla beraber azalmıştır. Sulanmayan bitkilerde azalmış stoma iletkenliğinin koruyucu etkisi yüksek yaprak sıcaklığının neden olduğu yaprak hava buhar basıncı farkı tarafından etkisiz hale gelir (Farooq *et al.* 2009). Yer fıstığında yapılan bir çalışmada (Prasad *et al.* 2000) transpirasyon oranı sulanan ve sulanmayan bitkilerde benzer olmuş ve sulanmayan bitkilerin daha düşük toplam su kullanmasının bir sonucu olarak bitkilerde daha küçük yaprak alan indeksi belirlenmiştir. Bir başka çalışmada *Hibiscus rosa sinensis* bitkisinin nispi su içeriği, turgor potansiyeli, transpirasyonu, stoma iletkenliği ve su kullanım etkinliğinin (kuru madde üretimi ve su tüketimi arasındaki oran) kuraklık stresi altında azaldığı bildirilmiştir (Egilla *et al.* 2005). Nerd and Nobel (1991) *Opuntia ficus-indica* bitkisinin gövdesinin toplam su içeriğinin kuraklık stresi sırasında %57 oranında azaldığını bildirmişlerdir. Buğdayda kuraklık stresi altında nispi su içeriğinin %45-88 oranında azaldığı tespit edilmiştir (Techawongstien *et al.* 1993).

Bitkilerde, fotosentezin artması veya azalmasında bitkinin yeşil aksamının yani yaprağının yüzey büyüklüğü ve bu alandaki fotosentez aktivitesi etkilidir. Kuraklık stresinin en önemli etkilerinden biri yaprak büyümesinin azalması, bozulmuş fotosentez sistemi ve erken yaprak yaşlanmasının bir sonucu olarak fotosentezdeki azalmadır.

Besin üretimindeki azalma fotosentez ile ilgilidir (Wahid *et al.* 2005). Stoma kaynaklı olan ve stoma kaynaklı olmayan sınırlayıcı faktörlerin fotosentez üzerine etkileri karşılaştırıldığında fotosentez üzerine stoma kaynaklı sınırlayıcı faktörlerin etkisi oldukça azdır. Yani, CO₂ alımının yanı sıra diğer süreçler hasar görmektedir. Yapraklar tarafından CO₂ alımını engelleyen kuraklık kaynaklı stoma kapanması oldukça önemlidir. Kısıtlı CO₂ kullanılabilirliği muhtemelen foto hasar duyarlılığında artışa neden olabilir (Cornic and Massacci 1996). Kuraklık stresi fotosentetik pigment ve bileşiklerin değişimine, zarar görmüş fotosentetik araçlara ve verim azalmasının en önemli nedeni olan kalvin çemberi enzimlerinin aktivitesinin azaltılmasına neden olur (Anjum *et al.* 2003). Kuraklığın önemli etkilerinden biride büyüme ve fotosentetik yeteneğini inhibe eden reaktif osijen türleri ile antioksidan savunma arasındaki dengenin kaybıdır (Fu and Huang 2001; Reddy *et al.* 2004). Kuraklık proteinlerde, hücre zarı lipidlerde ve diğer hücresel bileşenlerde oksidatif strese neden olan reaktif oksijen türlerinin birikimine neden olmaktadır (Farooq *et al.* 2009).

Hemen hemen tüm bitkiler terleme ile şiddetli su kaybını önlemek için stomalarını kapatırlar (Mansfield and Atkinson 1990). Stoma kapanması yaprak turgorunda ve/veya su potansiyelinde ya da düşük atmosfer nemindeki azalmaya tepki olarak gerçekleşir. Hafif ya da orta şiddetli kuraklık stresi altındaki fotosentezde azalmada esas etkenin stoma kapanması olarak kabul edilmektedir (Cornic and Massacci 1996; Yokota *et al.* 2002).

Topraktaki elverişli suyun orta ve şiddetli şekilde sınırlı olduğu durumlarda bitkilerin için ilk seçenek stomaların kapanmasıdır (Cornic and Massacci 1996). Bu yaprak içersine CO₂ girişini azaltır ve aktif oksijen türlerinin oluşumuna neden olan daha fazla elektronun birikime neden olur. Yine, stoma kapanmasına bağlı olarak bitki bünyesinde sıcaklığın artmasına neden olan transpirasyon azalmaktadır (Yokota *et al.* 2002). Yapılan çalışmalarda stomatal tepkinin yaprak su durumundan daha çok toprak nemine bağlı olduğunu göstermiştir (Morgan 1988; Taylor 1991; Turner *et al.* 2001). Transpirasyon oranını artıran çevresel koşullar, absisik asit birikimini ve eş zamanlı olarak stoma iletkenliğini azaltan yaprakların pH miktarında artışa neden olur (Morgan

1988; Taylor 1991; Turner *et al.* 2001). Sitokininin konsantrasyonundaki artış, ksilem özsuyu içindeki stoma açılışını doğrudan teşvik eder ve absisik asite karşı stoma duyarlılığını etkiler (Wilkinson and Davies 2002). Türlerin, stomal iletkenlik ve fotosentezin yaprak su potansiyeline ve nispi su içeriğine olan tepkileri oldukça farklıdır (Cornic and Massacci 1996). Sonuç olarak kuraklık stresine eşlik eden stoma kapanmasını net fotosentezdeki azalışlar takip etmektedir.

Çok şiddetli kuraklık şartlarında fotosentezi sınırlandıran sebep Rubisco faaliyetlerindeki düşüştür (Bota *et al.* 2004). Kurak şartlar altında fotosentetik elektron taşınım zincirinin aktivitesi kloroplastlardaki CO₂'nin bulunması ve fotosistem II deki dönüşüm tarafından ayarlanır (Loreto *et al.* 1995). Dehidrasyon sonucu hücrelerde büzülme ve dolayısıyla hücre haciminde düşüş olur. Bu hücre içeriğini daha vizkoz (kıvamlı) hale getirir. Bu nedenle protein-protein etkileşimini olasılığındaki bir artış proteinlerin kümelenmesine ve denatürasyonuna yol açar (Hoekstra *et al.* 2001). Çözünen maddelerin konsantrasyonundaki artış, fotosentetik sistemi içeren enzimlerin işlevi için zararlı olabilir (Hoekstra *et al.* 2001). Ancak, kuraklık stresinin Rubisco küçük alt birimi transkriplerinin miktarında hızlı bir azalışa neden olduğu gösterilmiştir (Vu *et al.* 1999).

Rubisco aktivitesi ya Rubisco'nun aktif bölgesindeki bir lizinin ϵ -amino grubunda bir karbamata CO₂ ve Mg⁺² ile reaksiyonu veya aktif bölgesindeki bağlama inhibitörleri tarafından düzenlenir. Bu tür bağlanma ya Rubisco'nun aktivitesini engeller ya da aktivasyon için gerekli olan lizinin karbamilasyonunu sağlarlar. Çoğu türde geceleri Rubisco'nun katalitik etkisini engelleyen ve Rubisco'ya sıkıca bağlanan 2-karboksil arabinitol 1 fosfat oluşur. Tütünde yapılan çalışmalarda kuraklık stresi altında Rubisco aktivitesinin azaldığı belirlenmiştir. Ancak bu azalışın CO₂ ve Mg⁺² bağlı aktivasyon değişikliklerinin birincil sonucu olmadığı, daha çok sıkı bir şekilde bağlanan bağlama inhibitörlerinin varlığından dolayı kaynaklandığı bildirilmiştir (Parry *et al.* 2002). Kuraklık stresi altında fotosentezdeki azalmaya Rubisco tarafından ribuloz 1,5 –bis-fosfatın karboksilasyon hızında, ribuloz-1,5-bifosfat yenilenme hızında, Rubisco ve stromal fruktoz bis-fosfataz aktivitelerinde ve yüksek bitkilerde fotosistem II'nin

quantum etkinliğindeki azalışlar eşlik etmektedir (Reddy *et al.* 2004; Zhou *et al.* 2007). Ayrıca, şiddetli kuraklık altında Rubisco tarafından karboksilasyon etkinliği büyük ölçüde azalmakta ve Rubisco karboksilazdan daha çok oksijenaz olarak görev yapmaktadır (Farooq *et al.* 2009).

Su stresi altında düşük yaprak su potansiyelindeki azalışla birlikte fosfoenolpiruvat karboksilaz, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat malik enzim, Rubisco, fruktoz-1,6-bifosfat ve piruvat ortofosfat dikinaz aktivitelerinde azalış meydana gelmektedir. Piruvat ortofosfat dikinaz aktivitesi su stresi altında diğer enzimlere göre 9 kat daha fazla azalma göstermiştir (Du *et al.* 1996).

Kuraklığın fotosentezi stoma kapanmasıyla mı (Cornic and Massacci 1996) ya da metabolik bozuklukla mı engellediğine (Tezara *et al.* 1999) ait tartışmalar söz konusudur. Tezara *et al.* (1999) hafif kuraklık stresi altında bile fotosentezi sınırlayan ana faktörün fosforilasyon ve adenazın trifosfat sentezi olduğunu bildirmişlerdir.

Kuraklık stresi altında nikotinamid adenin dinükleotid fosfatın sınırlı üretimi elektron taşınımının devamlılığını sağlar. Kuraklık stresi altında, devirsel olamayan elektron taşınımı azalan nikotinamid adenin dinükleotid fosfat üretim gereksinimlerini karşılamak için aşağı regule olmaktadır ve devirsel elektron taşınımı aktive olmaktadır. Bu yüksek enerji durumunu korumasını uyaran proton gradientine neden olur (Farooq *et al.* 2009).

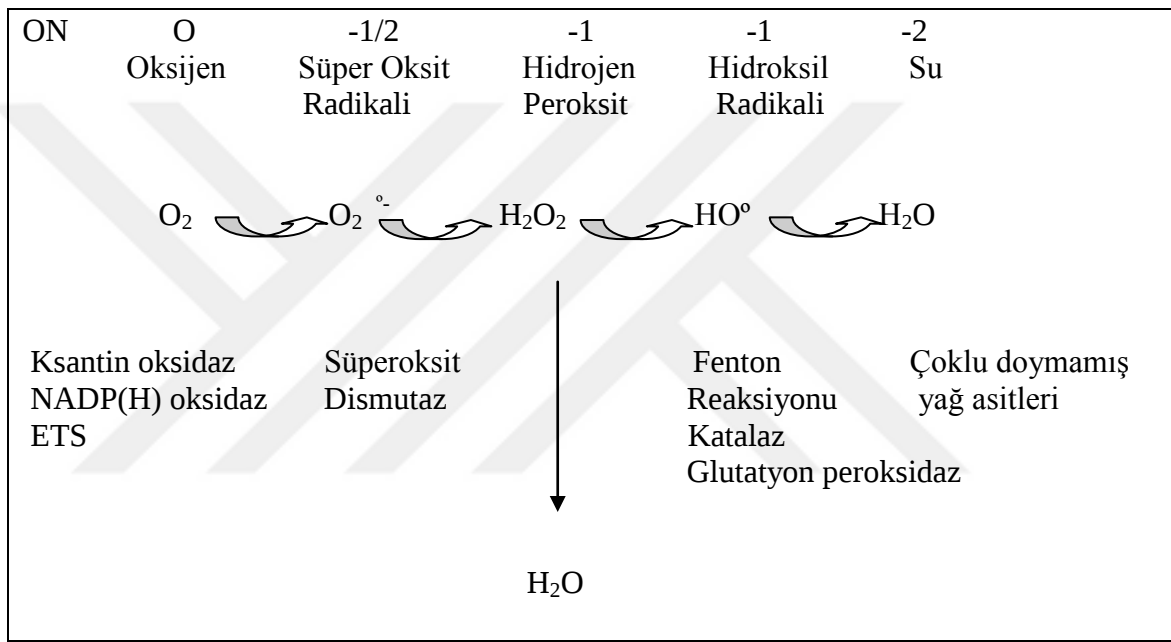
Kuraklık toleransı, kuraklık stresiyle başa çıkmak için üretilen enerjinin büyük bir kısmı bu amaç için harcadığı için oldukça maliyetli bir olgudur. Solunum yoluyla kaybedilen karbonhidrat oranı, bitkinin tüm metabolik etkinliğini belirler (Davidson *et al.* 2000). Kökler fotosentezde üretilen karbonun büyük bir kısmını tüketir, büyümesi ve devamlılığı ve de kuru madde üretimi için kullanır (Lambers *et al.* 1998). Çevresel şartların yanı sıra bitki büyüme ve gelişme süreçleri de solunumda kullanılan karbonun boyutunu etkiler. Ancak, toprağın yarayışlı su miktarı azaldığında fotosentez hızı da azalarak bitki büyümesini sınırlandırır (Sheng *et al.* 2008). Kuraklık süresince azalmış

fotosentez kapasitesinin bir sonucu olarak negatif bir karbon dengesi ortaya çıkabilir. Buğdayda büyüme süreci boyunca çeşide ve beslenme durumuna bağlı olarak günlük fotosentez ürünlerinin %50'den fazlası köklere transfer edilir ve bunların yaklaşık %60'ı solunum mekanizmasında kullanılır (Lambers *et al.* 1998). Kuraklık stresi sürgün ve kök bölgesinde, fotosentezde ve kök respirasyon (solunum) oranında azalmaya sebep olur. Bu olayda kuraklığa toleranslı buğday çeşitlerinde büyüme ve fizyolojik aktivitelerin düzenlenmesini sağlar (Liu and Li 2005).

Kuraklık stresi oksidatif anlamda da birçok değişikliğe sebep olmaktadır. Oksidatif etkinin temel sebebi; bitkinin yeşil aksamındaki oksidatif bozulma ya da kloroplastlarda meydana gelen ışık-klorofil etkileşimidir. Oksidatif stres hücre yapısı için zararlı bir unsur olan hatta bulunduğu hücrenin ölümüne yol açan reaktif oksijen türlerinin ve kimyasal radikallerin bitki hücrelerinde oluşması ile meydana gelir. Başka bir ifadeyle oksidatif stres; “oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengenin oksidanlar yönüne kayması ve hücre hasarına yol açması” olarak tanımlanır (Halliwell 1994). Bitki hücreleri için oksidatif strese sebep olup hücre zararına yol açan bu reaktif oksijen türlerinin oluşumu; hücrenin kendi hücresinde olağan metabolik reaksiyonları devam ederken bu arada meydana gelen enzimatik faaliyetleri neticesinde ara ürün olarak serbest radikaller meydana gelir (Şekil 1.1) (Özşahin 2010). Bu esnada bu radikaller enzim faaliyetinden ayrılarak serbest oksijen ile birleşir. Reaktif oksijen türleri oluşum durumları farklı şekillerde de olabilir. Bu durumlar redoks tepkimeleri neticesinde meydana gelmesinin yanında kloroplastlara elektron aktarım anında, mitokondrinin bünyesindeki suyun yükseltgenmesi ya da oksijenin tamamlanmamış indirgenmesinde de meydana gelebilir (Apel and Hirt 2004). Neticede ortaya serbest oksijen radikalleri çıkar.

Bitkiler kuraklık stresine maruz kaldıkları zaman membran bileşenlerine zarar veren Reaktif Oksijen Türleri (ROT) üretirler (Blokhina *et al.* 2003). Bu noktada alternatif oksidaz aktivitesi metabolitlerin normal seviyede korunmasında ve stres boyunca ROT üretiminin azalmasında fayda sağlar. Özetle rizosferdeki su kaybı kök respirasyon oranında bir azalmaya, karbon kaynaklarının kullanımında bir dengesizliğe, Adenozin

Trifosfat (ATP) üretiminde bir azalmaya ROT üretiminin artmasına sebep olmaktadır. ROT türlerine örnek olarak süperoksit anyon radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$) hidrojen peroksit (H_2O_2), alkoksi radikali ($R^{\cdot}O$) ve serbest oksijeni verilebilir (O_2) (Munné-Bosch and Penuelas 2003). ROT'lar proteinlere, lipitlere ve DNA'ya etki ederek oksidatif hasara neden olur ve hücrelerin normal fonksiyonlarını bozarlar (Foyer and Fletcher 2001).



Şekil 1.1. Metabolik olaylar sonucu oksijen radikallerinin oluşumu (Özşahin 2010).

Hücrenin çeşitli organelleri ROT üretir. Kloroplastlar bu anlamda önemli bir kaynaktır. Tilakoit membranlardaki pigmentler süperoksit anyon ve singlet oksijen gibi güçlü oksidanlar oluşturmak için O_2 ile etkileşime girebilirler (Niyogi and Krishna 1999; Reddy *et al.* 2004). Farklı organellerde H_2O_2 ve $OH^{\cdot}$ gibi ROT'lar üretebilirler. Mitokondrideki elektron taşıma sisteminin (ETS) azaltılmış bileşenleri ile O_2 etkileşimi ROT oluşumuna yol açabilir (Möller 2001) ve organel peroksizomlar fotorespirasyon boyunca glikolatın glikolikasite oksidize olduğu zaman H_2O_2 üretir (Fazeli *et al.* 2007).

Biyolojik sistemlerdeki ROT üretim mekanizmaları hem enzimatik hem de enzimatik olmayan reaksiyonlarda bulunmaktadır. Genel olarak ROT oluşumu ile kuraklık

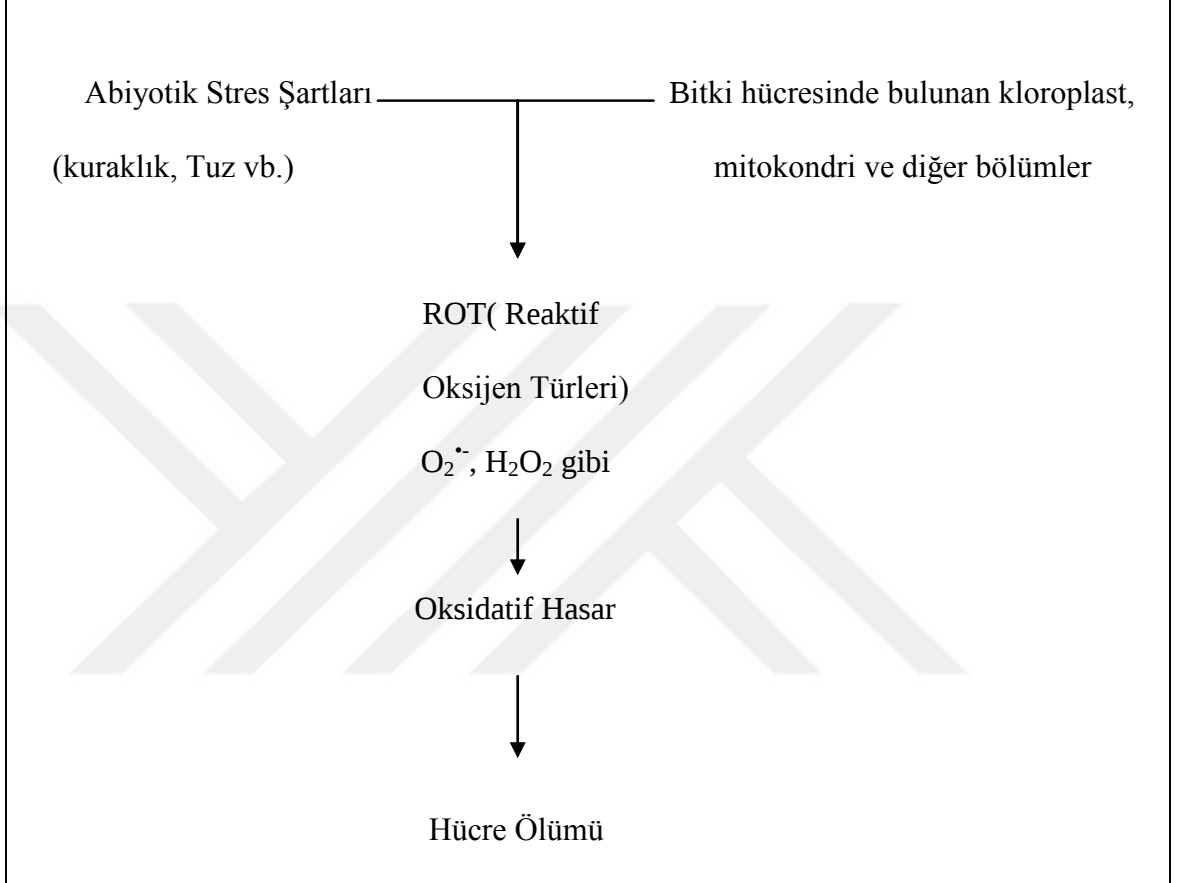
stresinin şiddeti paraleldir ve bu durum membran lipidlerinin peroksidasyonu, nükleik asitlerin parçalanmasına ve yapısal ve fonsiyonel proteinlerin degradasyonuna sebep olmaktadır. Kloroplast, mitokondri ve peroksizom gibi organeller kuraklık stresi altında oluşan ROT'ların yer aldığı bölgelerdir.

ROT'ları meydana getiren enzimler; amino oksidazlar, hücre duvarı peroksidazları ve NADPH oksidaz sayılabilir (Gechev *et al.* 2006). Oluşma yolları ise hücre içi bir molekülden bir elektronun verilmesi veya bir elektronun alınmasıdır. Elektron alışverişi ile oluştukları için yükseltici veya indirgeyici şeklinde hücre içi davranış sergileyebilirler (Halliwell 1998).

Reaktif oksijen türleri sadece stres şartlarında sergilenmezler. Normal hücresel olaylar neticesinde de sentezlenirler. Ancak aralarındaki fark stres şartlarında sentezlendiklerinde zararlı olan bu ROT'ların normal şartlarda detoksifikasyon mekanizması sayesinde zararlı etkilerinin yok edilmesidir. Bitkinin normal gelişim sürecince de sentezlenirler ancak detoksifikasyon mekanizması ile aralarındaki denge sayesinde zararlı etki oluşturmazlar. Hücre içerisinde bulunan bütün ROT çeşitleri stres dışındaki normal koşullarda denge halinde bulunmaktadır (Halliwell and Gutteridge 1998).

Canlı hücresi için zararlı bu reaktif oksijen türleri antioksidanlar sayesinde ortadan kaldırılır. Fakat bazı durumlarda bu reaktif oksijen türleri antioksidanlardan daha fazla olabilir. Bu şekilde reaktif oksijen türlerinin antioksidanlardan daha fazla olduğu durumlarda oksidatif stres meydana gelir (Kartal 2008). Bu durumda oksidatif stresin meydana geldiği hücrede toksik durum açığa çıkar. Bu olayın sebebi antioksidan mekanizmasının etkisinin zayıflığı, reaktif oksijen türlerinin fazla oluşu ya da her iki sebebin aynı anda meydana gelmesi böylece oksidatif stresin oluşmasıdır. Oksidatif stresin meydana geldiği bitkinin çevre koşulları ise yüksek veya düşük sıcaklık, radyasyon, kuraklık ve yoğun ışık sayılabilir. Bu olumsuz çevre şartlarında ROT ve kimyasal radikaller meydana gelir. Şekil1.2'de gösterildiği üzere meydana gelen bu

radikaller oksidasyon vasıtasıyla hücre zarında bozulmaya daha ileri durumlarda hücrenin ölümüne sebep olmaktadır. (Bartosz 1997; Gill and Tuteja 2010).

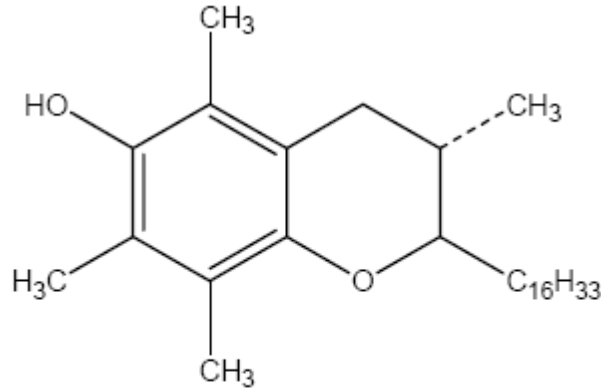


Şekil 1.2. Abiyotik stres şartlarında hücrenin ölümü (Gill and Tuteja 2010)

Stres çeşitlerinden en önemlisi olan kuraklığın bitki üzerine birçok fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler düzeyde etkileri olduğu açıktır. Bu etkilerden korunmak için bitki bu ortama uyum sağlamaya çalışır ve dayanım mekanizmaları oluşturur (Arora 2002; Kalefetoğlu ve Ekmekçi 2005). Stres altında bulunan bitkiler için antioksidanlar önemli zarar önleyici mekanizmalardır. Tüm canlı organizmaları kendileri için zararlı olan serbest radikallerin bu kötü etkilerini önlemek için hücrelerinin içindeki antioksidan sistemlere sahiptirler. Antioksidan sistem; tüm hayvansal ve bitkisel organizmalar serbest radikallerin etkilerini önlemek için endojen antioksidan sistemlere sahiptirler (Çaylak 2011). Antioksidanlar; enzimatik kaynaklı antioksidan ve enzimatik

olmayan antioksidan olarak iki gruba ayrılır. Antioksidan enzimler: Superoksit dizmutaz (SOD), katalaz (CAT); glutatyon peroksidaz (GPx); antioksidan vitaminler: Alfa tokoferol, Beta karoten, Askorbik asit. Bitkilerde bulunan en önemli antioksidanlar; Alfa (α) – tokoferol (vitamin E), askorbik asit (vitamin C), karotenoidler ve fenolik bileşiklerdir. Bu çeşitler içerisinde, α -tokoferol en önemli olan antioksidandır. α -Tokoferol için antioksidan etkisinin ölçüsü 1 molekül α -tokoferolün 220 radikal molekülünü etkisiz hale getirmesidir. Bu molekülün en etkili vazifesi, kuraklık gibi etkili stres şartlarında bile kendi hücrelerinin bozulmaya uğramayıp, zararın dayanıklı halini devam ettirmesidir. Bu korunma mekanizması işleyişinde α -tokoferol, askorbik asit ile ortaklaşa faaliyet gösterir. Hücrede gerçekleşen bu ortak görevde α -tokoferol daha etkindir. Çünkü askorbik asit bitki hücrelerinde genellikle yeterli konsantrasyonda bulunmadığından dolayı etkinliği daha zayıftır (Noga and Schmitz 1998).

Enzimatik olmayan antioksidanlardan E vitamini yani alfa α -tokoferol, 8 farklı izomerik yapıda bulunur. Bunlar α -, β -, δ -, γ -tokoferoller ve (α , β , γ , ve δ -tokotrienol) tokotrienollerdir. Bunlar içerisinde α -tokoferol, en güçlü biyolojik aktiviteye sahip ve doğada en yaygın bulunan ana antioksidan çeşididir (Packer and Landvik 1989). α -Tokoferolün antioksidan olarak anılması diğer vitaminler enzimatik reaksiyonlarda kofaktör olarak görev alması ancak E vitamininin böyle bir görevinin olmamasındandır (Baskin and Salem 1997). Yağda çözünen vitaminlerdendir ve hücre içerisinde bulunur. E vitamininin ana bileşeni α -tokoferoldür. Antioksidan özelliğinin güçlü olmasının yapısal nedeni fenolik hidroksil grubuna sahip aromatik halkadır (Akkuş 1995). Şekil 1.3'de gösterildiği gibi bu vitaminin kimyasal yapısındaki fenolik hidroksil grubuna sahip aromatik halka aktif kısımdır ve antioksidan özelliğinin görüldüğü bölümdür (Keskin ve Erkmen 1987).



α -tokoferol

Şekil 1.3. α -Tokoferolün kimyasal yapısı (Keskin ve Erkmen 1987).

Vitaminin esas görevi hücre membranının hasar görmesinin önlenmesi ve membrandaki fosfolipitlerin peroksidasyonunun önlenmesidir. E Vitaminin lipofilik özelliği hücre membranının içerisinde bulunmasını sağlar (Gey *et al.* 1991; McNeil 2004). Membran içerisinde bulunan vitamin E buranın yapısı içerisindeki membran fosfolipidlerindeki çoklu doymamış yağ asitlerini serbest radikal moleküllerinin zararlı tesirini önleyen savunma elemanıdır. α -Tokoferolün temizlediği radikaller $O_2^{\cdot-}$, $HO^{\cdot}$, singlet O_2 , lipid peroksil ($LOO^{\cdot}$) radikalleri ve diğerleridir. Lipid peroksidasyonunun başlamasını engeller. α -Tokoferol lipid peroksil radikallerini yok eder ve böylece lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını sonlandırır.

Lipid peroksidasyonunu başlamasını engelleyen mekanizma:

$LOO^{\cdot} + \alpha\text{-tokoferol-OH} \rightarrow LOOH + \alpha\text{-tokoferol-O}^{\cdot}$ dır (Baskin and Salem 1997; Carr *et al.* 2000).

(Lipid peroksil radikali) (tokoferoksil radikali)

Bu tepkimede meydana gelen tokoferoksil radikali stabil kalır ve aktivitesi lipid peroksidasyon reaksiyonunu başlatmak için yeterli değildir.

Canlılar için tokoferoller, antioksidan özelliğe sahiptir. Bunun yanında fındık gibi birçok besin madesinde antioksidan tesir gösterirler. Tokoferollerin gıdalardaki bu tesiri bulunduğu ortamın sıcaklığı, oksidasyon şiddeti, substratın konsantrasyonu ve bileşimine göre farklılık gösterir (Stontag 1979; Bourgeois 1981; Pongracz 1984; Koskas *et al.* 1984; Dziezak 1986). En fazla 35°C'ye kadar ortam sıcaklıklarında tokoferollerin antioksidan tesiri ve bu maddelerin biyolojik etkinlikleri paralellik gösterir. Ortam sıcaklığı 50 ila 100°C arasında olduğunda tokoferoller 35°C'de gösterdiği durumun tam tersi ortaya çıkar (Ergin 1991). Tokoferoller için maksimum antioksidan etki 50-100 mg/L konsantrasyon aralığındadır. Vitamin E, antioksidan tesiri sebebiyle, kolay oksitlenebilen çeşitli bileşiklerin oksidasyonuna uğramasına engel olur (Baysal 1990).

Bitkiler stres altına girdiklerinde moleküler anlamda da bu şartlara karşı gösterdikleri tepkilerin olduğu bilinmektedir. Bunları genel anlamda üç ayrı şekilde sınıflandırabiliriz.

Makromoleküllerin ve İyonların Homeostazisinde, abiyotik stres koşullarındaki bitki hücre içi su dengesini sağlayamaz. Bunun sebebi stres koşullarında bitkinin ozmotik madde içermesi, bunun hücre içi su kaybını teşvik etmesi ve böylece hücresel iç dengenin bozulmasıdır. Bu şekilde su kaybına uğrayan bitkiler buna karşılık su iletimi ve iyon dengesinin sağlanması ayrıca su geçişinde görev alan hidrofilik kanalların ve bu iyonların taşındığı metabolizmik bölümlerin aktivasyonunu/inaktivasyonunu içerir (Zhu 2000; Munns 2002).

Koruyucu moleküllerin sentezinde, stres altındaki bitkilerin gösterdikleri ikinci tepki ısı şoku proteinleri (Heat-Shock Proteins, HPSP), LEA geç embriyogenesis proteinleri (Late Embryogenesis Abundance) ve ozmolitler gibi maddelerdir.

Ozmolitler, kuraklık stresi altındaki bitkilerde su basıncını dengelemek suretiyle kuraklığa dayanımlarında yardımcı olurlar. Ozmolit, abiyotik stres şartları altındaki bitki hücrelerinin su basıncı dengelerinin korunmasında görev alan bir grup çözünür

maddedir. Bu maddeler su basıncını bitkinin yaprak kısımlarında da dengelediklerinden stomaların iletkenliği artar, fotosentez işlevi sekteye uğramaz ve bitki gelişmesine devam eder. Böylece stres altındaki bitki hücresinin zorda olsa su dengesini muhafaza etmesi ve metabolik faaliyetlerinin devamını sağlaması neticesinde kuraklığa karşı dayanıklılığında artar (Anjum *et al.* 2011). Ozmotik ayarlayıcı ve ozmoprotektan olarak rol oynarlar. Sitoplâzma suyun alıkonmasını sağlarlar ve sodyumun apoplast ve vakuollerde tutulmasını kolaylaştırarak hücresel yapılarını muhafaza etmektedirler (Smirnoff and Cumbes 1989).

Stres altında bulunan bitki hücresinin uygun olan proteinlerin sentezlenmesi ve uygun olmayanlarının inaktive edilmesi gibi hücre içi proteinlerin işlevini yöneten ve hücrede şok proteini gibi davranarak proteinlerin katlanıp üç boyutlu şekil almasını sağlama gibi görevleri olan protein çeşidi ısı şoku proteinleri (Heat-Shock Proteins) dir (Henle *et al.* 1999).

Hasarlanmış ve yanlış katlanmış polipeptitleri bağlama potansiyeline sahip olan ısı şoku proteinleri bu sayede bu polipeptitlerin yıkımını önleyerek potansiyel olarak hücreyi strese karşı korumada rol oynarlar (Chiba *et al.* 2006).

LEA geç embriyogenesis proteinleri (Late Embryogenesis Abundance) ise; stres şartları altındaki bitkilerde savunma sisteminde görev alarak bitkileri strese karşı korudukları bilinmektedir. İlk bitkinin tohum embriyosunda tespit edilmiştir (Holmberg and Bülow 1998). Bu proteinin görevi; bitkide su bağlama kapasitesinin yüksek olması sebebiyle kuraklık şartlarının bitkideki tesirini zayıflatmak ve hücrenin bu şartlara dayanımını arttırmaktır (Sairam and Tyagi 2004).

Bitkiler abiyotik (kuraklık, yüksek veya düşük sıcaklık gibi) ve biyotik (yabancı ot, böcek ve bakteriler gibi) stres koşullarıyla maruz kaldıkları zaman karşılığında çeşitli metabolik tepkiler verirler. Bunlardan biri ise ABA hormonudur. Çeşitli araştırmalarda stres şartlarında bu hormonun arttığı tesbit edilmiştir (Rasmussen 1976; Bozcuk ve Topçuoğlu 1982; Öztürk vd 2004). ABA yani absisik asit bir bitki büyüme hormonudur.

ABA abiyotik stres şartlarından birini yaşayan bitkinin sinyal mekanizmasında etkin görev alır. Abiyotik stres şartlarında bitki hücresinde artan ABA miktarı hücrede turgor kaybına ve stres sinyalinin meydana gelmesine sebep olur. Turgor kaybının meydana gelmesi neticesinde ise; membrana bağlı enzim aktivite dengesi ve plazma membranında bozunma meydana gelir (Himmelbach 1998).

