



T.C.

**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**KURAKLIK STRESİ VE *OROBANCHE CRENATA*
ENFEKSİYONUNA MARUZ BIRAKILAN KURAKLIĞA
TOLERANSLARI FARKLI NOHUT (*CICER ARIETINUM L.*)
ÇEŞİTLERİNDE ANTİOKSİDAN SAVUNMA YANITLARI**

Buşra ÇALIK

Biyoloji Anabilim Dalı

ÇANAKKALE

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

KURAKLIK STRESİ VE *OROBANCHE CRENATA*
ENFEKSİYONUNA MARUZ BIRAKILAN KURAKLIĞA
TOLERANSLARI FARKLI NOHUT (*CICER ARIETINUM L.*)
ÇEŞİTLERİNDE ANTİOKSİDAN SAVUNMA YANITLARI
BUŞRA ÇALIK

Biyoloji Anabilim Dalı

Tezin Sunulduğu Tarih: 22/06/2016

Tez Danışmanı:

Doç. Dr. Okan ACAR

ÇANAKKALE

Buşra ÇALIK tarafından Doç. Dr. Okan ACAR yönetiminde hazırlanan ve 22.06.2016 tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan “**Kuraklık Stresi ve *Orobanche crenata* Enfeksiyonuna Maruz Bırakılan Kuraklığa Toleransları Farklı Nohut (*Cicer arietinum* L.) Çeşitlerinde Antioksidan Savunma Yanıtları**” başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji Anabilim Dalı**’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak oybirliği ile kabul edilmiştir.

JÜRİ

Doç. Dr. Okan ACAR

Başkan

Doç. Dr. A. Hediye SEKMEN

Üye

Prof. Dr. Cüneyt AKI

Üye

Prof. Dr. Levent GENÇ

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

Sıra No:.....

Bu tez çalışması COMÜ-BAP tarafından FYL-334 numaralı projeden desteklenmiştir.

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI



Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Buşra ÇALIK

TEŞEKKÜR

Yüksek lisansa başladığım günden itibaren her soru ve sorunumda beni yönlendiren, tez konumu bulmak için emek veren ve bu tezin gerçekleştirilmesinde, çalışmam boyunca benden bir an olsun yardımlarını esirgemeyen saygı değer danışman hocam Doç. Dr. Okan ACAR'a, çok teşekkür ederim. Ayrıca her an fikirleriyle ve yönlendirmeleriyle yanımda olan, saygıdeğer hocam Yrd. Doç. Dr. Sefer DEMİRBAŞ'a en içten dileklerle teşekkürlerimi sunarım.

Çalışma süresince tüm zorlukları benimle göğüsleyen, kendi çalışmalarından farklı olmaksızın benle birlikte usanmadan çalışan sevgili laboratuvar arkadaşlarım Uzman Biyolog Eda GÜNAY'A, Biyolog Ozan Barış KÜRTÜR'e, Biyolog Mehmet Selim ÇOBANOĞLU'na, Biyolog Sabina BİNALI'ye ve Biyolog Müge TEKER'e çok teşekkür ederim.

Her zaman beni desteklemek için yanımda ve telefonun diğer ucunda olan sevgili arkadaşlarım Çisem AKURUT'a, Kinem AKGÜN'e, Duygu TERZİ'ye ve Binnur ATILKAN'a çok teşekkür ederim.

Hayatımın her evresinde bana destek olan, hayallerimi gerçekleştirebilmem için ellerinden gelenden çok daha fazlasını yapan sevgili babam Burhanettin ÇALIK ve sevgili annem İnci Ahsen ÇALIK'a, her bakışında beni sevdiğini gösteren biricik kardeşim Ata ÇALIK'a ve hayattaki şans tilsimim olduğuna inandığım biricik anneannem Leman YARAMIŞ'a, kısacası değerli aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Buşra ÇALIK

Çanakkale, Haziran 2016

SİMGELER VE KISALTMALAR

$^1\text{O}_2$	Tekil oksijen
APX	Askorbat peroksidaz
CAT	Katalaz
DHAR	Dehidroaskorbat redüktaz
GPX	Glutasyon peroksidaz
GR	Glutasyon redüktaz
GR 24	Strigol' ün sentetik analogu
GSH	Glutasyon
GSH-PX	Glutasyon peroksidaz
H_2O_2	Hidrojen peroksit
HO^\cdot	Hidroksil radikali
HR	Aşırı duyalı yanıtlar
MDHAR	Monodehidroaskorbat Redüktaz
$\text{O}_2^{\cdot -}$	Süperoksit Radikali
POX	Peroksidaz
ROT	Reaktif oksijen türleri
SOD	Süperoksit dismutaz
TBARS	Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddeler

ÖZET

KURAKLIK STRESİ VE *OROBANCHE CRENATA* ENFEKSİYONUNA MARUZ BIRAKILAN KURAKLIĞA TOLERANSLARI FARKLI NOHUT (*CICER ARIETINUM* L.) ÇEŞİTLERİNDE ANTİOKSİDAN SAVUNMA YANITLARI

Buşra ÇALIK

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Okan ACAR

22/06/2016, 55

Nohut dünya genelinde birçok ülkede yetiştirilen yemeklik baklagiller arasında ikinci sırada yer almaktadır. Besin değeri olarak diğer baklagillere göre daha çok protein içeriğine sahiptir. Nohut bitkisinin yetiştirilmesinde ve veriminde karşılaşılan biyotik stresler arasında fungal hastalıklar ve canavar otu yer alırken abiyotik stresler arasında da kuraklık ve tuzluluk stresleri yer almaktadır. Bununla birlikte, kuraklık dünyanın birçok bölgesinde en önemli abiyotik stresler ve serin iklim baklagillerinde önemli verim kayıplarına sebep olmaktadır. FAO verilerine göre 20 yıl içerisinde dünyada ekilebilir tarım alanlarında kuraklık etkisi artacaktır. Bu bağlamda kuraklığa dayanıklı varyetelerin geliştirilmesine dönük araştırmalar da kaçınılmaz olacaktır.

Son yıllarda nohut bitkisinde kuraklıkla ilgili sorunları çözmek ve dayanıklı çeşitleri elde etmek için birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarla nohut bitkisinde kuraklık stresine karşı toleranslı varyeteler geliştirilmiştir. Buna karşın, bu varyetelerin sayısı azdır ve birçok varyetenin kuraklığa toleransı bilinmemektedir. Nohut üretiminde biyotik stresler tüm stres etmenleri içerisinde %48'lik bir paya sahiptir. Nohut bitkisi için bir biyotik stres kaynağı olarak sıklıkla *Orobanche crenata* türü rapor edilmekle birlikte bazı kaynaklarda *O. foetida* ve *O. aegyptiaca* türlerinden de bahsedilmektedir. Canavar otuna karşı kimyasal, fiziksel/mekanik, biyolojik ve kültürel yöntemlerle mücadele edilmektedir. Ancak canavar otu bitkisi bu yöntemlere karşı her yıl daha dayanıklı ırklar meydana getirmektedir.

Literatürde kuraklık stresinin nohut bitkisinin antioksidan savunma sistemine etkileri ile ilgili bilgiler mevcuttur. Daha önce yapılan çalışmalarda kuraklık gibi abiyotik

bir stres olan tuzluluğa karşı Orobanşa direnç mekanizmasının bir koruma sağladığı belirlenmiştir. Ancak *Orobanche crenata*'ya karşı toleranslı çeşitler bulunmadığı ve canavar otuna karşı etkili bir mücadele yönteminin mevcut olmadığı yönünde de raporlar mevcuttur. Diğer yandan canavar otu parazitliği konukçu bitkiler için ikincil bir su stresi kaynağı olmaktadır. Bu bağlamda, canavar otu kaynaklı biyotik stres aynı zamanda kuraklık stresi etkisine de yol açacaktır.

Bu araştırmada da kuraklığın özellikle Gökçe çeşidinin gövde dokusunda antioksidan savunma sistemini teşvik etmemesi buna bağlı olarak açıklanabilir. Aslında, çift stres uygulaması Gökçe çeşidinden çok Er-99 çeşidinde lipid peroksidasyonu azaltmıştır. Bu azalış Er-99 çeşidinde antioksidan savunma sistemi ile desteklenmektedir. Sonuç olarak, kuraklığa hassas olduğu bilinen Er-99 çeşidi çift stres uygulaması sayesinde tek başına kuraklığın zararlı etkilerinden korunmada daha etkili bir antioksidan korumaya sahip bulunmuştur.

Anahtar sözcükler: Antioksidan savunma sistemi, Canavar otu, Er-99, Gökçe,
Kuraklık, Nohut

ABSTRACT

THE ANTIOXIDANT RESPONCES AGAINST TO DROUGHT STRESS AND *OROBANCHE CRENATA* INFECTION ON CHICKPEA (*CICER ARIETINUM* L.) VARIETIES WHICH HAVE KNOWN DIFFERENT DROUGHT TOLERANCES.

Buşra ALIK

anakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Master of Science Thesis in Biology

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Okan ACAR

22/06/2016, 55

Chickpea is grown in many countries across the globe, and ranks second amongst edible beans. Nutritionally, chickpea contains significantly higher protein content than other legumes. Common biotic stresses encountered in chickpea production are fungal diseases and broomrape, and frequent abiotic stresses are drought and salinity. Drought is the most important abiotic stress in many parts of the world, and causes significant yield losses in cool climate legumes. According to FAO data, the impacts of drought will increase within 20 years in arable areas across the world. In this context, research to develop drought-resistant crop varieties will be vital.

In recent years, there have been numerous studies aimed at solving drought problems in chickpea and to obtain drought-resistant varieties. However, these varieties are still few in number, and the drought tolerance of many varieties is not known. Biotic stresses account for 48% of losses in chickpea production. Although, *Orobanche crenata* is frequently reported as a source of a biotic stress for chickpea, in some sources *O. foetida* and *O. aegyptiaca* are also mentioned. Chemical, physical / mechanical, biological and cultural methods are being utilised against broomrape. However, broomrape plants are becoming increasingly resistant to these methods.

Information about the effect of drought stress on the antioxidant defense system of chickpea is available in the literature. It was determined in earlier studies that the mechanism of resistance to *Orobanche* provides protection against the negative effects of salinity. However, there are no chickpea varieties tolerant to *Orobanche crenata* currently available, and an effective defense mechanism is not available against broomrape is absent.

Furthermore, broomrape parasitism of the host plant is a secondary source of water stress. In this context, broomrape-induced biotic stresses will also likely lead to drought stress.

Accordingly in this research, drought doesn't promote the antioxidant defense system in Gökçe variety's tissues. In fact, double stress treatment reduced lipid peroxidation in Er-99 variety more than Gökçe variety. This decrease in Er-99 variety supported by antioxidant defense system. As a result, due to double stress treatment Er-99 variety which known to sensitive to drought stress, were found to have an effective antioxidant protection than the protection from the harmful effects of drought alone.

Keywords: Antioxidant Defense System, Broomrape, Chickpea, Drought, Er-99, Gökçe



İÇİNDEKİLER

Sayfa No

İçindekiler

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ABSTRACT.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	Sayfa No.....xii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiv
BÖLÜM 1	1
GİRİŞ	1
1.1 Nohut (<i>Cicer arietinum</i>).....	1
1.2 Canavar Otu Sorunu	3
1.3 Kuraklık Stresi	6
BÖLÜM 2	
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	9
BÖLÜM 3	
MATERYAL VE METOT	11
3.1. Bitki Materyali.....	11
3.2. Yöntem	12
3.2.1. Bitkilerin Su Kültüründe Yetiştirilmesi ve <i>O. crenata</i> ve Kuraklık Streslerinin Uygulanması	12
3.2.2. Bitki Analiz Yöntemleri	13
3.2.2.1. Büyüme Parametrelerinin Belirlenmesi	13
3.2.2.1.1. Gövde Uzunluğu.....	13
3.2.2.1.2 Kök Uzunluğu.....	13
3.2.2.1.3. Pigment İçeriğinin Belirlenmesi	13
3.2.2.2. Toplam Protein Analizi.....	13
3.2.2.3. Lipid Peroksidasyon Miktarının Belirlenmesi	14
3.2.2.4. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Saptanması.....	15
3.2.2.4.1. Süperoksit Dismütaz (SOD; E.C. 1.15.1.1) Aktivitesinin Belirlenmesi.....	15
3.2.2.4.2. Peroksidaz (POX; E.C. 1.11.1.7) Aktivitesinin Belirlenmesi	15
3.2.2.4.3. Katalaz (CAT; E.C 1.11.1.6) Aktivitesinin Belirlenmesi.....	15
3.2.2.4.4. Askorbat Peroksidaz (APX; EC 1.11.1.11) Aktivitesinin Belirlenmesi	15
3.2.2.4.5. Glutatyon Redüktaz (GR; EC 1.6.4.2) Aktivitesinin Belirlenmesi	16

BÖLÜM 4	
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	17
4.1. Büyüme Parametreleri	17
4.1.1. Gövde Uzunlukları	17
4.1.2. Kök Uzunlukları	18
4.1.3. Pigment İçeriği	20
4.2. Toplam Protein İçeriği	23
4.3. Lipit Peroksidasyon (TBARS) Miktarı	26
4.4. Antioksidan Enzim Aktivitelerindeki Değişim	29
4.4.1. SOD Aktivite Sonuçları	29
4.4.2. POX Aktivite Sonuçları	32
4.4.3. CAT Aktivite Sonuçları	35
4.4.4. APX Aktivite Sonuçları	38
4.4.5. GR Aktivite Sonuçları	41
4.5. İstatiksel Bulgular	44
BÖLÜM 5	
SONUÇ VE ÖNERİLER	45
KAYNAKLAR	47
ÖZGEÇMİŞ	I

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1.1. TUIK 2014 Kuru baklagiller istatistikleri, a) 2004-2014 yılları arasında nohut üretim tablosu, b) 2004-2014 yılları arasında nohut verim tablosu	2
Şekil 1.2. Canavar otu yaşam döngüsü.	4
Şekil 1.3. Orobance crenata enfekte olmuş nohut bitkisi	5
Şekil 1.4. a) 2010 yılında ekilebilir alanlarda kuraklık dereceleri, b) 2030 yılında ekilebilir alanlarda kuraklık dereceleri.	7
Şekil 3.1. Laboratuvar ortamında yetiştirilen nohut çeşitleri.....	11
Şekil 3.2. Analizlerde kullanılan protein standart grafiği ve denklemi	14
Şekil 4.1. Gökçe çeşidinin günlere göre gövde uzunlukları.	17
Şekil 4.2. Er-99 çeşidinin günlere göre gövde uzunlukları.....	17
Şekil 4.3. Gökçe çeşidinin günlere göre kök uzunlukları.	18
Şekil 4.4. Er-99 çeşidinin günlere göre kök uzunlukları.	18
Şekil 4.5. Gökçe çeşidinde gruplar ve günler arasındaki Klorofil a içerikleri.....	20
Şekil 4.6. Er-99 çeşidinde gruplar ve günler arasındaki Klorofil a içerikleri.....	20
Şekil 4.7. Gökçe çeşidinde gruplar ve günler arasındaki Klorofil b içerikleri.	21
Şekil 4.8. Er-99 çeşidinde gruplar ve günler arasındaki Klorofil b içerikleri.....	21
Şekil 4.9. Gökçe çeşidi yaprak dokusunda gruplar ve günler arasındaki toplam protein içerikleri.	23
Şekil 4.10. Er-99 çeşidi yaprak dokusunda gruplar ve günler arasındaki toplam protein içerikleri.	23
Şekil 4.11. Gökçe çeşidi kök dokusunda gruplar ve günler arasındaki toplam protein içerikleri.	24
Şekil 4.12. Er-99 çeşidi kök dokusunda gruplar ve günler arasındaki toplam protein içerikleri.	24
Şekil 4.13. Gökçe çeşidi yaprak dokusunda gruplar ve günler arasındaki TBARS miktarları.	26
Şekil 4.14. Er-99 çeşidi yaprak dokusunda gruplar ve günler arasındaki TBARS miktarları.....	26
Şekil 4.15. Gökçe çeşidi kök dokusunda gruplar ve günler arasındaki TBARS miktarları.	27
Şekil 4.16. Er-99 çeşidi kök dokusunda gruplar ve günler arasındaki TBARS miktarları .	27
Şekil 4.17. Gökçe çeşidi yaprak dokusunda gruplar ve günler arasındaki SOD aktivitesi..	29

Şekil 4.18. Er-99 çeşidi yaprak dokusunda gruplar ve günler arasındaki SOD aktivitesi ...	29
Şekil 4.19. Gökçe çeşidi kök dokusunda gruplar ve günler arasındaki SOD aktivitesi	30
Şekil 4.20. Er-99 çeşidi kök dokusunda gruplar ve günler arasındaki SOD aktivitesi.....	30
Şekil 4.21. Gökçe çeşidi yaprak dokusunda gruplar ve günler arasındaki POX aktivitesi..	32
Şekil 4.22. Er-99 çeşidi yaprak dokusunda gruplar ve günler arasındaki POX aktivitesi...	32
Şekil 4.23. Gökçe çeşidi kök dokusunda gruplar ve günler arasındaki POX aktivitesi.	33
Şekil 4.24. Er-99 çeşidi kök dokusunda gruplar ve günler arasındaki POX aktivitesi.....	33
Şekil 4.25. Gökçe çeşidi yaprak dokusunda gruplar ve günler arasındaki CAT aktivitesi..	35
Şekil 4.26. Er-99 çeşidi yaprak dokusunda gruplar ve günler arasındaki CAT aktivitesi...	35
Şekil 4.27. Gökçe çeşidi kök dokusunda gruplar ve günler arasındaki CAT aktivitesi	36
Şekil 4.28. Er-99 çeşidi kök dokusunda gruplar ve günler arasındaki CAT aktivitesi.....	36
Şekil 4.29. Gökçe çeşidi yaprak dokusunda gruplar ve günler arasındaki APX aktivitesi..	38
Şekil 4.30. Er-99 çeşidi yaprak dokusunda gruplar ve günler arasındaki APX aktivitesi...	38
Şekil 4.31. Gökçe çeşidi kök dokusunda gruplar ve günler arasındaki APX aktivitesi.	39
Şekil 4.32. Er-99 çeşidi kök dokusunda gruplar ve günler arasındaki APX aktivitesi	39
Şekil 4.33. Gökçe çeşidi yaprak dokusunda gruplar ve günler arasındaki GR aktivitesi. ...	41
Şekil 4.34. Er-99 çeşidi yaprak dokusunda gruplar ve günler arasındaki GR aktivitesi.	41
Şekil 4.35. Gökçe çeşidi kök dokusunda gruplar ve günler arasındaki GR aktivitesi.....	42
Şekil 4.36. Er-99 çeşidi kök dokusunda gruplar ve günler arasındaki GR aktivitesi.	42

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 1.1 Canavar otu türleri, konukçu familyaları ve konukçu bitkileri	3
Çizelge 1.2. Antioksidan sınıflandırma tablosu	8
Çizelge 4.1. <i>C. arietinum</i> cv. Gökçe ve <i>C. arietinum</i> cv. Er-99 çeşitlerinde gövde uzunluğu, protein, Klorofil a, Klorofil b, TBARS, SOD, POX, CAT, APX, GR enzim aktivitelerine ait tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonuçları	44
Çizelge 4.2 <i>C. arietinum</i> cv. Gökçe ve <i>C. arietinum</i> cv. Er-99 çeşitlerinde kök uzunluğu, protein, TBARS, SOD, POX, CAT, APX, GR enzim aktivitelerine ait tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonuçları	44

BÖLÜM 1

GİRİŞ

1.1 Nohut (*Cicer arietinum*)

Yaklaşık 7000 yıl öncesinde Anadolu'da antik çağda yetiştirilen Nohut (*Cicer arietinum* L.) en eski (Popelka ve Higgins, 2007) ve ıslah edilen ilk baklagillerden biridir (Saxena, 1990). Taksonomi isimlendirilmesi Linnaeus (1753) tarafından şu şekilde yapılmıştır;

Phylum : Angiosperm

Ordo : Fabales

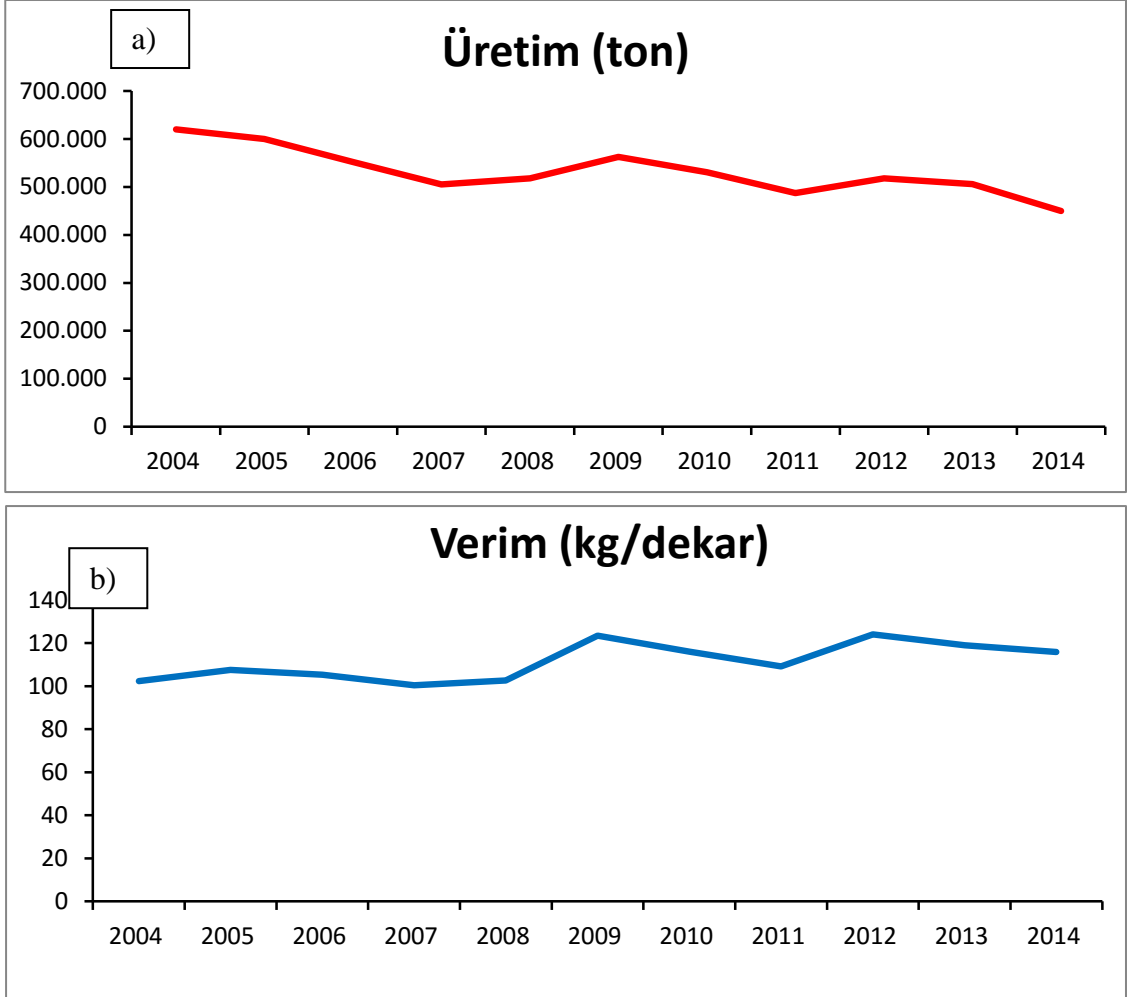
Familia : Fabaceae

Genus : Cicer

Species : Cicer arietinum

Nohut tanelerinde çeşitler arasında farklılıklar olmak üzere yaklaşık olarak %18-31 oranında ham protein bulunur. Ayrıca tanelerde sindirilebilir protein oranı yaklaşık olarak %77'dir ve bu biyolojik değerini arttıran önemli bir etkidir (Akçin, 1988). Nohudun besin öğeleri 100 gram için; 11,53 g su, 364 kcal, 19,30 g protein, 6,04 g yağ, 60,65 g karbonhidrat, 17,4 g lif, 10,7 g şeker olarak belirtilmiştir. 100 g için mineral içerikleri ise; 105 mg kalsiyum (Ca), 6,24 mg demir (Fe), 115 mg magnezyum (Mg), 366 mg fosfor (P), 875 mg potasyum (K), 24 mg sodyum (Na) ve 3,43 mg çinko (Zn) belirtilmiştir. Yine 100 g için vitamin içeriği; 4 mg vitamin C, 0,477 mg thiamin, 0,212 mg riboflavin, 1,541 mg niacin, 0,535 mg vitamin B-6, 557 µg folat, 3 µg vitamin A, 0,82 mg vitamin E, 9 µg vitamin K, yağ içeriği; 0,626 g doymuş yağ asidi, 1,358 g tekli doymamış yağ asidi, 2,694 g çoklu doymamış yağ asidi olarak belirtilmiştir (Anonymous, 2013).

Yemeklik tane baklagiller dünya genelinde insanlar için önemli bir besin kaynağıdır. Dünyada üçüncü en önemli baklagil olan nohudun tüketim oranı kişi başına 1 kg'dan azdır (FAO, 2009). Türkiye'de ise nohut üretimi 2014 yılı verilerine göre 450.000 ton ile kuru baklagillerde 1. sıradadır (TUİK, 2014). Buna rağmen son 10 yıl içerisinde üretimde kayıplar artarken, verimlilik korunmuştur.(Şekil 1.1 a ve b) Bunun sebebi olarak devlet tarımsal araştırma enstitülerinin her yıl verimi yüksek olan çeşitleri seçmesi gösterilebilir.



Şekil 1.1. TUIK 2014 Kuru baklagiller istatistikleri, a) 2004-2014 yılları arasında nohut üretim tablosu, b) 2004-2014 yılları arasında nohut verim tablosu

Singh (1990) nohut verim ve kalitesindeki azalmanın, bitkinin büyüme ve gelişimi sırasında maruz kaldığı biyotik (*Ascochyta rabiei*, *Fusarium oxysporum*, *Liriomyza cicerina* gibi patojenler) ve abiyotik (düşük ve yüksek sıcaklık ile kuraklık gibi) faktörlerden kaynaklandığını ifade etmiştir. Buna göre nohut üretiminde abiyotik stresler %52, biyotik stresler ise %48'lik etki payına ise sahiptirler. Nohut verimi; mantar hastalıkları (*Ascochyta* yanıklığı (*A. rabiei*)), *Fusarium* solgunluğu (*F. Oxysporum*)), kuraklık, donma, yüksek sıcaklık, böcekler (siyah yaprak biti (*Apis craccivora*)), nematodlar (pod kurdu (*Helicoverpa armigera*)), parazitler (kök çürüklüğü (*Phytophthora spp.*)), virüsler (Stunt virüsü) ve tuzluluk ile azalmaktadır (Singh, 1990, Acharjee ve Sarmah, 2013). Ek olarak, tarla yabancı otu olan *Bromus* türleri ve *Orobanche crenata* kışlık nohut çeşitlerinde büyük hasara sebep olmaktadır (Acharjee ve Sarmah, 2013).

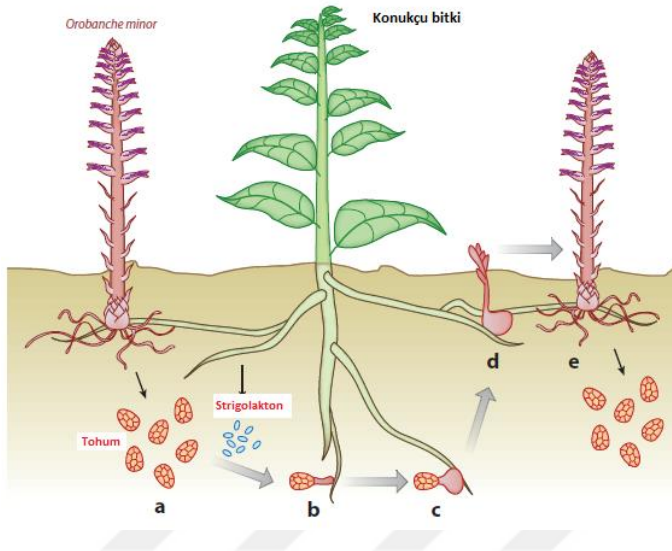
1.2 Canavar Otu Sorunu

Parazit otlar kültür bitkileri arasında yetişen ve onlara zarar veren bitkiler olarak adlandırılır. Bunlardan canavar otu (*Orobanche* spp., *Phelipanche* spp.) önemli ekonomik kayıplara sebep olan bir kök parazitidir (Cardosa ve ark., 2011). Dünyadaki tarım alanlarının yaklaşık 16 milyon ha'ı canavar otu parazitinin riski altındadır. Bilindiği kadarıyla yedi canavar otu türü tarımsal alanlarda verim kaybına sebep olmaktadır. Aşağıda Çizelge 1.1'de bu türler, konukçu familyaları ve bitkileri verilmiştir.

Çizelge 1.1. Canavar otu türleri, konukçu familyaları ve konukçu bitkileri (Parker, 2009; Klein ve Kroschel, 2002; Fernández -Aparicio ve ark., 2008; Rubiales ve ark., 2009; Sauerborn ve ark., 2007; Gauthier, 2012).

Canavar otu türü	Konukçu familyaları	Konukçu bitkileri
<i>Orobanche crenata</i>	<i>Papilionaceae</i> <i>Umbelliferae</i>	Havuç, Bakla, Nohut, Kereviz, Mercimek
<i>Orobanche cumana</i>	<i>Solanaceae</i>	Ayçiçeği
<i>Phelipanche ramosa</i>	<i>Solanaceae</i> <i>Fabaceae</i>	Patates, Tütün, Domates, Kenevir
<i>Phelipanche aegyptiaca</i>	<i>Asteraceae</i> <i>Fabaceae</i> <i>Solanaceae</i> <i>Apiaceae</i> <i>Brassicaceae</i>	Domates, Havuç, Nohut, Burçak, Kavun, Karpuz
<i>Orobanche cernua</i>	<i>Solanaceae</i> <i>Astraceae</i>	Ayçiçeği, Domates, Patlıcan, Patates
<i>Orobanche foetida</i>	<i>Fabaceae</i>	Nohut, Bakla
<i>Orobanche minor</i>	<i>Fabaceae</i>	Yonca

Kök paraziti bitkiler çimlenmek için konukçu ve konukçu olmayan bitkilerin köklerinden toprağa salınan uyarıcı kimyasallara ihtiyaç duyarlar. Çiçekli parazit bitkiler su ve mineral ihtiyaçlarını konukçu bitkilerinden karşılarlar. *Orobanche* türleri de holoparazit olduklarından tüm besin ihtiyacını konukçusundan sağlar (Reizelman-Lucasen, 2003). Ancak bu durum konukçusunun gelişimini yavaşlatarak verim kayıplarına sebep olur (Demirkan, 2005; Aksoy, 2010). Canavar otunun yaşam döngüsü Şekil 1.2’de gösterilmiştir.



Şekil 1.2. Canavar otu yaşam döngüsü (Xie ve ark., 2010).

Canavar otu tohumları çok küçük ve toprak rengindedir. Bu nedenle rüzgar ve çevresel etmenlerle (Dhanaphal ve ark., 1996), bulaşık topraklarda kullanılan aletlerle, sulamayla, çiftlik hayvanları ve bitki materyalleriyle çok çabuk yayılabilirler (Demirkan, 2005). Her ne kadar belli canavar otu ırklarına karşı sadece ayçiçeğinde dayanıklılık geliştirilmişse de bu geçici bir durumdur. Çünkü canavar otları yeniden dayanıklı ırklar oluşturarak bu savunmayı geçersiz kılar (Demirbaş ve Acar, 2008). Bu nedendir ki bugüne kadar canavar otlarına karşı etkili bir savunma yöntemi geliştirilememiştir.

Konukçu olarak nohudu kullanan canavar otu türü *O. crenata*, Akdeniz ve Batı Asya bölgeleri tarımında baklagil (fasulye, fiğ, bezelye ve çeşitli yem baklagilleri) ekiminde önemli bir engel oluşturmaktadır. Nohut için bu bölgelerde ilkbahar döneminde aralıklı ekim yapıldığında enfeksiyon riski çok önemli bir kısıtlama olmamaktadır (Arjona-Berral ve ark., 1987; Rubiales ve ark., 2003). Yine de *O. crenata* sık nohut ekimi yapıldığında bir problem haline gelebilir (Şekil 1.3) (ICARDA, 1989; Linke ve ark., 1991). *O. crenata*'ya karşı savunma yöntemleri diğer türlerle aynı seviyelerde olsa da son çalışmalarla nohut

genleri kullanılarak direnç sağlanabileceği gösterilmiştir (Rubiales ve ark., 2003). Yine de yabani ve kk nht türlerinde gen kaynaklarının yeteri kadar bilinmemesi direnç varlığının yeterince anlaşılmamasına neden olmaktadır (Rubiales ve ark., 2004).

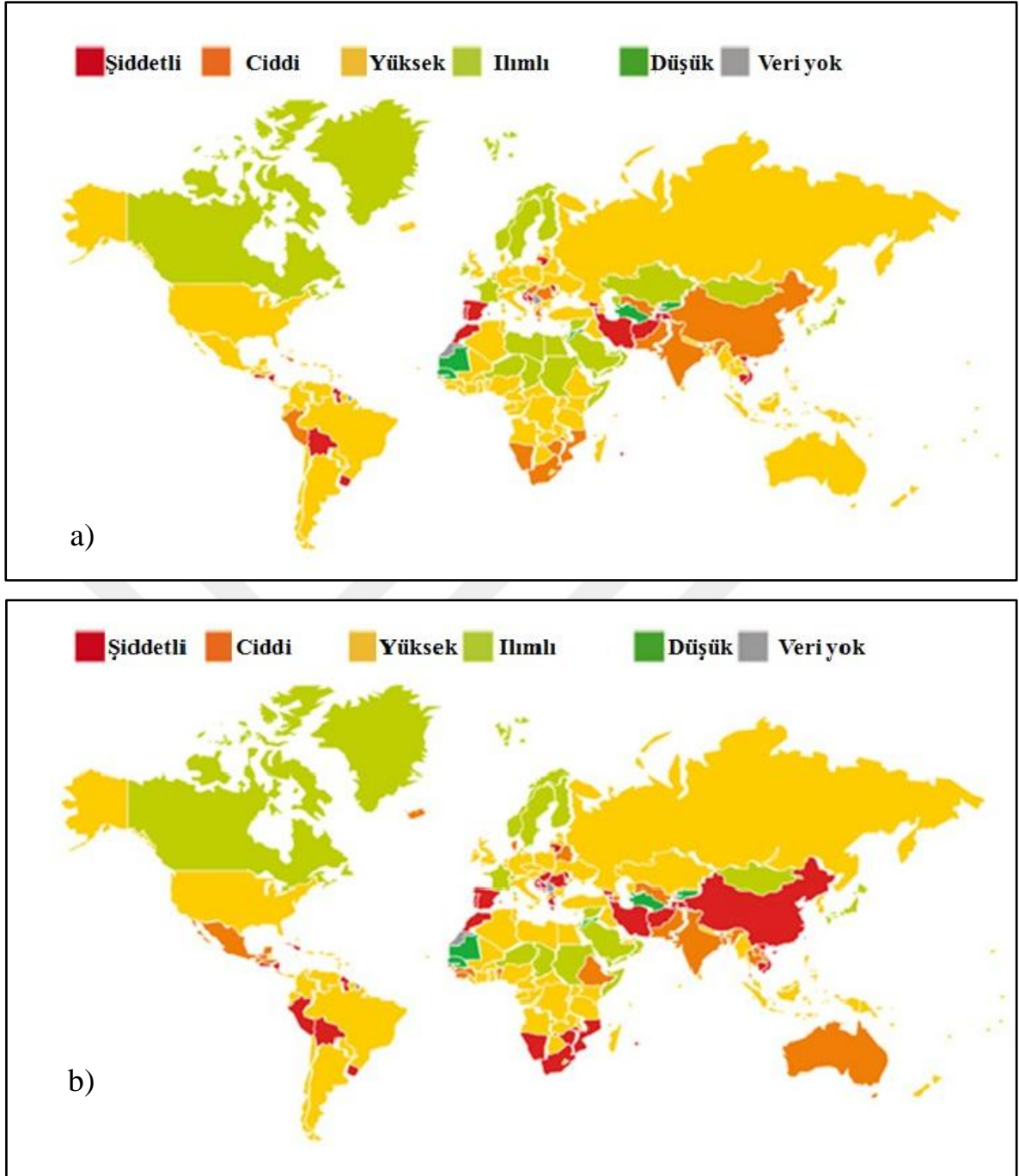


şekil 1.3. *Orobanche crenata* enfekte olmuş nht bitkisi (Rubiales ve Fernandez-Aparicio, 2012)

1.3 Kuraklık Stresi

Kuraklık genel anlamda meteorolojik bir olgu olmasına rağmen, toprağın su içeriği ile bitki gelişiminde gözle görülebilen bir azalmaya sebep olacak kadar uzun süren yağışsız dönem için kullanılan bir terimdir. Yağışsız dönemin kuraklık oluşturma süreci, toprağın su tutma kapasitesi ve bitkiler tarafından gerçekleştirilen transpirasyonun hızına bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Kadıoğlu, 2007). Kuraklık, tüm tarım alanlarını ve tarımsal ürünleri olumsuz etkileyen en önemli stres faktörlerinden biridir (Kalefetoğlu ve Ekmekçi, 2005).

Kuraklık dünyanın bir çok bölgesinde en önemli abiyotik stres olarak görülmektedir (Malhotra ve ark., 2004) ve serin iklim baklagillerinde önemli verim kayıplarına sebep olmaktadır (Saxena ve ark., 1993). Kuraklık stresi dünyadaki kullanılabilir tarım alanlarında etkili olan stresler arasında %26 ile en büyük paya sahiptir (Kadıoğlu, 2011). FAO'nun 2010 yılında verdiği verilere göre ilerideki 20 yıl içerisinde birçok bölgede kuraklığın artacağını belirtmiştir (Şekil 1.4 a ve b).