Tüm canlıların genetik bilgisini üzerinde bulunduran ve bunu ileri nesillere de aktarabilen DNA özellikle stres şartlarında kolaylıkla zarar görebilen bir moleküldür. Bu zarar DNA'nın orijinal fiziksel ve kimyasal yapısını değişikliğe uğrattır. İşte stres gibi sebeplerle genlerin üzerindeki bu ifadeler, DNA metilasyonunda meydana gelen azalışla ilişkilidir. Stres altındaki bitkilerde bu durumda ortaya çıkan tepkiler DNA metilasyonu ve genin düzenlenmesinde görev alan döngü ile ilişki halindedir. DNA metilasyonu genel olarak bitkilerin ana reaksiyonlarında kalıcı olmayan farklılıklar meydana getirir. DNA metilasyonunun önemi; hücre farklılaşmasında etkili olması, bitki için önemli bir genomik kuram olması ve gen ifadesinin düzenlenmesinde etkili olmasındandır (Jaligot *et al.* 2004; Suzuki and Bird 2008).

Stres altındaki bitkinin hücresinde bu koşullarda oluşan epigenetik farklılıklardan biri transpozon elementlerin hareketleridir. Bu transpozonların hareketi stres şiddeti arttıkça artış gösterir. Fakat transpozonların bu hareketi eski koşullara geri dönmede ve baskılama sonucunda aktivasyon yerini inaktif haline çevirir. Kuraklık stresi için epigenetik yapıdaki değişimleri gösteren kıstas retrotranspozonlardır (Feschotte *et al.* 2002; Sabot and Schulman 2006). Çünkü retrotranspozonlar transpozonların DNA transpozonlarına göre daha bol üyesi ve canlı genom miktarınca en fazla sayıda ve etkin olanıdır (Feschotte *et al.* 2002; Sabot and Schulman 2006).

Barbara McClintock bilim anlamında ilk defa transpozonları keşfeden kişidir. 1940 yılında bu keşfi yapmıştır. Mısır bitkisini incelemiştir. Bu keşfinden dolayı 1983 yılında Nobel ödülü almıştır. Transpozon elementi içerisindeki insersiyon, delesyon, translokasyonu fark etmiş bu yönde çalışma yapmıştır. Genomdaki bu değişiklik mısır tanesinin renginde değişmelere sebep olmuştur (McClintock 1950). Canlı hücresinin

genomunda farklı yerlere hareket edebilen DNA dizileri transpozonlardır. Bu hareket neticesinde canlının genetik yapısında mutasyonlar ve genomdaki DNA da miktar farklılaşması görülür. Mobil element olarak da adlandırılırlar. Canlı genom yoğunluğuna bakıldığında bunun içinde transpozonlar geniş yer tutar. Transpozonlar transpozisyon yani hareket ediş şekillerine göre; Retrotranspozonlar yani sınıf I transpozonlar ve DNA transpozonları yani sınıf II transpozonlar olarak iki gruba ayrılırlar. İlki olan retrotranspozonlar; kendini kopyalamasında RNA'yı yardımcı ürün olarak kullanır (Lewin 1999). Bu şekilde hareket eder. DNA transpozonları ise RNA'yı yardımcı ürün olarak kullanmaz. Hareket mekanizması ise kendini kopyalama veya kendi etrafında bulunan DNA'dan bir bölümü enzimler yardımıyla keserek ayrı bir yere taşıması şeklinde gerçekleşir. Transpozonların bu hareket mekanizmaları sebebiyle bilimde DNA'yı değiştirmek için uygulanan yöntemlerde kullanılan yardımcı bir üründür (Quesneville 2005; Kidwell 2005).

Kuraklık stresine karşı moleküler mekanizma; moleküler değişim, azaltılmış toprak su içeriği ve kuraklık koşullarında bitki hücresinde oluşabilir. Bu mekanizmada yukarı ve aşağı gen ifadesi yer alır. Çeşitli genler kuraklık karşısında transkripsiyona neden olur. Oluşan gen düzeyi ve ürünlerin kuraklıktan tolerans mekanizması nedeni ile olduğu düşünülmektedir (Kavar *et al.* 2007). Doğrudan stres koşullarındaki bitkide veya stres koşullarındaki etkilenmede ikinci neden gen ifadesindeki değişimler olabilir. Kuraklıkta tolerans mekanizması pek çok canlıda ortak olarak görülen karmaşık bir olgudur (Mazzucotelli *et al.* 2008).



Sekil 1.4. Erken ve geç yanıt genlerinde regülasyonunun transkripsiyon faktörlerini kodlaması (Sairam and Tyagi 2004).

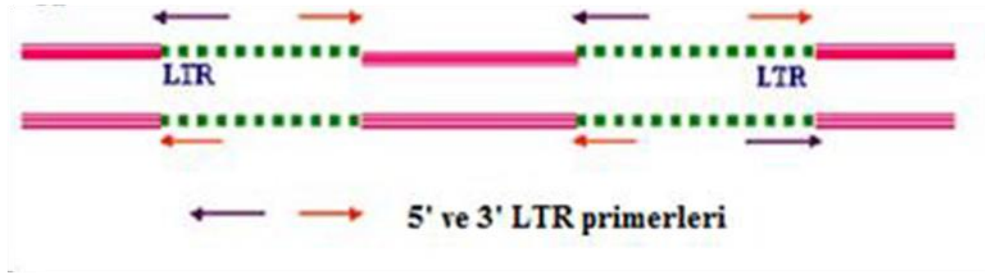
Stres şartları altında bitki metabolizmasında teşvik edilen genler ‘erken yanıt geni’ ‘(early response gene)’ ve ‘gecikmiş yanıt geni’ ‘(delayed response gene)’ olarak iki gruba ayrılmaktadır (Sekil 1.4) (Sairam and Tyagi 2004). Erken yanıt genlerinin çalışma mekanizması oldukça hızlı (dakikalar içerisinde) ve geçici şekilde ifade edilmektedir. Teşvik denince yeni stres proteinlerinin oluşturulması akla gelmemelidir. Bunun nedeni de bünyesindeki sinyal metabolizmasının varlığıdır. Geç yanıt genleri ise çalışma mekanizması oldukça yavaş (saatler içerisinde) olan ve devamlı şekilde teşvik edilen genlerdir. Örneğin tuza duyarlı genlerin büyük çoğunluğu böyledir. Erken yanıt genleri, geç yanıt genlerini son aşamada teşvik eden transkripsiyon girdilerini kodlamaktadır (Kalefetoğlu ve Ekmekçi 2005).

Canlı genomundaki genetik değişimlerin belirlendiği teknikler moleküler markır teknikleridir. Gen ifade analizleri bitkinin stres koşulları altındayken gen durumundaki değişimin belirlenmesi için de kullanılır. Bu analizler için hibridizasyona dayalı mikroarray yöntemi kullanılabileceği gibi, yeni teknolojilerden de yararlanılarak RNA

transkriptlerinin incelenmesine dayalı RNAseq yöntemide uygulanabilir (Marioni *et al.* 2008). Bitki genomunun moleküler bazda anlaşılabilen birçok özelliği ve görevi gen ifade analizleri sayesinde açığa kavuşur. Bu analizler; abiyotik stres koşulları altındaki bitkinin stres karşısında mekanizmasının izahında ve bu mekanizma ile ilgili genlerin ifade edilmesinde ihtiyaç duyulan yöntemlerdendir. Gen ifade analizleri neticesinde elde edilen bilgilerden daha sonra stres koşullarına dayanıklı bitki ıslahı eldesinde de yararlanılır. Gen ifade analizleri ilk uygulandığı yıllarda northern blot tekniğinden faydalanılmaktaydı. Günümüzde uygulanan yöntemler ise hibridizasyon esaslı mikroarray, dizileme yöntemi ile transkript profillerinin çıkarılması (RNA-seq) ve kantitatif yaklaşım olan fakat belirli sayıda genin incelendiği qRT-PCR dir (Galbraith and Birnbaum 2006).

Moleküler markır, genom üzerindeki herhangi bir gen bölgesi veya bu bölge ile ilişkili bir DNA parçası olarak ifade edilebilir. Moleküler markır yöntemleri, polimeraz zincir reaksiyonuna bağlı olmayanlar (RFLP) ve bağlı olanlar (RAPD, AFLP, SSR) olarak gruplandırılırlar (Staub *et al.* 1996; Ridout and Donini 1999).

Retrotranspozon temelli moleküler marker yöntemlerinden biride IRAP'tır (Inter-Retrotransposon Amplified Polymorphism) (Kalendar *et al.* 1999). IRAP metodunda ilk aşamada tekrar içeren retroelementleri tespit eder ve IRAP primeri bu bölgelere bağlanır. Daha sonra iki retroelement (LTR bölgesi) arasındaki DNA parçasını çoğaltır. Çoğaltımda 3'-5' ve 5'-3' olarak iki yönlü meydana gelen kopyala- yapıştır transpozisyon yöntemi uygulanır. Bu çoğaltım şekli; gen yani kopya kümelerinin 3 ayrı yönde (kuyruktan kuyruğa, baştan başa ve baştan kuyruğa) olmasını sağlar (Şekil 1.5.) (Agarwal *et al.* 2008). Bu metodla amaçlanan aktif polimorfizmin belirlenmesidir (Kalendar *et al.* 2011). IRAP metodu ile restriksiyon enzimleri ile kesme işlemine ve markır bantlarını çoğaltmak için ligasyon enzimine ihtiyaç duyulmaz (Mansour 2008).



Şekil 1.5. Retrotranspozon markerlerinin işleyiş esası. IRAP markerleri, LTR hedef sekanslara bağlanan primerler kullanılarak iki LTR'nin yakınlığı tekniği ile meydana gelmektedir (Agarwal *et al.* 2008).

Bu araştırma, ekmeklik buğdayda kuraklık stresinin neden olduğu bazı fizyolojik ve moleküler değişimler ile bu değişimleri önlemede α - tokoferolün etkilerini belirlemek için yürütülmüştür.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

İnsan nüfusunun beslenmesindeki sorunların artmasının nedeni; Dünya nüfus yoğunluğunun gittikçe artması, tarım arazilerinin sınırlı düzeyde kalması ve tarım ürünlerinin en yüksek düzeyde verimle elde edilememesidir (Süzer 1992). Bu sorunun çözümünde en uygulanabilir yöntem tarım ürünlerinin verim düzeyinin artırılmasıdır. İnsan beslenmesinde ise tarım ürünleri düşünüldüğünde ilk akla gelen buğdaydır. Buğdayın önemini oluşturan öğeler ise; adaptasyon yeteneğinin yüksekliği, işleme ve depolanmasındaki kolaylık, ekmeğin hammaddesi yani unun buğdaydan elde edilmesi, buğday tanesinin besin değerinin yüksekliği sayılabilir (Kün 1983). Buğday, içeriğindeki mineral maddelerince (çinko, bakır, demir, potasyum, manganez, fosfor, magnezyum ve selenyum) zengin; B6 vitamini, E vitamini, K vitamini, niyasin, tiamin, folat, riboflavin ve pantotenik asit vitaminlerini içeren; 100 gramında 339,0 kcal ile doyurucu bir besindir (Gökbulut 2010).

Abiyotik stres faktörleri ve bunlar içerisinde özellikle kuraklık stresi; bitkinin metabolizmasını tamamen etkiler, bitkinin büyüme ve gelişmesini sınırlandırır, özellikle ürün veriminde düşüşe sebep olur. Artan şiddet şartlarında bitkinin ölümüne bile neden olur. Bu durumda bitki canlılık faaliyetlerini sürdürebilmek için reaktif oksijen moleküllerini üretmesi, büyümesi ve fotosentez aktivitesinde azalma gibi birçok tepkiler meydana getirir (Özcan vd 2001; Yediyıldız 2008).

Tarım arazilerinin stresten etkilenme oranı %26 ile en fazla kuraklık stresi ile görülmektedir. Bu stres çeşitleri çok etkilenme sırasına göre; tuz stresi, soğuk ve don stresi şeklinde devam etmektedir (Blum 1986). Bitkilerde büyüme ve gelişmeyi en fazla etkileyen stres çeşidi kuraklıktır. Stres altındaki bitkilerde fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler tepkiler uyarılır, bu tepkiler neticesinde kuraklık şartları çok şiddetli değilse bitki bu şartlara adapte olmasını sağlayacak tolerans mekanizmalarını ortaya çıkarır (Arora *et al.* 2002). Anwer *et al.* (2004) tarafından yapılan çalışmada, *Anthoranthum odoratum* bitkisinde artan PEG konsantrasyonu ile birlikte kök ve sürgün uzunluğu önemli derecede azaldığı tespit edilmiştir.

Kuraklık bitki büyümesi ve gelişimini etkileyen önemli bir stres faktörüdür. Rauf *et al* (2007), 16 yerel buğday genotipini 4 ayrı kontrollü kuraklık stresinde (polietilen glikol PEG 6000 ile oluşturulan) yetiştirmişler, denemede çimlenme yüzdesi, çimlenme oranı, sürgün uzunluğu, kök uzunluğu, taze ve kuru kök ağırlığı, sürgün/kök oranı incelenmiştir. Çeşitler kuraklığa karşı farklı tepkiler vermiştir. PK-18199 çeşidinin kuraklık stresi altında çimlenme yüzdesi, çimlenme oran indeksi, sürgün-kök uzunluğu, koleoptil uzunluğu, taze ve kuru sürgün ağırlığı, taze ve kuru kök ağırlığı değerlerinde maksimum veriler elde edildiği; PK-18175' çeşidinin kuraklığa karşı maksimum direnç gösterdiği, WAFAQ 200 çeşidinin tepkisinin önceki çeşide göre tersi yönde olduğu, 98FJ03 çeşidinin kuraklık stresine karşı tepkisinde kök/sürgün oran uzunluğu maksimum olurken, aynı değer PK 18199 genotipinde minimum bulunmuştur.

Kaydan ve Yağmur (2008) tarafından yapılan çalışmada, tritikale küçük-orta ve iri olmak üzere üç ayrı tohum çeşidi ile kontrollü koşullarda PEG 6000 ile oluşturulmuş 5 ayrı osmotik basınç ortamının (0, -0.45, -0.77, -1.03, -1.44 MPa), çimlenme oranı, kök uzunluğu, fide boyu, kök kuru ağırlığı, fide kuru ağırlığı ve oransal nem içeriğine olan etkisi incelenmiştir. Bu değerler bu osmotik basınç ortamlarında düşüş göstermiştir. Tohum iriliği bakımından deneme yorumlandığında, küçük tohumların çimlenmesiyle oluşan fidelerin kuraklık stresine karşı dayanıklılığı, büyük tohumlu fidelere karşı daha az olduğu tespit edilmiştir.

Jajarmi (2009), 7 farklı buğday genotipinde PEG 6000 ile hazırlanan 6 farklı osmotik basınç ortamında (0, -3, -6, -9, -12, ve -15 bar) çimlenme oranı ve süresi, kök uzunluğu, ve fide boyunu incelemişlerdir. Bu değerlerden kuraklık stresi arttıkça, çimlenme oranı düşmüş, kök uzunluğu ile fide boyu azalmış, buna karşın çimlenme süresi ise artmıştır.

Kuraklığın öncelikli etkisi çimlenmeyi ve fide tesisinin kurulumunu engellemesidir. Datta *et al.* (2011), 5 buğday çeşidine (K 9107, HD 2954, RAJ 4125, HUW 234, NW 203) laboratuvar şartlarında kuraklık stresi uygulamışlardır. Denemede kuraklığın bitkinin morfo-fizyolojik özellikleri (tohum tarafından su alımı, bağıl su içeriği, yaş ağırlık, kuru ağırlık, çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu, sürgün uzunluğu, tolerans

indeksi) ile ilişkisi gözlemlenmiştir. Bu gözlem sonucu elde edilen sonuçlarda özellikle RAJ 4125 çeşidinde, kuraklık tolerans indeksi ile çimlenme oranı arasında önemli derecede bir ilişki tespit edilmiştir.

Shpiller and Blum (1991), buğdayın kuraklık stresine karşı verim seviyesindeki en fazla düşüşün çiçeklenme dönemine kadar geçen dönem olduğunu belirtmişlerdir. Giunta *et al.* (1993) ise, çiçeklenme döneminde kuraklığın fertil başakçık sayısını azaltarak verimde düşüşe sebep olduğunu bildirmişlerdir.

Kuraklık stresi canlı organizmalarda bitkinin büyüme ve gelişmesini önemli derecede etkileyen ve en çok görülen stres çeşididir (Lewitt 1972). Özellikle bitkilerde iklim şartlarına bağlı olarak yetiştikleri için oldukça sınırlayıcı bir stres çeşidi olan kuraklık, bitkiye etki ettiği süreye ve kuraklığın şiddetine bağlı olarak da sınırlayıcı etkisini artırır (Mosaad *et al.* 1993). Bu sınırlandırıcı etki bitkinin kalitesinde düşüş, verimde azalma ve elde edilen üründe hissedilir şekilde kayıplar olarak kendini gösterir.

Kurak stresinin “Dogu-88” kışlık buğday genotipinin verim ve gelişmesi üzerine olan etkisinin incelendiği bir çalışmada (Öztürk 1998), bitkiler sulu koşullar, kuru koşullar, erken kuraklık, geç kuraklık ve tam kuraklık olmak üzere 4 ayrı koşulda yetiştirilmiştir. Araştırma sonucunda, erken kuraklık; sulu koşullar a göre birim alandaki tane sayısını %44.4, 1000 tane ağırlığını %6.9, tane verimini ise %40.6 oranında azalmıştır. Yine, araştırmada, geç kuraklığın yeşil dokulardaki yaşlanmayı hızlandırması nedeniyle daha kısa yeşil alan süresine (27.5 gün), daha düşük 1000 tane ağırlığına (3.8 g) ve tane veriminde azalmaya (%24.0) neden olmuştur. Tam kuraklık, sulu koşullara göre birim alandaki tane sayısını %54.9, tane ağırlığını %19.9, tane verimini ise %65.6 oranında azaltmıştır. Erken kuraklığın tane verimine olumsuz etkisi geç kuraklığa göre daha fazla olduğu görülmüştür.

Sekiz ekmeklik buğday genotipi ve on dokuz ileri buğday hattı yapılan bir çalışmada (Başer vd 2005) kuraklığın başaklanma gün sayısı, tane dolum süresi, bitki boyu, bayrak yaprak alanı, mumsuluk oranı, stoma sayısı, yaprak su tutma yeteneği üzerine olan

etkisi incelenmiştir. Araştırma sonucunda; kuraklığa dayanıklı verimi yüksek genotip seçiminde seleksiyon kriterleri olarak yaprak su tutma yeteneği, tane dolum süresi ve bayrak yaprak alanı özelliklerinin kullanılabileceği belirlenmiştir. Yine araştırmada, yaprak aksamının mumsu tabaka ile kaplanması tane verimi üzerine olumlu bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Gupta *et al.* (2001) tarafından, biri kuraklık stresine dayanıklı diğeri ise hassas iki buğday çeşidi kullanarak yapılan çalışmada kuraklık stresi 2 ayrı dönemde (1. sapa kalkma döneminde ve 2. başaklanma dönemi) sulamanın kesilmesi ile uygulanmıştır. Çalışmanın sonucunda başaklanma döneminde uygulanan kuraklık stresi, sap kuru ağırlığını, başaktaki tane sayısını, hektolitre ağırlığını, tane verimini, biyolojik verimi ve hassaslık indeksi değerlerini düşürdüğünü; sapa kalkma döneminde uygulanan kuraklık stresinin ise bitki boyunu kısalttığını ve fertil kardeş sayısını önemli derecede azalttığını tespit etmiştir.

Kılıç ve Yağbasanlar (2010), Diyarbakır şartlarında 14 farklı makarnalık buğday çeşidini kullanarak yaptıkları çalışmada; çeşitleri iyi sulanmış (kardeşlenme sonunda, çiçeklenmeden hemen sonra ve süt olum döneminde birer kez sulanmış) ve doğal kurak koşullarda yetiştirmişlerdir. İyi sulanmış koşullara göre doğal kuraklık koşullarını kıyasladıklarında; başaklanma gün sayısı, tane dolum süresi, olgunlaşma gün sayısı, m²'deki başak sayısı, bitki boyu, üst boğum arası uzunluğu, başak uzunluğu, başak ağırlığı, başakta tane sayısı, 1000 tane ağırlığı ve en önemlisi olan tane veriminde önemli oranda azalma tespit etmişlerdir.

Bitkilerde verimi belirleyici birçok fizyolojik süreçler su stresinden etkilenmektedir. Kuraklık stresinin farklı makarnalık buğday çeşitlerinin fizyolojik özellikleri üzerine olan etkilerinin incelendiği bir çalışmada (Abdullah *et al.* 2011), kuraklığa duyarlı ve dayanıklı çeşitler farklı yağış ortamlarında yetiştirilmiştir. Bu ortamda yetişen bitkilerin klorofil içeriği, klorofil floresans özellikleri, membran stabilite indeksi ve oransal su içeriği değerlerini araştırmışlardır. Bu değerler kuraklık şiddetinin daha fazla olduğu

bölgelerde yetişen bitkilerde daha düşük çıkmıştır. Bu bitkiler arasında kuraklığa hassas çeşitlerde dayanıklı çeşitlere göre değerlerin düşme derecesi daha fazla olmuştur.

Araus *et al.* (1998) tarafından yapılan araştırmada; bitkilerin çiçeklenmeden sonraki gelişme evresinde bayrak yaprak aksamının floresans ölçümü yapmışlar, Fo, Fv, Fm, Fv/Fm değerlerini elde etmişlerdir. Yetiştirme şartlarının Fv ve Fm şartları dışında floresans özelliği ve verim değerleri üzerine etkisinin fazla olduğu, Fo şartında yapılan tespitin 2. kalıtılabilir özellikken Fv/Fm şartında yapılan tespitin daha az kalıtılabilir bir özellik olduğu, sulamalı ve kurak şartlar arasında klorofil floresans parametre değişikliklerinin yaşlanma ile paralellik gösterdiği sonucuna varılmıştır.

Taş (2007) tarafından yapılan çalışmada; iki makarnalık, iki ekmeklik buğday olmak üzere dört buğday çeşidinde kuraklık stresi uygulanmış, bu stres altında bitkinin gelişimi gözlenmiştir. Bu buğday genotipleri saksı şartlarında yetiştirilmiş, kuraklık koşulları ise; tek yapraklı dönemden itibaren 50, 60 ve 70. günde sulama işlemine son verilerek kuraklık stresi oluşturulmuş, kontrol grubu ise düzenli sulanmıştır. Araştırma sonucunda, kuraklık şartlarında yetişen bitkilerde bitki boyu %9.87, bitki başına kuru madde oranında %25.85 azalma tespit edilmiştir. Bunun dışında deneme sırasında bakılan diğer parametrelerde de (oransal nem içeriği, membran stabilite indeksi ve klorofil içeriği) azalmalar tespit edilmiştir.

Bogale *et al.* (2011) tarafından yapılan bir çalışmada, kuraklık stresi altında yetişen makarnalık buğday çeşitlerinin bu stres şartlarına karşı morfolojik ve fizyolojik yapılarındaki tepkilerini araştırmışlardır. Kuraklığın klorofil floresans özelliği ve stoma iletkenliğine olan etkisi daha fazla olmuştur. Bu etki hem tane dolum hem de çiçeklenme döneminde devam etmiştir. Klorofil floresans özelliği ve stoma iletkenliği değerleri dışında aynı çalışmada spesifik yaprak ağırlığı ve oransal su içeriği de incelenmiştir. Oransal su içeriği stres şartlarında %36,7 azalırken, sulanan şartlarda %12,6 artış göstermiştir. Kardeşlenme aşamasındaki su stresinde kontrolle karşılaştırıldığında Fo değerinde artış gözlenirken Fv, Fm ve Fv/Fm değerlerinde azalış görülmüştür.

Geravandi *et al.* (2011) tarafından İran'da yapılan denemede, kuraklık stresi koşullarında (Çiçeklenmeden sonrası) 20 ekmeklik buğday çeşidinde tane verimi, klorofil içeriği (SPAD) ve oransal nem içeriği incelenmiştir. Araştırma sonucunda, kuraklık şartlarda yetişen çeşitlerin tane verimi, klorofil içeriği ve oransal nem içeriği değerlerinde azalma; pirolin değerinde ise artma tespit edilmiştir.

Çevre şartlarına bağlı olarak bitki bünyesindeki su içeriği %30'un altına düştüğünde kloroplast hücre membran hasarı oluşur. Böylece fotosentez oranında düşme görülür (Kaiser 1987). Bazı araştırmacılar, stres şartlarından en önemlisi olan kuraklığın bitkide nispi su içeriğinde de düşüşe sebep olduğunu tespit etmişlerdir (Fu and Huang 2001; Egert and Tevini 2002; Liu and Stützel 2002; Kalefetoğlu 2006).

Zhang and Kirkham (1996) tarafından yapılan çalışmada; sorgum ve ayçiçeği bitkilerinin nispi nem içerikleri, antioksidan enzim aktiviteleri, MDA değerleri, askorbik asit, karoten ve klorofil değerleri incelenmiştir. Denemede sorgum C4 bitkisi olarak, ayçiçeği ise C3 bitkisi kuraklık stresi altında yetiştirilmiştir. Araştırma neticesinde yaprak su içeriği ve nispi nem içeriği değerlerinde bir azalma tespit edilmiş, C3 bitkisinde düşüşün daha fazla oranda olduğu, yine aynı bitkide yaprak su içeriği C4 bitkisine göre daha fazla olduğu sonucuna varılmıştır.

Dhanda and Sethi (1998) tarafından yapılan araştırmada, iki dayanıklı ekmeklik buğday çeşidi, iki orta dayanıklı çeşit ve iki hassas çeşit olmak üzere altı ayrı ekmeklik buğday çeşidini kuraklık stresine tabi tutarak bu stresin su tutma kapasitesi ve nispi nem içeriği ölçülmek suretiyle değerlendirilmiştir. Bitkiye kuraklık stres şartlarına sapa kalkma dönemi ile çiçeklenme dönemi olarak iki ayrı dönemde maruz bırakılmıştır. Araştırma neticesinde, bitkinin çiçeklenme dönemine ait kuraklık şartlarında seleksiyon kriteri olarak nispi nem içeriği değerinin dikkate alınabileceğini, yaprak su tutma kapasite değerinin ise bu iki kuraklık döneminde seleksiyon değerinde kullanılabilmesi için güvenli olabileceği sonucuna varmışlardır.

Öztürk (1999) tarafından yapılan çalışmada, ekmeklik buğday çeşitlerinde kuraklık stresine karşı dayanıklılık konusunu incelemek amacıyla 1995-96 ve 1996-97 yıllarında yapılan denemede 26 buğday genotipi Erzurum şartlarında yetiştirilmiştir. Yaprak nispi su içeriği (YNSİ), yaprak nispi su kaybı (YNSK) ve kurağa duyarlılık indeksi (KDİ) parametreleri kuraklık stresine dayanıklılık yönünden incelenmiştir. Genotipler arasında farklılıklar tespit edilmiş, kuru koşullar altındaki YNSİ %74,0-81,6, YNSK 0.391-0.636 g/g/s, KDİ parametreleri ise 0.59-1.59 arasında değişim göstermiştir. YNSİ parametre değerinin yüksek, YNSK ve KDİ parametre değerinin ise düşük çıkması nedeni ile Dağdaş-94, Doğu-88, Haymana-79 ve Yayla-305 genotiplerinin, diğer çeşitlere göre kuraklık stresine daha dayanıklı oldukları tespit edilmiştir. Bunun dışındaki Bezostaja- 1, Karasu- 90, SXL/VEE “S”, Turkey-13 ve Tir çeşitleri ise kurak stresine karşı en duyarlı genotipler oldukları görüşüne varılmıştır.

Sairam *et al.* (2000) kuraklık stresinin bitkide meydana getirdiği değişiklikleri incelemek için yaptıkları denemede beş ayrı buğday çeşidi kullanılmıştır. Denemede membran stabilitesi, nispi nem ve askorbik asit miktarına bakılmıştır. Kuraklık stresi membran stabilitesi, nispi nem ve askorbik asit miktarını düşürmüş, lipid peroksidasyon ile hidrojen peroksit miktarını yükseltmiştir. Kuraklığa dayanıklı ve hassas çeşitlerde bu durum değerlendirildiğinde ise dayanıklı çeşit buğdaylarda membran stabilitesi, askorbik asit miktarı ve nispi nem miktarı hassas buğday çeşitlerine göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bunun dışındaki lipid peroksidasyon oranı ile hidrojen peroksit miktarı kuraklığa dayanıksız buğday çeşitlerinde daha yüksek bulunmuştur.

Merah (2001) tarafından yapılan çalışmada, 144 makarnalık buğday genotipinde kuraklık göstergesi olabileceği düşünülen oransal nem içeriği ile ozmotik potansiyel, verim, hasat indeksi değerleri incelenmiştir. Araştırma sonucunda ozmotik potansiyel ile oransal nem içeriğinin kuraklığa dayanıklılık kriteri olarak kullanılabileceğini tespit etmişlerdir.

Larbi and Mekliche (2004) tarafından kurak ve sulu ortamlarda, ekmeklik buğday ve makarnalık buğday çeşitlerinin yaprak oransal nem içeriği ve yaprak yeşil kalma süresi

ile verim ilişkileri incelenmiştir. Araştırma sonucunda sulu şartlarda oransal nem içeriğinde makarnalık ve ekmeklik buğday arasında fark bulunamamış, ancak kurak şartlarda makarnalık buğdaydaki su kaybı ekmeklik buğdaydaki su kaybından daha fazla bulunmuş, yaprak yeşil kalma süreleri aynı fakat kuraklık stresi altındaki yaprak sararma hızı ise makarnalık buğdayda ekmeklik buğdaya göre daha fazla olmuştur.

Sayar *et al.* (2008) tarafından yapılan çalışmada, makarnalık buğday çeşitleri kuraklık stresi altında yetiştirilmiştir. Yetiştirme şartları; 5 farklı osmotik basınç koşullarında (0, 0.2, -0.4, -0.6 ve -0.8 MPa.) 25°C'de 7 gün boyunca çimlendirilmiş; çimlenme oranı, yaprak-su potansiyeli ve klorofil floresansı incelenmiştir. Kuraklık şiddeti arttıkça klorofil floresans oranında %16-63, çimlenme oranında %9-28 düşüş tespit edilmiştir. Kuraklıkta artış buğdayda yaprak-su potansiyelini azaltmıştır.

Kuraklık stresinde bitkinin zarar gördüğü metabolizmalarından biri de fotosentezdir. Bitkide yaprak alanı ve yaprağın klorofil içeriği fotosentetik aktiviteside fotosentez hızı için oldukça önemlidir. Bitkide bu olayların istenilen şekilde gelişmesi ise yeterli su miktarına sahip olduğu takdirde gerçekleşir. Stres şartlarında bitkide fotosentezin stomalar tarafından kontrolü ve stomalar dışındaki faktörlerce kontrolü olarak iki şekilde fotosentezde yavaşlama olur (Çırak ve Esendal 2006).

Ommen *et al.* (1999) tarafından kışlık buğday üzerine yapılan araştırmada, optimum yetiştirme koşullarındaki bitkilerin maksimum klorofil içeriğinin (tozlanma dönemi) 460-500 mg m⁻² değerleri arasında değişim gösterdiğini tespit etmiştir. Kuraklık stresine maruz bırakılan bitkilerde artan şekilde klorofil yıkımlarının oluştuğu gözlenmiştir.

Koç vd (2003) tarafından Çukurova yöresinde gerçekleştirilen çalışmada, 12 adet makarnalık buğday çeşidi kullanılmıştır. Çalışmada genotipler, fotosentez hızı, verim ve yeşil kalma süresi bakımından değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda verim ile fotosentez hızı ve yeşil kalma süresinin ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır.

Kuraklık şartları altındaki bitkinin fotosentez mekanizmasına ilişkin özellikleri ile kuraklık stresine dayanıklılığı arasındaki ilişkinin incelendiği bir çalışmada (Rong-hua *et al.* 2006), 4 ayrı arpa çeşidi kullanmıştır. Stres altında klorofil yapısında bozulma olan çeşitlerin verim kriterleride azalma tespit edilmiştir. Deneme sonucu tespit edilen bu durumun kuraklık stresine dayanıklı çeşit eldesi için seleksiyon kriteri olarak kabul edilebileceğini belirtmişlerdir.

Zhang *et al.* (2006) tarafından gerçekleştirilen tarla denemesinde yaprak aksamının fotosentetik özellikleri araştırılmıştır. Araştırma için iki ayrı yazlık ekmeklik buğday çeşidi ile çalışılmıştır. Fotosentez aktivitesinin en fazla olduğu dönem bayrak yaprak çıkışının 10 gün sonrası olduğu gözlemlenmiş ve bu gelişme dönemi sararmanın da başlangıcı olduğu kabul edilmiştir. Bayrak yaprak çıkışının 27 gün sonrasında ise fotosentez aktivitesinde azalma tespit edilmiş, ekmeklik buğday çeşidinden biri olan NM9 genotipinin, diğer NM8 genotipine oranla daha yüksek klorofil içerdiğini ve daha fazla klorofil a/b oranına sahip olduğunu, klorofildeki düşüşün diğer genotipe oranla daha yavaş olduğunu ve bunun sonucunda bayrak yaprağının yeşil kalma süresinin daha fazla uzadığı gözlemlenmiştir. Çalışma sonucunda verim yüksekliği ile yaprağın yeşil kalma süresi kriterleri arasında ilişki tespit edilmiştir.

Karimiziadeh *et al.* (2011), kuraklık stresinde bitki örtüsü sıcaklığı ve klorofil içeriğini incelemiştir. Çalışmada 6 makarnalık buğday çeşidi kullanılmıştır. Araştırma neticesinde bitki örtüsü sıcaklığındaki düşme ile klorofil içeriği parametrelerinin verim açısından önemli olduğunu ve bu özelliklerden seleksiyonda yararlanılabileceğini tespit etmişlerdir.