Şekil 1.4. a) 2010 yılında ekilebilir alanlarda kuraklık dereceleri, b) 2030 yılında ekilebilir alanlarda kuraklık dereceleri (FAO, 2010).

Singh (1997), Türkiye’de kuraklıktan en fazla etkilenen bölgelerin başında Orta Anadolu Bölgesi’nin geldiğini söylemiştir. Ülkedeki nohut üretiminin %50’si bu bölgede yapılmaktadır. Nohut bitkisi için kuraklık önemli bir abiyotik streştir ve bu strese dayanıklı bir varyete geliştirilemediğini belirtmiştir.

Kuraklık nohut bitkisi için hastalıklardan sonra ikinci sınırlayıcı faktördür (Singh, 1993; Singh ve ark., 1994) ve 2013 yılında bu sınırlayıcılığın devam ettiği rapor edilmiştir (Acharjee ve Sarmah, 2013).

Kuraklık stresi bitkileri mekanik, metabolik ve oksidatif olarak etkiler. Bunlardan oksidatif etki bitkilerdeki serbest radikallerin, Reaktif Oksijen Türleri (ROT) oluşumunu içerir. Başlıca bilinen ROTleri; Singlet (Tekil) oksijen (1O_2), Hidrojen Peroksit (H_2O_2), Hidroksil ($HO\cdot$) ve Süperoksit ($O_2^{\cdot-}$)'dir (Gill ve Tuteja, 2010).

Canlılar için gerekli olan maddelerin oksidasyonuna neden olabilecek moleküllerin etkilerini önleyen veya geciktirebilen antioksidanlar Çizelge 1.2'de verilmiştir. Oksidanlar arasındaki dengesizlik aşırı derecede ROT'nin üretilmesine ve oksidatif hasara neden olur. Bu durum oksidatif stres olarak belirtilir (Noctor ve Foyer, 1998). Bitki dokuları stres koşullarında hücrelerini ROT etkilerinden korumak için bazı enzimler ve düşük moleküler ağırlıklı antioksidanlar içerirler. Antioksidan enzimler koordineli bir şekilde serbest oksijen radikallerini temizler veya onları daha az toksik olan bileşiklere metabolize eder (Demidchik, 2015).

Çizelge 1.2. Antioksidan sınıflandırma tablosu (Moller ve ark., 2007; Sharma ve ark., 2012)

Antioksidan Enzimler	Düşük Moleküler Ağırlıklı Antioksidanlar
Süperoksit dismutaz (SOD)	Glutasyon
Katalaz (CAT)	Askorbat (APX)
Glutasyon redüktaz (GR)	Karotenoid
Peroksidazlar (POX)	Tokoferoller

BÖLÜM 2

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Nohut tarımı, genellikle kurak ve yağışın olmadığı dönemde yapıldığından, kuraklık onun verimini ve gelişimini olumsuz etkiler (Gürbüz ve ark., 2008). Gerçekte bitki büyümesi kuraklığın şiddetine bağlı olarak aynı türe ait çeşitler arasında bile farka yol açar ve bunlar dayanıklı / duyarlı olarak nitelendirilebilirler (Rizza ve ark., 2004). Yoğun yağmurların azalması kuraklığı tetikler ve büyüme dönemindeki bitkilerin ürün verimini kısıtlar (Vadez ve ark., 2011).

Nohut, kuraklıktan kaçmak veya tolere etmek için farklı fizyolojik ve biyokimyasal yanıtlara sahiptir. Bunlar; terminal çiçeklenme (Singh, 1990), stoma iletkenliği, terleme ve verimde azalma (Mahfakheri ve ark., 2010) ile antioksidan savunma sistemi yanıtlarından oluşmaktadır. Antioksidan savunma sistemi ile ilgili çalışmalar, kuraklık stresinden etkilenen nohut bitkilerinde SOD, CAT ve GPX aktivitelerinin arttığını rapor ederken (Nayar ve ark., 2013), erken kuraklık evresinde SOD, POX, CAT ve APX aktiviteleri artsa da zarar oluştuğunu ifade etmektedirler (Patel ve Hemantaranjan, 2012). Dahası, antioksidan savunma sisteminin işleyişi ile ilgili olarak, 100 mM NaCl uygulanmış *Arabidopsis thaliana* bitkilerinde *Phelipanche ramosa* parazitinin neden olduğu oksidatif zararın azaltmasında; SOD, POX ve GR aktivitelerindeki artışlar gösterilmiştir (Demirbaş ve ark., 2013).

Sadece kuraklığa toleransı değerlendirilen 482 nohut çeşidinden 18'inin veriminin diğerlerine kıyasla %10 daha fazla olduğu, hassas çeşitlerde kök kuru ağırlığı ve kök derinliğinin azaldığı, yaprak alanının da küçüldüğü gösterilmiştir (Anbessa ve Bejiga, 2002). Diğer yandan 11 farklı nohut çeşidinin kullanıldığı bir başka araştırmada, kuraklığa dayanıklı çeşitlerin kısmi nem, askorbik asit ve prolin içeriklerinin yüksek, membran geçirgenliği ve yaprak su tutma kapasitesinin düşük olduğu belirlenmiştir (Güneş ve ark., 2008). Ayrıca tuz stresi gibi ozmotik stres faktörlerinin de nohut çeşitlerinde gelişimi gerilettiği ve biyokütleyle kısıtladığı bilinmektedir (Karaküllükçü ve Adak, 2008).

Bu tez çalışmasında kullanılan nohut çeşitlerinden Gökçe'nin PEG 6000 kaynaklı ozmotik streste iyi bir çimlenmeye sahip olduğu (Gürbüz ve ark., 2009), fide boyu, gövde ve kök kuru ağırlığında yüksek değerlere sahip olduğu (Kaya ve Şanlı, 2008), sulamaya iyi tepki gösterdiği (Kayan, 2012) bilinmektedir. Er-99 çeşidinin ise kurak ve sulu koşullarda Van ili koşullarında tavsiye edilmediği (Toğay ve ark., 2005), ancak kış dayanıklılığında Gökçe ile aynı dane verimine sahip olduğu gösterilmiştir (Doğan, 2014).

Orobanche crenata enfeksiyonunun 1991 yılında Fas, Portekiz, İspanya ve Suriye’de ekilebilir alanların %50-70’e yakın bölümünde yaygın olduğu bilinmekteydi. Hatta, Türkiye’deki zarar %30-70 aralığındaydı (Parker, 2009). Nohut, bezelye ve mercimek canavar otu enfeksiyonundan en çok etkilenen legümen bitkilerdir. Canavar otu enfeksiyonuna dayanıklılıkta örneğin POX aktivitesinin, bezelyenin dayanıklı türünde duyarlı türüne kıyasla daha yüksek olduğu ifade edilirken (Perez de Luque ve ark., 2005), nohut bitkisindeki dayanıklılık ise kök enfeksiyon bölgesinde koyulaşma, tüberküllerin kuruması veya az gelişmesi gözlemlerine dayalı olarak ifade edilmektedir (Rubiales ve ark., 2003). Diğer yandan, canavar otu kaynaklı su kıtlığının su stresiyle ilişkili genler temelinde önemli olduğu da bilinmektedir (Castillejo ve ark., 2004).

Acharjee ve Sarmah (2013), günümüze kadar kuraklık ve tuzluluk stresine karşı yıllar boyu süren çalışmalarda nohut bitkisi için bir direnç mekanizması belirlenemediğini ifade etmişlerdir. Araştırmacılar aynı çalışmada, yaklaşık %50 verim kaybına sebep olan kuraklık stresine ek olarak, nohut bitkisi için yine büyük verim kayıplarına sebep olan canavar otu parazitine karşı da bilinen bir koruma yöntemi olmadığını vurgulamışlardır.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOT

3.1. Bitki Materyali

Yapılan bu çalışmada Türkiye’de yetiştirilen nohut varyeteleri (Şekil 3.1) (*Cicer arietinum* cv. ER-99 ve *Cicer arietinum* cv. Gökçe) kullanılmıştır. Bu varyeteler *Orobanche crenata* paraziti ve kuraklık stresine maruz bırakılarak bu streslere karşı geliştirmiş oldukları olası savunma mekanizmaları incelenmiştir. Literatür çalışmalarında Gökçe varyetesinin kuraklığa dayanıklı olduğuyla ilgili kesin bilgiler bulunmakla birlikte, Er-99 varyetesinin kuraklık direnciyle ilgili kesin veriler bulunmamaktadır. Er-99 varyetesinin tohumları Geçit Kuşığı Tarımsal Araştırma Enstitüsünden, Gökçe varyetesinin tohumları Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsünden, mercimek bitkisinden izole edilen *Orobanche crenata* tohumları ise Adana Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü’nden temin edilmiş ve kullanılana kadar uygun şartlarda saklanmıştır.



Şekil 3.1. Laboratuvar ortamında yetiştirilen nohut çeşitleri

3.2. Yöntem

3.2.1. Bitkilerin Su Kültüründe Yetiştirilmesi ve *O. crenata* ve Kuraklık

Streslerinin Uygulanması

Araştırmadaki bitki yetiştirme düzeneği Labrousse ve ark. (2004)'a göre yapılmıştır. Buna düzeneğe göre ilk aşama nohut tohumlarının sterilizasyonudur. Nohut tohumları %20'lik çamaşır suyunda 20 dakika bekletilip daha sonra 3 kez olmak üzere 5 dakikalık süreyle steril saf su ile yıkanmıştır. Yüzey sterilizasyonu işleminden sonra nohut tohumları 3/1 oranındaki perlit/steril toprak karışımına ekilmiştir. Bitkiler 22±2°C sıcaklık, 16/8 saatlik fotoperiyot ve %40-55 neme sahip iklim odasına yerleştirildi.

Nohut bitkilerinin yetiştirilmesinde düzenek 4 grup üzerine kurulmuştur.

K :Hiçbir uygulama yapılmayan kontrol bitkileri

CO :Sadece canavar otu enfeksiyonu uygulanmış bitkiler

P :Sadece kuraklık stresi uygulanmış bitkiler

PCO :Hem canavar otu enfeksiyonu hem de kuraklık stresi uygulanmış bitkiler

Nohut tohumları ekildikten sonra 3. günde çimlenme gözlenmeye başlamıştır. Su kültürüne aktarma gününde çimlenme %87'ye ulaşmıştır. Bitkiler 1 hafta boyunca ilk 3 gün %50'lik, sonraki günler %100'lük Hoagland Besin Çözeltilisi ile sulanmıştır.

O. crenata tohumları yüzey sterilizasyonu % 70' lik etanol çözeltisinde 2 dakika, % 5' lik çamaşır suyunda 10 dakika (2 kez) ve 4 kez steril saf suyla yıkama yapılarak gerçekleştirilmiştir. Tohumlarının çimlenebilmesi için daha önceden nemlendirilmiş filtre kağıdı içeren steril petri kaplarına alınmış ve 22°C/18°C (gündüz/gece) %70 neme ayarlanmış büyüme kabiniinde alüminyum folyo ile kaplanmış bir şekilde bir hafta bırakılmıştır. Süre sonunda çimlenme uyarıcı olarak kullanılan 1ppm'lik 1 ml GR-24 petri kaplarına ilave edilmiştir.

Yetiştirilen fideler 6. günlerinde steril saf su ile yıkanarak köklerindeki perlit ve toprak kalıntıları temizlenmiştir. 1 gece steril saf su dolu kaplarda bırakılmıştır. Kökleri iyice temizlenen fideler saf su ile yıkandıktan sonra plastik kare petri kaplarına (120x120x17 mm, Greiner) aktarılmıştır. 7. günlerinde aktarılan fideler 14 günlük fide haline gelene kadar su kültüründe alışmaya bırakılmıştır. Kuraklık stresi PEG6000 ile 11. günden itibaren %1, %3, %7 ve 14. Günde %10'luk çözeltiyle alıştırma yaparak uygulanmıştır. 14. günde fidelere hem canavar otu enfeksiyonu hem de kuraklık stresi gruplara göre uygulanmıştır. Daha sonra 0., 4., 7. ve 12. günlerde yaprak ve kök örneklemeleri yapılmıştır.

3.2.2. Bitki Analiz Yöntemleri

3.2.2.1. Büyüme Parametrelerinin Belirlenmesi

3.2.2.1.1. Gövde Uzunluğu

Bitkiler hasat edilirken parçalama yapılmadan önce cetvel yardımı ile gövde uzunlukları ölçülür.

3.2.2.1.2 Kök Uzunluğu

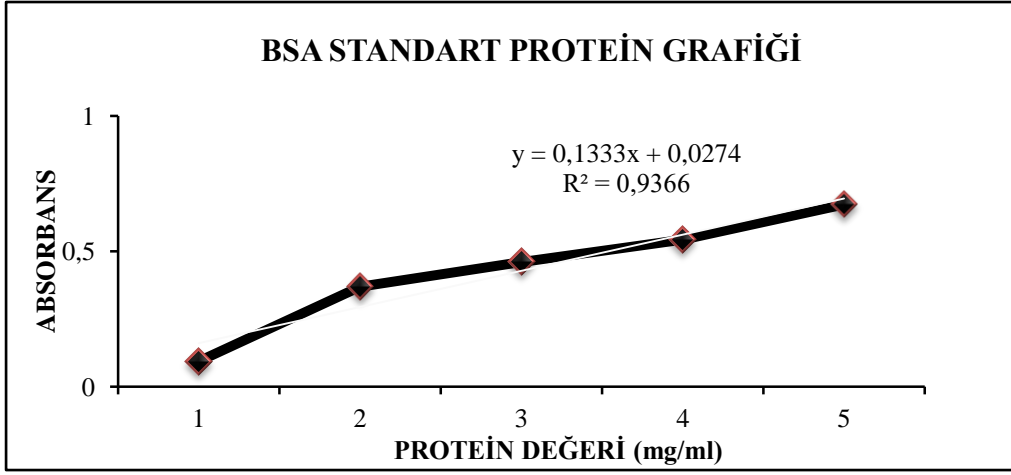
Bitkiler hasat edilirken parçalama yapılmadan önce cetvel yardımı ile kök uzunlukları ölçülür.

3.2.2.1.3. Pigment İçeriğinin Belirlenmesi

Klorofil a, b ve karotenoid içerikleri Arnon (1949)'un yöntemine göre yapılmıştır. Bu yönteme göre bitkilerin yapraklarından alınan 0,1 g'lık materyal, % 80'lik aseton içerisinde homojenize edilerek örnekler spektrofotometrik okumalar aracılığıyla uygun olarak hesaplanır.

3.2.2.2. Toplam Protein Analizi

Nohut kök ve yapraklarının toplam protein içeriği Bradford (1976)'a göre hesaplanmıştır. Buna göre stok çözelti Bovine Serum Albumin (BSA)' den hazırlanır. Spektrofotometrede 595 nm' de köre karşı örnekler okunur. Okunan absorbans değerlerinden protein standart grafiği oluşturulur. Örneklere ait toplam protein miktarı, yapılan spektrofotometre okumalarının sonuçları yardımıyla oluşturulan standart grafik üzerinden hesaplanır.



Şekil 3.2. Analizlerde kullanılan protein standart grafiği ve denklemi

3.2.2.3. Lipid Peroksidasyon Miktarının Belirlenmesi

Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit seviyesinin ölçülmesi ile lipid peroksidasyon derecesi belirlenmektedir (Madhava ve Sresty, 2000). Her gruptan 0,1'er g yaş yaprak ve kök örneği, trikloroasetik asit ile homojenize edilir. Santrifüjden sonra süpernatanta TCA ve TBA (tiobarbitürik asit) içeren reaksiyon karışımı eklenir. Örnekler daha sonra 95 °C de bir saat su banyosunda bekletilir. Su banyosunun ardından karışım buz banyosuna konulur. Soğuk şokunun ardından örnekler 10000 rpm, +4°C, 15 dk süreyle santrifüjlenir. Oluşan süpernatantın 532 nm ve 600 nm' deki absorbans değerleri alınır. MDA konsantrasyonunu, ekstinsiyon katsayısından ($\epsilon=155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) yararlanılarak hesaplanır ve $\text{nmol g h yaş ağırlık}^{-1}$ şeklinde ifade edilir.

3.2.2.4. Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Saptanması

3.2.2.4.1. Süperoksit Dismütaz (SOD; E.C. 1.15.1.1) Aktivitesinin Belirlenmesi

Süperoksit dismutaz aktivitesinin belirlenmesi Beauchamp ve Fridovich (1971) ve Giannopolities ve Ries, (1977)' e göre gerçekleştirilmiştir. Buna göre özütte meydana gelen aktivite, 10 dakikalık ışık reaksiyonu sonunda ortaya çıkan renk değişiminin spektrofotometrede 560 nm dalga boyundaki ölçümler yardımıyla yapılmıştır.

3.2.2.4.2. Peroksidaz (POX; E.C. 1.11.1.7) Aktivitesinin Belirlenmesi

Peroksidaz aktivitesi Kanner ve Kinsella (1983)'ya göre belirlenmiştir. Buna göre, kinetik reaksiyonunun analizi için spektrofotometre'de 300 nm'de 120 sn. süreyle ölçüm yapılır. Bu süre içerisinde her 10 saniyede bir alınan absorbans değerleri arasında en büyük farkı gösteren aralık belirlenir. Veriler arasında elde edilen en büyük fark mg protein düzeyine çevrilerek $\Delta OD/300nm/dk/mg$ protein birimi olarak verilir.

3.2.2.4.3. Katalaz (CAT; E.C 1.11.1.6) Aktivitesinin Belirlenmesi

Katalaz enziminin aktivitesi, Bergmeyer, (1970) metoduna göre hesaplanmıştır. Katalaz miktarındaki azalma 180 saniye süre ile 240 nm'deki absorbans azalmasından yola çıkılarak hesaplanılır. Veriler arasında elde edilen en büyük fark mg protein düzeyine çevrilerek $\Delta OD/240nm/dk/mg$ protein birimi olarak verilir.

3.2.2.4.4. Askorbat Peroksidaz (APX; EC 1.11.1.11) Aktivitesinin Belirlenmesi

APX enziminin aktivitesi, Nakano ve Asada (1981)' nın yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır. Aktivitenin hesaplanmasında, 290 nm' de askorbatın oksitlenmesiyle oluşan absorbans değeri ve ekstinksiyon katsayısı ($2,8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) kullanılır. Reaksiyon karışımında; 0,05 M sodyum fosfat tamponu (pH 7,0), 0,5 mM askorbat, 0,1 mM EDTANa₂, 1,2 mM H₂O₂ bulunur. Özütün reaksiyon karışımının ilavesi ile askorbat oksidasyonu başlatılır ve 3 dk boyunca reaksiyon izlenir. Okside olan askorbat miktarı, ekstinksiyon katsayısından hesaplanır. Buna göre 1 enzim ünitesi, dakikada okside olan 1 $\mu\text{mol ml}^{-1}$ askorbat miktarıdır. Spesifik enzim aktivitesi, enzim ünitesi mg protein⁻¹ olarak belirtilir.

3.2.2.4.5. Glutasyon Redüktaz (GR; EC 1.6.4.2) Aktivitesinin Belirlenmesi

GR aktivitesi, Foyer ve Halliwell (1976)'in yöntemine uygun olarak hesaplanmıştır. NADPH varlığında okside glutasyon miktarındaki azalma 180 saniye süre ile 340 nm'deki absorbans azalmasından yola çıkılarak hesaplanır. 1 enzim ünitesi, dakikada okside olan glutasyon ($\mu\text{mol ml}^{-1}$) miktarıdır. Spesifik enzim aktivitesi, enzim ünitesi $\text{mg protein}^{-1} \text{ g}$ yaş ağırlık $^{-1}$ olarak belirtilir.

Tüm enzim analizleri Thermo Genesis 10S UV spektrofotometresiyle yapılmıştır.

3.2.2.5. İstatiksel Analiz

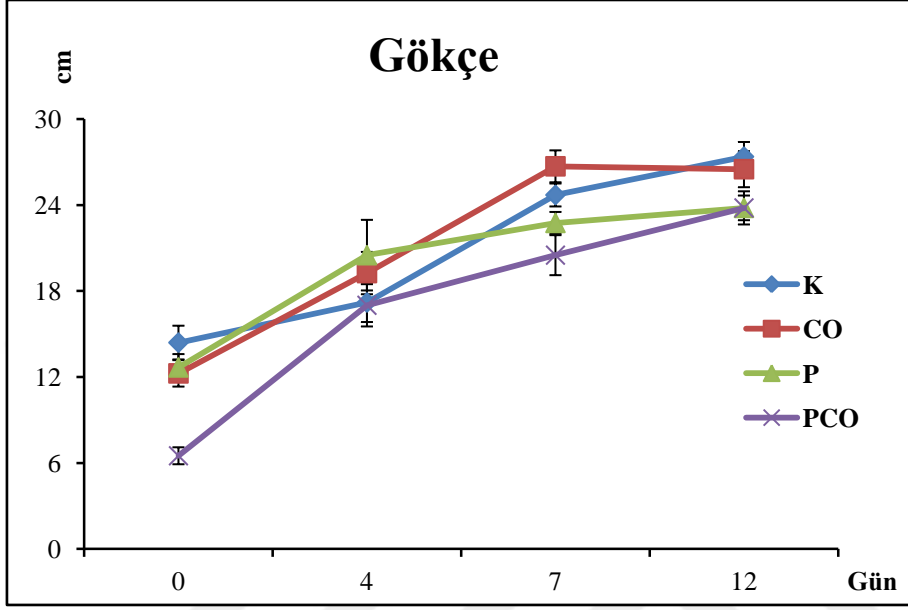
Tüm biyokimyasal ve fizyolojik veriler tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) ile incelenmiş ve ortalamalar arasındaki farklılıklar Tukey HSD testi ile karşılaştırılmıştır. $P < 0,05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edilmiştir. İstatistiksel analizler sırasında SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, versiyon 21.0) bilgisayar programı kullanılmıştır. Grafiklerde sunulan sonuçlar ortalama \pm standart hatayı, barlar üzerindeki farklı harfler ise istatistiksel farkı ifade etmektedir.

BÖLÜM 4

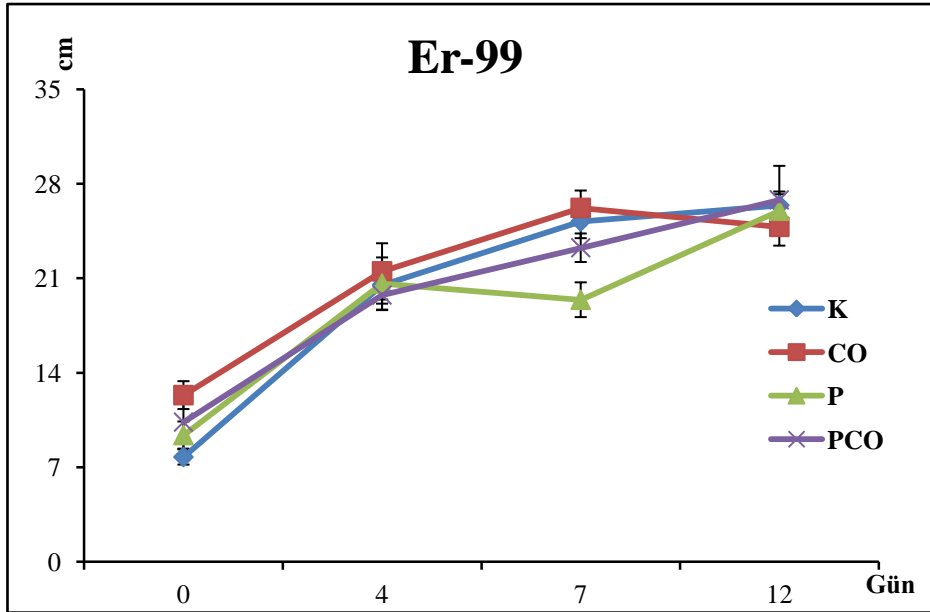
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Büyüme Parametreleri

4.1.1. Gövde Uzunlukları

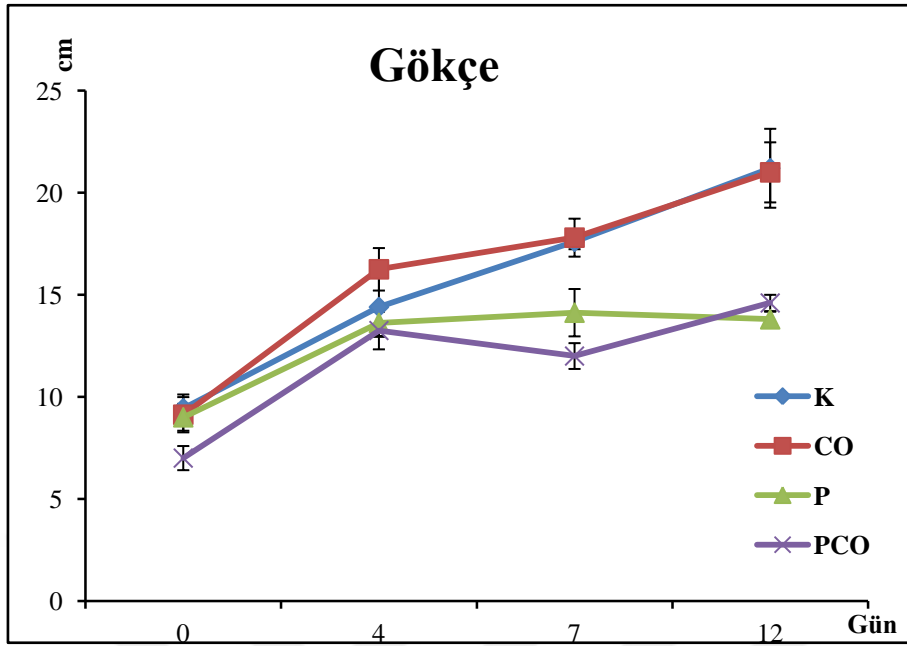


Şekil 4.1. Gökçe çeşidinin günlere göre gövde uzunlukları (cm) (K: Kontrol, CO: Canavar otu, P: Kuraklık, PCO: Canavar otu+kuraklık).

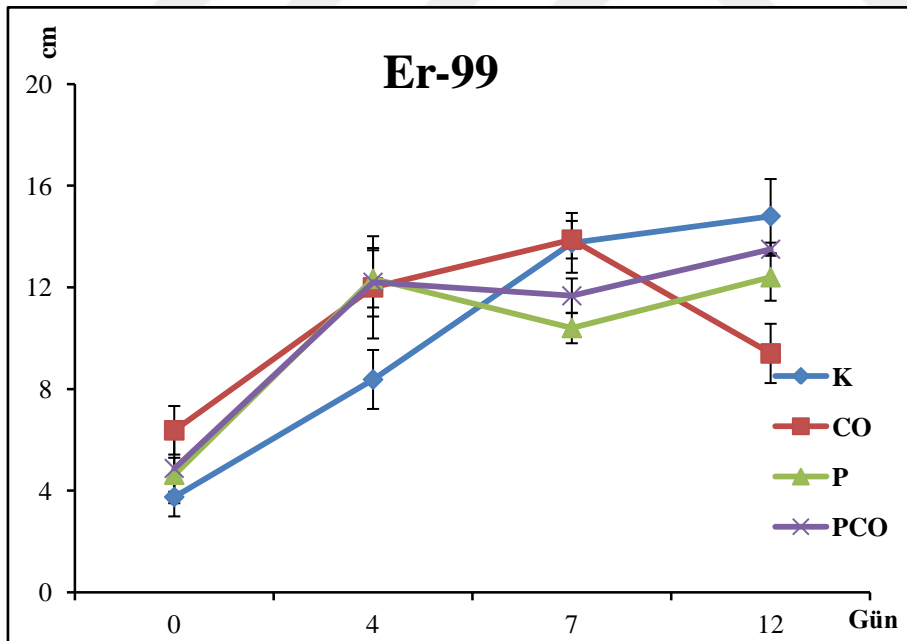


Şekil 4.2. Er-99 çeşidinin günlere göre gövde uzunlukları (cm) (K: Kontrol, CO: Canavar otu, P: Kuraklık, PCO: Canavar otu+kuraklık).

4.1.2. Kök Uzunlukları



Şekil 4.3. Gökçe çeşidinin günlere göre kök uzunlukları (cm) (K: Kontrol, CO: Canavar otu, P: Kuraklık, PCO: Canavar otu+kuraklık).



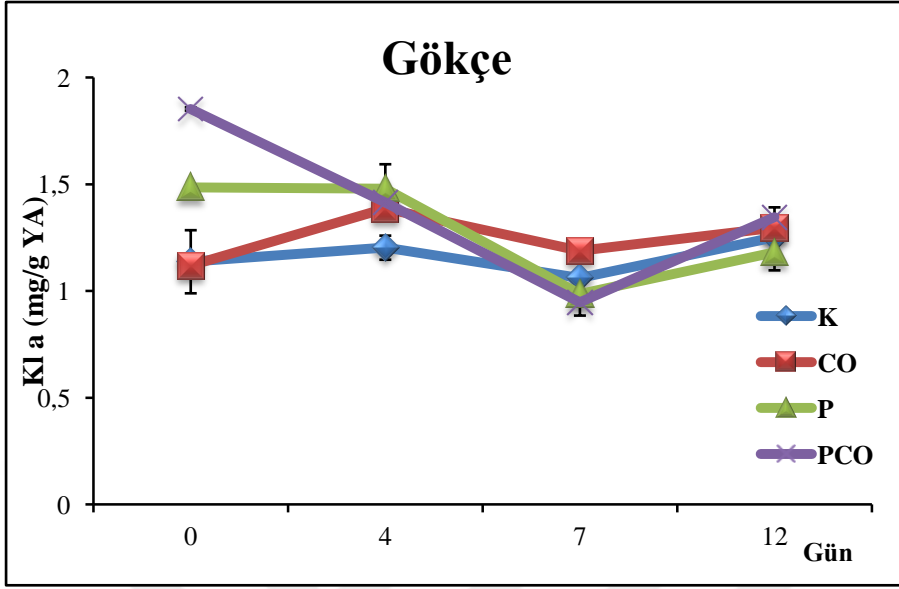
Şekil 4.4. Er-99 çeşidinin günlere göre kök uzunlukları (cm) (K: Kontrol, CO: Canavar otu, P: Kuraklık, PCO: Canavar otu+kuraklık).

Genel olarak bitkilerin uzunluğu kök ve gövde uzunlukları beraber llerek bitki boyu olarak verilmektedir. Buna göre bu çalışmada kullanılan Gökçe ve Er-99 eşitlerinin Tarla Bitkileri Araştırma Merkezinin tohum tescil belgesine göre bitki boyları 30-35 cm olarak belirtilmiştir. Bitki boyu olarak belirlenen parametre tüm bitkinin hasat edilirken bir cetvel ile llmesiyle belirlenir. Bitki boyunun stres uygulamaları ile yavaşladığı birçok çalışmada gösterilmiştir. Kök ve gövde büyümesi kuraklık stresinde yavaşlar (Campbell ve ark., 2008)

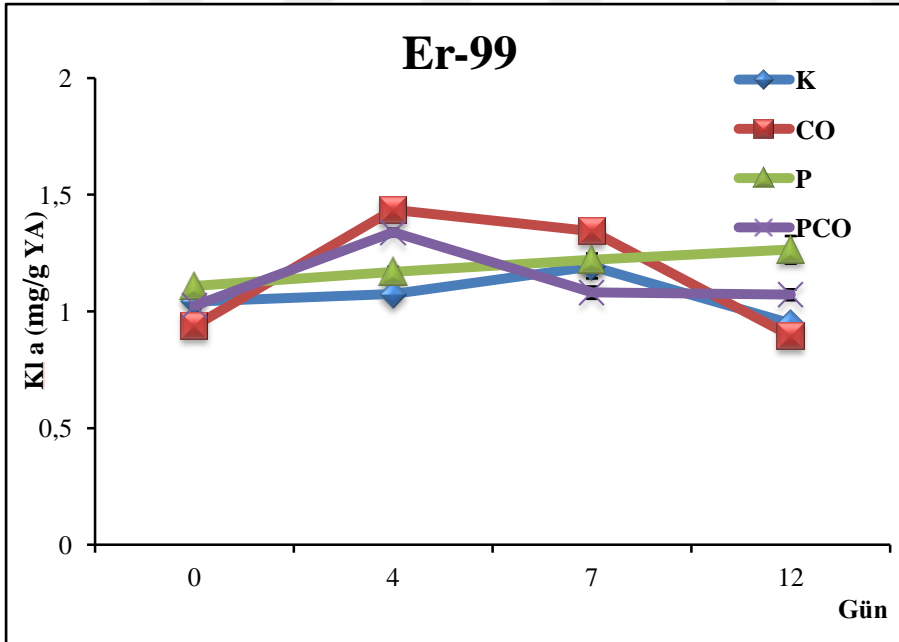
Bu çalışmada gövde ve kök uzunlukları arasındaki farklar Şekil 4.1- 4.4'de gösterilmiştir. Gövde uzunluklarında iki çeşit içinde gruplar arası istatistiksel bir fark gözlenmemektedir ama yine de özellikle Canavar otu gruplarında yapışmanın gözlendiği günde gövde büyümesinin yavaşladığı gözlenmiştir. Kök uzunlukları açısından incelendiğinde ise Gökçe eşidinde gruplar arası belirgin bir fark bulunmamaktadır. Er-99 eşidinde kök büyümesinin canavarotu stresıyla yavaşladığı, çift stres uygulamasıyla ise kök uzunluğunu koruduğu gözlenmiştir.

4.1.3. Pigment İçeriği

4.1.3.1 Klorofil a

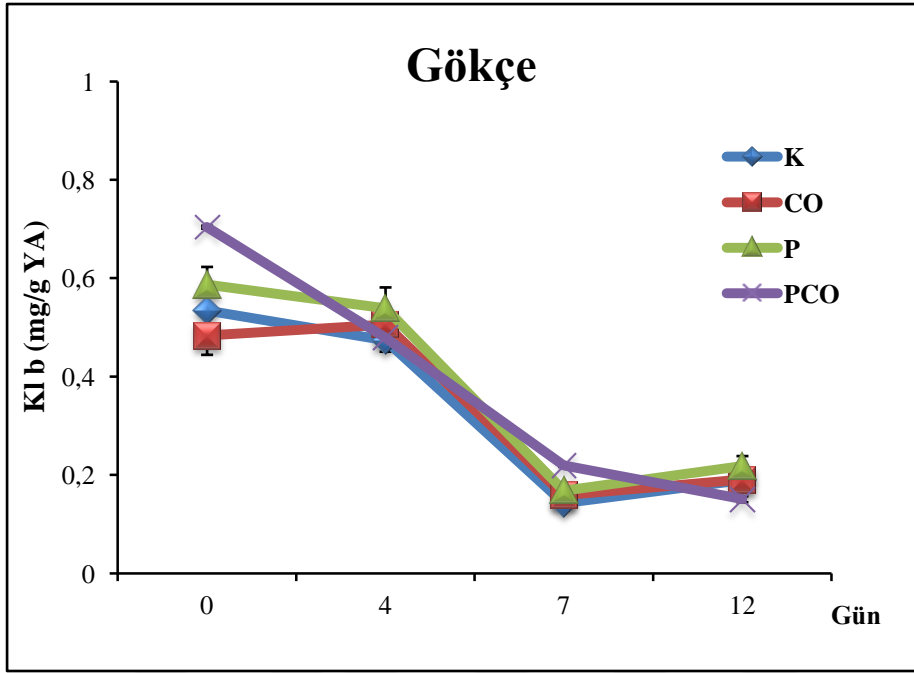


Şekil 4.5. Gökçe çeşidinde gruplar ve günler arasındaki Klorofil a içerikleri (mg/g YA) (K: Kontrol, CO: Canavar otu, P: Kuraklık, PCO: Canavar otu+kuraklık).

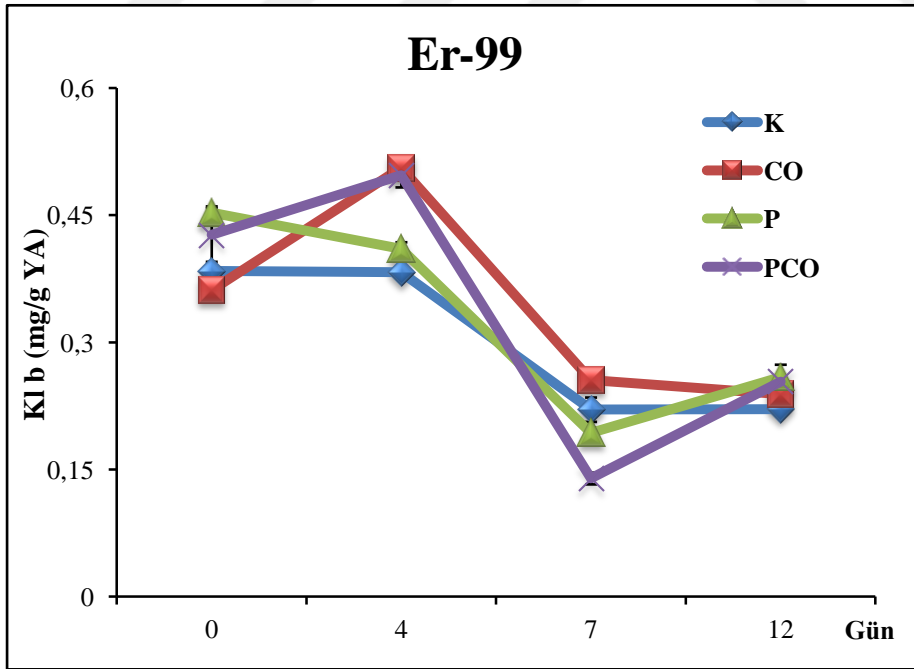


Şekil 4.6. Er-99 çeşidinde gruplar ve günler arasındaki Klorofil a içerikleri (mg/g YA) (K: Kontrol, CO: Canavar otu, P: Kuraklık, PCO: Canavar otu+kuraklık).

4.1.3.2 Klorofil b



Şekil 4.7. Gökçe çeşidinde gruplar ve günler arasındaki Klorofil b içerikleri (mg/g YA) (K: Kontrol, CO: Canavar otu, P: Kuraklık, PCO: Canavar otu+kuraklık).