Yıldırım vd (2011) tarafından yapılan çalışmada, 2005-2006 yılları arasında Diyarbakır bölgesinde iki ayrı yörede yetiştirilen buğday çeşitlerinde klorofil ölçümleri (SPAD) yapılmıştır. Bu deneme için 25 ayrı makarnalık buğday çeşidi yetiştirilmiştir. SPAD okumalarını iki ayrı dönemde (erken ve süt olum dönemi) gerçekleştirmişlerdir. Elde edilen bu değerler tane verimi, kalite ve verim parametreleri ile ilişkisi yönüyle incelenmiştir. İncelemede tane verimi hesabının sulu koşullarda ve yağışa bağımlı

koşullarda tane sayısı ile hesap edilebileceğini ve SPAD okumalarının makarnalık buğday için yüksek verimli çeşit belirlemede seleksiyon kriteri olarak kullanılabileceğini de belirtmişlerdir.

Shefazadeh *et al* (2012) tarafından yapılan çalışmada, makarnalık buğday çeşitlerinde kuraklığa dayanıklılık mekanizmasını araştırmışlardır. Çalışmada, bayrak yaprak klorofil içeriği ve bitki örtüsü sıcaklığına bakılmıştır. Gelişme dönemlerine göre klorofil içerikleri, başaklanma başlangıcında düşük, başaklanma ileri döneminde en yüksek, tane doldurma döneminde düşük, tam olum dönemine doğru iyice azalmış olduğunu tespit etmişlerdir. Bu araştırma ile makarnalık buğday için bayrak yaprak klorofil içeriğinin kurağa toleransın çeşitleri tanımada aktif rol üstlendiği, kuraklık şartları altında klorofil içeriği fazla olan çeşitlerin az değişen verim değerine sahip olduklarını gözlemlemişlerdir.

Kuraklık stresi altındaki bitkide stoma regülasyonu da zarar görmektedir. Bunun yanında kuraklık stresine adapte olan bitkilerde transpirasyon oranı düşük, stomaların iletkenliği ise yüksek bulunmuştur (Makbul *et al.* 2011).

El-Hafid *et al* (1998) tarafından yapılan çalışma 6 makarnalık buğday çeşidi 4 farklı sulama koşulunda (I. Kontrol olarak iyi bir sulanan, II. Çıkıştan kardeşlenme dönemine kadar sulama yapılmayan, III. Çıkıştan kardeşlenme yarı dönemine kadar sulama yapılmayan, IV. Çıkıştan kardeşlenme son dönemine kadar sulama yapılmayan) yetiştirilmiştir. Araştırmada, karbondioksit değişim oranı, net fotosentez oranı, su kaybı, stoma ve su kullanım iletkenliği, oransal nem içeriği incelenmiştir. Araştırma sonunda kuraklık şiddeti ile karbondioksit değişim oranı, su kaybı ve net fotosentez oranının ters orantılı olduğu sonucuna varmışlardır. Düşük dirençli çeşitlerde kuraklık şiddetinin azalması ile stoma iletkenliği ve su kullanım etkinliği azalmıştır. Çalışma sonucunda, karbondioksit değişim oranının, su kayıp oranının, düşük stoma direncinin, oransal nem içeriğinin ve osmotik ayarlamaların kriterlerinin kuraklık şiddetine dayanıklı çeşit ıslahı için uygun kriterler olduğunu bildirmişlerdir.

Fischer *et al.* (1998) tarafından 8 yazlık ekmeklik buğday çeşidinde yapılan çalışmada, yaprak sıcaklığı, stoma iletkenliği, fotosentez hızı ve verim incelenmiştir. İlk üç kriter arasında olumlu ilişkiler tespit edilmiş, en fazla ilişki stoma iletkenliği ile verim arasında bulunmuştur. Bitkilerin yetiştiği yıl ortalamasına göre fotosentez hızı %23, verim %27, stoma iletkenliği %63 artmıştır.

Bahar vd (2004) tarafınca yapılan çalışmada, Çukurova bölgesinde yazlık makarnalık buğday çeşidinin verim ve stoma iletkenliği özellikleri arasındaki ilişkileri incelenmiştir. Erken süt olum, geç süt olum ve erken olgunluk olarak üç ayrı dönemde stoma iletkenliği ölçümü yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar arasında farklılıklar gözlemlenmiştir. Erken süt olum döneminde, stoma iletkenliği ile tane verimi, başakta tane sayısı, başak verimi ve başak uzunluğu değerleri arasında pozitif bir ilişki tespit edilmiştir. Yapılan çalışma bu bölgede yetişen buğdayın ıslahı için stoma iletkenliğinin bir seleksiyon kriteri olarak kabul edilebileceğini göstermiştir.

Kuraklık stresi altında bitki hücresinde görülen su kaybıyla beraber, hücre membranında farklılık gösterir ve bu değişiklik membran yapısında bulunan lipidlerin sıvı-katı fazında normalden daha düşük kinetik enerjiyle lateral ayrıca rotasyonel hareket meydana getirmektedir. Kuraklıkta su kaybeden hücrenin hacmide azalır ve hücrede plazma membranının ayrılmasıyla plazmoliz olayı gerçekleşir. Gerilen plazma membranında yırtılma ve çökmeler meydana gelebilir ve bu durum kalıcı olarak meydana gelir (Kutlu 2010).

Dhanda *et al.* (2004) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, 30 ayrı ekmeklik buğday çeşidi kuraklık stresine maruz bırakılmış; membran stabilitesi, çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu, sap uzunluğu, kök/sap oranı, koleoptil uzunluğu incelenmiştir. Kuraklık stresine en fazla dayanan çeşit özelliği olarak membran stabilitesi, bunun ardından ise kök/sap oranı tespit edilmiştir.

Shafeeq *et al.* (2006) tarafından yapılan araştırmada, buğday sulu ve kuru şartlara maruz bırakılmış ve bu ortamlardaki çeşitlerin membran zararlanma değerleri incelenmiştir.

Sulu şartlar ve kuru koşullar karşılaştırıldığında, kuraklık şartlarında membran zararlanmasının artış gösterdiği tespit edilmiş ve en fazla zararın Basribey (%70.9), Golia (%70.0) ve Sagittario (%62.9) genotiplerinde meydana geldiği belirlenmiştir. Kuraklık stresi altındaki buğdayın incelenmesi neticesinde, bu şartlar için seçilebilecek en uygun parametrenin hücre membran zararlanması olduğu tespit edilmiştir.

Yıldırım vd (2009) tarafından yapılan çalışma, tarla şartlarında yapılan 4 ayrı yazlık buğday anacı ve bunlara ait altı F_2 diallel melez döllerinde, iki ayrı metotla (MTS, yüksek sıcaklık, membran kararlılığı ve RI, zarar indeksi) tespit edilen membran kararlılığının farklı gelişme evrelerindeki farklılıklarının tespiti için yapılmıştır. MTS ve RI parametrelerinin üç ayrı büyüme döneminde benzer eğilim gösterdiğini, büyüme döneminin çeşitlerin MTS ve RI sonuçlarını önemli derecede etkilediğini çeşitlerin membran kararlılığı parametrelerinin büyüme dönemi ilerledikçe düşüş gösterdiğini tespit etmişlerdir. Bitkinin erken süt olum döneminde tane verimi ile bayrak yaprak membran kararlılığı arasında ilişki tespit edilmiştir.

Yavaş (2010) tarafından yapılan çalışmada, kullanılan buğday genotiplerine PEG 6000 çözeltisi ile kuraklık stresine maruz bırakılmış ve membran stabilite değerini incelemiştir. Kuraklık stresine maruz kalan bitkilerin membran stabilite değerinde düşme olduğu gözlenmiştir.

Canlılarda bulunan serbest radikaller, besinlerin oksijen kullanılarak enerjiye dönüştüğü sırada oluşan reaktif moleküller olarak tanımlanır. Canlı metabolizması için oksijen oldukça gereklidir. Ancak, bu metabolik faaliyetlerin olduğu sırada reaktif karakteristikli ara ürünler meydana gelir. Bu reaktif moleküller canlıda protein, DNA ve lipid gibi hücre yapılarında zarara yol açar. Bu zararı önlemek ve bu serbest radikallerin kontrollü üretilmesini sağlamak için antioksidan savunma mekanizmaları görev alırlar. Fakat bazen canlıda antioksidan savunma mekanizmaları etkin şekilde serbest radikal üretimini önleyemez. Canlının bu metabolizma durumunda oksidatif stres meydana gelir (Brody 1999).

Zlatev *et al.* (2006) tarafından üç fasulye çeşidinde kuraklık toleransının incelendiği araştırmada, su stresi altındaki bitkilerde lipid peroksidasyon, H_2O_2 , membran hasar indeksi ve $OH^\cdot$ düzeyinde artış görülmüştür.

Cruz de Carvalho (2008) tarafından kuraklık stresinde reaktif oksijen türlerinin incelendiği çalışmada, kuraklık stresi altında fotorespirasyon sırasında H_2O_2 üretimi total olarak %70 ve üzerinde olabilmektedir. Kuraklık stresi altında lipid peroksidasyon ve H_2O_2 değerleri de artmıştır.

Ghamdi (2009) tarafından buğdayda kuraklık yanıt mekanizması ve oksidatif stres toleransı konusunun incelendiği araştırmada, kuraklık stresi nedeniyle oksidatif stres altındaki bitkide H_2O_2 düzeyi yüksek bulunmuştur. Kuraklık stresi lipid peroksidasyon ve H_2O_2 düzeyini indüklemiş bu yüzden oksidatif stresin göstergesi kabul edilmiştir.

Chakraborty and Pradhan (2010) tarafından, buğday çeşitlerinde kuraklık stresi kaynaklı oksidatif stres ve antioksidan yanıtlarının incelendiği çalışmada, kuraklık stresi altında nispi su içeriğinde azalma gerçekleşmiş, oksidatif hasar artmış, lipid peroksidasyon ve H_2O_2 birikimi artmıştır.

Beş ayrı buğday çeşidinde (KW, UP 2752, PBW 343, SO ve LV) kuraklık stresine karşı oksidatif stres ve antioksidan savunma sistem mekanizmasının incelendiği çalışmada (Chakraborty and Pradhan 2012), stres şartlarında buğdayda H_2O_2 ve lipid peroksidasyon birikiminde artış olduğu gözlenmiştir. Özellikle bu birikimin LV buğday çeşidinde önemli derecede olduğu görülmüştür.

Bitki genomu çok kararlı olmasına rağmen DNA'ya hasar verebilen biyotik ve abiyotik strese maruz kaldığında DNA hasar görebilir. İçsel olarak meydana gelen DNA hasarına spontan DNA hasarı denir ve ROT tarafından meydana gelir.

Avcı (1999) tarafından yapılan araştırmada, ekmeklik buğday (*T. aestivum* L.) ve makarnalık buğday (*T. durum* Desf.)'ın hassas ve dayanıklı çeşitlerinde tuzluluk ve kuraklık stresine karşı oluşan farklılıklar ve bunların hormon değişimi konusu incelenmiştir. Strese maruz kalan bitkinin RNA miktarında ve DNA fraksiyonlarında değişiklikler meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Arslan (2012) tarafından buğdayda yapılan çalışmada, (*Triticum aestivum* cv. Karasu 90), kuraklık stresinde putresin uygulamasının genetik ve epigenetik etkileri RAPD ve CRED-RA teknikleri yardımı ile incelenmiştir. Araştırmada kuraklık stresinin genomik kalıp stabilitesini azalttığını, DNA hipermetilasyonuna neden olduğunu belirlemiştir.

Biyotik ve abiyotik strese neden olan bazı çevresel nedenler DNA demetilasyonu yoluyla transpozonları harekete geçirebilir (Chinnusamy and Zhu 2000). *Antirrhinum majus* bitkisinde soğuk stresi DNA hipometilasyonuna ve Tam-3 transpozonunun taranspozisyonuna neden olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar, Tam3 transpozonunun 15°C'de hareketli olduğunu ve bu sıcaklıkta Tam 3 transpozaz (TPase)'ın transpozonun subterminal bölgesine bağlanarak metilasyon oranını düşürdüğünü sıcaklığın 25°C'ye çıkarılmasıyla oluşturulan stres ile transpozonun hareketinin baskılandığını gözlemlemişlerdir (Hashida *et al.* 2006).

Özellikle birçok bitki türünde bulunan uzun uç tekrarlı (LTR) retrotranspozonlar, transkripsiyonda rol oynayan LTR dizilerindeki yüksek değişkenlik derecesi ile karakterize edilirler ve farklı stres uyarılarına cevap vermekle ilişkili yeni ekspresyon şekilleri kazanarak evrimleşmişlerdir. Bitki LTR retrotranspozonlarının birçoğu, biyotik ve abiyotik stres uyarılarına cevap olarak daha geniş transkript havuzları üretirler (Mansour 2007).

Tüm bilinen bitki retrotranspozonları normal büyüme ve gelişme boyunca inaktif durumda olup farklı abiyotik ve biyotik stres faktörleri tarafından aktive edilebilir ve harekete geçirilebilirler. Böylelikle bu hareketlilikleri mutasyon oranını arttırmakta ve yeni genetik çeşitliliği ortaya çıkarmaktadır. Retrotranspozonlar pek çok genomik lokus

içine girebilmekte ve mutasyonlara ve yeni özellikleri içeren bireyler arasında insersiyonel polimorfizm oluşturmaktadırlar (Kumar and Bennetzen 1999). Bu durum soğuk, yaralanma, patojen atakları, mekanik hasar, melezleme, protoplast izolasyonu ya da in vitro regenerasyon, gibi faktörler tarafından uyarılmaktadır (Hirochika 1995; Grandbastien *et al.* 2005; Salazar *et al.* 2007).

Hirochika and Hirochika (1993), tütünde doku kültüründe meydana gelen yaralanmalara bağlı olarak oluşan Tto1, Tto2 ve Tnt1 retrotranspozonlarının hareket ederek genom üzerinde yeni yerlere lokalize olduklarını ve mutajenik etkiye sebep olduğunu göstermiştir. Yine Tnt1 retrotranspozonun fungal uygulamalarda aktivitesinin arttığı belirlenmiştir (Melayah *et al.* 2001). Grandbastien *et al.* (1997), Tnt1a retrotranspozonunun promotorünün çeşitli stres faktörleri tarafından aktive edildiğini bildirmişlerdir. Woodrow *et al.* (2010) yaptıkları çalışmada, *Triticum durum* L. bitkisine uyguladıkları tuz ve ışık stresinin Ttd1a retrotranspozonunun aktivitesini artırarak direnç geninin yanına yerleşmesine neden olduğunu ve bu şekilde bitkiyi strese karşı koruduğunu bildirilmişlerdir.

Diğer bir retrotranspozon olan TLC1 yaralanma, protoplast izolasyonu, yüksek tuz konsantrasyonunda aktive olduğu bildirilmiştir (Mansour 2007). Ayrıca, *TLC1.1* retrotranspozonunun stresle ilgili bazı sinyal moleküllerine (etilen, metil jasmonat, salisilik asit ve 2,4-diklorofenoksasetik asit) cevap olarak aktive olduğu bildirilmiştir (Salazar *et al.* 2007) .

Monokotiledonlarda Tos17 retrotraspozonunun doku kültürü, sitozin demetilasyonu, gelişim ve patojen girişi gibi farklı biyotik ve abiyotik stres faktörleri tarafından aktive edildiği bildirilmiştir (Liu *et al.* 2004; Sha *et al.* 2005). Yine buğdayda Wis 2-1aA retrotranspozonunun buğday evriminde önemli bir retrotraspozon olduğu belirlenmiştir (Kashkush *et al.* 2003).

Steward *et al.* (2000), Ac/Ds retrotranspozonun soğuk stresinin etkisiyle DNA metiltransferazı baskılayarak transpozonda hipometilasyona yol açtığını bildirmişlerdir.

Mısır bitkisinde yapılan bir çalışmada (Tan 2010), uygulanan NaCl'ün oluşturduğu osmotik stresin retrotranspozonların metillenmesine yol açtığı bildirilmiştir.

Evrensel (2010), Nikita retrotranspozonunun hareketliliğini arpada (*Hordeum vulgare* L.) bitki doku kültürü koşullarında, IRAP (İnter-Retrotransposon Amplified Polymorphism) moleküler markır tekniği kullanarak incelemiş ve farklı yaşlardaki kalluslarda meydana gelen polimorfizmin Nikita retrotranspozonun hareketlerine bağlı olduğunu bildirmiştir. Yine Evrensel vd (2011) tarafından yapılan benzer bir çalışmada, farklı yaşlardaki (30, 45 ve 60 günlük) arpa kallus kültürlerinde yaşa bağlı meydana gelen BARE-1 retrotranspozonunun hareketleri IRAP markır tekniği ile incelenmiştir. Araştırma sonucunda, kallus kültürünün yaşına bağlı olarak BARE-1 retrotranspozonunun %14-25 oranında polimorfizme neden olduğunu belirlemişlerdir.

Moleküler markırlar teknolojisi; DNA parmak izi analizi, genetik haritalama, moleküler bitki ıslahı ve filogenetik çalışmalarda hayati role sahiptir.

Bitki genomlarının büyük bölümünde retrotranspozon molekülleri bulunur (Queen *et al.* 2004). Retrotranspozonlar yoğunluklarından dolayı her zaman bulunabilmeleri, genom içerisinde yayılmış olmaları ve buradaki dağılımlarından dolayı markör sistemlerinde etkin bir rol oynarlar (Flavell *et al.* 1998). Retrotranspozonlara bağlı olarak meydana gelen polimorfizmin belirlenmesinde IRAP, REMAP, RBIP, iPBS ve S-SAP gibi moleküler markırlar yaygın olarak kullanılmaktadırlar (Kalendar *et al.* 2011).

IRAP tekniği, değerli retrotranspozon temelli markör sistemlerinden biridir (Kalendar *et al.* 1999). PCR temelli moleküler markör sistemlerinden IRAP yöntemi, iki retroelement arasında bulunan DNA parçasının çoğaltılması ile insersiyonal polimorfizmi tespit etmektedir (Kalendar vd 2011).

Alaçam (2013), kültüre alınmış olgun embriyolardan elde edilen 40 ve 80 günlük kalluslardan meydana gelen retrotranspozon kaynaklı polimorfizm tespitinde IRAP ve iPBS teknikleri ile Sukkula'ya özel iki farklı primer kullanılması sureti ile

gerçekleştirilmiştir. Araştırma sonunda, doku kültürü şartları ve kallus yaşlarının Sukkula retrotranspozon hareketlerinde etkili olduğunu ve tüm bireyler üzerinde aynı etkiyi göstermediğini ortaya koymuştur.

Sığmaz (2014) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, buğday 4 ayrı tuz konsantrasyonuna maruz bırakılmıştır. Tuz stresi ile aktif hale gelen bazı retrotranspozonların (Nikita-E2647, Sukkula, Stowaway, WLTR2105 ve 5'LTR) polimorfizmi ile bu polimorfizme farklı dozlarda (0.01, 0,1 ve 1 mM) putresinin tesiri incelenmiştir. Çalışma neticesiyle tuz stresi altında retrotranspozon kaynaklı polimorfizmin oranının arttığı tespit edilmiştir. Ayrıca, Sukkula retrotranspozonunda görülen polimorfizmin yüksek olduğu ve en yüksek putresin dozunda (1 mM) en iyi korunan retrotranspozon olarak belirlenmiştir.

Yaprak (2015) tarafınca yapılan çalışmada, sentetik oksinleri içerisindeki 2,4-D ve dikambanın 4 farklı konsantrasyon (250, 500, 750 ve 1000 ppm) stresi ile aktive olan bazı retrotranspozonların (WLTR2105, N-57 (Nikita57), Sukkula, Nikita E2647, Stowaway, BARE 1(0)) polimorfizmi ve oluşan DNA hasarları araştırılmıştır. Retrotranspozonların polimorfizminin ve DNA hasarının belirlenmesi için IRAP ve REMAP teknikleri kullanılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda, sentetik oksin uygulamasıyla retrotranspozon polimorfizminin yüksediğini ve DNA hasarının oluştuğunu gözlemişlerdir. Bunun dışında polimorfizm göstergesi olan GTS oranının artan sentetik oksin konsantrasyonuna bağlı olarak düştüğü belirlenmiştir.

Yağcı (2015) buğday 4 ayrı tuz konsantrasyonda strese (0,200, 300 ve 400 mM NaCl) maruz bırakmıştır. Stres şartlarına maruz kalmış bitkilerde retrotranspozon kaynaklı polimorfizmi belirlemek için IRAP ile REMAP tekniklerini kullanmıştır. Çalışma sonucunda, tuz stresi uygulamasıyla retrotranspozon kaynaklı polimorfizmde yükselme meydana gelmiş ve DNA hasarının oluştuğu belirlenmiştir. Polimorfizm göstergesi olan genomik kararlılık sabitliliği'nin (GTS) tuz konsantrasyonu arttıkça düştüğü belirlenmiştir.

Kianoosh (2015) tarafından yapılan çalışmada, Ülkemiz ve Dünyada kullanılan 67 ayrı fasulye çeşidine LTR-retrotranspozon kaynaklı iPBS markör teknikleri uygulanmış, moleküler düzeyde tanımlama yapılmıştır. iPBS markör analiz yönteminde, 47 primerden 180 tane polimorfik bant oluşturulmuştur. Bu yöntemle elde edilen en yüksek PIC değeri iPBS-2394 primeri kullanıldığında 0.94 bulunmuş, en düşük PIC değeri ise iPBS-2375 primeri kullanıldığında 0.03 tespit edilmiştir.

Antioksidan (yükseltgeme önleyici) olan maddeler yağların oksidasyonunu yavaşlatırlar (Keskin ve Erkmen 1987). Canlı bünyesinde devam eden kimyasal süreçler özellikle stres şartlarının etkisiz ve kontrolsüz bir şekilde serbest radikallerin çoğalmasına bu da oksitlenmeye neden olur. Serbest radikaller yüksek derecede reaktiftir ve farklı moleküller ile reaksiyona girerek hücrelere dolayısıyla canlıya zarar vermektedirler. Böyle durumlarda antioksidanlar savunma mekanizması olarak devreye girer, serbest radikallerle bağ kurarak canlı hücre zararına engel olurlar (Shahidi 1997).

α -Tokoferoller faydalı lipofil antioksidanlardır. Biyolojik membranlarda, ROT ve yağ radikallerini temizler, koruyucu ve temel bileşenleri oluştururlar. E vitaminleri içinde α -tokoferol, (α -, β -, γ -, δ -) olarak dört izomer arasında en yüksek antioksidan kapasitesine sahiptir. Tokoferoller sadece fotosentetik organizmalar tarafından sentezlenir. Böylece su sadece bitkideki yeşil dokularda olur. γ -tocopherol ; γ - tokoferol-metil-transferaz (γ -TMT kodlu VTE4) enzimiyle sentezlenir. Tokoferollerin bilinen yapısal ve işlevsel iki yeteneği vardır. Serbest oksijen ve su stresine karşı, kloroplastlarda yağlar ve membran bileşenlerini bozulmalardan korur ve stres şartları altında oluşan aşırı enerjiye karşı fotosistemII sisteminde muhafaza eder. Tokoferol ayrıca etkin serbest radikalleri yakalar ve LPO döngüsünde kararsız zincir çoğalmasını engeller. α -Tokoferol, membran-su arayüzündeki yağ radikallerini ($RO^{\bullet}$, $ROO^{\bullet}$, ve RO) azaltır ve $TOH^{\bullet}$ dönüştürür. $TOH^{\bullet}$ radikali düşük form GSH (İndirgenmiş glutatyon) ve AA (askorbat) ile etkileşerek geri dönüşüme uğrar (Das and Roychoudhury 2014) .

Boo and Jung (1999) tarafından çeltik bitkisiyle yürütülen çalışmada, bitkilere %10'luk PEG 6000 uygulanarak kuraklık stresi yaratılmıştır. Su stresi nedeniyle sürgünlerin lipid

peroksidasyonunun, klorofil parçalanmasının, askorbat, glutatyon, α -tokoferol ve karatenoit gibi düşük moleküllü antioksidanların uyarıldığı belirlenmiştir. Aynı zamanda su stresinin bitkilerin süperoksit dismutaz, askorbat redüktaz ve peroksidaz aktivitelerini çok az, katalaz aktivitesini ise büyük ölçüde azalttığı; buna karşın monodehidroaskorbat redüktaz, dehidroaskorbat redüktaz ve glutatyon redüktaz aktivitelerini önemli ölçüde artırdığı bildirilmiştir.

Havaux *et al.* (2005) çalışmalarda, UV-C uygulaması ile gerçekleşen stres şartlarının bitkilerin α -tokoferol düzeylerindeki etkileri incelenmiştir. Araştırmada, α -tokoferol antioksidanının çoklu doymamış yağ asitlerindeki zincir reaksiyonu ile lipit oksidasyon kaynaklı serbest radikal moleküllerinin sonlandırma özelliğinin olduğu ve bu görevi ile zincir kırıcı etkili bir antioksidan çeşidi olduğu anlaşılmıştır. Dolayısı ile UV-C stres şartlarında artan bu α -tokoferol oranının, aynı zamanda deney materyalini stres şartlarından korunmasında etkili olduğu belirlenmiştir.

Szarka *et al.* (2012), glutatyon, α -tokoferol ve askorbat uygulamalarının abiyotik stres şartlarına tepkilerini incelemiştir. Bu üç uygulamanın ROT oluşumunu engellediğini ve bitkilerde zararlanma oranını düşürdüğünü bildirmiştir.

Soltani *et al.* (2012), α -tokoferol ve pridoksinin bitki gelişimine etkisini incelemiştir. İran şartlarında tarla koşullarında yapılan denemede *Calendula officinalis* L. bitkilerine 0-50 ve 100 ppm α -tokoferol uygulanmış, bu uygulamayla bitkide büyüme ve gelişme sonuçları incelenmiştir. Kök ağırlığı, yaprak alanı, klorofil b, indirgen şekerler, ve hiperoside miktarının azaltılması ile en yüksek tohum verimi ve bitki gelişimi için 100 ppm α -tokoferol uygulamasını önermiştir.

Rivero and Orcutt (1991), su stresi altında yerfıstığında (*Arachis hypogea* L., cv. NC-17) mutasyon bir mantar ilacı olan dinikonazol (DINI) ile muamele karşısında α -tokoferol, glutatyon ve askorbat tepkileri araştırılmıştır. Kontrol ve DINI uygulamaları bitkilerde α -tokoferol düzeyleri arasında belirgin bir fark gözlemlenmemiştir. Ancak, α -

tokoferol düzeyinde %14 oranında bir artış su stresi altında DINI uygulanan bitkilerde belirlenmiştir.

Mayank *et al.* (2011) tarafından yapılan çalışmada bitkilerde stres toleransı üzerinde tokoferol kompozisyon ve içerik etkisini incelemek amacıyla; temel olarak susturulmuş homogentisat fitiltransferaz ve γ -tokoferol metiltransferaz içeren transgenik patates (*Solanum tuberosum*) bitkisinde yapılmıştır. Analizler sonucunda tokoferol aktivitesinde artış stres tolerans mekanizmasını olumlu yönde etkilemiştir.

Munné-Bosch *et al.* (2001), kuraklığın neden olduğu yaşlanma ve kloroplast kaybı ile antioksidan savunma sistemleri arasındaki ilişkiyi incelemiştir. Kuraklık, oksidatif stres ve yaprak yaşlanması arasındaki ilişki adaçayı (*Salvia officinalis* L.) bitkisinde değerlendirilmiştir. Araştırmada, kloroplast mezofil hücrelerinin plazma zarında, kuraklık ve dolayısıyla oksidatif stres şartlarında H_2O_2 ve ROT birikimine karşı β -karoten ve α -tokoferol uygulamasının ROT türleri birikimini azalttığı ve böylece oksidatif stres kaynaklı bitki zararlanmasını önlediğini bildirmiştir.

Abbasi *et al.* (2007), transgenik tütün (*Nicotiana tabacum*) bitkisinde stres şartları altında α -tokoferol antioksidanın rolünü incelemiştir. Deneme sonunda stres şartları altında α -tokoferolün, elektrolit sızıntısı, lipid oranı ve membran hasarı gibi fizyolojik parametreleri azalttığı gözlenmiştir.

Sadak and Dawood (2014), tuzluluk stresinin keten bitkisi (*Linum usitatissimum* L.) üzerinde etkilerinin hafifletilmesi için absisik asit ve α -tokoferolün rolünü incelemişlerdir. α -tokoferolün kuraklık stresi altındaki bitkinin klorofil kaybını minimize ettiğini bildirmişlerdir. α -tokoferol ile muamele edilen keten bitkisinin total karbonhidrat miktarında artış, protein sentezi ve hücre ölümünde azalış belirlenmiştir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan bitkisel materyal

Çalışmamızda bitki materyali olarak, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi'nden temin edilen ve kuraklığa hassas olduğu bilinen *Triticum aestivum* cv. Karasu 90 çeşidi ile kuraklığa toleranslı *Triticum aestivum* cv. Kırac 66 buğday çeşitleri kullanılmıştır. Bu çeşitlere ait özellikler Çizelge 3.1'de belirtilmiştir. Karasu 90 ve Kırac 66 çeşitlerinin tohumları çimlendirilmiş ve kök, gövde ve yaprak kısımlarından çalışma materyali olarak yararlanılmıştır.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan çeşitlerin özellikleri

ÖZELLİKLER	KARASU 90	KIRAÇ 66
İslah Edildiği Kuruluş	Doğu Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü-Erzurum	Anadolu Ziraî Araştırma Enstitüsü-Eskişehir
Tescil Yılı	1990	1970
Sap ve Yaprak Özellikleri	Orta uzun boylu bir çeşittir. Yapraklar yeşil, tüysüz ve orta geniştir.	Sapı 110-115 cm uzunluğunda, orta sağlam yapıdadır. Yapraklar yeşil renkli orta büyüklükte ve tüysüzdür.
Başak Yapısı	Hafif eğik, orta uzunlukta ve sıklıkta başak yapısına sahiptir. Başaklar sarımsı beyaz renkli ve kılçıksızdır.	Kılçıklı, beyaz krem kavuzlu, orta uzun yoğunluğu orta sık ve hafif eğik duruşludur.
Tane Özellikleri	Kırmızı renkli, orta uzun ve sert tane yapısına sahip ve bin tane ağırlığı 40-45 gramdır. 2. sınıf ekmeklik buğdaydır.	Beyaz sert taneli, 1000 tane ağırlığı 40-42 gram ve hektolitre ağırlığı 72-74 kg.dır.
Tarımsal Özellikleri	Kışlık karakterlidir. Yatmaya mukavemeti iyidir. Gübreye karşı reaksiyonu ve harman olma kabiliyeti iyidir. Orta erkenci bir çeşittir.	Tam kışlık bir çeşit olup, soğuğa ve kurağa dayanıklı, kardeşlenmesi yüksektir. Orta erkenci olup, sonbaharda erken ve iyi çıkış sağlanırsa iyi netice alınır. Kışı sert geçen yüksek rakımlı bölgelerde kır-bayır tarlalara tavsiye edilir. Tane dökmez, harman olma kabiliyeti çok iyidir. Kuvvetli taban arazilere ekildiğinde ve fazla azotlu gübre verildiğinde yatma görülebilir.
Hastalık Durumu	Kara pasa hassas, diğer paslar, sürme ve راستیға orta dayanıklıdır.	Sarı ve kahverengi paslara tarla şartlarında oldukça mukavimdir. Kara paşa hassastır. Sürmeye karşı dayanıklı راستیға orta dayanıklıdır.
Tavsiye Edildiği Bölgeler	Orta Anadolu'nun yüksek yerleri ve Doğu Anadolu'nun sulanabilir alanlarına tavsiye edilmektedir (Çelik vd 1996).	Orta Anadolu, Doğu Geçit ve Doğu Anadolu Bölgeleridir. Kurağa mukavemeti dolayısıyla senelik yağışı 300 mm.nin altında bulunan bölgelerde iyi bir verim sağlamaktadır (Mülayim 1986).
Kuraklık Stresine Dayanımı	Düşük	Yüksek

3.1.2. Çalışmada kullanılan alet ve cihazlar

Çalışma esnasında aşağıdaki alet ve cihazlar kullanılmıştır.

Otoklav (Hirayama, JAPAN, HVE 50, SN 030787253)
 Soğutmalı Santrifüj (Hettich, Mikro 22R, M10, SN 0001279-03-00)
 Santrifüj (Hettich, GERMANY, EBA-20)
 PCR (Corbett Research CG1-96, AUSTRALIA)
 Elektroforez Tankı (Yatay) (OWL B2, U.S.A.)
 Elektroforez Akım Sağlayıcı (OWL OSP300-2Q, U.S.A.)
 Jel Görüntüleme Sistemi (DNR BioImaging Systems MiniBis Pro, ISRAEL)
 Su Banyosu (Memmert WNB14, GERMANY)
 Otomatik Pipetler (Eppendorf, GERMANY)
 Nanodrop (Qiagen, GERMANY)
 Magnetik Karıştırıcı (Daihan Scientific MSH 20A, KOREA)
 pH Metre (InoLab pH730 wtw Series, GERMANY)
 Derin Dondurucu (Nuairie, U.S.A. , -86 Ultralow Freezer, SN P07K-476316-PK)
 Hassas Terazî (Mettler Toledo AL204, CHINA)
 Buzdolabı (Arçelik, TÜRKİYE, 8190NF)
 Saf Su Cihazı (GFL 2004, GERMANY)
 Steril Kabin (Esco AC2-4E1, SINGAPORE)
 Mikrodalga Fırın (Arçelik, TÜRKİYE, MD 592)
 Kar makinesi (Scotsman, U.S.A. , AH 19828 5)
 EC metre (Thermo scientific, USA)
 SPAD metre (Model SPAD 502, Minolta Japan)

3.1.3. Kullanılan çözelti ve solüsyonlar

Çalışma süresince kullanılan çözeltilerin kimyasal içerikleri aşağıda belirtilmiştir

3.1.3.a. Kullanılan Polietilen glikol (PEG 6000) çözeltilerinin hazırlanışı

Kuraklık stresinin oluşturulmasında Michel and Kaufmann (1973)'a göre PEG 6000 kullanılarak sağlanmıştır.

0 bar 1000 ml Saf su

-6 bar 223,8 g/L PEG 6000

-8 bar 257,5 g/L PEG 6000

3.1.3.b. Kullanılan α - tokoferol çözeltilerinin hazırlanışı

1 ml'de 1 mg α - tokoferol olacak şekilde absolü alkolde hazırlanan stok solüsyondan gerekli miktarda alınmış ve saf su ile toplam hacim 1000 ml'ye tamamlanmıştır.

0 mg/L α - tokoferol (100 ml absolü alkol + 900 ml saf su)

50 mg/L α - tokoferol (50 ml α - tokoferol stok solüsyonu + 950 ml saf su)

100 mg/L α - tokoferol (100 ml α - tokoferol stok solüsyonu + 950 ml saf su)

3.1.3.c. DNA izolasyonunda kullanılan çözeltiler

1M Tris-HCl (1000 ml)

121,1 g Tris-base

700 ml dH₂O

42 ml konsantre HCl (%37,2-12,1 M)

700 ml su içerisine 121,1 g Tris-base eritilmiş ve üzerine 42 ml konsantre HCl eklenerek toplam hacim 1 litreye tamamlanarak otoklavlanmıştır.

0.5 M EDTA PH=0.8 (1000 ml)

136,1 g EDTA

20 g NaOH

800 ml dH₂O

800 ml su içerisinde 136,1 g EDTA eritilip, üzerine 20 g NaOH eklenerek pH=8.0 olarak ayarlanmıştır. Filtreden geçirilerek otoklavlanmıştır.

5 M NaCl (500 ml)

146,1 g NaCl

450 ml dH₂O

146,1 g NaCl 450 ml suda eritilmiştir. Toplam hacim 500 ml'ye tamamlanıp ve oda sıcaklığında saklanmıştır.

10X TE Buffer (1000 ml)

100 ml 1 M Tris-HCl pH=8.0

20 ml 0.5 M EDTA

880 ml dH₂O kullanılarak hazırlanmıştır.

1X TE Buffer (1000 ml)

10X TE Buffer'dan 100 ml alınıp 900 ml saf suyla 1000 ml'ye tamamlanmıştır.

(DNA 1X TE'de çözülür).

3 M Sodyum Asetat (PH= 5.2)(100 ml)

40.8 g Sodyum Asetat (NaOAc.3H₂O) 80 ml ultra saf suda iyice eritilmiş ve pH= 5.2 oluncaya kadar glasiyel asetik asit eklemiş ve toplam hacim 100 ml'ye tamamlanmıştır.

10 M Amonyum Asetat

77 g Amonyum asetat

800 ml dH₂O

77 g Amonyum asetat 800 ml distile su içerisinde çözülmüştür. Distile su kullanarak hacmi 1 litreye tamamlanarak stok hazırlanmıştır. Çalışmada 250 mM olacak şekilde seyreltilerek +4°C’de muhafaza edilmiştir.

DNA ekstraksiyon tamponu (50 örnek için):

1 g toz CTAB (Setil trimetil amonyum bromür)

0.5 g (%0,1) Sodyum bisülfid (NaHS₃ ve Na₂S₂O₅ karışımı)(Sigma, 243973)

5 ml Tris-HCl (1 M)

14 ml NaCl (5 M)

2 ml EDTA (0.5 M)

0.1 ml (%0.2) β-merkaptoetanol (v/v)

Kloroform: İzooamil alkol:

24: 1 oranında hazır olarak kullanılmıştır (Fluka, 25666).

2-propanol (izopropanol)

Hazır olarak kullanılmıştır (Sigma, I9516).

Proteinaz K

Mililitrede 10 mg olacak şekilde hazırlanmıştır (Sigma, P2308).

Ribonükleaz (RNaz)

Mililitrede 10 mg olacak şekilde hazırlanmıştır. (Sigma, R6513).

%70'lik Etil Alkol:

70 ml saf etil alkolün hacmi steril distile su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır.

3.1.3.d. PCR ve elektroforez işlemleri için kullanılan çözeltiler**Etidyum Bromür Çözeltisi:**

500 ml 0,5X TBE tamponu içerisine 300 µl etidyum bromür ilave edilerek hazırlanmış ve karanlık ortamda oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

Bromfenol Blue Çözeltisi:

0,25 g bromfenol blue ve 30 ml gliserolün toplam hacminin 100 ml'ye tamamlanmasıyla hazırlanmıştır. Çözelti otoklavda steril edildikten sonra +4°C'de muhafaza edilmiştir.

10X TBE tamponu:

108 g Tris-base

55 g Borik asit

40 ml 0,5 M EDTA

700 ml dH₂O

700 ml distile su içerisinde 108 g Tris-base, 55 g Borik asit ve 40 ml 0,5 M EDTA çözülmüş ve toplam hacim 1000 ml'ye tamamlanmış ve otoklavlanmıştır.

1X TBE tamponu:

Bu araştırmada kullanılan TBE tamponu 10X TBE olarak hazırlanmış ve seyreltilerek (100 ml 10X TBE Tamponu + 900 ml saf su) 1X TBE tamponu hazırlanmıştır.

Primerlerin Hazırlanması:

Kullanılan primerler firmanın önerdiği miktarda sulandırılarak stok solüsyonu, daha sonra da uygun hesaplamalar ile 1 μ M olacak şekilde çalışma solüsyonları hazırlanmıştır.

3.1.3.e. Sterilizasyon işlemleri için kullanılan çözeltiler

%1’lik NaOCl (Sodyum hipoklorit):

%5 NaOCl (sodyum hipoklorit) içeren ticari Domestos® marka çamaşır suyundan 200 ml alınarak hacim 1000 ml’ye tamamlanmıştır.

%70’lik Etil Alkol:

70 ml etil alkolün hacmi steril distile su ile 100 ml’ye tamamlanmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. α -Tokoferol ve PEG6000 özeltilerinin bitkiye uygulanması

Triticum aestivum cv. Karasu 90 ve *Triticum aestivum* cv. Kıraç 66 çeşitlerine ait eşit boyutlarda seçilen tohumlar ilk aşamada musluk suyu ile yıkandıktan sonra %70’lik etil alkolde 5 dk çalkalanıp 3 kez steril saf su ile yıkanmış ardından birkaç damla Tween 20 katılan %10’luk NaOCl’de 10 dakika süre ile steril edilmiştir. Tohumlar 6-7 kez saf

sudan geçirilmiş ve steril filtre kağıdı ile kurutulmuştur. Eşit olarak ayrılan steril tohumlar Hoagland çözeltisi (Hoagland and Arnon 1938) ile hazırlanmış sıvı ortamda (pH=5,8) çimlendirmeye alınmış, $25\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 16 saat ışık 8 saat karanlık şartlarında 3 yapraklı oluncaya kadar büyütülmüştür. Kontrol bitkilerine ve kuraklık stresi için yetiştirilen bitkilerin yapraklarına 0, 50 ve 100 mg/L konsantrasyonlarındaki α - tokoferol spreyle uygulanmıştır. Bitkiler, α - tokoferol uygulamasına mütakiben iki gün sonra PEG 6000 ile hazırlanan biri kontrol olmak üzere 0, -6, -8 barlık ozmotik potansiyelde yine aynı şartlarda 10 gün süreyle kuraklık stresine maruz bırakılmıştır.

3.2.2. Klorofil miktarı (SPAD)

Her uygulama için her tekerrürde şansa bağlı olarak seçilen 5 bitkinin en üst yaprağının orta damarına gelmeyecek şekilde tam orta kısımları SPAD-502 Plus aleti ile klorofil miktarı SPAD birimi olarak belirlenmiştir. Kuraklık stresinin 5. ve 10. günlerinde olmak üzere iki defa ölçüm yapılmıştır.

3.2.3. Yaprak nispi su içeriği (%)

Uygulama sonunda her uygulama için 3'er tekrarlı olmak üzere bitki yapraklarından alınan örneklerin yaş ağırlıkları (YA) (g) belirlenmiş ve kapaklı petri kaplarına yerleştirilmiştir. Daha sonra yaprakların turgorlu hale gelmeleri için saf suda 4 saat süreyle bekletilmiş ve 4 saat sonra turgor ağırlıkları (TA) (g) belirlenmiştir. Daha sonra 80°C 'de etüvde 48 saat süreyle bekletilmiş ve kuru ağırlıkları (KA) (g) belirlenmiştir.

Yaprak örneklerinin nispi su içeriği aşağıdaki formüle göre % olarak hesaplanmıştır (Barr and Weatherley 1962).

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

3.2.4. Hücre Membran Hasarı (%)

Hücre membran hasarı Lutts *et al.* (1996)'ya göre yapılmıştır. Yaprak örnekleri (0,5 g) distile saf su ile yıkanmış ve içerisinde 15 ml saf su bulunan tüplere aktarılmış ve 25°C'de 24 saat bekletilmiştir. Bu süre sonunda EC₁ değeri EC metre ile ölçülmüştür. Ardından örnekler 120°C'de 20 dk otoklavlanmış ve 25°C'ye gelinceye kadar soğutulmuş ve EC₂ değeri EC metre ile ölçülmüştür. Bu değerlerden yararlanarak aşağıdaki formülden hücre membran hasarı belirlenmiştir. Her uygulama için üç tekerrür yapılmıştır.

$$\text{Hücre Membran Hasarı} = (\text{EC}_1/\text{EC}_2) \times 100$$

3.2.5. DNA İzolasyonu

DNA izolasyon protokolü için Yağcı (2015) esas alınmış ve birkaç maddesinde değişiklik yapılmıştır.

a. Taze olarak hazırlanan DNA Ekstraksiyon tamponu önceden 65°C'ye ısıtılmış su banyosunda bekletilmiştir. Bitki materyaline ilave edilmeden önce ekstraksiyon tamponuna %0.2 (v/v) oranında β-merkaptöetanol eklenmiştir.

b. Sıvı azotta parçalanmış 0.3 g bitki materyali 2 ml'lik tüplere alınarak üzerine 1000 µl DNA ekstraksiyon tamponu eklenmiş, alt üst edilerek karıştırılmış ve önceden 65°C'ye ısıtılmış su banyosunda her 10 dk'da bir alt üst edilip karıştırılarak 60 dk süre ile bekletilmiştir.

c. Süre sonunda örnekler 10 dk oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır. Ardından her örneğe 750 µl fenol kloroform izoamil alkol eklenip 15 dk alt üst ederek karıştırılmıştır.

- d.** 14000 g ve 24°C’de 20 dk santrifüj edilen örneklerin üst fazları 2 ml’lik yeni tüplere aktarılmıştır.
- e.** 1000 µl Kloroform izoamil alkol eklenerek birkaç kez alt üst edilerek karıştırılmıştır. 14000 g ve 4°C’de 20 dk santrifüj edilip üst faz dikkatli bir şekilde yeni tüplere aktarılmıştır.
- f.** 2,5 µl RNaz ve 8 µl proteinaz K ilave edilmiş ve 45 dk 37°C’de bekletilmiştir.
- g.** Her tüpe 100 µl amonyum asetat, 100 µl sodyum asetat, 800 µl soğuk izopropanol eklenerek DNA’nın çöktürülmesi sağlanmıştır.
- h.** 14000 g ve 4°C’de 20 dk santrifüj edilerek üst faz atılmıştır.
- i.** Pelet önce %100’lük sonra %70’lik soğuk etanol ile yıkanmıştır.
- j.** Yıkanan pelet 37°C’de 15 dk bekletilerek kurutulmuştur.
- k.** Kurutulan DNA 100 µl TE tamponunda fingerprint yapılarak çözülmüştür.
- l.** 24 saat +4°C’de dinlendirildikten sonra kullanılıncaya kadar -20°C’de saklanmıştır.

Elde edilen DNA nanodropta spektrofotometrede 260 ve 280 nm dalga boylarında okunmuştur. OD (okuma değeri) 260/280 değeri 1,1–1,8 arasında olması DNA’nın saf olduğunu göstermektedir. 50 (DNA için multifikasyon katsayısı) x 250 (seyreltme katsayısı) x OD₂₆₀ (260nm’de okuma değeri) formülünden faydalanılarak stoktaki DNA miktarı hesaplanmıştır. Stok DNA’dan 50 ng/µl DNA içeren çalışma solüsyonu hazırlanmıştır.

3.2.6. IRAP

3.2.6.a. IRAP primerleri

Çalışmada 7 IRAP primeri (Metabion International AG Lena-Christ-Strasse 44/I D-82152 Martinsried, Deutschland) kullanılmıştır. Kullanılan primerlerin baz dizileri Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. IRAP-PCR’da kullanılan primer dizileri, erime (T_m) ve bağlanma (T_a) sıcaklıkları

No	Primer adı	Dizisi (5’→3’)	T _m (°C)	T _a (°C)
1	BARE1 (0)	CTAGGGCATAATTCCAACA	53.0	52.0
2	BARE1LTR2R	ATCATTGCCTCTAGGGCATAATTC	62.0	58.0
3	Nikita-E2647	ACCCCTCTAGGCGACATCGCGTGAC	62.0	58.0
4	Sukkula	GATAGGGTCGCATCTTGGGCGTGAC	71.0	65.0
5	Stowaway	CTTATATTTAGGAACGGAGGGAGT	62.0	58.0
6	WLTR2105	ACTCCATAGATGGATCTTGGTGA	61.0	56.0
7	N-57Nikita (F)	CGCATTGTTCAAGCCTAAACC	60.0	55.0

* T_a sıcaklıkları Graident PCR ile belirlemiştir.

3.2.6.b. IRAP PCR protokolü

IRAP-PCR işlemi için gerekli olan bileşenler ve miktarları Çizelge 3.3’te verilmiştir.

Çizelge 3.3. IRAP- PCR bileşenleri ve konsantrasyonları

Bileşenin Adı	Miktarı (µl)	Son konsantrasyonu
Steril distile su	13	-
10 X PCR tamponu (MgCl ₂) içermeyen	2	1X
25 mM MgCl ₂	2	2,5 mM
5 µM primer	1	0,25 µM
10 mM dNTP	0,5	0,25 mM
50 ng / µl Kalıp DNA	1	50 ng
5 U/ µl <i>Tag</i> -DNA polimeraz (Sigma, D 6677)	0,3	1,5 µl
Toplam	20	

Yukarıda verilen standart değerlere göre her bir örnekten izole edilen genomik DNA ve Çizelge 3.2’de verilen IRAP primerleri ile her bir birey için ayrı PCR tüpü hazırlanmıştır.

Bu işlemlerin ardından örnekler PCR otomatik termodöngü aletine (Corbatt Mastercycler Gradient Authorized Thermal Cycle) yerleştirilmiş ve aşağıdaki döngüye tabi tutulmuştur.

- 1) PCR aleti 5 dk 95°C’de tutulmuş,
- 2) 42 döngü olacak şekilde sırasıyla,
 - a. 1 dk 94°C
 - b. 1 dk bağlanma sıcaklığı (değişken)
 - c. 2 dk 72°C
- 3) 15 dk 72°C
- 4) Son olarak 10 dakika 4°C tutularak süreç tamamlanmıştır.
- 5) PCR aletinden çıkarılan örnekler 4°C’de saklanmıştır.

3.2.7. Agaroz jel elektroforezi

PCR işleminden sonra örnekler agaroz jel elektroforezinde yürütülmüş ve oluşan bantlara göre primerlerin hibridize olup olmadığı tespit edilmeye çalışılmıştır. İşlem sırası aşağıdaki gibidir;

- a. Jel içerisinde agarozun konsantrasyonu %1.5 konsantrasyon olacak şekilde agaroz tartılıp 0,5X TBE tamponu içerisinde mikrodalga fırında hazırlanmıştır.
- b. Mikrodalga fırından çıkarılan 0,5X TBE + agaroz çözeltisi içerisine 0,5 µg/ml olacak miktarda Et-Br eklenmiştir.
- c. Hazırlanan jel katılaşmadan elektroforez tankına dökülmüş ve donmadan önce jel üzerine tarak konularak örneklerin yükleneceği kuyucuklar oluşturulmuştur.
- d. Jel donduktan sonra her bir kuyucuğa ayrı bir örnek (3 µl bromfenol mavisi + 7 µl PCR ürünü) yüklenmiştir.
- e. Elektrik akımı verilerek 70V–150 dk. süre ile PCR ürünleri elektroforez işlemine tabi tutulmuştur. İki saat sonunda elektrik akımı kesilmiştir.
- f. Elektroforez tankından çıkarılan jel UV ışık altında incelenmiş ve fotoğrafları çekilmiştir.

3.2.8. IRAP analizleri ve genomik kalıp sabitliğinin (%GTS) belirlenmesi

Her bir primer için tüm örneklerde amplifiye olan DNA bantlarının varlığı ve yokluğu, negatif kontrol IRAP profillerine göre bant yoğunluklarındaki azalma ve artmalar temin edilmiş olan agaroz jel görüntüleme cihazı ile belirlenmiştir. Elde edilen jel görüntüleri TotalLab TL120 programı ile değerlendirilmiştir. Genomik kararlılık sabitliliği (%) her

bir primer ürünü için Atienzar *et al.* (1999)'a göre $100-(100*a/n)$ formülünden yararlanılarak hesaplanmıştır. Formüldeki a her bir uygulama örneği için tespit edilen IRAP polimorfik profillerini, n ise ilgili primerle negatif kontrol grubunda elde edilen DNA toplam bandı sayısını göstermektedir. Uygulama gruplarına ait IRAP profillerinde gözlenen polimorfizm negatif kontrol grubuna göre yeni bir bandın ortaya çıkması veya mevcut bir bandın kaybolmasını kapsamıştır.

3.2.9. Klorofil miktarı (SPAD), yaprak nispi su içeriği (%) ve hücre membran hasarı (%) ait verilerinin istatistiksel analizi

Deneme her uygulama için 3 tekrar olacak şekilde Tam Şansa Bağlı Deneme planına göre kurulmuş ve her tekrarda 15 bitki yer almıştır. Bu karakterlere ait veriler 2x3x3 faktöriyel düzende (çeşit x kuraklık stresi x α -tokoferol) varyans analizine tabi tutulmuştur. Ortalamalar arasındaki farklar %5 önem seviyesinde Fisher's protected LSD (Least Significant Differenece) çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir. İstatistik analizler SAS System 9.0 for Windows bilgisayar programı ile yapılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu araştırmada PEG 6000 ile oluşturulan kuraklık stresinde α -tokoferol uygulamasının yaprağın klorofil miktarına (SPAD), nispi su içeriğine (%), hücre membran hasarına (%) ve retrotranspozon temelli polimorfizme olan etkisi incelenmiştir. Bu özelliklere ait sonuçlar aşağıda sırasıyla verilmiştir.

4.1. Klorofil Miktarı (SPAD)

Kuraklık uygulamasından sonra 5. ve 10. günlerde olmak üzere iki farklı dönemde SPAD metre ile klorofil ölçümü yapılmıştır.

4.1.1. Beşinci gündeki klorofil miktarı (SPAD)

Kuraklık stresinin beşinci günündeki SPAD değerine çeşidin, kuraklık stresinin, α -tokoferol uygulamasının ana etkileri ve bunların ikili ($\text{Ç}_\text{x}\text{K}$, $\text{Ç}_\text{x}\text{T}$ ve $\text{K}_\text{x}\text{T}$) ve üçlü ($\text{Ç}_\text{x}\text{K}_\text{x}\text{T}$) interaksiyonlarının etkisi çok önemli ($p<0,01$) olmuştur (Çizelge 4.1.).

Çeşitlerin ana etkisi incelendiğinde kurağa toleranslı olarak bilinen Kırac 66 çeşidinin SPAD değeri (28,5) Karasu 90 çeşidinden (27,3) daha yüksek olmuştur. Yine kuraklık stresinin ana etkisi incelendiğinde kuraklık şiddetinin artışına bağlı olarak klorofil miktarında azalma meydana gelmiştir. Stressiz şartlarda (0 bar) SPAD değeri 34,8, -6 bar'da 25,8 ve -8 bar'da 23,0 olarak belirlenmiştir. Diğer taraftan α -tokoferol uygulamasının ana etkileri karşılaştırıldığında en yüksek SPAD değeri (29,6) 100 mg/L α -tokoferol uygulamasında, en düşük ise 25,8 ile 0 mg/L α -tokoferol uygulamasında belirlenmiştir. Bu değer 50 mg/L'de 28,3 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Kuraklık stresinde uygulanan α - tokoferole göre çeşitlerin 5. gündeki SPAD değerleri

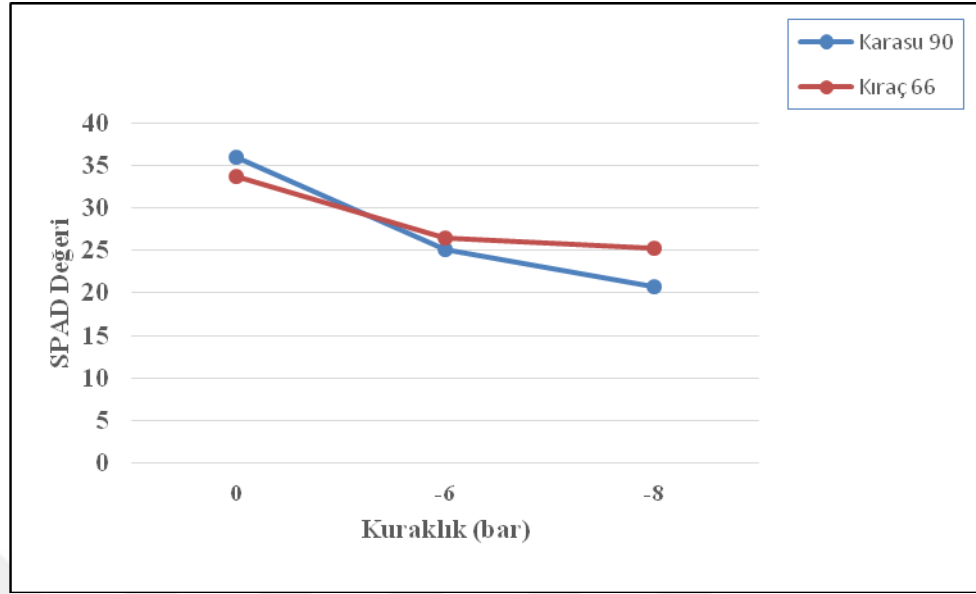
Çeşitler	Kuraklık Stresi (Bar)	α -Tokoferol (mg/L)	5. Gündeki Klorofil Miktarı (SPAD)
Karasu 90	0	0	36,3
		50	36,0
		100	35,7
		Ortalama	36,0
	-6	0	20,2
		50	27,2
		100	28,1
		Ortalama	25,2
	-8	0	18,3
		50	21,1
		100	23,0
		Ortalama	20,8
	Ortalama	0	24,9
		50	28,1
		100	28,9
		Ortalama	27,3
Kıraç 66	0	0	33,5
		50	33,3
		100	34,4
		Ortalama	33,7
	-6	0	23,1
		50	27,1
		100	29,4
		Ortalama	26,5
	-8	0	23,6
		50	24,9
		100	27,1
		Ortalama	25,2
	Ortalama	0	26,7
		50	28,4
		100	30,3
		Ortalama	28,5
Çeşitlerin Ortalaması	0	0	34,9
		50	34,7
		100	35,0
		Ortalama	34,8
	-6	0	21,6
		50	27,1
		100	28,8
		Ortalama	25,8
	-8	0	20,9
		50	23,0
		100	25,1
		Ortalama	23,0
	Kuraklık Stresi Ortalaması	0	25,8
		50	28,3
		100	29,6
	ORTALAMA		
F Değeri (Çeşit) (Ç)			156,593**
F Değeri (Kuraklık Stresi) (K)			5806,064**
F Değeri (α -Tokoferol) (T)			572,388**
F Değeri (ÇXK)			423,030**
F Değeri (ÇXT)			21,351**
F Değeri (KXT)			179,026**
F Değeri (ÇXKXT)			11,940**
LSD _(0,05) (Ç)			0,2
LSD _(0,05) (K)			0,2
LSD _(0,05) (T)			0,2
LSD _(0,05) (ÇXK)			0,3
LSD _(0,05) (ÇXT)			0,3
LSD _(0,05) (KXT)			0,4
LSD _(0,05) (ÇXKXT)			0,6
Varyasyon Katsayısı (%)			1,9

** ile işaretli F değerleri 0.01 ihtimal düzeyinde önemlidir.

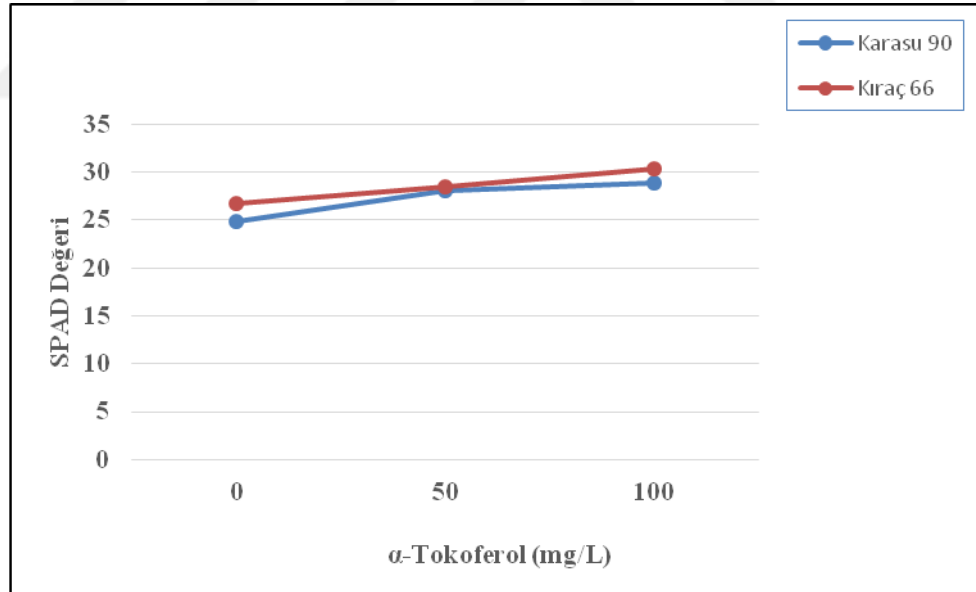
Çeşitlerin SPAD değeri kuraklık stresine göre farklılık göstermiştir. Her iki çeşitte de kuraklık şiddetindeki artışa bağlı olarak klorofil miktarında azalma görülmüştür. Ancak bu azalma Karasu 90 çeşidinde daha fazla olmuştur. SPAD değeri, Kırac 66 çeşidinde 0 bar'da 33,7, -6 bar'da 26,5 ve -8 bar'da 25,2 iken, Karasu 90 çeşidinde 0 bar'da 36,0, -6 bar'da 25,2 ve -8 bar'da 20,8, olarak bulunmuştur (Şekil 4.1).

Çeşitlerin α -tokoferol uygulamasına göre SPAD değerleri değişim göstermiştir. Her iki çeşitte de uygulanan α -tokoferol konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak SPAD değerinde artış gözlenmiştir. Kırac 66 çeşidinde 0 mg/L α -tokoferol uygulamasında 26,7, 50 mg/L'de 28,4 ve 100 mg/L'de 30,3; Karasu 90 çeşidinde 0 mg/L α -tokoferol uygulamasında 24,9, 50 mg/L'de 28,1 ve 100 mg/L'de 28,9 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.2).

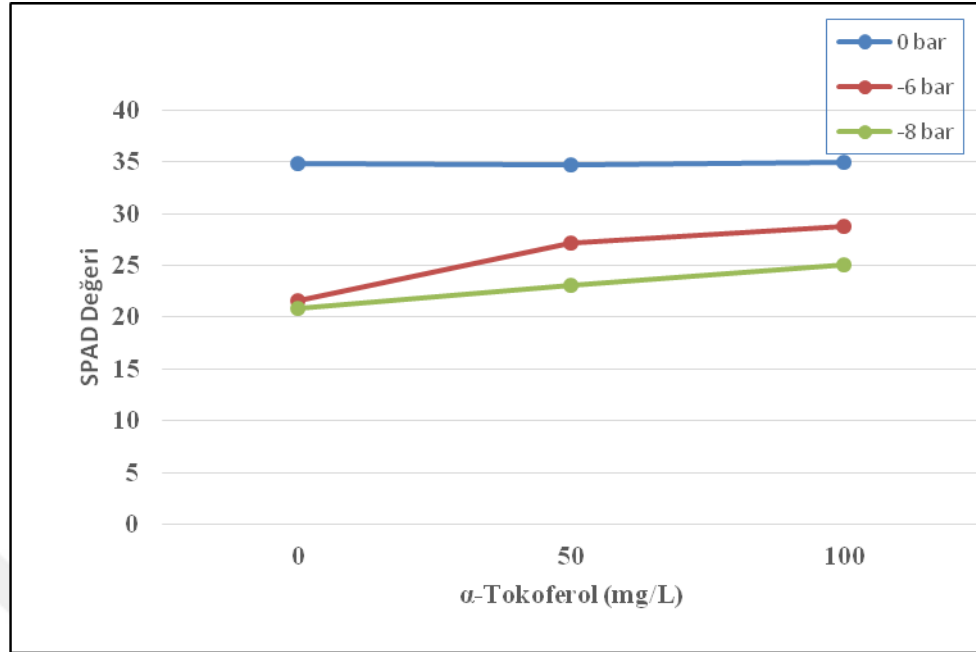
Kuraklık stresinin klorofil miktarına olan etkisi α -tokoferol uygulamasına göre farklılık göstermiştir. Kuraklık stresinin bulunmadığı 0 bar'da α -tokoferolün klorofil miktarı üzerine etkisi olmamıştır. Ancak, diğer iki kuraklık stresinde (-6 ve -8 bar) 0 mg/L α -tokoferol uygulamasına göre 50 ve 100 mg/L α -tokoferol uygulamaları SPAD değerinde artışa neden olmuştur. Ancak, bu SPAD değerleri kuraklık stresinin uygulanmadığı şartlardan daha düşük olmuştur. α -tokoferol uygulamasının SPAD değeri üzerine olan etkisi kuraklık stresinin şiddetine göre değerlendirildiğinde; 0 mg/L α -tokoferol uygulamasındaki SPAD değerleri, 0 bar'da 34,9, -6 bar'da 21,6 ve -8 bar'da 20,9; 50 mg/L α -tokoferol uygulamasında 0 bar'da 34,7, -6 bar'da 27,1 ve -8 bar'da 23,0; 100 mg/L α -tokoferol uygulamasında 0 bar'da 35,0, -6 bar'da 28,8 ve -8 bar'da 25,1 olarak bulunmuştur (Şekil 4.3)



Şekil 4.1. Kuraklık stresine göre çeşitlerin 5. gündeki SPAD değerleri

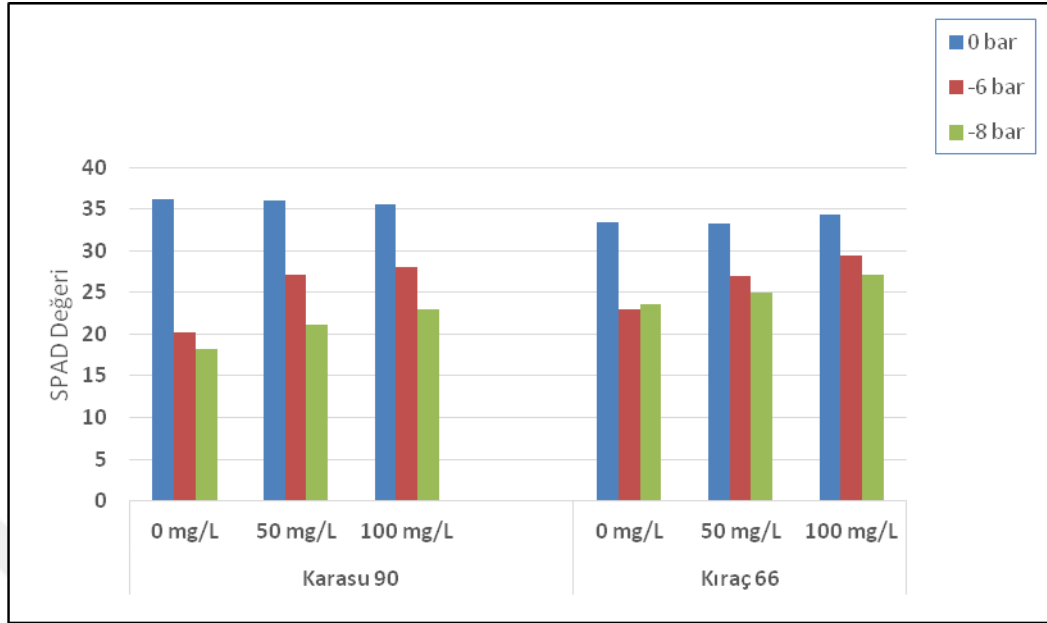


Şekil 4.2. α -Tokoferol uygulamasına göre çeşitlerin 5. gündeki SPAD değerleri



Şekil 4.3. Kuraklık stresinde uygulanan α -Tokoferolün 5. gündeki SPAD değerlerine etkisi

Çeşitlerin kuraklık stresi altındaki klorofil miktarları uygulanan α -tokoferol konsantrasyonlarına göre farklılık göstermiştir. Her iki çeşitte de α -tokoferol uygulamasının kuraklık stresine bağlı SPAD değerindeki azalışı engellediği belirlenmiştir. Karasu 90 çeşidinde beşinci gündeki SPAD değerleri; 0 mg/L α -tokoferol uygulamasında 0 bar'da 36,3, -6 bar'da 20,2 ve -8 bar'da 18,3; 50 mg/L α -tokoferol uygulamasında 0 bar'da 36,0, -6 bar'da 27,2 ve -8 bar'da 21,1; 100 mg/L α -tokoferol uygulamasında 0 bar'da 35,7, -6 bar'da 28,1 ve -8 bar'da 23,0 olarak bulunmuştur. Kırış 66 çeşidinde ise 0 mg/L α -tokoferol uygulamasında 0 bar'da 33,5, -6 bar'da 23,1 ve -8 bar'da 23,6; 50 mg/L α -tokoferol uygulamasında 0 bar'da 33,3, -6 bar'da 27,1 ve -8 bar'da 24,9; 100 mg/L α -tokoferol uygulamasında 0 bar'da 34,4, -6 bar'da 29,4 ve -8 bar'da 27,1 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.4). Her iki çeşitte de stressiz şartlarda (0 bar) uygulanan α -tokoferolün SPAD değeri üzerine önemli bir etkisi olmamış, ancak kuraklık stresinde SPAD değerindeki azalışı engellemiştir. Her iki çeşitte de kuraklığın 5. gündeki klorofil miktarı üzerine olan olumsuz etkisi α -tokoferol uygulaması ile en aza indiği belirlenmiştir.