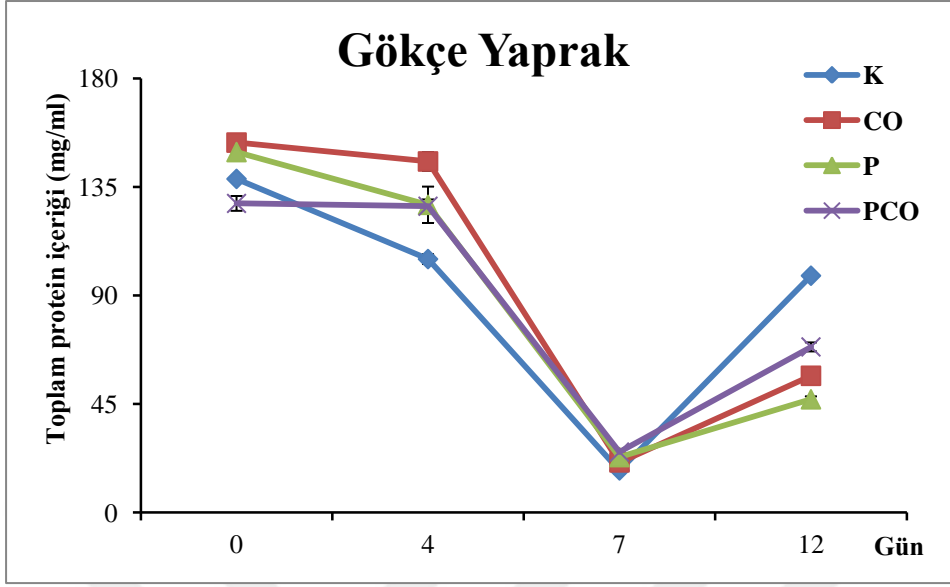
Şekil 4.8. Er-99 çeşidinde gruplar ve günler arasındaki Klorofil b içerikleri (mg/g YA) (K: Kontrol, CO: Canavar otu, P: Kuraklık, PCO: Canavar otu+kuraklık).

Bitkilerin pigment içerikleri stres uygulamalarıyla değişmektedir. Canavar otu stresi bitkide klorofil içeriğinin azalmasına sebep olur (Mauromicale ve ark., 2008). Nohut bitkisine uygulanan kuraklık stresi sonucunda klorofil içeriğinin azaldığı belirlenmiştir (Sağlam ve ark., 2014; Mafakheri ve ark., 2011).

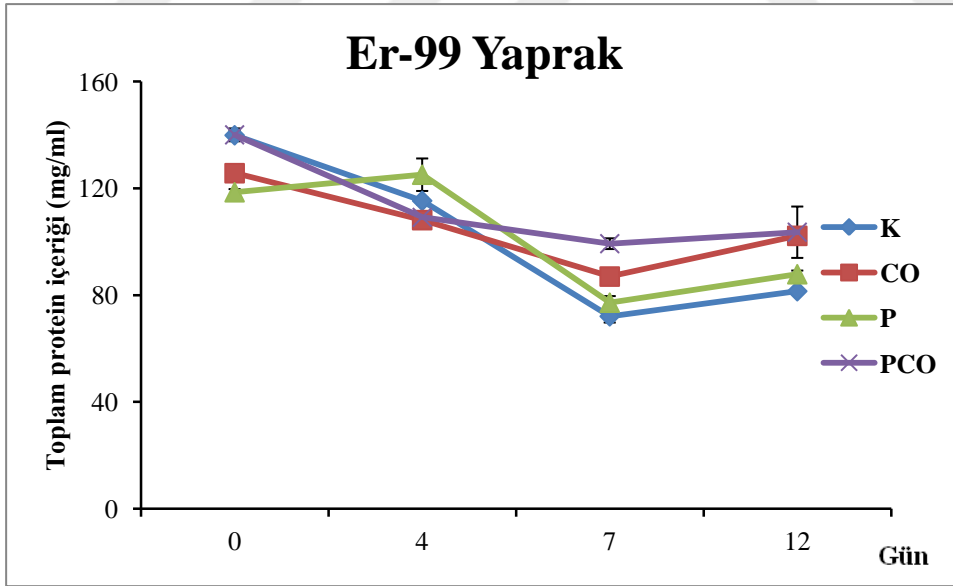
Bu çalışmada Gökçe ve Er-99 çeşitlerinde gerçekleştirilen stres uygulamaları Klorofil-a miktarlarında saptanan değişimler Şekil 4.5 ve 4.6'da gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre Gökçe çeşidinde tüm stres gruplarında (CO, P ve PCO) 7. günde en düşük Kl-a miktarı gözlenmiştir. 7. günde tüm gruplar arasında istatistiksel bir fark bulunmamıştır. Er-99 çeşidinde ise stres süresi uzadıkça CO ve PCO gruplarında istatistiksel bir farkla azalma belirlenmişken, P grubunda günler arasında bir farklılık gözlenmemiştir.

Çalışmadaki Klorofil-b miktarları Şekil 4.7 ve 4.8'de gösterilmiştir. Gökçe ve Er-99 çeşitleri için tüm gruplarda en düşük Kl-b miktarı 7. günde gözlenmiştir. Gökçe için istatistiksel olarak gruplar arasında önemli bir fark bulunmamıştır. Ama Er-99 için PCO grubu ile diğer gruplar arasında bir fark görülmüştür.

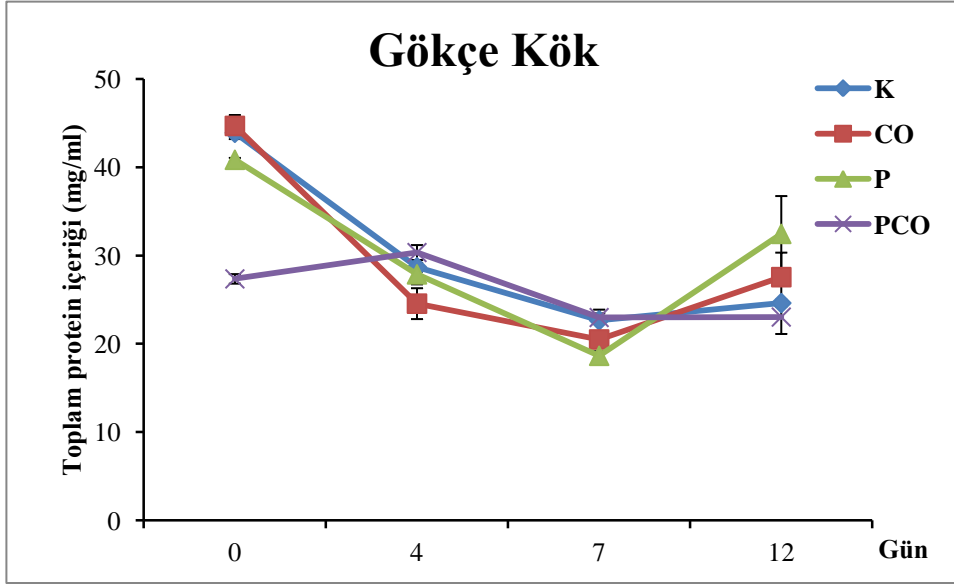
4.2. Toplam Protein İçeriği



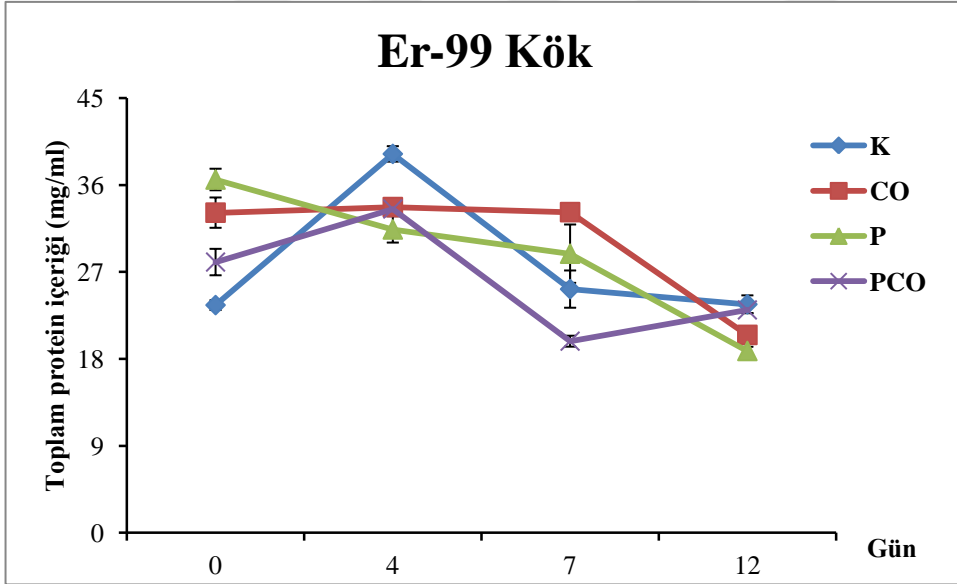
Şekil 4.9. Gökçe çeşidi yaprak dokusunda gruplar ve günler arasındaki toplam protein içerikleri (mg/ml) (K: Kontrol, CO: Canavar otu, P: Kuraklık, PCO: Canavar otu+kuraklık).



Şekil 4.10. Er-99 çeşidi yaprak dokusunda gruplar ve günler arasındaki toplam protein içerikleri (mg/ml) (K: Kontrol, CO: Canavar otu, P: Kuraklık, PCO: Canavar otu+kuraklık).



Şekil 4.11. Gökçe çeşidi kök dokusunda gruplar ve günler arasındaki toplam protein içerikleri (mg/ml) (K: Kontrol, CO: Canavar otu, P: Kuraklık, PCO: Canavar otu+kuraklık).



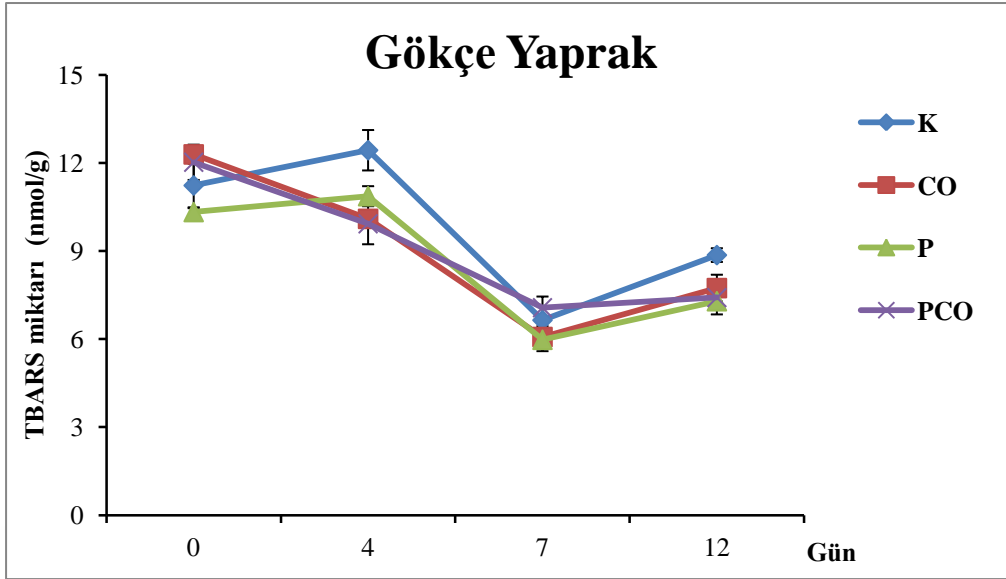
Şekil 4.12. Er-99 çeşidi kök dokusunda gruplar ve günler arasındaki toplam protein içerikleri (mg/ml) (K: Kontrol, CO: Canavar otu, P: Kuraklık, PCO: Canavar otu+kuraklık).

Nohut bitkisinin protein içeriği çok yüksektir (Akçin, 1988). Canavar otuna maruz kalmış bitkilerde protein içeriğinin çeşide göre artış ya da azalış gösterdiği bildirilmiştir (Aydın, 2010). Kuraklık stresinin nohut bitkisinde protein içeriğini azalttığı tespit edilmiştir (Mafakheri ve ark., 2011). Canavar otu ve tuz stresinin birlikte uygulandığı çift stres uygulamasında ise protein içeriğinin zamanla arttığı belirtilmiştir (şen, 2013).

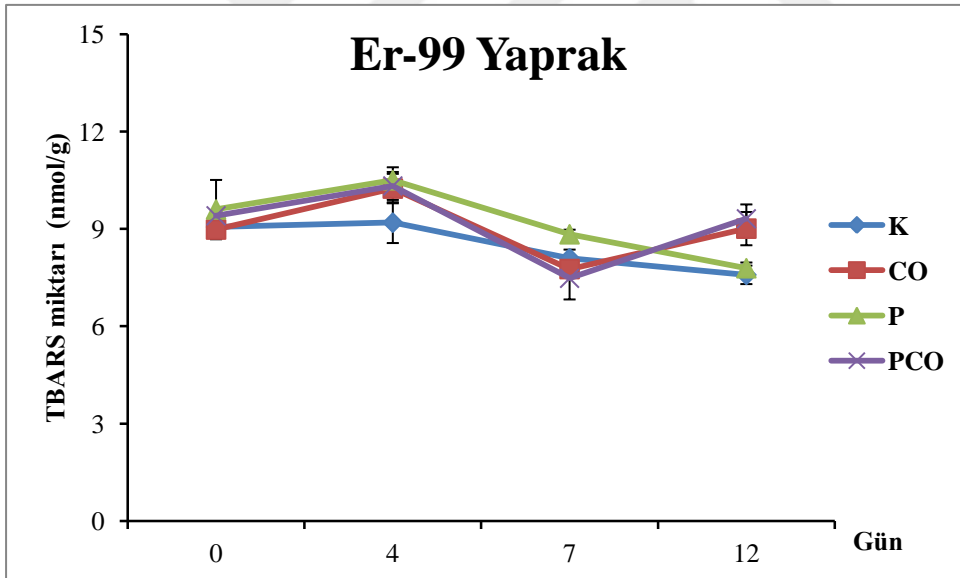
Bu çalışmada yaprak dokularındaki protein içerikleri şekil 4.9 ve 4.10'da, kök dokularındaki protein içerikleri ise şekil 4.11 ve 4.12'de gösterilmiştir. Buna göre; Gökçe eşidinin yaprak dokusunda (şekil 4.9) tüm gruplarda protein içeriği azalmıştır. Özellikle 7. günde 4. güne göre %70-75 kadar azalma saptanmıştır. 12. günde ise yine tüm gruplarda yaklaşık 2-3 kat artış gözlenmiş yine de en az artış P grubunda olmuştur. Er-99 eşidinin yaprak dokusunda ise (şekil 4.10) tüm gruplarda günlere göre azalma görülmüş, 7. günde CO ve PCO gruplarında diğer iki gruba göre daha yüksek protein içeriği bulunmuş ve istatistiksel bir fark gözlenmiştir. 12. günde ise CO ve PCO grupları arasında istatistiksel bir fark bulunmamakla birlikte bu iki grup ile K ve P grupları arasında istatistiksel bir fark bulunmaktadır.

Gökçe eşidinin kök dokusunda (şekil 4.11), PCO grubu dışındaki gruplarda 7. güne kadar protein içeriklerinde azalma olmuş, 7. günden sonra ise özellikle P grubunda fazla olmasıyla birlikte K ve CO gruplarında da artış olmuştur. P grubunda istatistiksel olarak bir fark gözlenmiştir. PCO grubu ise 4. Güne kadar artmış daha sonrasında azalmış ve diğer gruplarla arasında önemli bir fark bulunmamıştır. Er-99 eşidinin kök dokusunda (şekil 4.12) ise CO grubu 7. güne kadar protein içeriğini korumuş, 12. gün sonunda daha düşük bir değer göstermiştir. P ve PCO gruplarının protein içerikleri azalmış, sadece 7. günde PCO grubunun protein içeriği ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark gözlenmiştir.

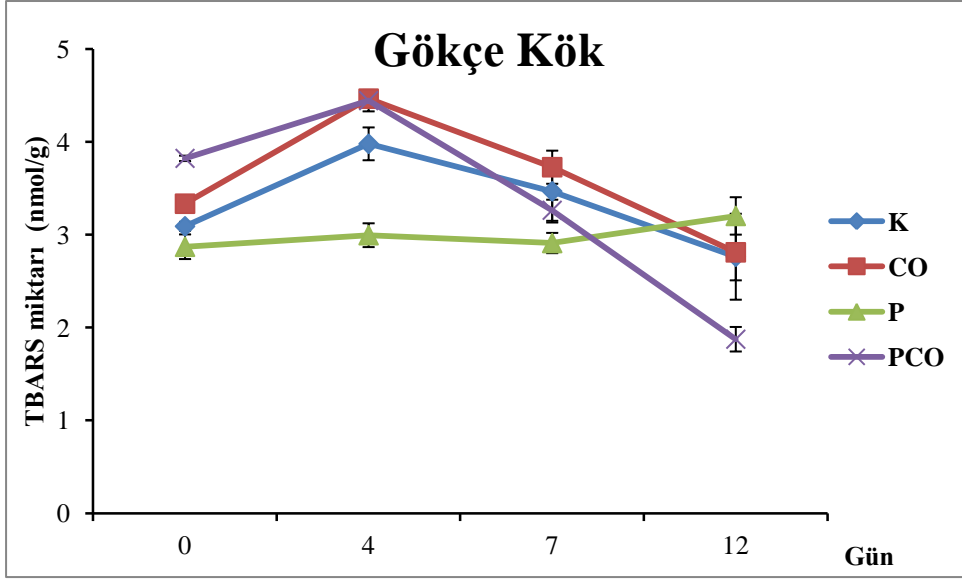
4.3. Lipit Peroksidasyon (TBARS) Miktarı



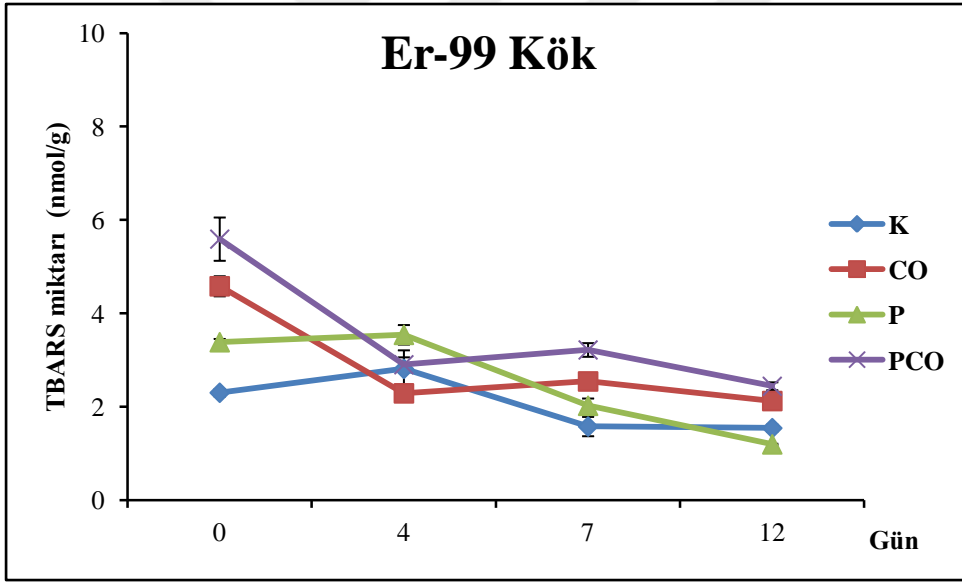
Şekil 4.13. Gökçe çeşidi yaprak dokusunda gruplar ve günler arasındaki TBARS miktarları (nmol/g YA) (K: Kontrol, CO: Canavar otu, P: Kuraklık, PCO: Canavar otu+kuraklık).