Şekil 4.4. Kuraklık stresinde uygulanan α -Tokoferole göre çeşitlerin 5. gündeki SPAD değerleri

4.1.2. Onuncu gündeki klorofil miktarı (SPAD)

Beşinci günde olduğu gibi onuncu gündeki klorofil miktarına, kuraklık stresinin, çeşidin ve α - tokoferol uygulamasının ana etkileri ile bunların ikili (ÇxK, ÇxT ve KxT) ve üçlü (ÇxKxT) interaksiyonlarının etkisi çok önemli ($p < 0,01$) bulunmuştur (Çizelge 4.2). Kuraklık stresinin uygulandığı şartlarda kuraklık süresinin uzamasına bağlı olarak onuncu gündeki klorofil miktarında beşinci günde göre önemli oranda azalış meydana gelmiştir.

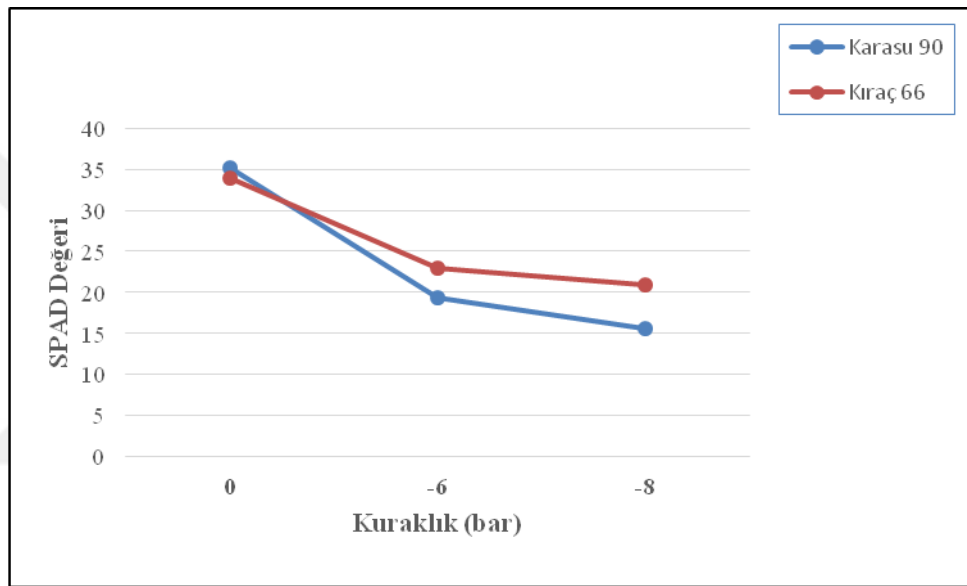
Çeşitlerin ortalaması dikkate alındığında Kıraç 66 çeşidinin SPAD değeri (26,0) Karasu 90 çeşidinden (23,4) daha yüksek olmuştur. Kuraklık stresinin ana etkisi incelendiğindeyse kuraklık şiddetindeki artışa bağlı olarak SPAD değerinde azalma oluşmuştur. Bu değer 0 bar'da 34,6, -6 bar'da 21,2 ve -8 bar'da ise 18,3 olarak tespit edilmiştir. α -tokoferol uygulamasının ana etkileri incelendiğinde konsantrasyondaki artışa bağlı olarak SPAD değerinde artış meydana gelmiştir. Bu değer 0 mg/L'de 22,2, 50 mg/L'de 25,8 ve 100 mg/L'de 26,1 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Kuraklık stresinde uygulanan α -tokoferole göre çeşitlerin 10. gündeki SPAD değerleri

Çeşitler	Kuraklık Stresi (Bar)	α -Tokoferol (mg/L)	10. Gündeki Klorofil Miktarı (SPAD)
Karasu 90	0	0	35,0
		50	35,5
		100	35,1
		Ortalama	35,2
	-6	0	15,9
		50	22,9
		100	19,3
		Ortalama	19,4
	-8	0	10,0
		50	16,1
		100	20,6
		Ortalama	15,6
	Ortalama	0	20,3
		50	24,8
		100	25,0
		Ortalama	23,4
Kıraç 66	0	0	34,1
		50	33,5
		100	34,4
		Ortalama	34,0
	-6	0	20,5
		50	24,2
		100	24,3
		Ortalama	23,0
	-8	0	17,8
		50	22,3
		100	23,0
		Ortalama	21,0
	Ortalama	0	24,1
		50	26,7
		100	27,2
		Ortalama	26,0
Çeşitlerin Ortalaması	0	0	34,5
		50	34,5
		100	34,8
		Ortalama	34,6
	-6	0	18,2
		50	23,6
		100	21,8
		Ortalama	21,2
	-8	0	13,9
		50	19,2
		100	21,8
		Ortalama	18,3
	Kuraklık Stresi Ortalaması	0	22,2
		50	25,8
		100	26,1
	ORTALAMA		
F Değeri (Çeşit) (Ç)			768,193**
F Değeri (Kuraklık Stresi) (K)			11225,115**
F Değeri (α -Tokoferol) (T)			688,789**
F Değeri (ÇXK)			435,859**
F Değeri (ÇXT)			41,119**
F Değeri (KXT)			237,929**
F Değeri (ÇXKXT)			55,171**
LSD _(0,05) (Ç)			0,2
LSD _(0,05) (K)			0,2
LSD _(0,05) (T)			0,2
LSD _(0,05) (ÇXK)			0,3
LSD _(0,05) (ÇXT)			0,3
LSD _(0,05) (KXT)			0,4
LSD _(0,05) (ÇXKXT)			0,6
Varyasyon Katsayısı (%)			1,4

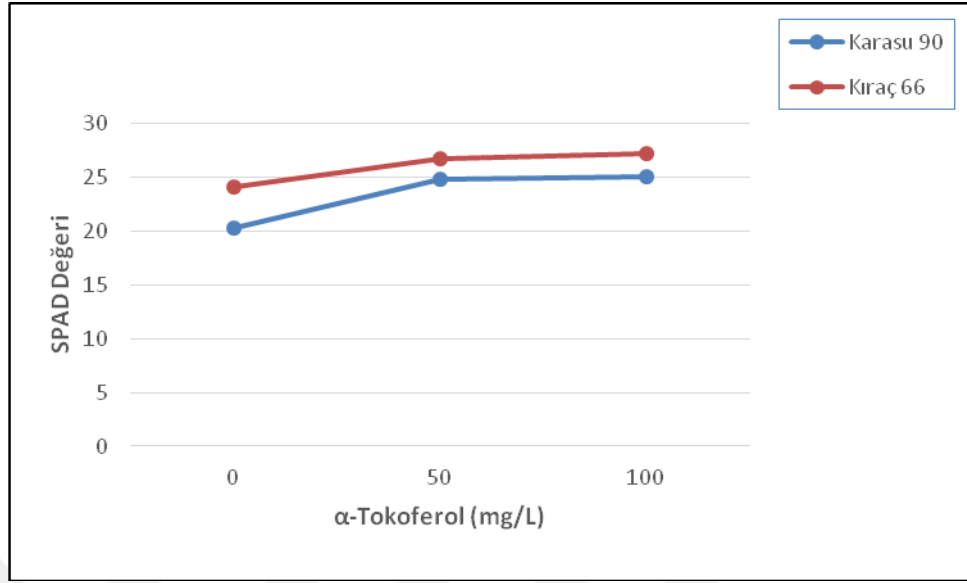
** ile işaretli F değerleri 0.01 ihtimal düzeyinde önemlidir.

Çeşitlerin klorofil miktarı kuraklık stresinin şiddetine göre farklılık göstermiştir. Kuraklık şiddetinin artması ile her iki çeşitte de klorofil miktarında azalma gözlenmiştir. SPAD değerindeki bu azalma Karasu 90 çeşidinde daha fazla olmuştur. Onuncu gündeki SPAD değerleri, Karasu 90 çeşidinde 0 bar'da 35,2, -6 bar'da 19,4 ve -8 bar'da 15,6; Kırac 66 çeşidinde ise 0 bar'da 34,0, -6 bar'da 23,0 ve -8 bar'da 21,0 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.5).



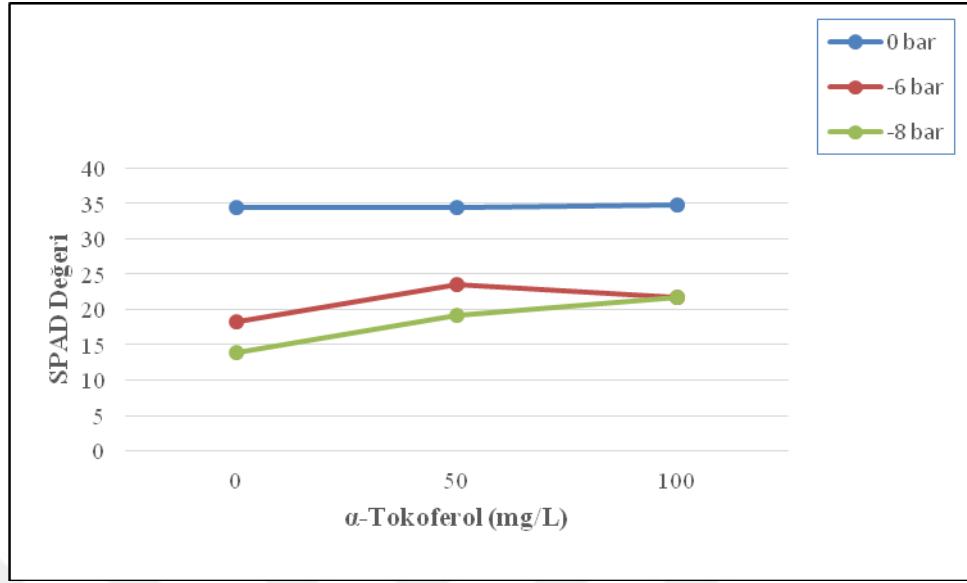
Şekil 4.5. Kuraklık stresine göre çeşitlerin 10. gündeki SPAD değerleri

Çeşitlerin klorofil miktarı değerlerinde α -tokoferol uygulamasına göre değişim meydana gelmiştir. Her iki çeşitte de uygulanan α -tokoferol konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak SPAD değerinde artış oluşmuştur. Bu değer, Karasu 90 çeşidinde 0 mg/L'de 20,3, 50 mg/L'de 24,8 ve 100 mg/L'de 25,0 iken; Kırac 66 çeşidinde 0 mg/L'de 24,1, 50 mg/L'de 26,7 ve 100 mg/L'de 27,2 olarak bulunmuştur (Şekil 4.6).



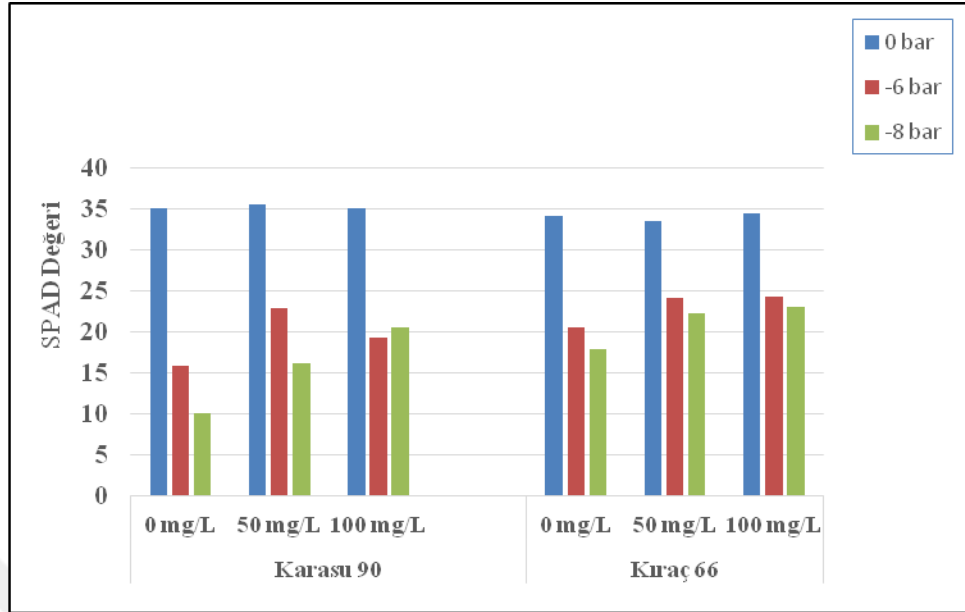
Şekil 4.6. α -Tokoferol uygulamasına göre çeşitlerin 10. gündeki SPAD değerleri

α -Tokoferol uygulamasının SPAD değeri üzerindeki etkisi kuraklık stresinin şiddetine göre farklılık göstermiştir. Kuraklık stresinin bulunmadığı 0 bardaki α -tokoferol uygulamasının SPAD değeri üzerine etkisi bulunmamıştır. Fakat, -6 ve -8 barlık kuraklık stresinde 0 mg/L α -tokoferol uygulamasına göre 50 ve 100 mg/L α -tokoferol uygulamaları SPAD değerinde artışa sebep olmuştur. Kuraklık stresi altında α -tokoferol uygulamasının onuncu gündeki SPAD değeri üzerine olan etkisi incelendiğinde; 0 mg/L α -tokoferol uygulamasında, 0 bar'da 34,5, -6 bar'da 18,2 ve -8 bar'da 13,9; 50 mg/L α -tokoferol uygulamasında 0 bar'da 34,5, -6 bar'da 23,6 ve -8 bar'da 19,2; 100 mg/L α -tokoferol uygulamasında, 0 bar'da 34,8, -6 bar'da 21,8 ve -8 bar'da 21,8 SPAD değerleri hesaplanmıştır (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Kuraklık stresinde uygulanan α -Tokoferol'ün 10. günde SPAD değerlerine etkisi

Çeşitlerin kuraklık şiddeti altındaki SPAD değerleri uygulanan α -tokoferol konsantrasyonlarına göre farklılık göstermiştir. Her iki çeşitte de α -tokoferol uygulamasının kuraklık neden olduğu klorofil miktarındaki azalmayı engellediği tespit edilmiştir. Kırac 66 çeşidinde onuncu günde SPAD değerleri; 0 mg/L α -tokoferol uygulamasında 0 bar'da 34,1, -6 bar'da 20,5 ve -8 bar'da 17,8; 50 mg/L α -tokoferol uygulamasında 0 bar'da 33,5, -6 bar'da 24,2 ve -8 bar'da 22,3; 100 mg/L α -tokoferol uygulamasında 0 bar'da 34,4, -6 bar'da 24,3 ve -8 bar'da 23,0; Karasu 90 çeşidinde 0 mg/L α -tokoferol uygulamasında 0 bar'da 35,0, -6 bar'da 15,9 ve -8 bar'da 10,0; 50 mg/L α -tokoferol uygulamasında 0 bar'da 35,5, -6 bar'da 22,9 ve -8 bar'da 16,1; 100 mg/L α -tokoferol uygulamasında 0 bar'da 35,1, -6 bar'da 19,3 ve -8 bar'da 20,6 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.8). Her iki çeşitte de stressiz şartlarda (0 bar) uygulanan α -tokoferolün SPAD değeri üzerine önemli bir etkisi olmamış, ancak kuraklık stresindeki SPAD değerindeki azalışı engellemiştir. α -tokoferol uygulaması ile kuraklığın SPAD değeri üzerine olan olumsuz etkisinin en aza indiği belirlenmiştir.



Şekil 4.8. Kuraklık stresinde uygulanan α -tokoferole göre çeşitlerin 10. gündeki SPAD değerleri

4.2. Nispi su içeriği (%)

Çizelge 4.3 incelendiğinde yaprak nispi su içeriği üzerine çeşidin, kuraklık stresinin, α -tokoferol uygulamasının ana etkileri ve bunların ikili (ÇxK, ÇxT ve KxT) ve üçlü (ÇxKxT) interaksiyonlarının etkisinin çok önemli ($p < 0,01$) olduğu görülmektedir (Çizelge 4.3.)

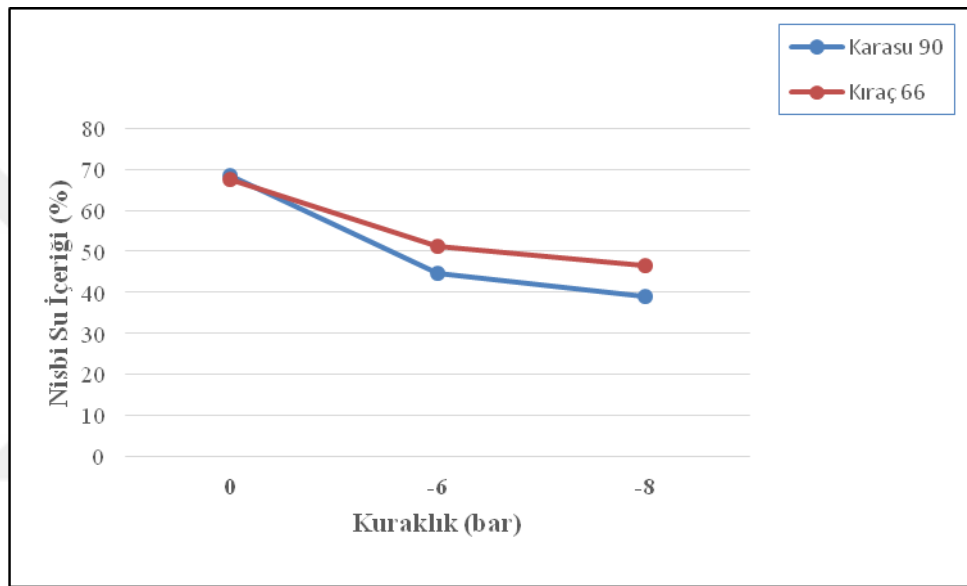
Yaprak nispi su içeriği bakımından çeşitler incelendiğinde kuraklığa toleranslı olduğu bilinen Kırac 66 çeşidinin nispi su içeriği (%55,2) Karasu 90 çeşidinden (%50,7) daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Kuraklık stresinin ana etkisi kıyaslandığında ise kuraklık stresinin şiddetindeki artışa bağlı olarak nispi su içeriğinde düşüş meydana gelmiştir. Stressiz şartlarda (0 bar) nispi su içeriği %68,0, iken -6 bar'da %48,1 ve -8 bar'da %42,8 olarak belirlenmiştir. α -tokoferol uygulamasının ana etkisi bakımından en yüksek nispi su içeriği %54,2 ile 100 mg/L α -tokoferol uygulamasında, en düşük ise %51,2 ile 0 mg/L α -tokoferol uygulamasında görülmüştür. Bu oran 50 mg/L'de %53,5 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Kuraklık stresinde uygulanan α -tokoferole göre çeşitlerin nispi su içerikleri (%)

Çeşitler	Kuraklık Stresi (Bar)	α -Tokoferol (mg/L)	Nispi Su İçeriği (%)
Karasu 90	0	0	68,2
		50	69,1
		100	67,9
		Ortalama	68,4
	-6	0	42,5
		50	46,0
		100	46,0
		Ortalama	44,8
	-8	0	34,6
		50	40,1
		100	42,2
		Ortalama	39,0
	Ortalama	0	48,4
		50	51,7
		100	52,0
		Ortalama	50,7
Kıraç 66	0	0	67,1
		50	67,5
		100	68,3
		Ortalama	67,6
	-6	0	54,3
		50	49,3
		100	50,6
		Ortalama	51,4
	-8	0	40,5
		50	49,3
		100	50,0
		Ortalama	46,6
	Ortalama	0	54,0
		50	55,3
		100	56,3
		Ortalama	55,2
Çeşitlerin Ortalaması	0	0	67,7
		50	68,3
		100	68,1
		Ortalama	68,0
	-6	0	48,4
		50	47,6
		100	48,3
		Ortalama	48,1
	-8	0	37,5
		50	44,7
		100	46,1
		Ortalama	42,8
	Kuraklık Stresi Ortalaması	0	51,2
		50	53,5
		100	54,2
	ORTALAMA		
F Değeri (Çeşit) (Ç)			1056,672**
F Değeri (Kuraklık Stresi) (K)			12440,479**
F Değeri (α -Tokoferol) (T)			172,486**
F Değeri (ÇXK)			367,361**
F Değeri (ÇXT)			16,654**
F Değeri (KXT)			164,521**
F Değeri (ÇXKXT)			64,740**
LSD _(0,05) (Ç)			0,3
LSD _(0,05) (K)			0,3
LSD _(0,05) (T)			0,3
LSD _(0,05) (ÇXK)			0,5
LSD _(0,05) (ÇXT)			0,5
LSD _(0,05) (KXT)			0,6
LSD _(0,05) (ÇXKXT)			0,8
Varyasyon Katsayısı (%)			1,8

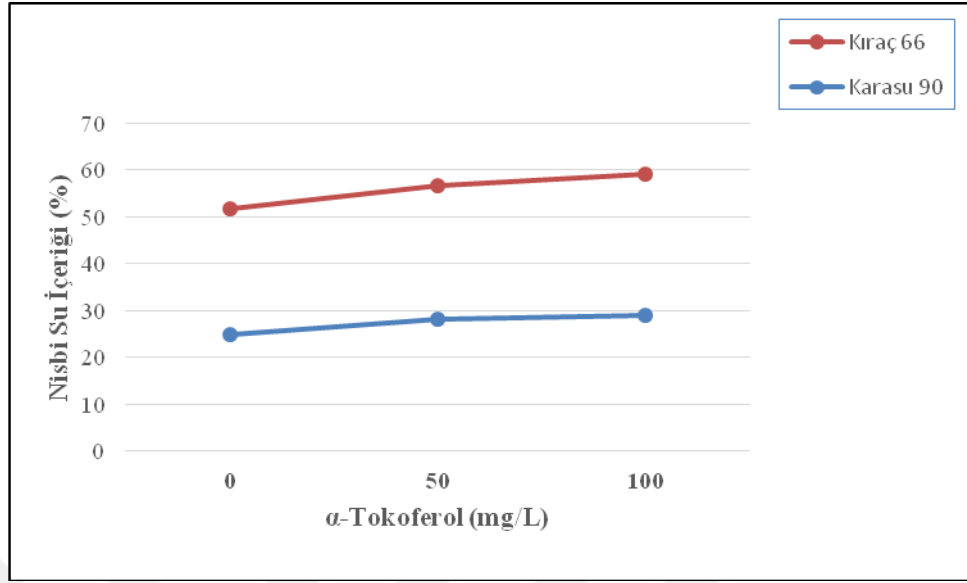
** ile işaretli F değerleri 0.01 ihtimal düzeyinde önemlidir.

Çeşitlerin nispi su içeriği kuraklık şiddetine göre farklılık göstermiştir. Her iki çeşitte de kuraklık şiddetindeki artışa bağlı olarak nispi su içeriğinde azalma görülmüştür. Fakat bu azalma Karasu 90 çeşidinde daha fazla olmuştur. Nispi su içeriği, Karasu 90 çeşidinde 0 bar'da %68,4, -6 bar'da %44,8 ve -8 bar'da %39,0 iken; Kırac 66 çeşidinde ise 0 bar'da %67,6, -6 bar'da %51,4 ve -8 bar'da %46,6 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.9).



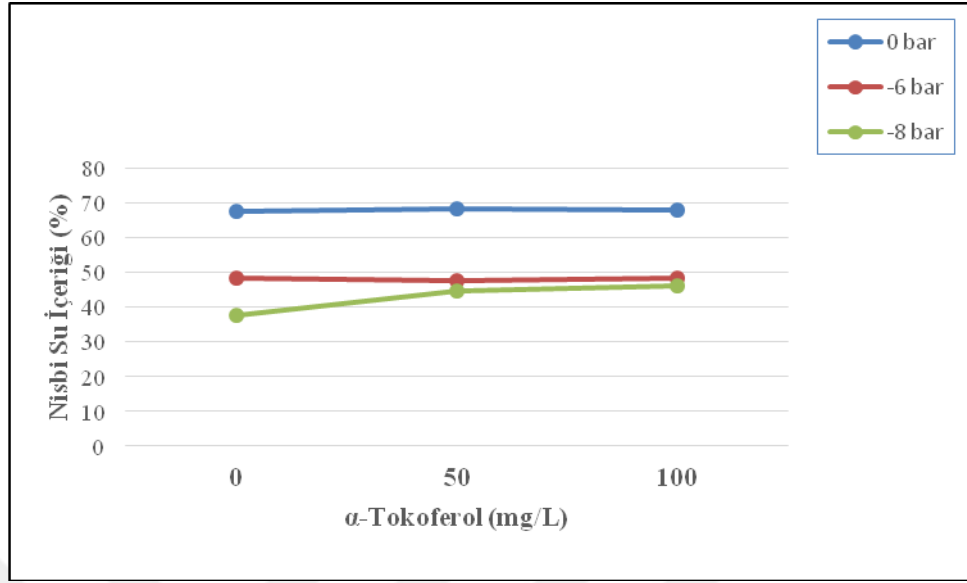
Şekil 4.9. Kuraklık stresine göre çeşitlerin nispi su içerikleri (%)

Çeşitlerin nispi su içeriğinde α -tokoferol uygulamasına göre farklılık görülmüştür. Her iki çeşitte de uygulanan α -tokoferol konsantrasyonundaki artışa paralel olarak nispi su içeriğinde de artma görülmüştür. Çeşitlerin nispi su içeriği, Kırac 66 çeşidinde 0 mg/L'de %26,7, 50 mg/L'de %28,4 ve 100 mg/L'de %30,3; Karasu 90 çeşidinde ise 0 mg/L'de %24,9, 50 mg/L'de %28,1 ve 100 mg/L'de %28,9 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.10).



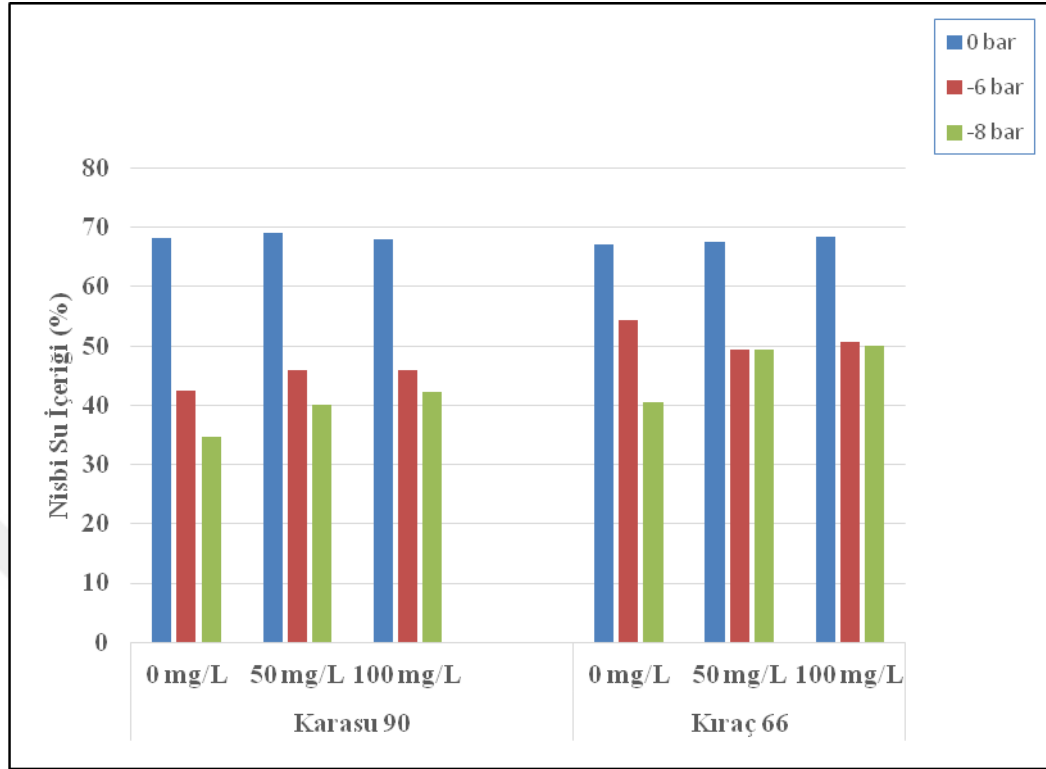
Şekil 4.10. α -Tokoferol uygulamasına göre çeşitlerin nispi su içerikleri (%)

Nispi su içeriğinde α -tokoferol uygulamasının etkisi kuraklığın şiddetine göre farklılık göstermiştir. Kuraklık stresinin olmadığı 0 barda uygulanan α -tokoferol uygulamasının nispi su içeriği üzerine etkisi olmamıştır. Fakat, bunun dışındaki iki kuraklık stresinde (-6 ve -8 bar) 0 mg/l α -tokoferol uygulamasına göre 50 ve 100 mg/L α -tokoferol uygulamaları nispi su içeriğinde artışa neden olmuştur. 0 mg/L α -tokoferol uygulamasında, 0 bar'da %67,7, -6 bar'da %48,4 ve -8 bar'da %37,5; 50 mg/L α -tokoferol uygulamasında 0 bar'da %68,3, -6 bar'da %47,6 ve -8 bar'da %44,7; 100 mg/L α -tokoferol uygulamasında 0 bar'da %68,1, -6 bar'da %48,3 ve -8 bar'da %46,1 olarak bulunmuştur (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Kuraklık stresinde uygulanan α -tokoferolün nispi su içeriğine (%) etkisi

Çeşitlerin kuraklık stresi altındaki nispi su içerikleri uygulanan α -tokoferol konsantrasyonlarına göre farklılık göstermiştir. Her iki çeşitte de α -tokoferol uygulamasının kuraklık stresinde (-6 ve -8 bar) nispi su içeriğindeki azalışı engellediği belirlenmiştir. Karasu 90 çeşidinde nispi su içeriği, 0 mg/L α -tokoferol uygulamasında 0 bar'da %68,2, -6 bar'da %42,5 ve -8 bar'da %34,6; 50 mg/L α -tokoferol uygulamasında 0 bar'da %69,1, -6 bar'da %46,0 ve -8 bar'da %40,1; 100 mg/L α -tokoferol uygulamasında 0 bar'da %67,9, -6 bar'da %46,0 ve -8 bar'da %42,2 iken; Kırac 66 çeşidinde 0 mg/L α -tokoferol uygulamasında 0 bar'da %67,1, -6 bar'da %54,3 ve -8 bar'da %40,5; 50 mg/L α -tokoferol uygulamasında 0 bar'da %67,5, -6 bar'da %49,3 ve -8 bar'da %49,3; 100 mg/L α -tokoferol uygulamasında 0 bar'da %68,3, -6 bar'da %50,6 ve -8 bar'da %50,0 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.12). Her iki çeşitte de stressiz şartlarda (0 bar) uygulanan α -tokoferolün nispi su içeriğine önemli bir etkisi olmamasına rağmen, kuraklık stresinin olumsuz etkisini azaltmıştır.



Şekil 4.12. Kuraklık stresinde uygulanan α -tokoferole göre çeşitlerin nispi su içerikleri (%)

4.3. Hücre membran hasarı (%)

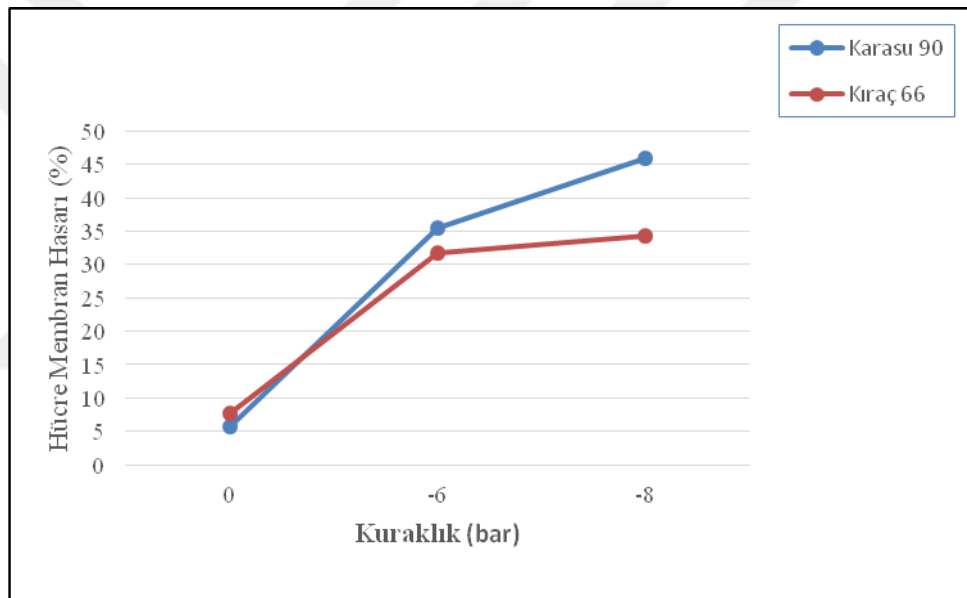
Hücre membran hasarı bakımından çeşitler arasındaki fark çok önemli olmuştur ($p<0,01$) (Çizelge 4.4). Kurağa toleranslı olarak bilinen Kırac 66 çeşidinin hücre membran hasarı (%24,6) Karasu 90 çeşidinden (%29,1) daha düşük bulunmuştur. Yine kuraklık stresinin ana etkisi çok önemli olmuştur ($p<0,01$) (Çizelge 4.4). Kuraklık şiddetinin artışına bağlı olarak hücre membran hasarında da artma meydana gelmiştir. Hücre membran hasarı 0 bar'da %6,8; -6 bar'da %33,6 ve -8 bar'da %40,1 olarak belirlenmiştir. α -Tokoferol uygulamasının ana etkisi çok önemli olmuş ($p<0,01$) ve en yüksek (%33,3) hücre membran hasarı 0 mg/L α -tokoferol uygulamasında, en düşük ise %21,5 ile 100 mg/L α -tokoferol uygulamasında belirlenmiştir (Çizelge 4.4). Bu oran 50 mg/L'de %25,7 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. Kuraklık stresinde uygulanan α - tokoferole göre çeşitlerin hücre membran hasarı oranları (%)

Çeşitler	Kuraklık Stresi (Bar)	α -Tokoferol (mg/L)	Mebran Hasarı (%)
Karasu 90	0	0	6,4
		50	5,8
		100	5,3
		Ortalama	5,8
	-6	0	42,7
		50	34,0
		100	29,7
		Ortalama	35,4
	-8	0	65,0
		50	41,7
		100	31,3
		Ortalama	46,0
	Ortalama	0	38,0
		50	27,2
		100	22,1
		Ortalama	29,1
Kıraç 66	0	0	10,3
		50	6,2
		100	6,6
		Ortalama	7,7
	-6	0	35,2
		50	32,0
		100	28,0
		Ortalama	31,7
	-8	0	40,3
		50	34,3
		100	28,0
		Ortalama	34,2
	Ortalama	0	28,6
		50	24,2
		100	20,9
		Ortalama	24,6
Çeşitlerin Ortalaması	0	0	8,4
		50	6,0
		100	6,0
		Ortalama	6,8
	-6	0	38,9
		50	33,0
		100	28,8
		Ortalama	33,6
	-8	0	52,7
		50	38,0
		100	29,6
		Ortalama	40,1
	Kuraklık Stresi Ortalaması	0	33,3
		50	25,7
		100	21,5
	ORTALAMA		
F Değeri (Çeşit) (Ç)			72,617**
F Değeri (Kuraklık Stresi) (K)			1467,736**
F Değeri (α -Tokoferol) (T)			169,509**
F Değeri (ÇXK)			55,064**
F Değeri (ÇXT)			21,858**
F Değeri (KXT)			43,474**
F Değeri (ÇXKXT)			17,114**
LSD _(0,05) (Ç)			1,1
LSD _(0,05) (K)			1,3
LSD _(0,05) (T)			1,3
LSD _(0,05) (ÇXK)			1,9
LSD _(0,05) (ÇXT)			1,9
LSD _(0,05) (KXT)			2,3
LSD _(0,05) (ÇXKXT)			3,2
Varyasyon Katsayısı (%)			7,3

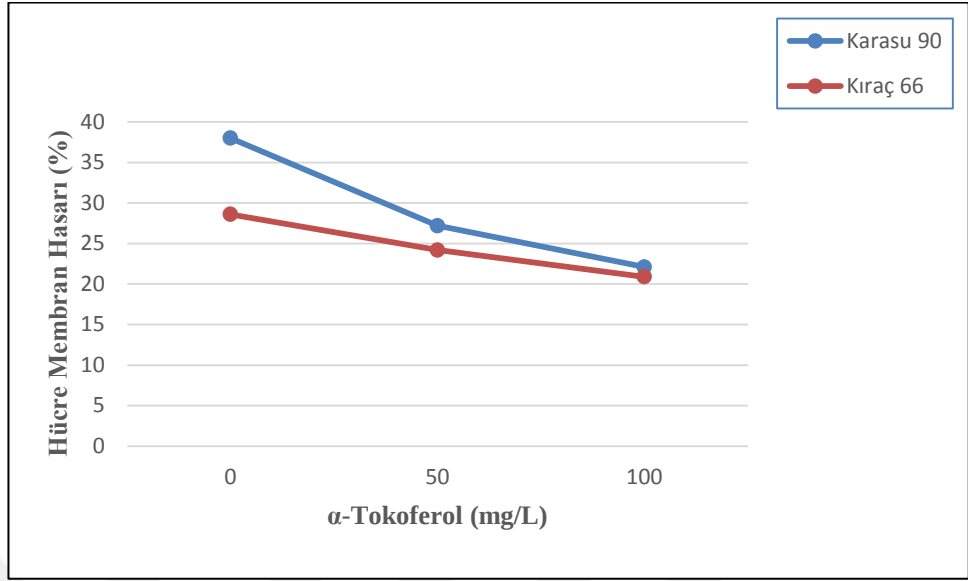
** ile işaretli F değerleri 0.01 ihtimal düzeyinde önemlidir.