Şekil 4.14. Er-99 çeşidi yaprak dokusunda gruplar ve günler arasındaki TBARS miktarları (nmol/g YA) (K: Kontrol, CO: Canavar otu, P: Kuraklık, PCO: Canavar otu+kuraklık).



Şekil 4.15. Gökçe çeşidi kök dokusunda gruplar ve günler arasındaki TBARS miktarları (nmol/g YA) (K: Kontrol, CO: Canavar otu, P: Kuraklık, PCO: Canavar otu+kuraklık).



Şekil 4.16. Er-99 çeşidi kök dokusunda gruplar ve günler arasındaki TBARS miktarları (nmol/g YA) (K: Kontrol, CO: Canavar otu, P: Kuraklık, PCO: Canavar otu+kuraklık).

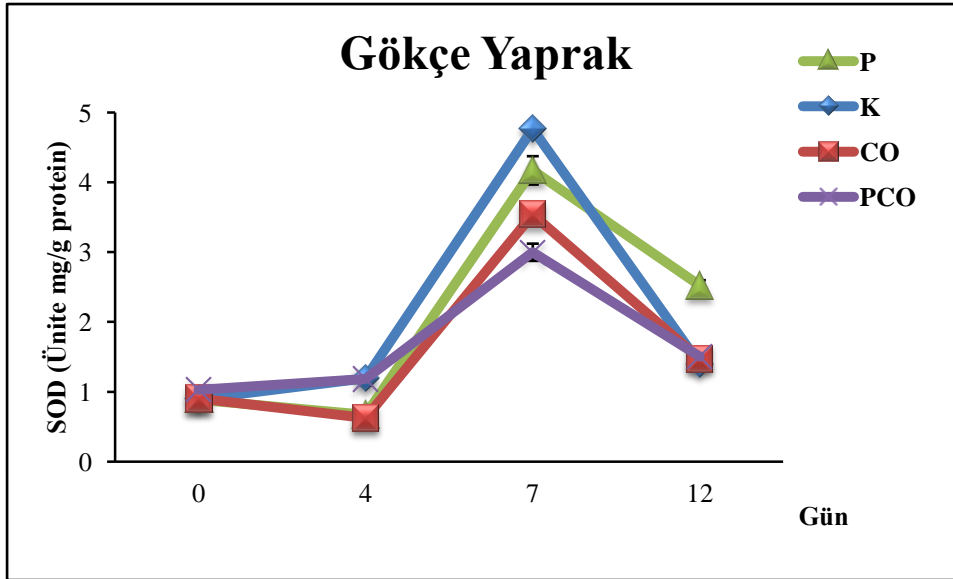
Malondialdehit (MDA) içeriğinin oluşumu lipid peroksidasyonunun bir ölçüsü olarak kabul edilmiştir (Madhava ve Sresty, 2000). Lipid peroksidasyonun bir ölçüsü olan tiyobarbitürik asit madde miktarı (TBARS) canavar otu stresinde bitkinin çeşidine göre artış ya da azalış gösterebilir (Görkem, 2011). Kuraklık stresinde de TBARS miktarının arttığı belirtilmiştir (Sairam ve ark., 2000). Çeşide bağlı olmakla birlikte tuz-canavar otu çift stresi gibi uygulamalarda TBARS miktarında azalış ve ya artış görülmektedir (Şen, 2013).

Bu çalışmadaki TBARS miktarlarının değişimleri Şekil 4.13-4.16'da gösterilmiştir. Buna göre Gökçe çeşidinin yaprak dokusundaki (Şekil 4.13) TBARS miktarında tüm gruplar için en düşük değer 7. günde görülmüştür. İstatiksel olarak gruplar arasında önemli bir fark bulunmamaktadır. Er-99 çeşidinin yaprak dokusundaki (Şekil 4.14) TBARS miktarı ise Gökçe çeşidiyle benzer sonuçlar göstermiştir ve istatistiksel olarak önemli bir fark görülmemiştir.

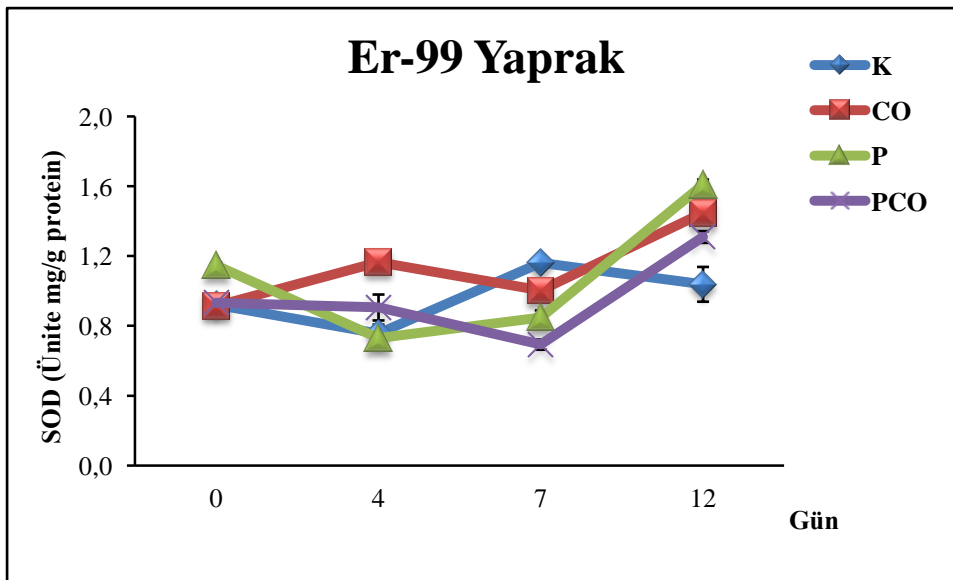
Gökçe çeşidinin kök dokusundaki (Şekil 4.15) TBARS miktarı ise 4. güne kadar tüm gruplarda artmış, daha sonrasında da azalmıştır. Yine de bütün gruplardaki düşüşe rağmen en çok farkı %75 azalma ile PCO grubu göstermiş ve istatistiksel olarak önemli bir fark olduğu görülmüştür. Er-99 çeşidinin kök dokusundaki (Şekil 4.14) TBARS miktarına bakıldığında CO ve PCO gruplarının, K ve P gruplarının birbirleri ile paralellik gösterdiği ve yalnızca 0. günde CO ve PCO grupları arasında istatistiksel bir fark olduğu gözlenmiştir.

4.4. Antioksidan Enzim Aktivitelerindeki Değişim

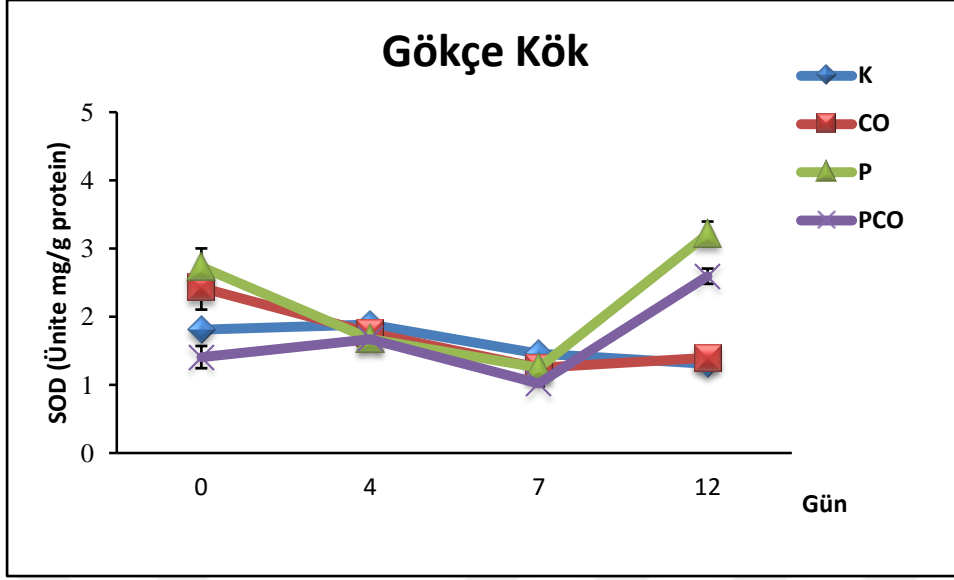
4.4.1. SOD Aktivite Sonuçları



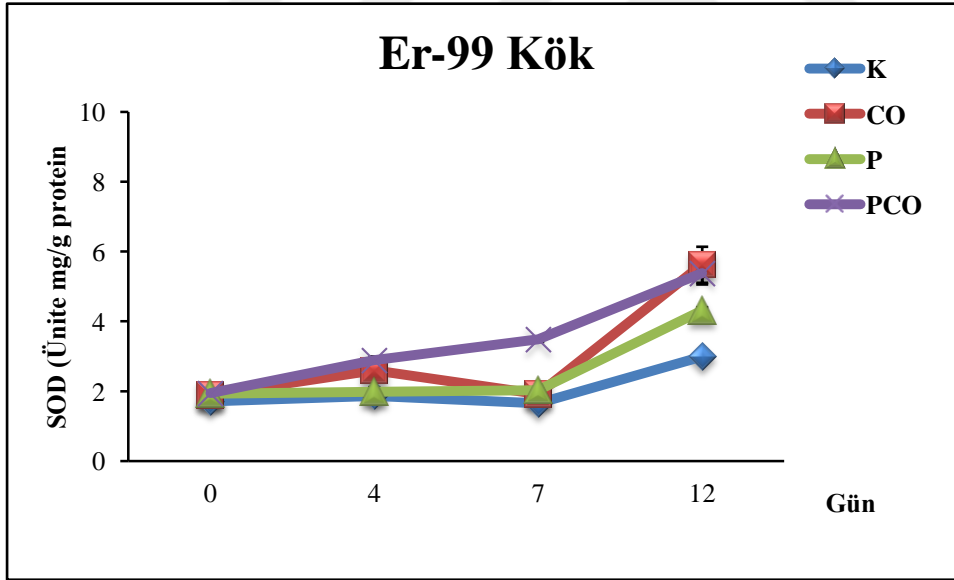
Şekil 4.17. Gökçe çeşidi yaprak dokusunda gruplar ve günler arasındaki SOD aktivitesi (ünite/mg protein) (K: Kontrol, CO: Canavar otu, P: Kuraklık, PCO: Canavar otu+kuraklık).



Şekil 4.18. Er-99 çeşidi yaprak dokusunda gruplar ve günler arasındaki SOD aktivitesi (ünite/mg protein) (K: Kontrol, CO: Canavar otu, P: Kuraklık, PCO: Canavar otu+kuraklık)



Şekil 4.19. Gökçe çeşidi kök dokusunda gruplar ve günler arasındaki SOD aktivitesi (ünite/mg protein) (K: Kontrol, CO: Canavar otu, P: Kuraklık, PCO: Canavar otu+kuraklık).



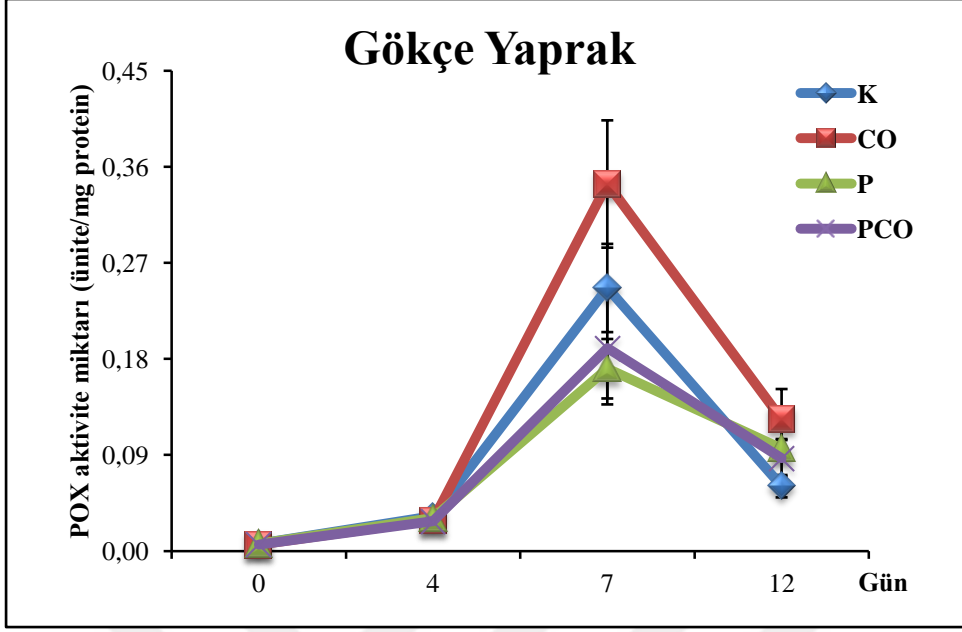
Şekil 4.20. Er-99 çeşidi kök dokusunda gruplar ve günler arasındaki SOD aktivitesi (ünite/mg protein) (K: Kontrol, CO: Canavar otu, P: Kuraklık, PCO: Canavar otu+kuraklık).

SOD enzimi canlıların büyük bir kısmında bulunur ve oksijen toksisitesine karşı önemli bir savunma görevinde bulunur (McCord ve ark., 1971). SOD aktivitesinin canavar otu stresinde ayçiçeği (Demirbaş ve Acar, 2008), domates (Acar ve Özkal, 2015), biber (Aydın, 2010) gibi bitkilerde artış gösterdiği belirtilmiştir. Kuraklık stresine maruz bırakılan *P. vulgaris* (Zlatev ve ark., 2006) ve *O. sativum* (Sharma ve Dubey, 2005) bitkilerinde SOD aktivitelerinin arttığı gözlenmiştir.

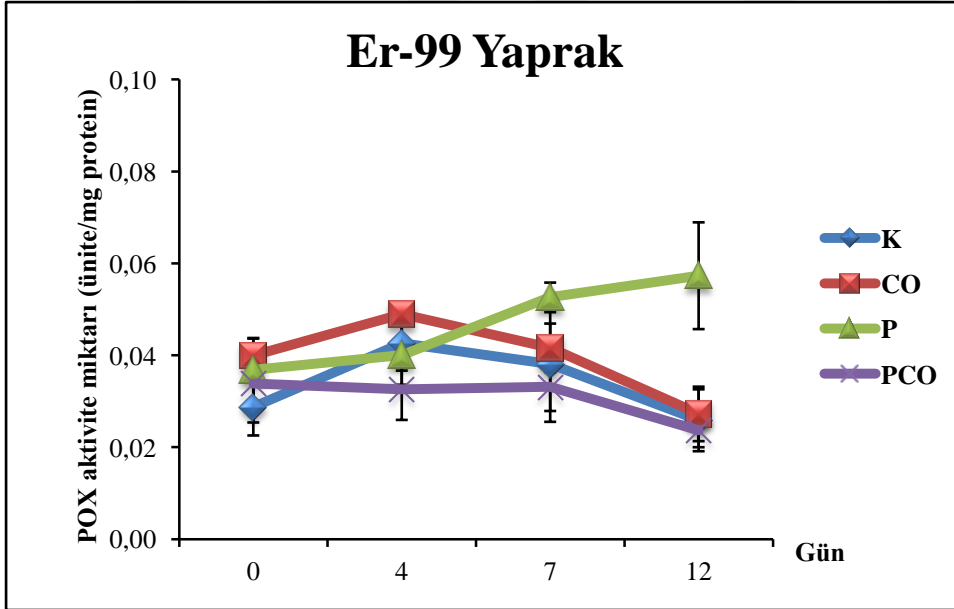
Çalışmada nohut bitkisinin 2 çeşidindeki SOD aktivitelerinin değişimleri Şekil 4.17-4.20'de gösterilmiştir. Buna göre Gökçe çeşidinin yaprak dokusundaki (Şekil 4.17) SOD aktivitesi tüm gruplarda 7. günde maksimum seviyeye ulaşmış ve gruplar arasında istatistiksel olarak önemli farklar bulunmuştur. SOD aktiviteleri 4. günden 7. güne K grubunda 5 kat, CO grubunda yaklaşık 3,5 kat, P grubunda 3,5- 4 kat ve PCO grubunda 2,5-3 kat artmıştır. 7. güne göre 12. günde tüm gruplarda azalış gözlenmiş ama sadece P grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmuştur. Er-99 çeşidinin yaprak dokusundaki (Şekil 4.18) değişimlerde ise 0. günde sadece CO grubunda artış gözlenmiş, diğer gruplarda azalış gözlenmiştir.

Gökçe çeşidinde kök dokusundaki (Şekil 4.19) değişime bakıldığında tüm gruplarda 7. Güne kadar SOD aktivitesinin düştüğü, 7. Günden sonra ise P ve PCO gruplarında artış olduğu gözlenmiştir. 12. Günde P ve PCO gruplarının K ve CO grupları ile arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmuştur. Er-99 çeşidinin kök dokusundaki (Şekil 4.20) değişim incelendiğinde ise tüm gruplar 0-4 gün arasında az miktarda artış, 4-7 günleri arasında azalış, 7-12 günleri arasında artış göstermiştir. Sadece 12. Günde tüm gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmuştur.