Kuraklık şiddetine göre çeşitler arasındaki hücre membran hasarı değerleri değişiklik göstermiş ve ÇxK interaksiyonun etkisi çok önemli ($p<0,01$) olmuştur (Çizelge 4.4). Her iki çeşitte de kuraklık şiddetindeki artışa bağlı olarak hücre membran hasarında artış meydana gelmiştir. Ancak, bu artış Karasu 90 çeşidinde daha fazla olmuştur. Çeşitlerin farklı kuraklık şiddetindeki hücre membran hasarı karşılaştırıldığında, Karasu 90 çeşidinde 0 bar'da %5,8, -6 bar'da %35,4 ve -8 bar'da %46,0; Kırac 66 çeşidinde ise 0 bar'da %7,7, -6 bar'da %31,7 ve -8 bar'da %34,2 olarak artış göstermiştir (Şekil 4.13).



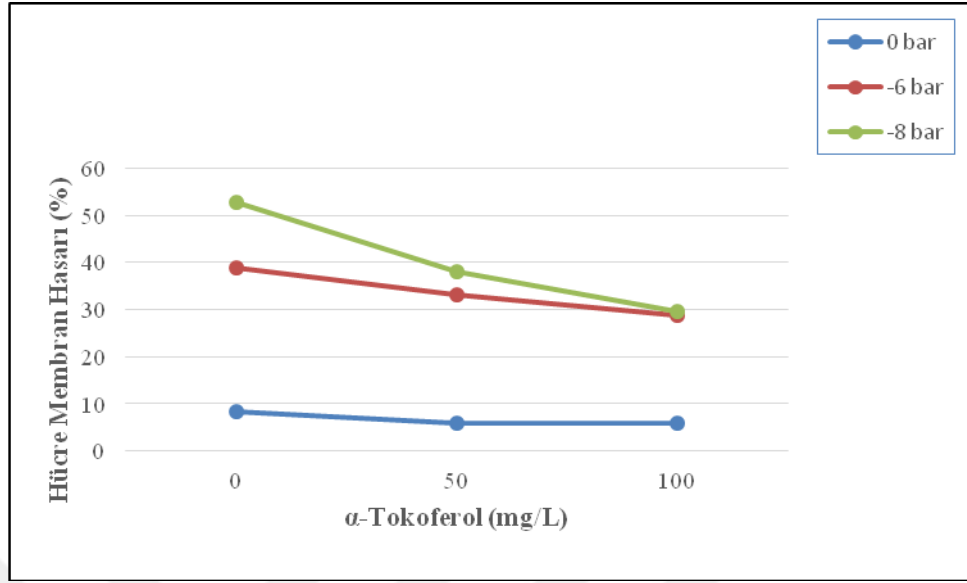
Şekil 4.13. Kuraklık stresine göre çeşitlerin membran hasarı oranları (%)

Çeşitlerin hücre membran hasarı oranları α -tokoferol uygulamasına göre farklı göstermesi ÇxT interaksiyonun etkisinin çok önemli ($p<0,01$) olmasına neden olmuştur (Çizelge 4.4). Her iki çeşitte de α -tokoferol konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak hücre membran hasarında azalma meydana gelmiştir. Karasu 90 çeşidinde 0 mg/L'da %38,0, 50 mg/L'de %27,2 ve 100 mg/L'de %22,1; Kırac 66 çeşidinde 0 mg/L'da %28,6, 50 mg/L'de %24,2 ve 100 mg/L'de %20,9 olarak bulunmuştur (Şekil 4.14).



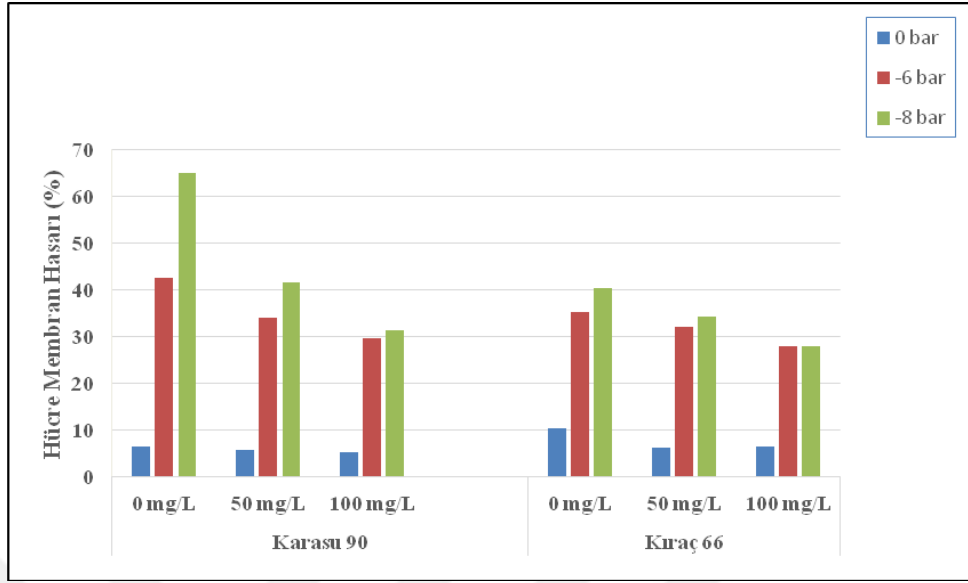
Şekil 4.14. α -Tokoferol uygulamasına göre çeşitlerin hücre membran hasarı oranları (%)

Hücre membran hasarı üzerine α -tokoferol uygulamasının etkisi kuraklık şiddetine göre değişim göstermiş ve KxT interaksiyonun etkisi çok önemli ($p < 0,01$) olmuştur (Çizelge 4.4). Kuraklık şiddetinin olmadığı 0 barda α -tokoferol uygulamasının hücre membran hasarı üzerine etkisi olmamıştır. Ancak, diğer iki kuraklık stresinde (-6 ve -8 bar) 0 mg/l α -tokoferol uygulamasına göre 50 ve 100 mg/L α -tokoferol uygulamaları hücre membran hasarında azalmaya neden olmuştur. Belirlenen bu hücre membran hasarı değerleri kontrol uygulamasından daha yüksek bulunmuştur. Hücre membran hasarı 0 mg/L α -tokoferol uygulamasında 0 bar'da %8,4, -6 bar'da %38,9 ve -8 bar'da %52,7; 50 mg/L α -tokoferol uygulamasında 0 bar'da %6,0, -6 bar'da %33,0 ve -8 bar'da %38,0; 100 mg/L α -tokoferol uygulamasında 0 bar'da %6,0, -6 bar'da %28,8 ve -8 bar'da %29,6 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.15).



Şekil 4.15. Kuraklık stresinde uygulanan α -tokoferolün hücre membran hasarı oranına (%) etkisi

Çeşitlerin kuraklık stresi altındaki hücre membran hasarı oranı uygulanan α -tokoferol konsantrasyonlarına göre farklılık göstermiş ve ÇxKxT interaksiyonun etkisi çok önemli ($p < 0,01$) olmuştur (Çizelge 4.4). Her iki çeşitte de α -tokoferol uygulamasının (50 ve 100 mg/L) kuraklık stresinde (-6 ve -8 bar) hücre membran hasarını engellediği belirlenmiştir. Hücre membran hasarı Kırış 66 çeşidinde 0 mg/L α -tokoferol uygulamasında 0 bar'da %10,3, -6 bar'da %35,2 ve -8 bar'da %40,3; 50 mg/L α -tokoferol uygulamasında 0 bar'da %6,2, -6 bar'da %32,0 ve -8 bar'da %34,3; 100 mg/L α -tokoferol uygulamasında 0 bar'da %6,6, -6 bar'da %28,0 ve -8 bar'da %28,0; Karasu 90 çeşidinde ise 0 mg/L α -tokoferol uygulamasında 0 bar'da %6,4, -6 bar'da %42,7 ve -8 bar'da %65,0; 50 mg/L α -tokoferol uygulamasında 0 bar'da %5,8, -6 bar'da %34,0 ve -8 bar'da %41,7; 100 mg/L α -tokoferol uygulamasında ise 0 bar'da %5,3, -6 bar'da %29,7 ve -8 bar'da ise %31,3 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.16). Her iki çeşitte de stressiz şartlarda (0 bar) uygulanan α -tokoferolün hücre membran hasarı üzerine bir etkisi olmamasına rağmen, kuraklık stresinin bu özellik üzerine olan olumsuz etkisini azaltmıştır.



Şekil 4.16. Kuraklık stresinde uygulanan α -tokoferole göre çeşitlerin hücre membran hasarı oranları (%)

4.4. IRAP Analizleri ve Genomik Kalıp Sabitliliği (Genomik Template Stability; GTS%)

Karasu 90 ve Kırac 66 ekmeklik buğday çeşitlerinde PEG 6000 ile oluşturulan kuraklık stresinde α -tokoferol uygulamasının genom üzerindeki genetiksel etkilerini test etmek için hesaplanan polimorfizm ve GTS değerleri için toplam 7 IRAP primeri (Çizelge 3.2) denenmiş ve bunlar arasından en iyi amplifikasyon oluşturan 5 primer [BARE1 (0), Stowaway, Sukkula, WLTR2105 ve N-57Nikita(F)] seçilerek değerlendirilmeye alınmıştır.

Her iki çeşitte de polimorfizm oranı (%) kuraklık stresinin şiddetine bağlı olarak artış göstermiştir. TotalLab TL120 programının kullanılmasıyla alınan verilere dayanarak (Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6) her iki çeşitte de GTS oranı üzerine kuraklık stresinin şiddetine bağlı olarak bir azalış söz konusu iken, α -tokoferol uygulaması antagonistik bir etki oluşturmuş ve GTS oranında artışa sebep olmuştur.

Karasu 90 genotipinde kontrole göre kuraklık stresi ve α -tokoferol uygulamasında yeni

oluşan ve kaybolan bantların moleküler aralığı 359 ile 9906 bp (Çizelge 4.5) arasında iken, Kırac 66 genotipinde ise 407 ile 10000 bp arasında değişim görülmüştür (Çizelge 4.7). Karasu 90 çeşitinde kuraklık stresinde retrotranspozon kaynaklı polimorfizm oranı Kırac 66 genotipine göre daha yüksek olmuştur (Çizelge 4.6 ve Çizelge 4.8).

Karasu 90 çeşidinde kontrole göre en düşük GTS değeri %27 ile α -tokoferol uygulamasının yapılmadığı -8 bar'lık kuraklık stresinde; en yüksek GTS oranı ise %39,6 ile 100 mg/L α -tokoferolün uygulandığı stressiz şartlarda belirlenmiştir. Karasu 90 çeşidinde -6 ve -8 bar'lık kuraklık şiddetindeki GTS oranı sırasıyla %35,3 ve %27,0 iken; bu değer 50 mg/L α -tokoferol uygulamasında %38,0 ve 33,0 ve 100 mg/L α -tokoferol uygulamasında ise %38,0 ve %35,3 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.6). Karasu 90 çeşidinde polimorfizm oranı kuraklık stresinin en düşük (0 bar) ve α -tokoferol uygulamasının en yüksek (100 mg/L) olduğu konsantrasyonda en düşük (%60,4) iken, Kuraklık stresinin en yüksek (-8 bar) ve α -tokoferol uygulamasının en düşük (0 mg/L) olduğu konsantrasyonda ise polimorfizm oranı en yüksektir (%73) (Çizelge 4.6).

Kırac 66 çeşidinde kontrole göre en düşük GTS değeri %29,9 ile α -tokoferol uygulamasının yapılmadığı -8 bar'lık kuraklık stresinde belirlenirken en yüksek GTS oranı ise %52,3 ile 100 mg/L α -tokoferolün uygulandığı stressiz şartlarda belirlenmiştir. Kırac 66 çeşidinde -6 ve -8 bar'lık kuraklık şiddetindeki GTS oranı sırasıyla %36,9 ve %29,9 iken; bu değer 50 mg/L α -tokoferol uygulamasında %43,0 ve 33,9 ve 100 mg/L α -tokoferol uygulamasında ise %47,3 ve %38,9 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.8). Kırac 66 çeşidinde polimorfizm oranı kuraklık stresinin en düşük (0 bar) ve α -tokoferol uygulamasının en yüksek (100 mg/L) olduğu konsantrasyonda en düşük (%47,7) iken, Kuraklık stresinin en yüksek (-8 bar) ve α tokoferol uygulamasının en düşük (0 mg/L) olduğu konsantrasyonda ise polimorfizm oranı en yüksektir (%70,1) (Çizelge 4.8).

Çalışma primerleri dikkate alındığında Karasu 90 çeşidinde en yüksek polimorfizm Stowaway primerinde belirlenirken, Kırac 66 çeşidinde ise N57 (Nikita) primerinde görülmüştür.

Çizelge 4.5. Kuraklık stresi ve α -tokoferol uygulamasında kontrole göre Karasu 90 çeşidinde meydana gelen yeni ve kaybolan bantların moleküler ağırlıkları (bp)

Primerler	+/-	Kontrol	0 mg/L α tokoferol		50 mg/L α tokoferol			100 mg/L α tokoferol		
			-6 bar	-8 bar	0 bar	-6 bar	-8 bar	0 bar	-6 bar	-8 bar
<i>Stowaway</i>	+	4	3630;838	3578;883	3520	3720;875	865	853	2597	3112;748
	-		2288;2000	2288	2288;2000	2288	2288;5602	2288;5602	2288;2000	2288
<i>Bare1 (0)</i>	+	3	908;484	1000;800	984;700	1035	466		510	
	-		4000	4000	4000			4000	4000	
<i>N57(Nikita)</i>	+	4		3837;1027	4168	5585	461;423		1900	3061
	-		9906;461	1000;996	9906	1000;996	1000;996	1000;996	1000;996	1000;996
<i>SUKKULA</i>	+	5				737	500		392	359
	-		1582;1036	1582	1582;1036	1582;500	359;624	1036;847;500	1036;500	1582;500
<i>WLTR 2105</i>	+	6	2521;661	2753;1212;655	1295;1105	840;300	2314;2578,1039		1233;454	2257;1914
	-		2628;2085	2628;2087	2628;2087;770	2628;2085	2085	2628;2085;940;770;582	2628;2085	

Çizelge 4.6. Kuraklık stresi ve α -tokoferol uygulamasına göre Karasu 90 çeşidinin GTS oranı (%)

Primerler	Kontrol	0 mg/L α tokoferol		50 mg/L α tokoferol			100 mg/L α tokoferol		
		-6 bar	-8 bar	0 bar	-6 bar	-8 bar	0 bar	-6 bar	-8 bar
<i>Stowaway</i>	100	0	25	25	25	25	25	25	25
<i>Bare1(0)</i>	100	33,3	33,3	33,3	66,7	66,7	66,7	66,7	0
<i>N57(Nikita)</i>	100	50	0	50	25	0	50	25	25
<i>Sukkula</i>	100	60	60	60	40	40	40	40	60
<i>WLTR 2105</i>	100	16,7	16,7	16,7	33,3	16,7	16,6	33,3	66,6
%GTS	100	35,3	27	37	38	33	39,6	38	35,3
%Polimorfizm	0	64,7	73	63	62	67	60,4	62	64,7

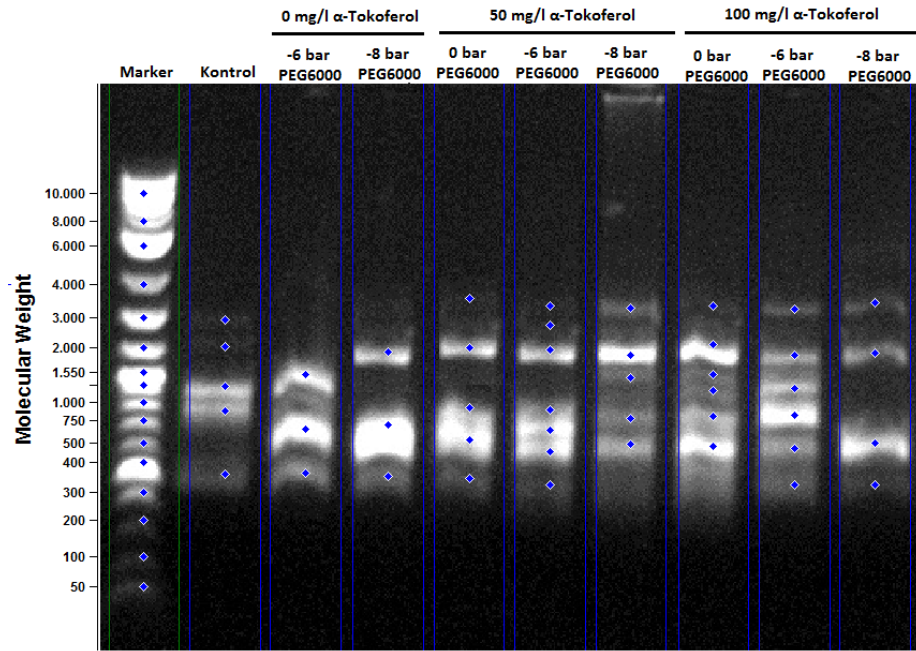
Çizelge 4.7. Kuraklık stresi ve α -tokoferol uygulamasında kontrole göre Kırac 66 çeşidinde meydana gelen yeni ve kaybolan bantların moleküler ağırlıkları (bp)

Primerler	+/-	Kontrol	0 mg/L α tokoferol		50 mg/L α tokoferol			100 mg/L α tokoferol		
			-6 bar	-8 bar	0 bar	-6 bar	-8 bar	0 bar	-6 bar	-8 bar
<i>Stowaway</i>	+	5	984; 790					7828 7828; 795		
	-		1056; 825	9394	4200; 1056; 825	825	4200; 1056; 825	4200; 825	8000	8000
<i>Bare1 (0)</i>	+	4	1586	2201	773					
	-		1683; 869; 590	4409; 1683	1683; 869; 590	1683; 590	1683; 590	1683; 869; 590	1683; 590	1683; 590
<i>N57(nikita)</i>	+	4	2160; 1720; 468	5730	2120; 1720			2120; 1920; 1720	2120; 1720	1760
	-		3885	3885; 3427	3885; 3427	3885; 3427	3885; 3427	3885; 3427; 2734; 747	3427; 747	3427; 2734; 747
<i>Sukkula</i>	+	5	407	727	2322			1500	1372	
	-		1092	1623; 1092	1623; 1092	1623	1092	1623	1623	868; 416
<i>WLTR 2105</i>	+	6	488	488	460	500	454	460 562; 482		
	-		10000; 777	10000; 9826	1002; 777	777	10000; 1002; 777	10000; 948	777	1002; 948

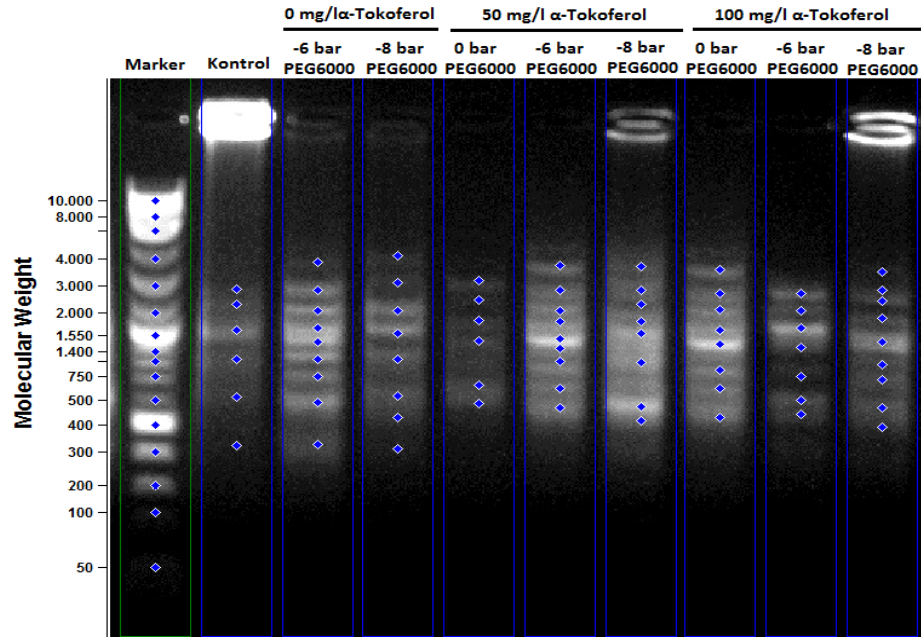
Çizelge 4.8. Kuraklık stresi ve α -tokoferol uygulamasına göre Kıraç 66 çeşidinin GTS oranı (%)

Primerler	Kontrol	0 mg/L α tokoferol		50 mg/L α tokoferol			100 mg/L α tokoferol		
		-6 bar	-8 bar	0 bar	-6 bar	-8 bar	0 bar	-6 bar	-8 bar
<i>Stowaway</i>	100	20	40	40	40	40	60	60	40
<i>Bare1(0)</i>	100	25	25	25	50	25	25	50	50
<i>N57(Nikita)</i>	100	25	0	50	25	0	50	0	0
<i>Sukkula</i>	100	60	40	60	60	60	60	60	60
<i>WLTR 2105</i>	100	50	44,4	50	44,4	44,4	66,6	66,6	44,4
%GTS	100	36	29,9	45	43,9	33,9	52,3	47,3	38,8
%Polimorfizm	0	64	70,1	55	56,1	66,1	47,7	52,7	61,2

4.5. IRAP Jel Görüntüleri



Şekil 4.17. Sukkula primerine karşı Karasu 90 çeşidinde oluşan amplifikasyon ürünleri



Şekil 4.18. WLTR 2105 primerine karşı Kırac 66 çeşidinde oluşan amplifikasyon ürünleri

5. TARTIŞMA

Tarım üretiminden elde edilen ürün miktar ve kalitesini etkileyen faktörler; insan, tohum, toprak ve en önemlisi iklim şartlarıdır. İklim tanımı ise, belirli bir yer için uzun süre ile gözlenen sıcaklık, nem, hava basıncı, yağış şekli, rüzgar, yağış şeklinde sıralanabilecek meteorolojik olaylardaki ortalamaya verilen isimdir (Ledley 1999). İlk üç faktör kontrol edilip iyileştirilebilirken, iklim için bu geçerli değildir (Şimşek 2010).

Dünya üzerinde meydana gelen iklim farklılıkları ve büyük iklimsel dalgalanmalar (küresel ısınma gibi) insanlık için büyük sorun halini almaktadır. Oluşturulan rapor içeriklerinde 21. yüzyıl orta ve sonuna ait sıcaklık değerlerinde önemli bir artma ve yağışlarda azalma görüleceği bildirilmiştir (Anonymous 2007). Günümüzde nüfusta görülen artış oranıyla beraber insanoğlunun su ve besin ihtiyacında da aynı oranda bir artış olmaktadır. Bu ihtiyacın ortaya çıkması ile beraber su ve besin güvenliğinde insanoğlunu bekleyen bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Su ihtiyacı deyince sadece insanoğlunun kullanım suyu değil, tarımsal alanlarımız için sulama suyu da akla gelmelidir.

Ülkemizde de artan sıcaklıklar ve azalan yağış tarımsal alanlarda da ihtiyaç duyulan sulama suyunun azalmasına ve tarım üretiminde aynı oranda düşüşe sebep olmaktadır (Şimşek 2010). Kuraklık çok sık karşılaşılan ve çözülemeyen bir sorundur. Kuraklık, zararı ve etkisi ile devam ettiği süre şiddeti açısından yıldan yıla değişkenlik göstermektedir (Şimşek 2010).

Buğday dünya genelinde tahıllar içerisinde ekiliş oranı ve tüketim miktarı açısından ilk sıralarda yer aldığından, buğday veriminde stres şartları nedeniyle meydana gelebilecek bir düşüş ekonomik anlamda da büyük bir etkiye sebep olabilecektir. Bu sebeple buğday; besin içeriği, tüketim miktarı, ekonomik sebepler gibi birçok nedenle büyük önem arz etmektedir.

En önemli stres faktörlerinden biri olan kuraklık; maruz kaldığı bitkinin büyümesi ve verimini etkileyen en önemli nedenlerden biridir. Kuraklık sonucunda bitkide metabolik, mekaniksel ve oksidatif olmak üzere birçok farklılığa sebep olmaktadır. Kuraklığın bu etkileri birçok faktöre bağlıdır. Bunlar, stres altındaki bitkinin çeşidi, strese maruz kaldığı zamanki gelişim dönemi, bitkinin stres altında geçirdiği süre ve kuraklığın şiddetidir. Bunun sonucunda bitkiler kuraklık şartlarına adaptasyon sağlayacak biyokimyasal, morfolojik, fizyolojik ve moleküler birçok değişime sebep olmaktadır (Kalefetoğlu vd 2005). Kuraklık stresi altındaki bitkilerde bu stres bazı etkilere de sebep olmaktadır. Oksidatif, metabolik, moleküler ve mekanik etkiler bunlara örnek olarak gösterilebilir (Lewitt *et al.* 1980; Eriş 1990; Kalefetoğlu ve Ekmekçi 2005; Kutlu 2010).

Fizyolojik özelliklerden; bitki örtüsü sıcaklığı, transpirasyon oranı, stoma direnci, fotosentezde azalma ve özellikle de yaprak nispi su içeriği kuraklık stresinin etkilerinin belirlenmesi açısından oldukça önem taşır (Siddique *et al.* 2000). Bitkinin kuraklık stresi altında bünyesindeki su miktarı ve toprak suyundan yararlanma özellikleri ile ilgili bilgilerin elde edilmesini sağladığı için, yaprak nispi su içeriği değeri fizyolojik parametreler arasında oldukça fazla öneme sahiptir. Araştırmamızda çeşitlere göre değişmekle birlikte kuraklık stresinde yaprak nispi su içeriğinde azalma belirlenmiştir. Bunun muhtemel nedeni hücre membranında meydana gelen hasardan kaynaklanmış olabilir. Nitekim, Singh *et al.* (1992) PEG 6000 ile oluşturulan ozmotik stresin hücre membran hasarına etkisinin buğday genotiplerine göre önemli derecede farklılık gösterdiğini, membran hasarının yüksek olduğu genotiplerde yaprak su potansiyelinde azalmanın daha fazla olduğunu bildirmiştir. Bazı araştırmacılar yaptıkları çalışmalarda; kuraklık koşullarındaki bitkinin su durumunu ifade eden en iyi parametrenin nispi su içeriği olduğunu ifade etmişler ve bu değer kuraklık stresi arttıkça azaldığını bildirmişlerdir (Araghi and Assad 1998; Dhanda and Sethi 1998). Kuraklık stresi neticesinde yaprakta turgor basıncının azalmasıyla; fotosentez, stomalarda açılıp-kapanma, yaprak genişlemesi gibi fizyolojik ve morfolojik olaylar arasında ilişki bulunduğu ve kuraklık stresinin bitkide yaprak bünyesindeki oransal su kapasitesini azalttığı tespit edilmiştir (Jones and Turner 1978). Yine araştırmamızda kuraklık

stresine karşı uygulanan α -tokoferolün nispi su içeriğindeki düşüşü azalttığı gözlenmiştir. Munne'-Bosch *et al.* (1999) *Raosmarinus officinallis* L. bitkisinde kuraklık stresinde nispi su içeriğinde azalışla birlikte içsel α -tokoferol miktarının arttığını göstermiştir. Yine, Ratnayaka *et al.* (2012) *Anoda cristata* ve pamukta yaptıkları çalışmada çeşitlere göre değişmekle birlikte benzer ilişki bulmuşlardır.

Kuraklık stresi altında bitkinin fotosentez aktivitesinde de azalma meydana gelir (Yokota *et al.* 2002). Kuraklık stresinde bitkinin fotosentez mekanizması özellikle klorofil içeriği ve yapısı bozulur (Ganieva *et al.* 1997; Kutlu 2010). Ziska *et al.* (1990), kuraklık şiddetinde artmanın beraberinde ribulobisfosfat karboksilaz (Rubisco) aktivitesi ve klorofil içeriğinde azalmayı meydana getirdiğini belirlemişlerdir. Bitki kurak koşullar altındayken fotosentez işlevini devam ettirebilmesi için klorofil değerinin yüksek olması istenir. Araştırmamızda her iki çeşitte de kuraklık stresinde klorofil miktarının bir ölçüsü olan SPAD değerlerinde azalma olmuştur. Kuraklık stresinde klorofil miktarındaki azalmanın sebebi ROT'ların kloroplastlara verdiği zarardır (Smirnoff 1995). Nayyar and Gupta (2006) araştırmasında bitkilere uygulanan kuraklığın klorofil içeriğinde düşüşe sebep olduğunu ve bunun sebebininse abiyotik stres şartlarının pigment parçalanması meydana getirmesinden dolayı olduğunu vurgulamışlardır. Yine araştırmamızda hassas çeşit olarak kullanılan Karasu 90 çeşidinin SPAD değeri kuraklığa toleranslı olarak bilinen Kırac 66 çeşidinden daha düşük olmuştur. Araştırmamızdaki bulgulara benzer olarak Altinkut *et al.* (2001), su stresinin neden olduğu etkiye benzer etki gösteren paraquat uygulaması sonrası klorofil içeriği bakımından Kırac 66 çeşidinin önemli derecede yüksek klorofil içeriğine sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Stres şartlarında bitki çeşitlerinin durumu karşılaştırıldığında; hassas çeşitlerde dayanıklı olanlara göre klorofil oranı daha düşük bulunmuştur (Sairam *et al.* 1997). Araştırmamızda, Karasu 90 çeşidinde en yüksek kuraklık (-8 bar), 0 mg/L α -tokoferol uygulaması ile en düşük; Kırac 66 çeşidinde kuraklık (0 bar), 100 mg/L α -tokoferol uygulaması ile en yüksek klorofil değeri tespit edilmiştir. Buradan α -tokoferol uygulamasının klorofil değerini düzenlediği gözlenmektedir. Tokoferol uygulaması serbest oksijen radikallerini fotosistem II'den uzaklaştırmaktadır (Trebst *et al.* 2002; Kruk *et al.* 2005). α -Tokoferolün bitkide

meydana gelen fotooksidasyon metabolizmasına karşı koruyucu etkisi vardır (Lewitt, 1980). Yapılan *in vitro* çalışmalar, α -tokoferolün çoklu doymamış yağ asitlerinin zincir reaksiyonunu ve lipid oksidasyonundan kaynaklanan serbest radikalleri sonlandırma özelliğinin olduğunu ve bu işlevi ile zincir kırıcı etkin bir antioksidan konumunda olduğunu göstermektedir. E vitamini eksikliğinde, yapraklarda kısa süreli yüksek ışık stresiyle fotooksidatif stres artar. E vitamini biyomembranlar için önemli bir antioksidan olarak kabul edilir (Havaux *et al.* 2005). Havaux *et al.* (2005) *Arabidopsis thaliana* mutant bitkilerde klorofil içeriklerinin E vitamini etkisiyle daha yüksek olduğunu kanıtlamıştır. Yine El-Bassiouny *et al.* (2005) bakla bitkisine yapraktan uygulanan α -tokoferolün büyüme ve verim parametrelerinde olumlu etkilerinin yanısıra klorofil a ve b ve d karateonit miktarında artışa neden olduğunu bildirmişlerdir.

Bitkinin hücre membran yapısı tamamen hücrenin sulu ortamıyla ilişkilidir. Kuraklık stresiyle beraber bitkinin su kaybına uğraması hücre membranında bozulmaya yol açar. Su kaybının azalmasıyla, hücre hacmi azalır, hücre membranında gerilme meydana gelir, gerilme sonucu hücrede çökme ve yırtılmalar oluşur. Yine, su varlığının yetersiz olduğu durumlarda, bitki daha fazla su kaybetmemek için, genellikle stomalarını kapatır ve bunun neticesinde fotosentezle fiksasyon için gerekli CO₂'nin alımının kısıtlanmasına neden olur (Kalefetoğlu ve Ekmekçi 2005; Kutlu 2010). Kuraklık stresi altında artan O₂ oluşum hızı; lipid peroksidasyonuna, yağ asidi doygunluğuna ve sonuçta membranların bütünüyle zarar görmesine neden olur (Kutlu 2010). Genelde bu zararların geri dönüşüde bulunmamaktadır (Kalefetoğlu ve Ekmekçi 2005). Kuraklığa hassas Karasu 90 çeşidinde daha fazla olmak üzere her iki buğday çeşidinde de membran hasarı oranlarının kuraklık stresi ile arttığı tespit edilmiştir. Kuraklık koşulları altındaki bitkilerde hücre membran hasarı değerlerindeki artma daha önce yapılan araştırmalarda da belirlenmiştir (Chandrasekar *et al.* 2000; Sairam and Srivastava 2001; Tas ve Tas 2007). Hücre membran hasarı -6 ve -8 barlık stres şartlarında sırasıyla Karasu 90 çeşidinde %42,7 ve %65,0; Kırac 66 çeşidinde ise %35,2 ve %40,3 olarak belirlenmiştir. Nitekim Gavuzzi *et al.* (1997), ekmeklik buğday çeşitlerinde PEG 6000 solusyonu uygulaması sonrasında hücre membran hasar oranlarının %58-98 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Yine Dhanda *et al.* (2004), hücre membran hasar oranının

genotiplere göre %20,4 ile %65,3 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Hücre membran hasarı değerlerindeki artışın dayanıklı çeşitlere göre hassas çeşitlerde daha fazla gözlendiği de yine bazı araştırmacılarca belirlenmiştir (Sairam and Saxena 2000; Bajji *et al.* 2001; Tas ve Tas 2007). Çalışmamızda α -tokoferol uygulanan örneklerdeki hücre membran hasarı oranlarında, α -tokoferol uygulanmayan ve aynı kuraklık şartlarındaki oranlara göre iyileşme gözlenmiştir. Vitamin E diğer adıyla α -tokoferol, tokoferoller içindeki en aktif formdur. Yüksek bitkilerde fotosentetik, fotosentetik olmayan dokularda ve özellikle hücre zarında bulunur. α -tokoferol antioksidan işlevi, hücre membranının erimesi, büzülmesi ve parçalanması gibi nedenlerle bozulmasına yol açan serbest yağ asitleri ile reaksiyona girmesi ve böylece hücre zarında stabilizasyonu sağlaması olarak açıklanır (McKersie and Leshem 1994; Abbasi *et al.* 2007). Tokoferoller sadece fotosentez yapan canlılarda sentezlenen lipofilik antioksidanlardır. Transgenik tütün (*Nicotiana tabacum*) bitkisinde α -tokoferolün stres şartları altında, elektrolit sızıntısı, lipid MDA oranı ve membran hasarı gibi fizyolojik parametreleri azalttığı gözlenmiştir.

Abiyotik stres şartları özellikle kuraklık şartları altındaki organizmada indirgenmiş oksijen formlarının birikimini teşvik etmektedirler (McKersie and Leshem 1994; Edreva 1998). Stres şartlarında bitkilerde meydana gelen serbest radikaller; superoksit (O_2^-), hidroksil (OH), perhidroksil (HO_2), peroksi (ROO), alkoksi (RO), fenoksi (C_6H_4O) kokleri ile hidrojen peroksit (H_2O_2) ve singlet oksijen (1O_2) olarak adlandırılır (McKersie and Leshem, 1994; Edreva, 1998). Bu moleküllerin genel adı ise reaktif oksijen türleri (ROT) dir (Edreva, 1998). ROT duyarlı ve bünyesinde birikiminin fazla olduğu bitkilerde toksik etki meydana getirerek oksidatif stresini oluşturur (McKersie and Leshem 1994). Oksidatif stres altındaki bitkinin oksidatif stres zarar derecesi, stres altında kaldığı süre ve ROT birikim düzeyidir. Oksidatif zararlanma bitki hücresinde ilk lipid (lipidlerin peroksidasyonu), protein (proteinlerin inaktivasyonu) ve nukleik asit (DNA'da mutasyonlar) şeklinde oluşmakta; hücre sitoplâzmasında protein agregasyonu ile hücre zarlarının parçalanmasıyla; ozmotik duyarlılıkta azalma, solma ve en son nekrozlar meydana gelir (McKersie and Leshem 1994; Edreva 1998).

Bitki sinyal veya savunma fonksiyonlarından faydalanmak amacıyla ROT üretir ancak ROT birikimi nedeniyle oluşabilecek oksidatif stresten korunmak içinde bu birikimi önlemek ister. Bu dengenin sağlanmasını isteyen bitki ROT engellenmesi yerine reaktif oksijen potansiyel reaksiyonlarını idare ve kontrol eder. Yani bitki serbest oksijen üretim ve temizleme dengesini sağlamak ister. Eğer bu denge korunmazsa serbest oksijen birikimi, dolayısıyla oksidatif zararlanma artar, hatta ilerleyen durumlarda bitki ölür. Abiyotik stres şartları sonucu ROT üretimi artarak oluşan oksidatif stres ile beraber, DNA'da zararlanmalar meydana gelir (Szarka *et al.* 2012). Bu sonucun meydana gelmemesi için ortaya çıkan oksidatif stresi önleyici savunma sistemleri; koruyucu enzimler (peroksidaz, katalaz, superoksitdismutaz vb.) ve antioksidantlardır [askorbik asit, tioller (glutation, sistein), karotenoidler, tokoferol ve fenoller (fenolik asitler, antosiyaninler, flavonoidler, tanenler vb.)] (McKersie and Leshem 1994; Edreva, 1998). Bitkilerin fotokorumasındaki tilakoit tokoferoller oksidatif stresi azaltmaktadır (Delong and Steffen 1997; Havaux *et al.* 2000; Fryer *et al.* 2002; Müller-Moule' *et al.* 2004). α -Tokoferol diğer antioksidanlarla ile işbirliği içinde, fotosentetik zarlarda ROT seviyelerini (özellikle 1O_2 ve $OH^\cdot$) azaltılmasında rol oynar ve ilgili hidroperoksitlerin lipid peroksil radikallerini azaltarak lipid peroksidasyonunun büyük ölçüde sınırlandırılır. α -Tokoferol 1O_2 ve lipid peroksil radikallerinin kimyasal olarak temizlemektedir (Munne' -Bosch 2005).

Bitki genomunun %50-90'ını oluşturan transpozonlar genomda yer değiştirebilen DNA dizileridir (Bowen and Jordan 2002). Çevresel stres şartları transpozonları aktif veya inaktif hale getiren epigenetik mekanizmayı değiştirebilir, transpozon hareketlerini farklılaştırır (Wessler 2009). Transpozon özellikleri replikasyon ve transpozisyon olarak iki temel grup halinde incelenir. Bunlardan ilki olan replikasyon; genom içindeki kopya sayılarının artırılması, transpozisyon ise genom içerisinde farklı yerlere hareket edebilme özellikleridir. Transpozonlar, gen yapısı, fonksiyonu ile aktivitesini değiştirir ve genom ve kromozom yapılarının da önemli derecede değişmesini sağlar (Bennetzen 2000).

Transpozisyon mekanizmalarına göre mobil elementler RNA transpozonları (Sınıf I ya da retrotranspozon) ve DNA transpozonları (Sınıf II ya da DNA transpozonlar) olarak iki gruba ayrılır. Retrotranspozon ya da sınıf I transpozonları da denilen, transpozisyon işlevi aracısı olarak RNA'yı kullanan RNA transpozonlarıdır. Kuraklık stresi altındaki bitkinin genetik yapısındaki değişim ifadeleri retrotranspozonlar aracılığıyla belirlenebilir (Marco and Marin 2005). Moleküler düzeyde meydana gelen değişmelerden bir diğeri de direnç genlerinin aktifleştirilmesi yanında optimum gelişme şartlarında inaktif durumda olan bitki retrotranspozonlarının stres şartlarında aktif hale gelmesidir. Yaptığımız araştırmada uygulanan 3 farklı kuraklık konsantrasyonuna (0, -6, -8 bar) bağlı olarak retrotranspozon hareketlerinde artış görüldüğü ve doza bağlı olarak GTS oranının azaldığı belirlenmiştir. Tüm bilinen bitki retrotranspozonları normal büyüme ve gelişme boyunca inaktif durumda olup farklı abiyotik ve biyotik stres faktörleri tarafından aktive edilebilir ve harekete geçirilebilirler. Böylelikle bu hareketlilikleri mutasyon oranını arttırmakta ve yeni genetik çeşitliliği ortaya çıkarmaktadır. Retrotranspozonlar pek çok genomik lokus içine girebilmekte ve mutasyonlara ve yeni özellikleri içeren bireyler arasında insersiyonel polimorfizm oluşturmaktadırlar (Kumar and Bennetzen 1999). Bu durum soğuk, yaralanma, patojen atakları, mekanik hasar, melezleme, protoplast izolasyonu ya da in vitro regenerasyon, gibi faktörler tarafından uyarılmaktadır (Hirochika 1995; Grandbastien *et al.* 2005; Salazar *et al.* 2007). Hirochika and Hirochika (1993), tütünde doku kültüründe meydana gelen yaralanmalara bağlı olarak oluşan Tto1, Tto2 ve Tnt1 retrotranspozonlarının hareket ederek genom üzerinde yeni yerlere lokalize olduklarını ve mutajenik etkiye sebep olduğunu göstermiştir. Tnt1 retrotranspozonun fungal uygulamalarda aktivitesinin arttığı belirlenmiştir (Melayah *et al.* 2001). Grandbastien *et al.* (1997), Tnt 1a Retrotranspozonunun promotorünün çeşitli stres faktörleri tarafından aktive edildiğini bildirmişlerdir. Woodrow *et al.* (2010) yaptıkları çalışmada; *Triticum durum* L. bitkisine uyguladıkları tuz ve ışık stresinin Ttd1a retrotranspozonunun aktivitesini artırarak direnç geninin yanına yerleşmesine neden olduğunu ve bu şekilde bitkiyi strese karşı koruduğunu bildirilmişlerdir. Diğer bir retrotranspozon olan TLC1 yaralanma, protoplast izolasyonu, yüksek tuz konsantrasyonunda aktive olduğu bildirilmiştir (Mansour 2007). Monokotiledonlarda Tos17 retrotranspozonunun doku kültürü, sitozin

demetilasyonu, gelişim ve patogen girişi gibi farklı biyotik ve abiyotik stres faktörleri tarafından aktive edildiği bildirilmiştir (Liu *et al.* 2004; Sha *et al.* 2005).

Transpozonları baskılayan susturucu mekanizmaların başlıcaları; RNAi ile post-transkripsiyonel sesileştirme, histon asetilasyonu ve metilasyonu, DNA metilasyonu ve kromatin paketlenme ve yoğunlaşmasındaki değişimlerdir (Rakyan and Beck 2006; Bond and Finnegan 2007; Goldberg *et al.* 2007). Bu baskılayıcı mekanizmalar sayesinde transpozonların yüksek mutasyon özellikleri engellemektedir. Ancak, biyotik ve abiyotik strese neden olan bazı çevresel nedenler DNA demetilasyonu yoluyla transpozonları harekete geçirmektedir (Grandbastien *et al.* 2005). Steward *et al.* (2000); Ac/Ds retrotranspozonun soğuk stresinin etkisiyle DNA metiltransferazı baskılayarak transpozonda hipometilasyona yol açtığını bildirmişlerdir.

Tokoferol sentezi jasmonik asit, salisilik asit ve absisik asit vb stres hormonları gibi rol almakta ve bitkilerin çevresel strese tepkilerinde aktif görev almaktadır. Araştırmamızda, stressiz şartlarda α -tokoferolün retrotranspozonları aktive ettiği belirlenmiştir. Nitekim, Salazar *et al.* (2007) *TLC1.1* retrotranspozonunun stresle ilgili bazı sinyal moleküllerine (etilen, metil jasmonat, salisilik asit ve 2,4-D) cevap olarak aktive olduğunu bildirmiştir.

Çalışmamızda kuraklık stresine karşı bitkide meydana gelen polimorfizm oranındaki artışın, α -tokoferol uygulamasıyla iyileştirildiği gözlenmiştir. Kuraklık stresinde retrotranspozon kaynaklı polimorfizm üzerine α -tokoferolün etkisinin araştırıldığı bu çalışmada α -tokoferolün artan konsantrasyonuna bağlı olarak retrotranspozon polimorfizmini azalttığı belirlenmiştir. α -tokoferolün bu etkisi stres şartlarında ortaya çıkan ROT'ları ortadan kaldırılarak, bunların DNA üzerine olan zararlı etkilerini önlemesinden kaynaklanmış olabilir. Nitekim, Szarka *et al.* (2012), glutatyon- α -tokoferol ve askorbat uygulamalarının abiyotik stres şartlarında oluşan ROT oluşumunu engellediğini bildirmişlerdir.

Strese maruz kalan bitki genomunda bulunan genetik değişmelerin tespit edildiği teknikler ise moleküler markır teknikleri olarak adlandırılır. IRAP, retrotranspozon temelli markır sistemlerindendir (Kalender *et al.* 1999). Çalışmamızda kullanılan IRAP tekniği ile kuraklık stresi altında retrotranspozon kaynaklı polimorfizm oranının belirlenmesinde başarılı bir yöntem olduğu gözlenmiştir. Evrensel vd (2011) tarafından yapılan bir denemede, arpa bitkisinde meydana gelen retrotranspozon hareketleri IRAP markır tekniği ile başarılı bir şekilde belirlenmiştir.

5.1. Sonuç ve Öneriler

Bu çalışma sonucunda kuraklık stresinin klorofil miktarı, hücre membran hasarı ve nispi su içeriği değerlerini azalttığı ve moleküler anlamda normalde inaktif halde bulunan retrotranspozonların kuraklık şiddetinde aktif hale gelerek retrotranspozon polimorfizmini arttırdığını ve kuraklığın etkisiyle tüm bu değerlerdeki olumsuzlukların α -tokoferol uygulamasıyla iyileşme gösterdiği belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre α -tokoferolün kuraklık stresi altında yetiştirilen bitkiler için adaptif bir etkiye sahip olduğu ve tarımda kuraklığın olumsuz etkilerini önlemek amacıyla kullanılması önerilebilir. Bunun dışında DNA hasarı ve retrotranspozon hareketi tespiti için IRAP tekniğinden yararlanılabileceği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Abbasi, A.R., Hajirezaei, M., Hofius, D., Sonnewald, U. and Voll, L.M., 2007. Specific roles of α - and γ -tocopherol in abiotic stress responses of transgenic tobacco. *Plant Physiology*, 143(4), 1720-1738.
- Abdullah, F., Hareri, F., Naaesan, F., Ammar, M. and Uherkanbar, O., 2011. Effect of drought on different physiological characters and yield component in different varieties of syrian durum wheat. *Journal of Agricultural Science*, 3(3), 127.
- Agarwal, M., Shrivastava, N. and Padh, H., 2008. Advances in Molecular Marker Techniques and Their Applications in Plant Sciences. *Plant Cell Report*. 27, 617-631.
- Akkuş, İ., 1995. Serbest Radikaller ve Fizyolojik Etkileri, 2. Baskı, Mimoza Yayınları, Konya.
- Alaçam, G., 2013. Arpa (*Hordeum vulgare* L.) doku kültürlerinde sukkula retrotranspozon hareketlerinin belirlenmesi. (Doktora Tezi), Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Altinkut A., Kazan K., İpekçi Z., Gözükırmızı N., 2001. Tolerance to paraquat is correlated with the traits associated with water stress tolerance in segregation F₂ populations of barley and wheat, *Euphytica*, 121, 81-86.
- Anjum, F., Yaseen, M., Rasul, E., Wahid, A., and Anjum, S., 2003. Water stress in barley (*Hordeum vulgare* L.). II. Effect on chemical composition and chlorophyll contents. *Pak. J. Agric. Sci*, 40, 45-49.
- Anjum, S.A., Xie, X.Y., Wang, L.C., Saleem, M.F., Man, C. and Lei, W., 2011. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *African Journal of Agricultural Research*, 6(9), 2026-2032.
- Anonymous., 2007. Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, Summary for Policy Makers, 2007, Paris.
- Anwer, M., McNeily, T. and Putwain, P.D., 2004. Effect of Polyethylene Glycol on the Growth of Two Populations of *Anthxanhum odoratum*. *International Journal of Agriculture and Biology*, (4), 718-720.
- Apel, K. and Hirt, H., 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 55, 373-399.
- Araghi, S.G. and Assad, M.T., 1998. Evaluation of four screening techniques for drought resistance and their relationship to yield reduction ratio in wheat. *Euphytica*, 103 (3), 293-299.
- Araus, J.L., Amaro, T., Voltas, J., Nakkoul, H. and Nachit, M.M., 1998. Chlorophyll fluorescence as a selection criterion for grain yield in durum wheat under Mediterranean conditions. *Field Crops Research*, 55(3), 209-223.
- Arora, A., Sairam R.K., and Srivastava, G.C., 2002. Oxidative stress and system in plants. *Current Science-Bangalore*, 82 (10) , 1227-1238.
- Arslan, E., 2012. Kuraklık stresine maruz kalan buğdayda (*Triticum aestivum*) genetik ve epigenetik değişiklikler üzerine putresinin etkisinin moleküler yöntemler ile belirlenmesi. (Yüksek Lisans Tezi), Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

- Ashraf, M. and Foolad, M., 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, 59 (2), 206-216.
- Atienzar, F.A., Conradi, M., Evenden, A.J., Jha, A.N. and Depledge, M.H., 1999. Qualitative assesment of genotoxicity using random amplified polymorphic DNA: Comparison of genomic template stability with key fitness parameters in *Daphnia magna* exposed to benzo (α) pyrene. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18 (10), 2275-2282.
- Avcı, F., 1999. Stres faktörlerinin buğday hücreleri genetik sistemlerinde meydana getirdiği değişimler ve bu değişimlere hormonların etkisi. (Yüksek Lisans Tezi), Fen Bilimleri Enstitüsü, Erciyes Üniversitesi, Kayseri.
- Bahar, B., 2004. Çukurova taban ve kıraç koşullarında bazı ekmeklik ve makarnalık buğday genotiplerinde stoma iletkenliği ve yaprak özellikleri ile verim ve verim unsurları arasındaki ilişkiler üzerine bir araştırma. (Doktora Tezi), Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Bajji M., Kinet J.M. and Lutts S., 2001. The use of the electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water stres tolerance test in durum wheat, *Plant Growth Regulation*, 00, 1-10.
- Barr, H.D. and Weatherley, P.E., 1962. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficit in leaves. *Aust J Biol Sci* (15), 413-428.
- Bartosz, G., 1997. Oxidative stress in plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 19(1), 47-64.
- Baskin, S.I. and Salem, H., 1997. Oxidants, antioxidants, and free radicals. Washington DC: Taylor and Francis, pp 79-120.
- Başer, İ., Korkut, K.Z. and Bilgin, O. 2005. Ekmeklik Buğdayda (*Triticum aestivum* L.) Kurağa Dayanıklılıkla İlgili Özellikler Arasındaki İlişkiler. *T.Ü. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*. 2, 3, 253-259.
- Baysal, A., 1990. Beslenme, Hacettepe Üniversitesi Yayınları. 481 s., Ankara.
- Bennetzen, J.L., 2000. Transposable elements contributions to plant gene and genom evolution, *Plant Molecular Biology*, 42(1), 251-269.
- Blokhina, O., Eija, V. and Kurt, V., 2003. Fagerstedt. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of botany*, 91(2), 179-194.
- Blum, A., 1986. Breeding crop varieties for stress environments. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2, 199-237.
- Blum, A., 1988. Osmotic adjustment and growth of barley genotypes under drought stress. *Crop Science*, 29(1), 230-233.
- Bogale, A., Tesfaye, K. and Geleto, T., 2011. Morphological and physiological attributes associated to drought to toleranca of Ethiopan durum wheat genotypes under water deficit condition. *Journal of Biodiversity and Environmental Science (JBES)* , 2, 22-36.
- Bond, D.M. and Finnegan, E.J., 2007. Passing the message on: Inheritance of epigenetic traits. *Trends in plant science*, 12 (5), 211-216.
- Boo, Y.C., and Jung, J., 1999. Water Deficit-Inducet Oxidative Stress and Antioxidative Defenses in Rice Plants. *Journal of Plant Physiology*, 155(2), 255-261.
- Bota, J., Flexas, J., Loreto, F., Cornic, G., and Sharkey, T. D., 2004. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C3 plants. *Plant Biology*, 6(3), 269-279.

- Bourgeois, C.F., 1981. Propriétés antioxygènes des tocophérols et du palmitate d'ascorbyle dans les huiles végétales: Revue Française des Corps Gras, 29, 8-9, 319-324.
- Bowen, N.J. and Jordan, K.I., 2002. Transposable elements and the evolution of eukaryotic complexity, Current Issues in Molecular Biology, 4, 65-76.
- Bozcuk, S., ve Topçuoğlu, Ş.F., 1982. Doğa Bilimler Dergisi: Temel Bilimler, Cilt 6, Sayı 3.
- Breiman, A., and Graur, D., 1995. Wheat evolution. Israel Journal of Plant Sciences 43 (2), 85-98.
- Briggle, L.W. and Reitz, L.P., 1963. Classification of Triticum species and of wheat varieties grown in the United States. No. 1278. US Dept. of Agriculture,
- Briggle, L. W., 1967. Morphology of the wheat plant, wheat and wheat improvement. Agronomy Monograph, 13,89-116.
- Brody T., 1999. Digestion and absorption. Nutritional Biochemistry, 57-131.
- Carr, A.C., Zhu, B.Z., and Frei, B., 2000. Potential antiatherogenic mechanisms of ascorbate (vitamin C) and α -tocopherol (vitamin E). Circulation research, 87(5),349-354.
- Chakraborty, U., and Pradhan, B.,2010. Drought stress-induced oxidative stress and antioxidative responses in four wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties. Archives of Agronomy and Soil Science, 58 (6), 617-630.
- Chakraborty, U., and Pradhan. B., 2012. Oxidative stress in five wheat varieties (*Triticum aestivum* L.) exposed to water stress and study of their antioxidant enzyme defense system, water stress responsive metabolites and H₂O₂ accumulation. Brazilian Society of Plant Physiology, 24(2),117-130
- Chandrasekar, V., Sairam, R.K., and Srivastava, G.C., 2000. Physiological and biochemical responses of hexaploid and tetraploid wheat to drought stress. Journal of Agronomy and Crop Science, 185(4), 219-227.
- Chiba, S., Yokota, S.I., Yonekura, K., Tanaka, S., Furuyama, H. and Kubota, H., 2006. Auto antibodies against HSP70 family proteins were detected in the cerebro spinal fluid from patients with multiple sclerosis. J Neurol Sci., 241(1-2), 39-43.
- Chinnusamy, V. and Zhu, J.K., 2000. Epigenetic regulation of stress responses in plants. Current opinion in plant biology, 12(2), 133-139.
- Cornic, G., and Massacci, A., 1996. Leaf photosynthesis under drought stress. In Photosynthesis and the Environment (pp. 347-366). Springer Netherlands.
- Cruz de Carvalho, M. H., 2008. Drought stress and reactive oxygen species: production, scavenging and signaling. Plant signaling and behavior 3.3: 156-165.
- Çaylak, E., 2011. Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. Tıp Arş Dergisi, 9 (1).
- Çelik, İ., Kotancılar, H.G. and Ertugay, Z., 1996. Doğu Anadolu'da yetiştirilen buğdayların fiziksel kimyasal ve teknolojik özellikleri ile ekmeklik kalitelerinin belirlenmesi. Atatürk Ü.Zir. Fak. Der., 27 (4), 562-575.
- Çetin, A., Uygan, D., Boyacı, H. ve Öğretir, K., 1999. Kışlık buğdayda sulama – azot ve bazı önemli iklim özellikleri arasındaki ilişkiler. Türkiye 3. Tarla Bitkileri Kongresi, 15-18 Kasım 1999, Adana, I, 151-156.
- Çırak, C. ve Esenal, E., 2006. Soyada Kuraklık Stresi. OMÜ Zir. Fak. Dergisi, 21 (2), 231 -237.
- Das, K. and Roychoudhury, A., 2014. Reactive oxygen species (ROS) and response of

- antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. *Frontiers in Environmental Science*, 2, 53.
- Datta, J.K., Mondal, T., Banerjee, A. and Mondal, N.K., 2011. Assessment of drought tolerance of selected wheat cultivars under laboratory condition. *Journal of Agricultural Technology*, 7(2), 383-393.
- Davidson, V., Heraldo L., and Davidson D.W., 2000. Relationship between Plant Size and Ant Associates in Two Amazonian Ant-Plants 1. *Biotropica* 32(1), 100-111.
- Delong, J.M., and Steffen, K.L., 1997. Photosynthetic function, lipid peroxidation and a-tocopherol content in spinach leaves during exposure to UV-B radiation. *Can. J. Plant Sci.*, 77, 453-459.
- Dhanda, S. S., and Sethi, G.S., 1998. Inheritance of excised-leaf water loss and relative water content in bread wheat (*Triticum aestivum*). *Euphytica* 104, (1), 39-47.
- Dhanda, S.S., Sethi G.S., and Behl. R.K., 2004. Indices of drought tolerance in wheat genotypes at early stages of plant growth. *Journal of agronomy and crop science* 190, (1), 6-12.
- Du Y.C., Kawamitsu, Y., Nose, A., Hiyane, S., Murayama, S., Wasano, K. and Uchida, Y., 1996. Effects of water stress on carbon exchange rate and activities of photosynthetic enzymes in leaves of sugarcane (*Saccharum Sp.*), *Aust. J. Plant Physiol.*, 23, 719-726.
- Dziezak, J., 1986. Preservatives, antioxidants. *Food Technology*, 40, 94-102.
- Edreva, A., 1998. Molecular bases of stress in plants. *Bitkilerde stres fizyolojisinin molekuler temelleri*, 22-26 Haziran 1998, Bornova, İzmir, E. U.
- Egert, M. and Tevini, M., 2002. Influence of drought on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress in leaves of chives (*Allium schoenoprasum*). *Environ. Exp. Bot.*, 48, 43-49.
- Egilla, J.N, Davies F.T. and Malcolm, C.D., 2005. Effect of K on drought resistance of *Hibiscus rosa-sinensis* cv. Leprechaun: Plant growth, leaf macro- and micronutrient content and root longevity. *Plant and Soil*, 229(2), 213-224.
- El-Bassiouny, H.M.S., Gobarah, M.E. and Ramadan, A.A., 2005. Effect of antioxidants on growth, yield, savism causativeagents in seeds of *Vicia faba* L. Plants grown under reclaimed sandy soils. *J. Agr. Pak.*, 7(4), 653-659.
- El-Hafid, R., Smith, D.,H, Karrou, M. and Samır, K. 1998. Phsyiological responses of spring durum wheat cultivars to early-season drought in a mediterranean environment. *Annals of Botany*, 81, 363-370.
- Ergin, G., 1991. Yağ Teknolojisi Ders Notları. Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Beytepe, Ankara, 250 s.
- Eriş, A., 1990. Bahçe Bitkileri Fizyolojisi. U.Ü.Z.F. Yay. Ders Notları No: 11, Bursa.
- Evrensel, C., 2010. Arpa (*Hordeum vulgare* L.) doku kültürlerinde transpozon analizi. (Yüksek Lisans Tezi), Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Evrensel, C., Yilmaz, S., Temel, A. and Gozukirmizi, N., 2011. Variations in *BARE-1* insertion patterns in barley callus cultures. *Department of Molecular Biology and Genetics Faculty of Science*, 10 (2), 980-987.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., and Basra, S.M.A., 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*, 29, 185-212.
- Fazeli, F., Ghorbanli, M., and Niknam, V., 2007. Effect of drought on biomass, protein content, lipid peroxidation and antioxidant enzymes in two sesame cultivars.

- Biologia Plantarum 51,(1), 98-103.
- Feschotte, C., Ning J., and Wessler. S R., 2002. Plant transposable elements: where genetics meets genomics. *Nature Reviews Genetics*, 3 (5), 329-341.
- Fischer, R. A., Rees, D., Sayre, K. D., Lu, Z. M., Condon, A. G. and Saavedra, A. L., 1998. Wheat yield progress associated with higher stomatal conductance and photosynthetic rate, and cooler canopies. *Crop science*, 38(6), 1467-1475.
- Flavell, A.J., Knox, M.R., Pearce, S.R. and Ellis, T.H.N. 1998. Retrotransposon-Based Insertion Polymorphisms (RBIP) for High Throughput Marker Analysis. *The Plant Journal*, 16(5), 643-650.
- Foyer, C.H., and Fletcher. 2001. Plant antioxidants: colour me healthy. *Biologist*. London, England. 48(3),115-120.
- Fryer, M.J., Andrews, J.R., Oxborough, K., Mullineaux, P.M., and Baker, N.R., 2002. Relationship between CO₂ assimilation, photosynthetic electron transport, and active O₂ metabolism in leaves of maize in the field during periods of low temperature. *Plant Physiol.*, 116, 571–580.
- Fu, J., and 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.
- Galbraith, DW. and Birnbaum K., 2006. Global studies of cell type-specific gene expression in plants. *Annual Review of Plant Biology.*, 57, 451-475.
- Ganieva, R., Allahverdiev,S., Bayromova,S. and Nafisi, S., 1997. Effect of Polystimuline-K on maize (*Zea mays* L.) Seedlings Pigment Apparatus Formation on The Sodium Chloride Salinity,Tr. J.Botany, 21, 253-257.
- Gavuzzi P., Riza F., Palumbo M., Campanile R.G., Ricciardi G.L., Borghi B., 1997. Evaluation of field and laboratory predictors of drought and heat tolerance in winter cereals, *Can. J. Plant Sci.*, 77, 523-531.
- Gechev, T. S., Van Breusegem, F., Stone, J. M., Denev, I. and Laloi, C., 2006. Reactive oxygen species as signals that modulate plant stress responses and programmed cell death. *Bioessays*, 28(11), 1091-1101.
- Geravandi, M., Farshadfar, E. and Kahrizi, D., 2011. Evalution of some physicological traits as indicators of drought tolerance in bread wheat genotypes. *Russian Journal of Plant Phsiology*, 58(1), 69-75.
- Gey, K.F., Paska, P., Jordan, P. and Moser, U.K., 1991. Inverse correlation between plasma vitamin E and mortality from ischemic heart disease in cross-cultural epidemiology. *Am. J. Clin. Nutr.* 53S, 32-34.
- Ghamdi., 2009. Evaluation of Oxidative Stress Tolerance in Two Wheat (*Triticum aestivum*) Cultivars in Response to Drought Al-Ghamdi / *Int. J. Agric. Biol.*, 11 (1).
- Gill S.S., Tuteja, N., 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stres tolerance in crop plants, *Plant Physiology and Biochemistry*, 1-22.
- Giunta, F., Motzo, R. and Deidda, M., 1993. Effect of drought on yield and yield components of drum wheat and triticale in a Mediterranean environment, *Field CropsResearch*, 33, 399-409.
- Goldberg, A., Allis, C.D. and Bernstein, E., 2007. Epigenetics: A landscape takes shape. *Cell*, 128 (4), 635-638.
- Govender, M., 2009. Review of commonly used remote sensing and ground-based technologies to measure plant water stress. *Water SA* 35(5), 741-752.

- Gökbulut, T., 2010. Bazı buğday çeşitlerinde selenyum birikimi ve selenyum toksisitesinin antioksidan enzim aktivitesine etkisi. (Yüksek Lisans Tezi) . Fen Bilimleri Enstitüsü, Erciyes Üniversitesi, Kayseri.
- Göksoy A.T. and Turan Z.M., 1991. Kuraklığın Bitki Fizyolojisi ve Morfolojisi Üzerine Etkileri. U.Ü.Z.F. Dergisi, No: 8, s. 189-199, Bursa.
- Grandbastien, M.A., Lucas, H., Morel, J.B., Mhiri, C., Vernhettes, S. and Casacuberta, J.M., 1997. The expression of the tobacco Tnt1 retrotransposon is linked to plant defense responses. *Genetica*, 100 (1-3), 241-252.
- Grandbastien, M.A., Audeon, C.E., Bonnivard, J.M., Casacuberta, B., Chalhoub, A.P. and Costa, A.P.P., 2005. Stress activation and genomic impact of Tnt1 retrotransposons in Solanaceae. *Cytogenet.Genome Res.*, 110 (1-4), 229-241.
- Gupta, N. K., Gupta, S., Kumar, A., 2001. Effect of water stress on physiological attributes and their relationship with growth and yield of wheat cultivars at different stages. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 186(1), 55-62.
- Gürbüz, A., Kaya, M., Türkan, A., Kaya, G., Kaya, M. ve Çiftçi, C., 2009. Bazı Nohut (*Cicer arietinum* L.) Çeşitlerinde Tane İriliği ve Kuraklık Stresinin Çimlenme Özelliklerine Etkisi. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22(1), 69-74.
- Halliwell, B., 1994. Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutrition reviews*, 52(8), 253-265.
- Halliwell B and Gutteridge JMC., 1998. Free radicals in biology and medicine. 2nd ed. Oxford: Clarendon Press: 188-96.
- Hashida, S.N., Uchiyama, T., Martin, C., Kishima, Y., Sano, Y. and Mikami T., 2006. The temperature-dependent change in methylation of the Antirrhinum transposon Tam3 is controlled by the activity of its transposase. *Plant Cell*, 18, 104-118.
- Havaux, M., Bonfils, J.-P., Lu, C., and Niyogi, K.K., 2000. Photodamage of the photosynthetic apparatus and its dependence on the leaf developmental stage in the npq1 Arabidopsis mutant deficient in the xanthophyll cycle enzyme violaxanthin de-epoxidase. *Plant Physiol.* 124, 273–284.
- Havaux M., Francoise E., Svetlana P., Pascal R., and Peter D., 2005. Vitamin E Protects against Photoinhibition and Photooxidative Stress in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Cell*, 17 (2), 3451–3469.
- Henle, K.J., Jethmalani S.M. and Nagle W.A., 1999. Stress proteins and glycoproteins. *Int Mol Med.*, (1), 25-32.
- Himmelbach, A., 1998. Signalling of abscisic acid to regulate plant growth. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 353 (1374), 1439-1444.
- Hirochika, H., and Hirochika, R. (1993). Ty1-copia group retrotransposons as ubiquitous components of plant genomes. *Genetics Journal*, 68(1), 35-46.
- Hirochika, H., 1995. Activation of plant retrotransposons by stress. Modification of gene expression and non-Mendelian inheritance. Eds: Oono, K., and Takaiwa, F National Institute of Agrobiological Resources, Tsukuba, 15-21.
- Hoagland, D.R., and Arnon D.I., 1938. Growing plants without soil by the water-culture method. *Circ. Calif. Agric. Exp. Stn.*
- Hoekstra, F.A., Golovina, E.A., and Buitink, J., 2001. Mechanisms of plant desiccation tolerance. *Trends in plant science* 6(9), 431-438.
- Holmberg, N. and Bülow L., 1998. Improving stress tolerance in plants by gene transfer. *Trends Plant Sci.*, 3(2), 61-6.