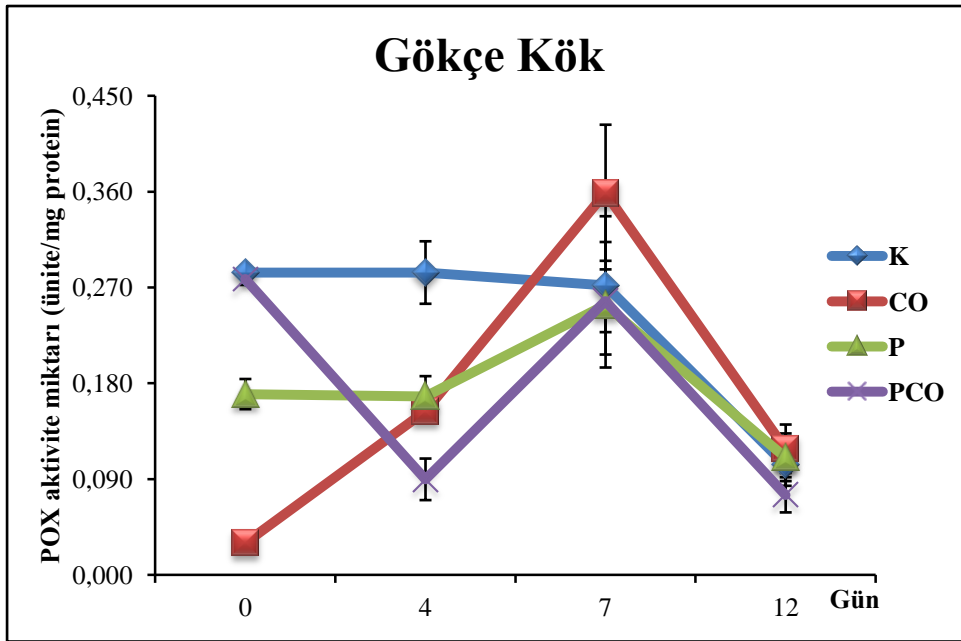
4.4.2. POX Aktivite Sonuçları



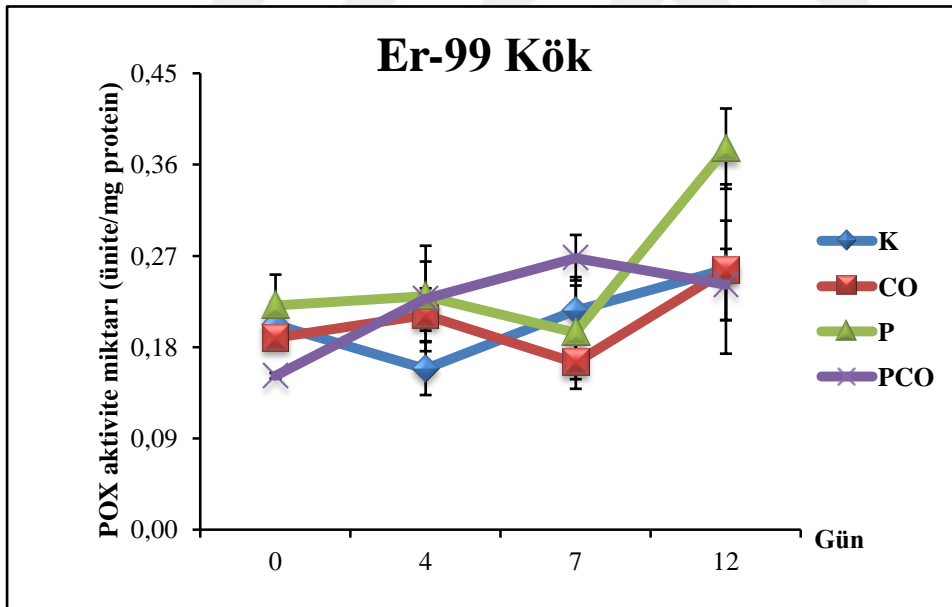
Şekil 4.21. Gökçe çeşidi yaprak dokusunda gruplar ve günler arasındaki POX aktivitesi (ünite/mg protein) (K: Kontrol, CO: Canavar otu, P: Kuraklık, PCO: Canavar otu+kuraklık).



Şekil 4.22. Er-99 çeşidi yaprak dokusunda gruplar ve günler arasındaki POX aktivitesi (ünite/mg protein) (K: Kontrol, CO: Canavar otu, P: Kuraklık, PCO: Canavar otu+kuraklık).



Şekil 4.23. Gökçe çeşidi kök dokusunda gruplar ve günler arasındaki POX aktivitesi (ünite/mg protein) (K: Kontrol, CO: Canavar otu, P: Kuraklık, PCO: Canavar otu+kuraklık).



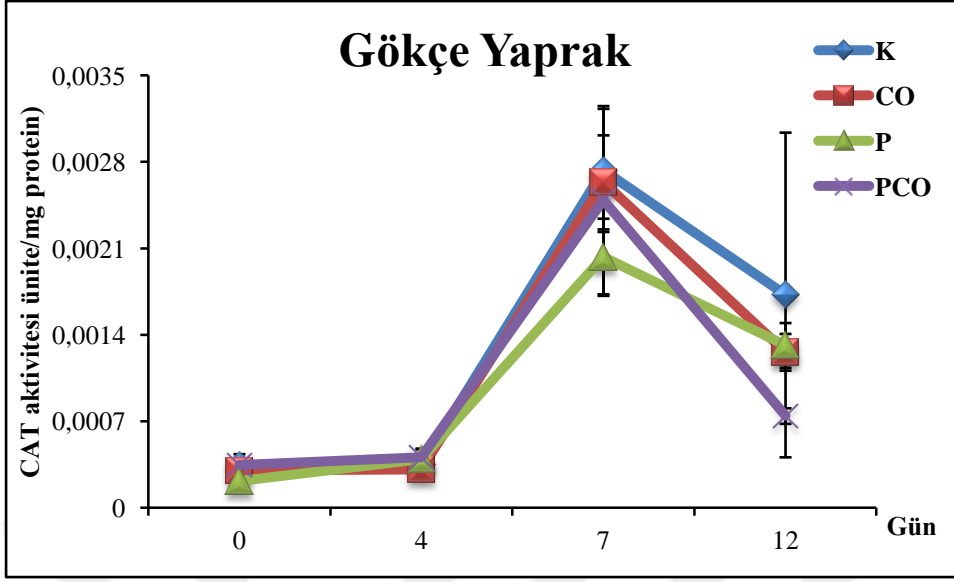
Şekil 4.24. Er-99 çeşidi kök dokusunda gruplar ve günler arasındaki POX aktivitesi (ünite/mg protein) (K: Kontrol, CO: Canavar otu, P: Kuraklık, PCO: Canavar otu+kuraklık).

Peroksidaz savunma mekanizmasında görevli ve gerekli durumlarda bitkiyi korumak için sentezlenen, savunma mekanizmasında etkin rol alan enzimlerden biridir (Gara ve ark., 2003). *O. crenata* enfeksiyonunun *Pisum sativum* bitkisinde (Luque ve ark.,2005), *O. aegyptiaca* enfeksiyonunun *Vicia atropurpurea* bitkisinde (Goldwasser ve ark., 1999) POX miktarını arttırdığı belirlenmiştir. Kuraklık stresinin çeşit ve cinsiyete bağlı olarak *Ginkgo biloba* bitkisinde dişi bireylerde (He ve ark., 2016), *Kandelia obovata* ve *Aegiceras corniculatum* yapraklarında (Guan ve ark., 2015) POX aktivitesinin arttırdığı belirtilmiştir. Çift stres uygulamalarının ise örneğin domates bitkisinde çeşide bağlı olarak POX aktivitesini arttırdığı ve ya azalttığı bildirilmiştir (Şen, 2013).

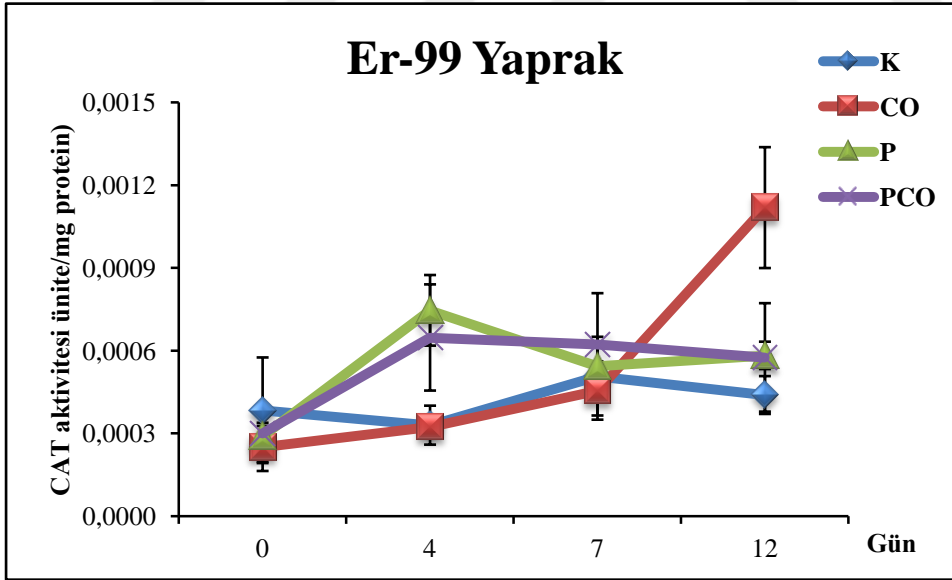
Bu çalışmada oluşan POX aktivitesindeki değişimler Şekil 4.21- 4.24'da gösterilmiştir. Buna göre Gökçe çeşidinin yaprak dokusundaki (Şekil 4.21) POX aktiviteleri tüm gruplarda zamanla artmış, hepsi için 7. Günde maksimum değeri göstermiştir. Tüm gruplar içerisinde 7. günde yaklaşık 6 kat artış gösteren CO grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmuştur. 7. Günden sonra tüm gruplarda azalış gözlenmiş ve istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır. Er-99 çeşidinin yaprak dokusundaki (Şekil 4.22) POX aktivitelerinin değişimleri tüm gruplarda artış ve azalış göstermiş ama istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır.

Gökçe çeşidinin kök dokusunda (Şekil 4.23) uygulama gruplarında (CO, P, PCO) K grubuna ters bir şekilde POX aktivitelerinin arttığı, 7. Günden sonra 4 grubunda POX aktivitelerinin azaldığı gözlenmiştir. Tüm bu değişimlere rağmen gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır. Er-99 çeşidinin kök dokusunda (Şekil 4.24) ise uygulama grupları (CO, P, PCO) kontrol bitkilerin tersine 4. Güne kadar POX aktivitelerini arttırmış, daha sonrasında D grubu hariç tüm gruplarda düşüş gözlenmiştir. P grubu POX aktivitesini arttırmaya devam etmesine rağmen gruplar arasında önemli istatistiksel bir fark bulunmamıştır.

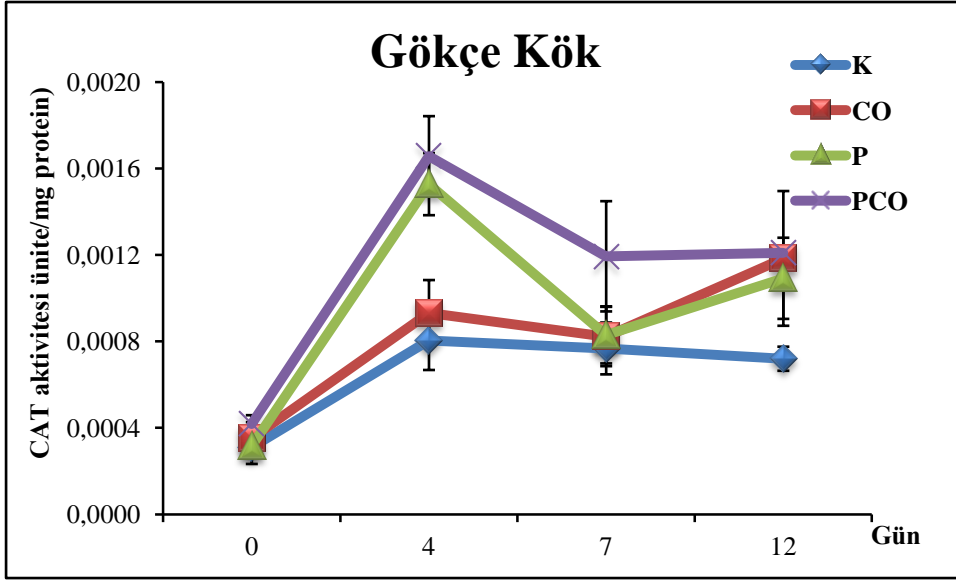
4.4.3. CAT Aktivite Sonuçları



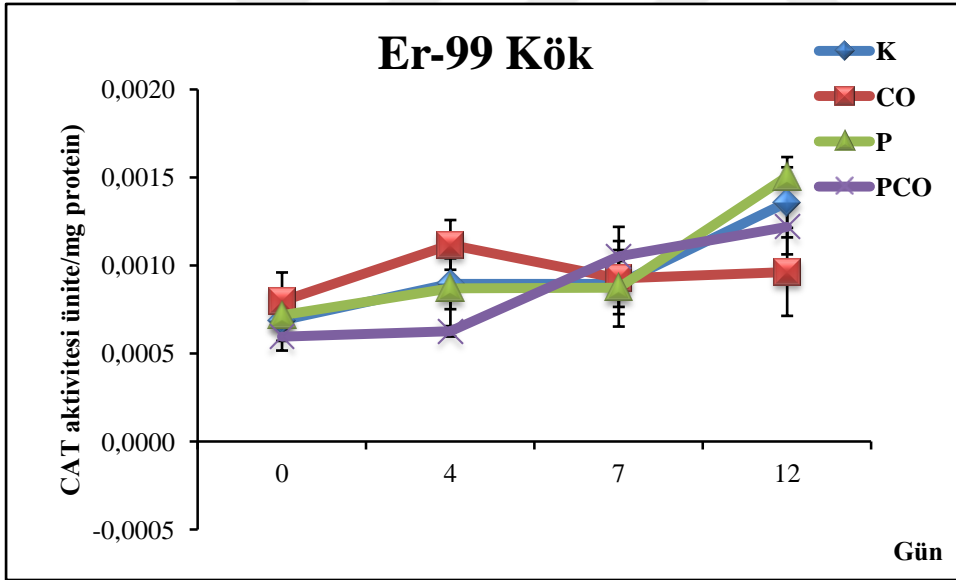
Şekil 4.25. Gökçe çeşidi yaprak dokusunda gruplar ve günler arasındaki CAT aktivitesi (ünite/mg protein) (K: Kontrol, CO: Canavar otu, P: Kuraklık, PCO: Canavar otu+kuraklık).



Şekil 4.26. Er-99 çeşidi yaprak dokusunda gruplar ve günler arasındaki CAT aktivitesi (ünite/mg protein) (K: Kontrol, CO: Canavar otu, P: Kuraklık, PCO: Canavar otu+kuraklık).



Şekil 4.27. Gökçe çeşidi kök dokusunda gruplar ve günler arasındaki CAT aktivitesi (ünite/mg protein) (K: Kontrol, CO: Canavar otu, P: Kuraklık, PCO: Canavar otu+kuraklık)



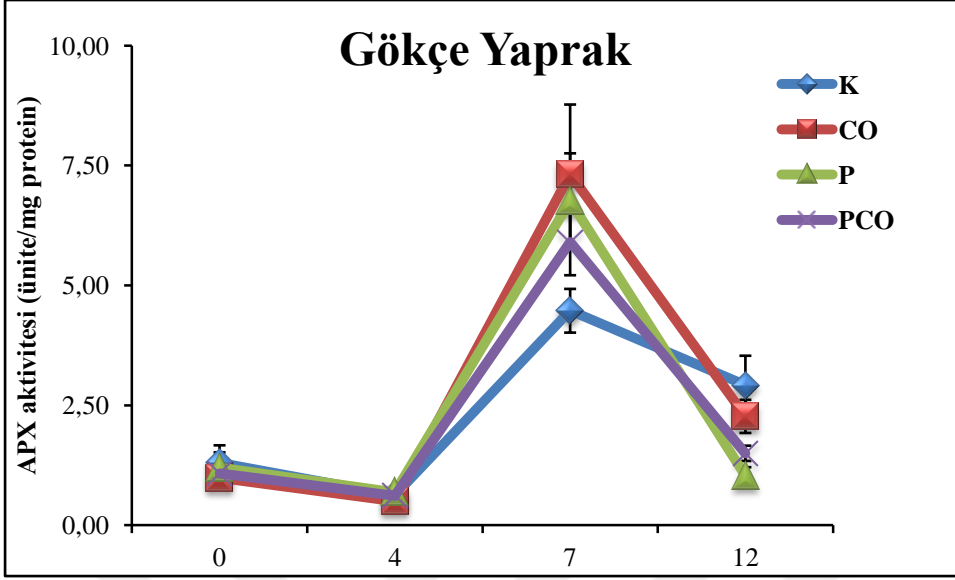
Şekil 4.28. Er-99 çeşidi kök dokusunda gruplar ve günler arasındaki CAT aktivitesi (ünite/mg protein) (K: Kontrol, CO: Canavar otu, P: Kuraklık, PCO: Canavar otu+kuraklık).

CAT H_2O_2 'yi doğrudan H_2O ve O_2 olarak ayırarak zararsız hale getiren ve antioksidan savunma sistemi enzimlerinden biridir (Garg ve Manchanda, 2009). Canavar otu stresinde patlıcan (Görkem, 2011) ve domates (Özkal, 2014) bitkilerinde yapılan çalışmalarda çeşide göre CAT aktivitesinin değişiklik gösterdiği belirlenmiştir. Farklı kuraklık şiddetlerinin uygulandığı nohut bitkisinde CAT aktivitesinin kuraklığın şiddetiyle ters orantılı olarak düştüğü gösterilmiştir (Nayar ve ark., 2013). Ek olara, tuz ve kuraklık stresinin birlikte uygulandığı *Glycyrrhiza uralensis* tohumlarında CAT aktivitesinin düştüğü gösterilmiştir (Pan ve ark., 2006).

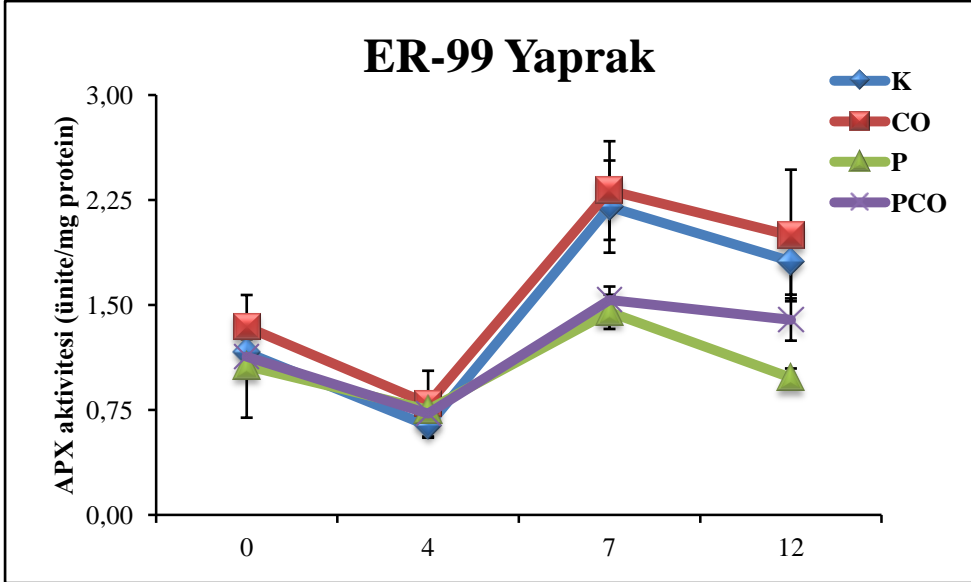
Bu çalışmadaki CAT enzim aktiviteleri Şekil 4.25- 4.28'de gösterilmiştir. Gökçe çeşidinin yaprak dokusunda (Şekil 4.25) tüm gruplarda maksimum CAT aktivitesi 7. günde gözlenmiştir ve gruplar arasında istatistiksel bir fark bulunmamaktadır. Er-99 çeşidinin yaprak dokusunda (Şekil 4.26) tüm gruplarda artış ve azalış miktarı oldukça düşüktür ve CO grubunun denemenin son günündeki artışı dışında istatistiksel olarak gruplar arası önemli bir fark bulunmamaktadır.