- Hussain, S.S., Mahmood A.K., and Muhammad A., 2011. Transcription factors as tools to engineer enhanced drought stress tolerance in plants. *Biotechnology progress* 27.(2), 297-306.
- Jajarmi, V., 2009. Effect of water stress on germination indices in seven wheat cultivar. *World Acad. Sci. Eng. Technol*, 49, 105-106.
- Jaligot, E., Beule, T., Baurens, F.C., Billotte, N. and Rival, A., 2004. Search for methylation-sensitive amplification polymorphisms associated with the "mantled" variant phenotype in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Genome*, 47(1), 224-228.
- Jones, M.M. and Turner, N.C., 1978. Osmotic Adjustment in Leaves of Sorghum in Response to Water Deficits, *Plant Physiol.*, 61, 122-126.
- Kaiser, W.M., 1987. Effects of water deficit on photosynthetic capacity. *Physiol. Plant.*, 71, 142-149.
- Kalefetoğlu, T., and Ekmekçi, Y., 2005. Bitkilerde kuraklık stresinin etkileri ve dayanıklılık mekanizmaları (Derleme). *G.Ü., Fen Bilimleri Dergisi*, 18 (4), 723-740.
- Kalefetoğlu, T., 2006. Nohut (*Cicer arietinum* L.) çeşit ve hatlarının kuraklık stresine karşı dayanıklılığının karakterizasyonu. (Yüksek Lisans Tezi), Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- Kalendar, R., Grob, T., Regina, M., Suoniemi, A. and Schulman, A., 1999. IRAP and REMAP: Two New Retrotransposon-Based DNA Fingerprinting Techniques. *Theoretical and Applied Genetics*. 98, 704-711.
- Kalendar, R., Flavell, A.J., Ellis, T.H.N., Sjakste, T., Moisy, C. and Schulman, A.H., 2011. Analysis of Plant Diversity with Retrotransposon-Based Molecular Markers. *Heredity*, 106, 520-530.
- Kamara, A. Y., Menkir, A., Badu-Apraku, B., and Ibikunle, O., 2003. The influence of drought stress on growth, yield and yield components of selected maize genotypes. *The journal of agricultural science*, 141(01), 43-50.
- Kapluhan, Dr. E., 2013. Türkiye’de Kuraklık ve Kuraklığın Tarıma Etkisi. *Marmara Coğrafya Dergisi*, 27.
- Karimziadeh, R., Mohammadi, M., Ghaffaripour, S., Karimpour, F. and Sheafazadeh, M.K., 2011. Evaluation of physiological screening techniques for drought resistant breeding of durum wheat genotypes in Iran. *African Journal of Biotechnology*, 10(56), 12107-12117.
- Kartal G., 2008. Brassinosteroidlerin arpada (*Hordeum vulgare* L.) kök büyümesi, antioksidant sistem ve hücre bölünmesi üzerine etkileri, (Yüksek Lisans Tezi), İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Kashkush, K., Feldman, M. and Levy, A.A., 2003. Transcriptional activation of retrotransposons alters the expression of adjacent genes in wheat. *Nature Genetics*, 33, 102-106.
- Kavar, S.A., Mehta D.R. and Chovatia V.P., 2007. An analysis of generation means for yield and its component traits in macaroni wheat (*Triticum durum* Desf.). *National Journal of Plant Improvement*, 9(1), 39-42.
- Kaydan, D. and Yağmur, M., 2008. Germination, seedling, growth and relative water content of shoot in different seed sizes of triticale under osmotic stress of water and NaCl. *Afr. J. Biotechnol.*, 7 (6), 2862-2868.
- Keskin, H., ve Erkmen G., 1987. Besin Kimyası. Güryay Matbaacılık İstanbul, Beşinci

- basım, 25-35.
- Kianoosh, T., 2015. Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.)'de retrotranspozon genlerinin filogeni analizi (Yüksek Lisans Tezi), Ege Üniversitesi, İzmir.
- Kılıç, H. and Yağbasanlar, T., 2010. The effect of drought stres on grain yield, yield components and some quality traits of durum wheat (*Triticum turgidum* ssp. *durum*) cultivars. Not. Bot. Hort. Agrob. Cluj, 38 (1), 164-170.
- Kidwell, M.G., 2005. Transposable elements. (ed. T.R. Gregory). The Evolution of the Genome. San Diego. s. 165-221.
- Koca Y.O., İ. Turgut, O. Ereku., 2010. Tane Üretimi İçin Yetiştirilen Mısırın Birinci ve İkinci Üründeki Performanslarının Belirlenmesi. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, Cilt:47/2 S:181–190. ISSN 1018–8851.
- Koç, M., Barutçular C., and Genç I., 2003. Photosynthesis and productivity of old and modern durum wheats in a Mediterranean environment. Crop Science 43,(6), 2089-2098.
- Koskas, J.P., Cillard, J. and Cillard, P., 1984. Autoxidation of linoleic acid and behaviour of its hydroperoxides with and without tocopherols. Journal of American Oil Chemists Society, 61(9), 1466- 1469.
- Kruk, J., Hollaender-Czytko, H., Oettmeier, W. and Trebst, A., 2005. Tocopherol as singlet oxygen scavenger in photosystem II. J Plant Physiol., 162, 749–757.
- Kumar, A. and Bennetzen, J.L., 1999. Plant retrotransposons. Annu Rev Genet, 33, 479–532.
- Kutlu, İ., 2010. Tahıllarda kuraklık stresi.Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, 3(1), 35-41.
- Kün, E., 1983. Serin İklim Tahılları, Ankara Üniv. Ziraat Fakültesi Yayını, Yayın No: 875, Ankara.
- Kün, E., 1988. Serin iklim tahılları. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yayınları 1032, 322.
- Lambers, H., Chapin III, F. S. and Pons, T. L., 1998. Plant water relations (pp. 154-209). Springer New York.
- Larbi, A. and Mekliche, A., 2004, Relative water content (RWC) and leaf senescence as screening tools for drought tolerance in wheat., Serie A, Seminaires Mediterraneens, resources.ciheam.org P: 193-196.
- Ledley, T. S., Sundquist, E., Schwartz, S., Hall, D. K., Fellows, J. and Killeen, T., 1999. Climate change and greenhouse gases.
- Leithold, B., Muller, G., Weber, W.E. and Wetermann, T., 1997. Investigations on heat tolerance of spring wheat varieties of different origin under growth chamber conditions. J. of Argon. and Crop Sci. Zeitschrift fur acker und Pflanzenbau, 179(2), 115-122.
- Lewin B., 1999. Genes VII, Oxford University Press, USA
- Lewitt J., 1972. Responses of plants to environmental stresses. Academic Press, New York
- Lewitt, J., 1980. Response of plants to environmental stress. Academic press. Newyork pp. 489-530.
- Liu, F., and Stützel. H., 2002. Leaf water relations of vegetable amaranth (*Amaranthus spp.*) in response to soil drying. European Journal of Agronomy, 16(2),137-150.
- Liu, H.S., Li, F.M. and Xu, H., 2004. Deficiency of water can enhance root respiration rate of drought-sensitive but not drought-tolerant spring wheat. Agricultural Water Management, 64 (1),41-48.

- Liu, H. S., and Li, F. M., 2005. Root respiration, photosynthesis and grain yield of two spring wheat in response to soil drying. *Plant growth regulation*, 46(3), 233-240.
- Loreto, F., Tricoli D., and Marco, G.D., 1995. On the relationship between electron transport rate and photosynthesis in leaves of the C4 plant *Sorghum bicolor* exposed to water stress, temperature changes and carbon metabolism inhibition. *Functional Plant Biology*, 22(6), 885-892.
- Lutts, S., Kinet, J.M. and Bouharmont, J., 1996. NaCl induced Senescence in Leaves of Rice Cultivars Differing in Salinity Resistance. *Ann. Bot.*, 78, 389-398.
- Mahajan, S., and Tuteja N., 2005. Cold, salinity and drought stresses: an overview. *Archives of biochemistry and biophysics*, 444(2), 139-158.
- Makbul, S., Saruhan Guler N, Durmuş N, Guven S., 2011. Changes in Anatomical and Physiological Parameters of Soybean under Drought Stress. *Turk J Bot.*, 35, 369-377.
- Manikavelu A., Nadarajan N., Ganesh, S.K., Gnanamalar, R.P. and Babu, R.C., 2006. Drought tolerance in rice: morphological and molecular genetic consideration, *Plant Growth Regul.*, 50, 121-138
- Mansfield, T.A. and Atkinson, C.J., 1990. Stomatal behavior in water stressed plants. *Stress Responses in Plants Adaptation and Acclimation Mechanisms*, Wiley-Liss, New York, s241-264.
- Mansour, A., 2007. Epigenetic activation of genomic retrotransposon. *Journal of Cell and Molecular Biology*, 6 (2), 99-107.
- Mansour, A., 2008. Utilization of Genomic Retrotransposons as Cladistic Markers. *Journal of Cell and Molecular Biology*. 7(1): 17-28.
- Marco, A. and Marin, I., 2005. Retrovirus-like elements in plants. *Recent Research Development Plant Sciences*, 3 (2), 1-10.
- Marioni, J.C., Mason, C.E., Mane, S.M., Stephens, M and Gilad, Y., 2008. RNA-seq: an assessment of technical reproducibility and comparison with gene expression arrays. *Genome Res.*, 18(4), 1509-1517.
- Mayank, A.G, Ji, S.H, Upadhyaya, C.P., Yu, J.W. and Park, S.W., 2011 Impact of Tocopherol Composition on Abiotic Stress Tolerance in Transgenic Potato Silenced for HPT and Gamma TMT through RNAi Approach .
- Mazzucotelli, E., Mastrangelo, A. M., Crosatti, C., Guerra, D., Stanca, A. M., and Cattivelli, L., 2008. Abiotic stress response in plants: when post-transcriptional and post-translational regulations control transcription. *Plant Science*, 174(4), 420-431.
- McClintock, B., 1950. The origin and behavior of mutable loci in maize. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 36 (6), 344-55.
- McKersie, B.D. and Leshem Y., 1994. Stress and stress coping in cultivated plants. Netherlands Kluwer Academic Publishers.
- McNeil, J.J., Robman L., Tikellis G, Sinclair M.I, McCarty C.A, Taylor H.R., 2004. Vitamin E supplementation and cataract: randomized controlled trial. *Phthalmology.*, 111(1), 75-84.
- Melayah, D., Bonnivard, E., Chalhoub, B., Audeon, C., and Grandbastien, M.A., 2001. The mobility of the tobacco Tnt1 retrotransposon correlates with its transcriptional activation by fungal factors. *The Plant Journal*, 28(2), 159-168.
- Merah, O. ,2001. Potential importance of water status traits for durum wheat improvement under Mediterranean conditions, *The Journal of Agricultural*

- Science, 137, 139-145.
- Michel, B. E., and Kaufmann, M.R., 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant physiology*, 51(5), 914-916.
- Morgan, J.M., 1988. The Use of Coleoptile responses to water stress to differentiate wheat genotypes for osmoregulation, growth and yield. *Annals of Botany*, 62, 93-198.
- Mosaad, M.G., Ortiz Ferrara, G., Nachit, M.M., Saunders, D.A. and Hettel G.P., 1993. Role of photoperiod and vernalization in the adaptation of wheat under heat and moisture stress. *Sudan*, 1-4 February, 146-152; 13 ref.
- Möller, Ian M., 2001. Plant mitochondria and oxidative stress: electron transport, NADPH turnover, and metabolism of reactive oxygen species. *Annual Review of Plant Biology*, 52(1), 561-591.
- Mu'ller-Moule', P., Golan, T., and Niyogi, K.K., 2004. Ascorbate deficient mutants of *Arabidopsis* grow in high light despite chronic photooxidative stress. *Plant Physiol.*, 134, 1163-1172.
- Munne'-Bosch, S., Schwarz, K. and Alegre, L., 1999., Enhanced Formation of α -Tocopherol and Highly Oxidized Abietane Diterpenes in Water-Stressed Rosemary Plants. *Department de Biologia Vegetal, Universitat da Barcelona. Plant Physiology*, (121), 1047-1057.
- Munné-Bosch, S., Mueller, M., Schwarz, K. and Alegre, L., 2001. Diterpenes and antioxidative protection in drought-stressed *Salvia officinalis* plants. *Journal of plant physiology*, 158(11), 1431-1437.
- Munné-Bosch S. and Penuelas J., 2003. Photo and antioxidative protection, and a role for salicylic acid during drought and recovery in fieldgrown *Phillyrea angustifolia* plants, *Planta*, 217, 758-766.
- Munne'-Bosch, S., 2005. The role of α -tocopherol in plant stress tolerance. *Journal of Plant Physiology*, 162, 743-748.
- Munns, R., 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant Cell Environ*, 25, 239-50.
- Musick, J.T. and Porter, K.B., 1990. Wheat, In: *Irrigation of Agricultural Crops*, B.A. Stewart and D.R. Nielsen (co-editors). *Am. Soc. Of Agron., Inc.* Number 30, Madison, Wisconsin USA, p: 598-632.
- Mülayim, M., 1986. Orta Anadoluda yetiştirilen buğday çeşitleri ve önemli kalite özellikleri Standart ve Ekonomi Dergisi. TS4500. Buğday Unu Özel Sayı II: 57-64.
- Nayyar, H. and Gupta, D., 2006. Differential sensitivity of C3 and C4 plants to water deficit stress: Association with oxidative stress and antioxidants. *Environmental and Experimental Botany*, 58 (1), 106-113.
- Nerd, A. and Nobel P.S., 1991. Effects of drought on water relations and nonstructural carbohydrates in cladodes of *Opuntia ficus-indica*, *Physiol. Plant.* 81, 495-500.
- Niyogi, K.K. and Krishna K., 1999. Photoprotection revisited: genetic and molecular approaches. *Annual review of plant biology*, 50(1), 333-359.
- Noga, G. and Schmitz, M. 1998., *Antioxidants in higher plants: Biosynthesis, characteristics, actions and specific functions in stress defence*. Shaker Verlag, Aachen. ISBN 3-8265-4418-8.
- Nonami H., 1998. Plant water relations and control of cell elongation at low water potentials, *J. Plant Res.*, 111, 373-382.

- Ommen, O.E., Donnelly, A., Vanhoutuin, S., Van Oljen, M. and Manderscheid, R. 1999. Chlorophyll Content of Spring Wheat Flag Leaves Grown under Elevated CO₂ Concentrations and other Environmental Stresses Within the “Escape-Wheat” Project. European Journal of Agronomy/ The European Stress Physiology and Climate Experiment-Project 1, 10 (3-4), 197-203.
- Özcan, S., Gürel, E. ve Babaoğlu, M., 2001. Bitki Biyoteknolojisi II, 308-313, Selçuk Üniversitesi, Konya.
- Özşahin, A.D., 2010. Malatya yöresine ait bazı üzüm ve kayısı çeşitlerinin fitokimyasal içeriklerine bağlı olarak antioksidan aktivitelerinin araştırılması. (Doktora Tezi), Fırat Üniversitesi. Elazığ.
- Öztürk, M. A. ve Seçmen, Ö., 1992. Bitki Ekolojisi, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 180.
- Öztürk A ve Akten Ş., 1998. Kışlık Buğdayda Bayrak Yaprak Boğumu Üzerindeki Yapıların Ekim Sıklığı ve Azot Dozlarına Tepkisi. Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi 8(1).
- Öztürk, A., 1999. Kuraklığın kışlık buğdayın gelişmesi ve verimine etkisi. Turkish Journal of Agriculture and Forestry 23: 531-540.
- Öztürk, İ. Ve Tosun, N., 2004. Ege.Üniv. Fen Fak. Derg , 41 (3), 77-87.
- Öztürk, N.Z., 2015. Bitkilerin kuraklık stresine tepkilerinde bilinenler ve yeni yaklaşımlar. Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 3(5), 307-315.
- Packer, L. and Landvik, S., 1989. Vitamin E: introduction to biochemistry and health benefits. Annals of the New York Academy of Sciences, 570(1), 1-6.
- Parry, M., Andraloje, P. J., Khan, S., Lea, P.J. and. Keys, A., 2002. Rubisco activity: effect of drought stress. Annals of Bot., 89, 833–639.
- Pongracz, G., 1984. γ -tocopherol als natürliches antioxidans. Fette Seifen Anstrichmittel, 86(12), 455-460.
- Prasad, P. V. V., Craufurd, P. Q., Summerfield, R. J., and Wheeler, T. R., 2000. Effects of short episodes of heat stress on flower production and fruit-set of groundnut (*Arachis hypogaea* L.). Journal of Experimental Botany, 51(345), 777-784.
- Queen, R.A., Gribbon, B.M., James, C., Jack, P. and Flavell, A.J. 2004. Retrotransposon-Based Molecular Markers for Linkage and Genetic Diversity Analysis in Wheat. Molecular Genetics and Genomics., 271, 91-97.
- Quesneville, H., Bergman, C.M., Andrieu, O., Autard, D. and Nouaud, D., 2005. Combined evidence annotation of transposable elements in genome sequences. PLoS Comp Biol 1 (2), e22.
- Rakyan, V.K. and Beck, S., 2006. Epigenetic variation and inheritance in mammals. Current Opinion in Genetics and Development, 16 (6), 573-577.
- Rasmussen, O. S., 1976. Water Stress in Plants. Physiologia Plantarum, 36(2), 208-212.
- Ratnayaka, H.H., Molin, W.T. and Sterling, T.M., 2012. Comparison of physiological and antioxidant responses of *Anoda cristata* and cotton to progressive drought. Weed Research, 52(4), 358-366.
- Rauf, M., Munir, M., Hassan, M. and Afzal M., 2007. Performance of wheat genotypes under osmotic stress at germination and early seedling growth stage. African Journal of Biotechnology, 6(8), 971-975.
- Reddy, Attipalli R., Kolluru V. C. and Munusamy V., 2004. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. Journal of plant physiology, 161(11), 1189-1202.

- Ridout, C. J. and Donini, P., 1999. Use of AFLP in cereals research. *Trends in Plant Science*, 4(2), 76-79.
- Rivero and Orcutt., 1991. Antioxidant metabolism in water stressed peanut. *Biotropia* (5), 22-25.
- Rolando, J.L., Ramírez, D.A., Yactayo, W., Monneveux, P., and Quiroz, R., 2015. Leaf greenness as a drought tolerance related trait in potato (*Solanuma* L.). *Environmental and Experimental Botany*, 110, 27-35.
- Rong-hua, L., Pei-guo, G., Baum, M., Grando, S. and Ceccarelli, S., 2006. Evalation of Chlorophyll Content and Fluorescence Parameters as Indicators of Drought Tolerance in Barley, *Agricultural Sciences in China*, 5(10), 751-757.
- Sabot, F. and Schulman, A. H., 2006. Parasitism and the retrotransposon life cycle in plants: a hitchhiker's guide to the genome. *Heredity*, 97(6), 381-388.
- Sadak, M.S. and Davood M.G., 2014. Role of ascorbic acid and α tocopherol in alleviating salinity stress on flax plant (*Linum usitatissimum* L.) *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*, 10 (1), 93-111.
- Sağlam, A., 2004. Ağır kuraklık stresi geçirmiş *Ctenanthe setosa* bitkisinin yeni kuraklık koşullarına adaptasyon yeteneğinin araştırılması. (Yüksek Lisans Tezi). Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Trabzon.
- Sairam, R.K., Deshmukh, P.S., Shulka, D.S. and Ram, S., 1990. Metobolic activity and grain yield under moisture stress in wheat genotypes. *Indian J. of Plant Physiol.*, 33 (3), 226-231.
- Sairam, R.K., Deshmukh, P.S. and Shukla, D.S., 1997. Tolerance of drought and temperature stress in relation to increased antioxidant enzyme activity in wheat. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 178(3), 171-178.
- Sairam, R.K. and Saxena, D.C., 2000. Oxodative stres and antioxidants in wheat genotypes: possible mechanism of water stres tolerance. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 184(1), 55-61.
- Sairam, R.K., Srivastava, G.C., and Saxena, D.C., 2000. Increased antioxidant activity under elevated temperatures: a mechanism of heat stress tolerance in wheat genotypes. *Biologia Plantarum*, 43(2), 245-251.
- Sairam, R.K., and Srivastava, G.C., 2001. Water stress tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.) variations in hydrogen peroxide accumulation and antioxidant activity in tolerant and susceptible genotypes. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 186(1), 63-70.
- Sairam, R.K. and Tyagi, A., 2004. Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Curr Sci*, 86, 407-421.
- Salazar, M., González, E., Casaretto, J.A., Casacuberta, J.M. and Ruiz-Lara, S., 2007. The promoter of the TLC1.1 retrotransposon from *Solanum chilense* is activated by multiple stress-related signaling molecules. *Plant Cell Reports*, 26 (10), 1861-1868.
- Samarah, N.H., 2005. Effects of drought stress on growth and yield of barley. *Agronomy for Sustainable Development*, 25(1), 145-149.
- Sayar, R., Khemira, H., Kameli, A. and Mosbahı, M., 2008. Physicological test as predictive appereciation for drought tolerance in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *Agronomy Research*, 6(1), 79-90.
- Sha, A.H., Lin, X.H., Huang, J.B., and Zhang, D.P., 2005. Analysis of DNA methylation related to rice adult plant resistance to bacterial blight based on

- methylation-sensitive AFLP (MSAP) analysis. *Molecular Genetics and Genomics*, 273(6), 484-490.
- Shafeeq, S. Ur-Rahman, M. and Zafar, Y., 2006. Genetic Variability of Different Wheat (*Triticum aestivum* L.) Genotypes/Cultivars under Induced Water Stress. *Pak. J. Bot.*, 38(5), 1671-1678.
- Shahidi ,F., 1997.Natural Antioxidant: Chemistry, Health Effects and Applications, Champaign, III ,AOCS Press.
- Shefazadeh, M.K. Mohammadi, M., Sharifi, P. and Karimizadeh, R., 2012. Relationships between grain yield and yield components in bread wheat under different water availability (dryland and supplemental irrigation conditions).*Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 40 (1), 195.
- Sheng, M., Tang, M., Chen, H., Yang, B., Zhang, F. and Huang, Y., 2008. Influence of arbuscular mycorrhizae on photosynthesis and water status of maize plants under salt stress. *Mycorrhiza*, 18(6-7), 287-296.
- Shiklomanov, I.A., and Balonishnikova, J.A., 2003. World water use and water availability: trends, scenarios, consequences. *International Association of Hydrological Sciences, Publication*, (281), 358-364. Shpiler, L. and Blum, A., 1991. Heat toleranc to yield and its components in different wheat cultivar, *Euphytica*, 51, 257-263.
- Sıǧmaz, B., 2014. Tuzluluk stresinin buğdayda (*Triticum aestivum* L.) meydana getirmiş olduğu retrotranspozon polimorfizmi üzerine putresinin etkisinin belirlenmesi. (Yüksek Lisans tezi), Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Siddique, B.M.R., Hamid, A. and Islam, M.S., 2000. Drought stres effect on waterrelation of wheat. *Bot Bull Acad.*, 41, 35-39.
- Singh M., Srivastava J.P., Kumar A.,1992. Cell-membrane stability in relation to drought tolerance in wheat genotypes, *Journal of Agronomy and Crop Science*, 168, 186-190.
- Smirnoff, N. and Cumbes, Q.J., 1989. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry*, 28, 1057-60.
- Smirnoff, N., 1995. Environment and plant metabolism: flexibility and acclimation. BIOS Scientific publishers.
- Soltani Y. Saffari V.R., Maghsoudi Moud A.A. and Mitra M., 2012. Effect of foliar application of α -tocopherol and pyridoxine on vegetative growth, flowering, and some biochemical constituents of *Calendula officinalis* L. plants *African Journal of Biotechnology*, 11 (56), 11931-11935.
- Staub, Jack E., Felix C. Serquen, and Manju G., 1996. Genetic markers, map construction, and their application in plant breeding. *HortScience*, 31(5), 729-741.
- Steward, N., Kusano T. and Sano, H., 2000. Expression of ZmMET1, a gene encoding a DNA methyltransferase from maize, is associated not only with DNA replication in actively proliferating cells, but also with altered DNA methylation status in cold-stressed quiescent cells. *Nucleic Acids Research*, 28(17), 3250-3259.
- Stontag, N.O.V. 1979. Structure and composition of fats and oils. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*. Ed. Daniel Swern, John Wiley and Sons. Inc. Fourth Ed.1:1-99, New York.

- Suzuki, M.M. and Bird, A., 2008. DNA methylation landscapes: provocative insights from epigenomics. *Nature Review Genet.*, (9), 465-476.
- Süzer, S., 1992. Buğday Tarımında Yüksek Verim Almanın Yolları. *Marmara'da Tarım Dergisi*, 51, 5-7.
- Szarka, A., Balint, T. and Gabor, B., 2012. The ascorbate-glutathione- α -tocopherol triad in abiotic stress response. *International journal of molecular sciences*, 13(4), 4458-4483.
- Şahin, C., ve Sipahioğlu, Ş. 2003. Doğal Afetler ve Türkiye. Gündüz Eğitim ve Yayın Ankara.
- Şimşek, O., 2010. Türkiye'de tarım yılı kuraklık değerlendirmesi ve bitki gelişim modeli ile buğdayda kuraklık-verim analizi. (Doktora Tezi), Fen Bilimleri Enstitüsü, A.Ü, Ankara.
- Taiz, L. and Zeiger, E., 2006. Stress physiology. *Plant physiology*, 4.
- Tan, M., 2010. Analysis of DNA methylation of maize in response to osmotic and salt stress based on methylation-sensitive amplified polymorphism. *Plant Physiol Biochem.*, 48(1), 21-6.
- Taş, S. and Taş, B., 2007. Some physiological responses of drought stress in wheat genotypes with different ploidity in Türkiye. *World J. Agric. Sci.*, 3 (2), 178-183.
- Taylor, G.J., 1991. Current views of the aluminum stress response; The physiological basis of tolerance. *Curr. Top. Plant Biochem. Physiol.*, 10, 57-93.
- Techawongstin, S., Nawata, E. and Shigenaga, S., 1993. Recovery in physiological characteristics from sudden and gradual water stress in hot-peppers. In C.G. Kuo (ed.), *Adaptations of Food Crops to Temperature and Water Stress. Proc. of an International Symposium, Taiwan, 13-18 August 1992.* AVRDC, Taiwan, pp. 140-147.
- Tezara, W., Mitchell.V.J., Driscoll, S.D. and Lawlor, D.W., 1999. Water stress inhibits plant photosynthesis by decreasing coupling factor and ATP. *Nature*, 401, 914-917.
- Trebst, A., Depka, B. and Hollaender-Czytko, H., 2002. A specific role for tocopherol and of chemical singlet oxygen quenchers in the maintenance of photosystem II structure and function in *Chlamydomonas reinhardtii*. *FEBS Lett*, 516, 156-160.
- Tripathy, J.N., Zhang J., Robin S., Nguyen T.T. and Nguyen H.T., 2000. QTLs for cell-membrane stability mapped in rice (*Oryza sativa* L.) under drought stress, *Theor. Appl. Genet.*, 100, 1197-1202.
- Tuberosa, R., 2012. Phenotyping for drought tolerance of crops in the genomics era. *Front. Physiol.*, 3: Article 347.
- Turner, N.C., Wright, G.C. and Siddique, K.H.M., 2001. Adaptation of grain legumes (pulses) to water-limited environments, *Adv. Agron.*, 71, 123-231.
- Turner, N.C., Blum, A., Cakir, M., Steduto, P., Tuberosa, R. and Young, N., 2014. Strategies to increase the yield and yield stability of crops under drought – are we making progress? *Funct. Plant Biol.*, 41, 1199-1206.
- Vu J.C.V., Gesch R.W., Allen L.H., Boote K.J. and Bowes G., 1999. CO₂ enrichment delays a rapid, drought-induced decrease in Rubisco small subunit transcript abundance. *J.Plant Physiol.*, 155,139-142.
- Wahid, A., Rasul, E., Rao, R. A. and Iqbal, R. M. (2005). Photosynthesis in leaf, stem, flower and fruit. *Handbook of Photosynthesis*, 2, 479-497.

- Wang, X.Q., Ullah, H., Jones, A.M. and Assmann, S.M., 2001. G protein regulation of ion channels and abscisic acid signaling in *Arabidopsis* guard cells. *Science*, 292, 2070–2072.
- Wang, W., Vinocur B. and Altman A., 2003. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta*, 218, 1-14.
- Wessler, S.R., Han, Y. and Burnette, J.M., 2009. TARGeT: a web-based pipeline for retrieving and characterizing gene and transposable element families from genomic sequences. *Nucleic Acids Research*. pp. e78.
- Wilkinson, S. and Davies, W.J., 2002. ABA-based chemical signaling: the coordination of responses to stress in plants. *Plant Cell Environ.*, 25, 195- 210.
- Woodrow, P., Pontecorvo, G., Fantaccione, S., Fuggi, A., Kafantaris, I. and Carillo, P., 2010. Polymorphism of a new Ty1-copia retrotransposon in durum wheat under salt and light stresses. *Theor Appl Genet*, 121 (2), 311-322.
- Yağcı, S., 2015. Tuzluluk stresinin buğdayda (*Triticum aestivum* L.) meydana getirmiş olduğu retrotranspozon polimorfizmi üzerine β -östradiol'ün etkisinin belirlenmesi. (Yüksek Lisans Tezi), Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Yaprak, M., 2015. Bazı sentetik oksinlerin buğdayda (*Triticum aestivum* L.) meydana getirmiş olduğu retrotranspozon polimorfizminin belirlenmesi. (Yüksek Lisans Tezi), Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Yavaş, İ., 2010. Ege Bölgesi ekmeklik buğdaylarında kurağa dayanıklılık özelliklerinin saptanması konulu (Doktora Tezi). Tarla Bitkileri Anabilim Dalı. Adnan Menderes Üniversitesi.
- Yediyıldız, A.G., 2008. Kuraklık ve tuz stresi uygulanan buğday (*Triticum aestivum* L.) çeşitlerinde antioksidant enzim aktivitesindeki değişimlerin belirlenmesi. (Yüksek Lisans Tezi), Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- Yıldırım, M., Akıncı, C., Barutcular, C. ve Koç, M., 2009. Bitki örtüsü serinliği ve klorofil miktarının makarnalık buğday ıslahında kullanım olanakları. *Anadolu Tarım Bilim. Derg.*, 24(3), 158-166.
- Yıldırım, M., Kılıç, H., Kendal, E. and Turan, K., 2011. Applicability of chlorophyll meter readings as yield predictor in durum wheat. *Journal of Plant Nutrition*, 34,151-164.
- Yıldız M., Terzi H., Cenkeci S., Arıkan Terzi E. S. and Uruşak B., 2010. Bitkilerde tuzluluk toleransın fizyolojik ve biyokimyasal markörleri. *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi –C Yaşam Bilimleri ve Biyoteknoloji* 1, (1), 1-33.
- Yokota, A., Kawasaki, S., Iwano, M., Nakamura, C., Miyake, C. and Akashi, K., 2002. Citrulline and DRIP-1 protein in drought tolerance of wild watermelon. *Annals of Botany*, 89, 825–832.
- Zhang, J. and Kirkham, M.B., 1996. Antioxidant response to drought in Sunflower and Sorghum seedlings. *New Phytol.*, 132, 361-373.
- Zhang, C.J., Chena, G.X., Gaob, X.X. and Chua, C.J. 2006. Photosynthetic decline in flag leaves of two field-grown spring wheat cultivars with different senescence properties. *South African Journal of Botany*, 72, 15-23.
- Zhou Y., Lam H.M. and Zhang J., 2007. Inhibition of photosynthesis and energy dissipation induced by water and high light stresses in rice, *J. Exp. Bot.* 58, 1207–1217.

- Zhu, JK., 2000. Genetic analysis of plant salt tolerance using *Arabidopsis*. *Plant Physiol*; 124, 941-948.
- Ziska, L.H., Seemann, J.R. and DeJong, T.M., 1990. Salinity Induced Limitations on Photosynthesis in *Prunus Salinica*, a Deciduous Tree Species, *Plant Physiol.*, 93, 864-870.
- Zlatev, Z.S., 2006, Comparison of resistance to drought of three bean cultivars *Biologia Plantarum*, 50 (3), 389-394.



ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında Manisa’da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Manisa’da tamamladı. 1995 yılında girdiği Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü’nden 1999 yılında ve Anadolu Üniversitesi İktisat Fakültesi Kamu Yönetimi Bölümü’nden 2013 yılında mezun oldu. 2013 yılında Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Anabilim Dalı’nda yüksek lisans öğrenimine başladı. Halen Erzurum İl Gıda, Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğünde Ziraat Mühendisi olarak görev yapmaktadır. Evli ve 3 çocuk annesidir.