Gökçe çeşidinin kök dokusunda (Şekil 4.27) tüm gruplar için maksimum değer 4. günde gözlenmiş ve gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır. Er-99 çeşidinin kök dokusunda (Şekil 4.28) tüm gruplarda paralel olarak çok az miktarda artış gözlenmiş ve istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır.

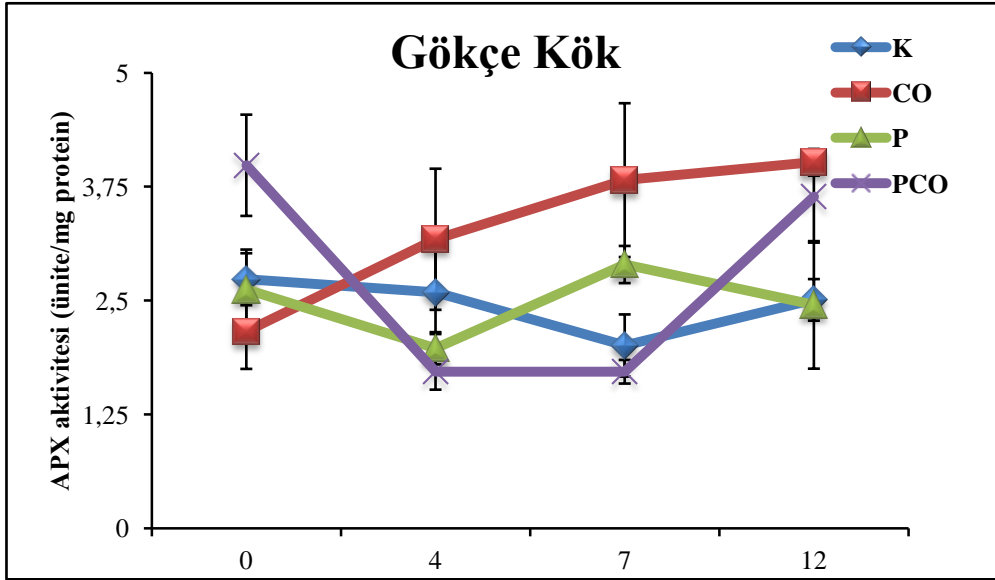
4.4.4. APX Aktivite Sonuçları



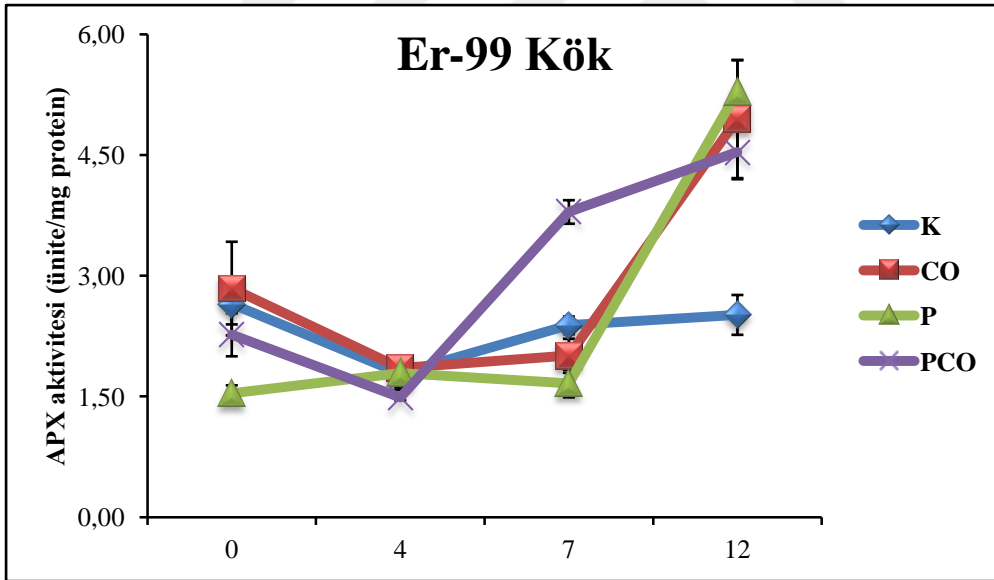
Şekil 4.29. Gökçe çeşidi yaprak dokusunda gruplar ve günler arasındaki APX aktivitesi (ünite/mg protein) (K: Kontrol, CO: Canavar otu, P: Kuraklık, PCO: Canavar otu+kuraklık).



Şekil 4.30. Er-99 çeşidi yaprak dokusunda gruplar ve günler arasındaki APX aktivitesi (ünite/mg protein) (K: Kontrol, CO: Canavar otu, P: Kuraklık, PCO: Canavar otu+kuraklık).



Şekil 4.31. Gökçe çeşidi kök dokusunda gruplar ve günler arasındaki APX aktivitesi (ünite/mg protein) (K: Kontrol, CO: Canavar otu, P: Kuraklık, PCO: Canavar otu+kuraklık).

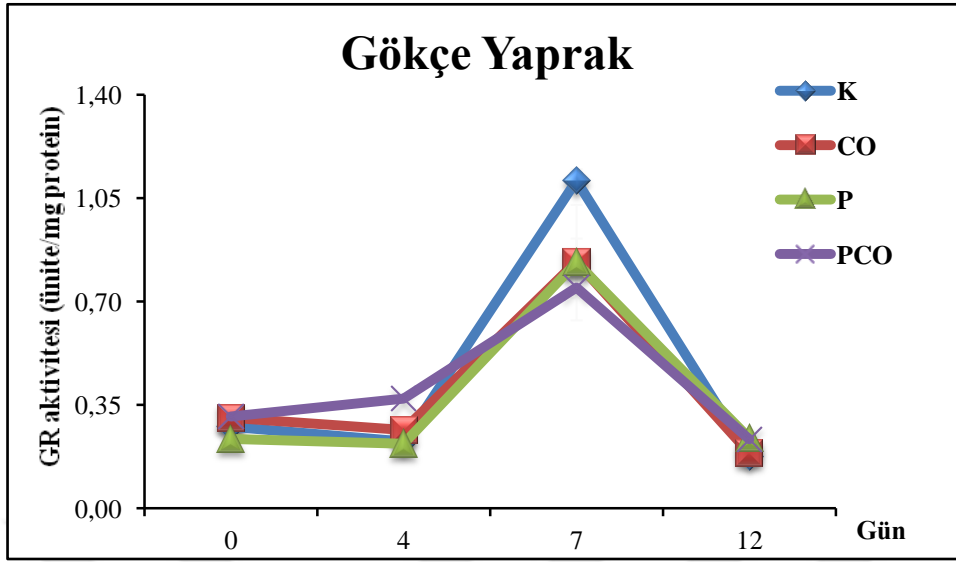


Şekil 4.32. Er-99 çeşidi kök dokusunda gruplar ve günler arasındaki APX aktivitesi (ünite/mg protein) (K: Kontrol, CO: Canavar otu, P: Kuraklık, PCO: Canavar otu+kuraklık)

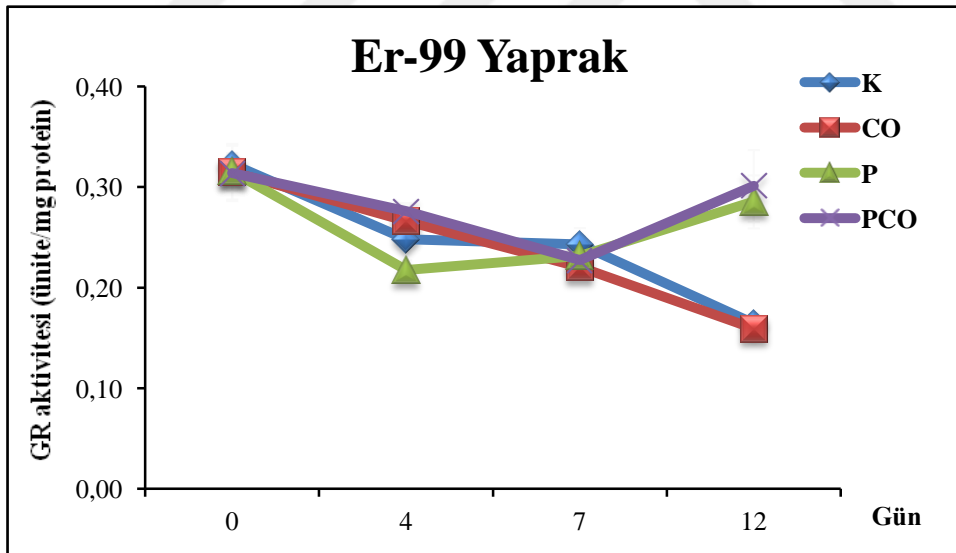
APX, ROT'lerinin süpürülmesinde etkin bir enzimdir ve askorbat-glutasyon döngüsünde önemli bir rol oynar (Ishikawa ve Shigeoka, 2008). Canavar otu uygulaması yapılan bitkilerde APX aktivitesinin kontrol gruplarına göre kök dokusunda 3-8 kat arası arttığı ve yaklaşık %40 artış gösterdiği gözlenmiştir (Acar ve Ozkal, 2015). Kuraklık stresiyle domates (Rai ve ark., 2013), mısır (Jiang ve Zhang, 2001), buğday (Dalmia ve Sawhney, 2004) ve *P. accutifolius* (Türkan ve ark., 2005) gibi bitkilerde APX aktivitesinin arttığı daha önce yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Bu tez çalışmasındaki gruplardan biri olan canavar otu ve kuraklık stresinin birlikte uygulanmasıyla nohut bitkisindeki APX değişimi ise kök ve yaprak dokularından değişiklik göstermiştir (Şen, 2013).

Gökçe ve ER-99 nohut çeşitlerinde APX enzim aktivitesindeki değişimler Şekil 4.29- 4.32'de gösterilmiştir. Bu çalışmada, APX enzimi değişimleri yaprak dokularında (Şekil 4.29 ve 4.30) her iki çeşitte de 7. günde en yüksek seviyesine ulaşmıştır ve CO grubu en yüksek APX aktivitesini göstermiştir. Gökçe çeşidi için 7. günde gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmasına rağmen, Er-99 çeşidi için istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır. Kök dokularında ise Er-99 çeşidinde (Şekil 4.32) 12. gün sonunda tüm stres grupları kontrol bitkilerine kıyasla istatistiksel olarak APX aktivitelerinde anlamlı artışlara sahip bulunmuştur. Farklı olarak, PCO grubunda bu artışlar 7 -12. günler arasında gerçekleşmiştir. Gökçe çeşidinin kök dokusunda (Şekil 4.33) ise 12. gün sonunda 4 grup arasında belirgin bir fark gözlenmemiştir ve istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır.

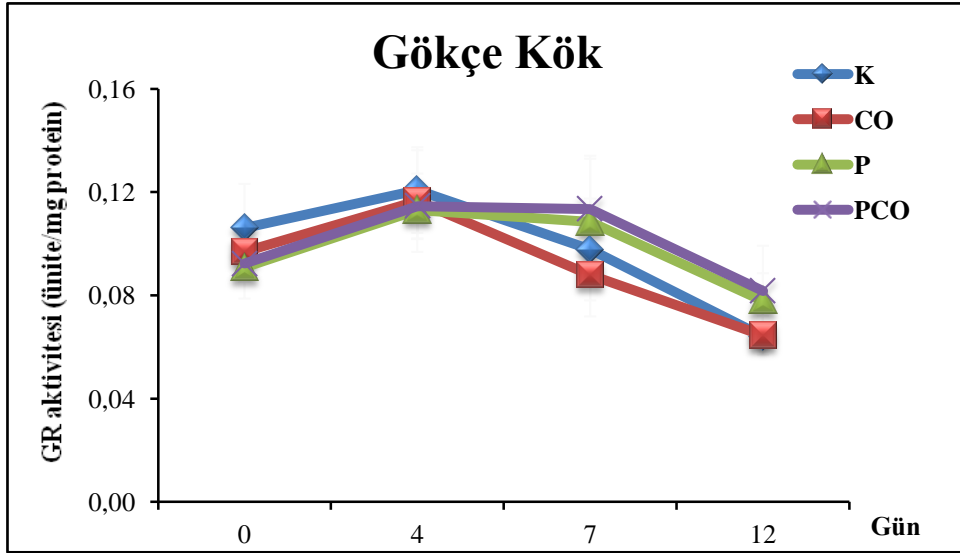
4.4.5. GR Aktivite Sonuçları



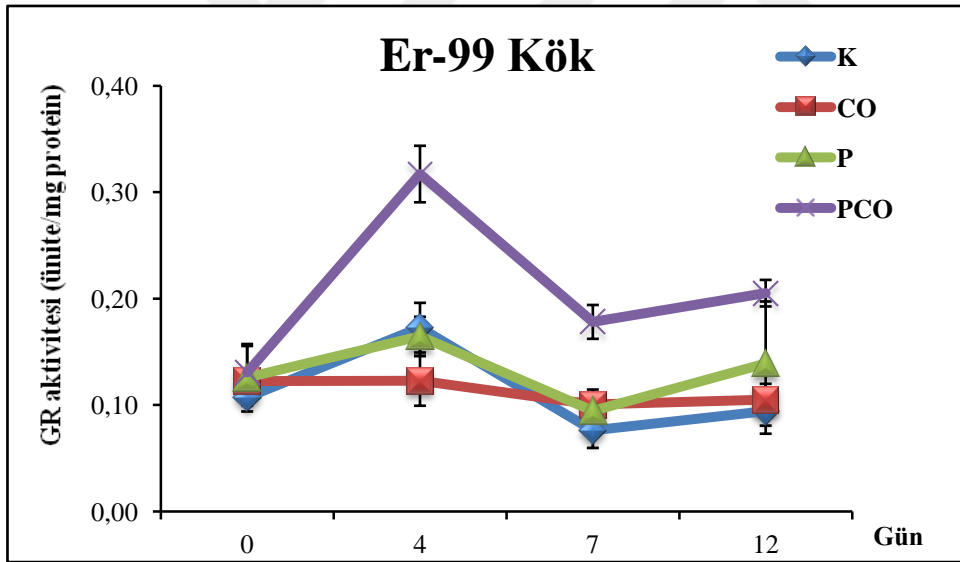
Şekil 4.33. Gökçe çeşidi yaprak dokusunda gruplar ve günler arasındaki GR aktivitesi (ünite/mg protein) (K: Kontrol, CO: Canavar otu, P: Kuraklık, PCO: Canavar otu+kuraklık).



Şekil 4.34. Er-99 çeşidi yaprak dokusunda gruplar ve günler arasındaki GR aktivitesi (ünite/mg protein) (K: Kontrol, CO: Canavar otu, P: Kuraklık, PCO: Canavar otu+kuraklık).



Şekil 4.35. Gökçe çeşidi kök dokusunda gruplar ve günler arasındaki GR aktivitesi (ünite/mg protein) (K: Kontrol, CO: Canavar otu, P: Kuraklık, PCO: Canavar otu+kuraklık).



Şekil 4.36. Er-99 çeşidi kök dokusunda gruplar ve günler arasındaki GR aktivitesi (ünite/mg protein) (K: Kontrol, CO: Canavar otu, P: Kuraklık, PCO: Canavar otu+kuraklık).

GR, hem prokaryotlarda hem de ökaryotlarda bulunan bir flavoprotein oksiredüktazdır (Romero-Puertas ve ark., 2006). Canavar otu stresinde GR enzim aktivitesinin arttığı bildirilmiştir (Demirbaş ve ark., 2013). GR aktivitesinin tuz stresinde nohut (Kukreja ve ark., 2005; Srivastava ve ark., 2005) ve kuraklık stresinde de pirinç bitkisinde (Sharma ve Dubey,2005) arttığı belirtilmiştir.

Çalışmada görülen GR aktivitesindeki değişimler Şekil 4.33- 4.36'da verilmiştir. Buna göre Gökçe çeşidinin yaprak dokusunda (Şekil 4.33) tüm gruplarda 7. günde maksimum GR aktivitesi görülmüştür. Daha sonra GR aktiviteleri düşmüş ve tüm çalışma süresince gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır. Er-99 çeşidinin yaprak dokusunda (Şekil 4.34) 12. Gündeki P ve PCO uygulamalarında kontrole kıyasla saptanan artışlar dışında istatistiksel bir fark bulunmamıştır.

Gökçe çeşidinin kök dokusunda (Şekil 4.35) tüm gruplar birbirine paralel olarak 4. Güne kadar artmış daha sonra GR aktivitesinde azalma olmuştur. İstatistiksel olarak gruplar arasında önemli bir fark bulunmamıştır. Er-99 çeşidinin kök dokusunda (Şekil 4.36) ise PCO grubu diğer tüm gruplara göre 4. günde yaklaşık 3,5 kat GR aktivitesini arttırmıştır ve bu istatistiksel olarak diğer gruplar ile arasında önemli bir fark olduğunu göstermektedir. Aynı gruptaki GR aktivite artışının 7. günde de devam ettiği saptanmıştır.

4.5. İstatiksel Bulgular

Bu çalışma birbirinden bağımsız 3 tekrarlı bir şekilde kuruldu ve her veri 3 tekrarlı olmak üzere 9 tekrarın ortalaması ($n=9$) olarak gösterildi. *C. arietinum* cv. Gökçe ve *C. arietinum* cv. Er-99 çeşitlerinde gövde uzunluğu, kök uzunluğu, protein, Klorofil a, Klorofil b, TBARS, SOD, POX, CAT, APX, GR enzim aktivitelerine ait veriler tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile incelenmiştir. SPSS.21 programından elde edilen sonuçlar Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2’te verilmektedir.

Çizelge 4.1. *C. arietinum* cv. Gökçe ve *C. arietinum* cv. Er-99 çeşitlerinde gövde uzunluğu, protein, Klorofil a, Klorofil b, TBARS, SOD, POX, CAT, APX, GR enzim aktivitelerine ait tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonuçları ($p<0,05$)

İncelenen Parametre	Ortalama kareler	f Değeri
Gövde Uzunluğu	4651,226	15,889***
Protein	4,379	48,239***
Klorofil a	1,229	31,873***
Klorofil b	6,436	10,423***
TBARS	633,038	15,435***
SOD	268,930	123,181***
POX	1,193	18,515***
CAT	0,000	2,756***
APX	584,029	17,008***
GR	10,133	30,455***

Çizelge 4.2. *C. arietinum* cv. Gökçe ve *C. arietinum* cv. Er-99 çeşitlerinde kök uzunluğu, protein, TBARS, SOD, POX, CAT, APX, GR enzim aktivitelerine ait tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonuçları ($p<0,05$)

İncelenen Parametre	Ortalama Kareler	f Değeri
Kök uzunluğu	2413,353	14,530***
Protein	0,106	35,611***
TBARS	173,860	16,934***
SOD	286,741	35,874***
POX	1,474	6,448***
CAT	0,000	2,081**
APX	196,015	6,567***
GR	0,389	7,392***

BÖLÜM 5

SONUÇ VE ÖNERİLER

Gökçe çeşidinin pigment içeriğini tüm uygulamalarda korumuş olması, onun Er-99'a göre kuraklık ve canavar otu streslerine karşı daha dayanıklı olduğuna işaret ediyor olabilir. Çünkü kuraklık (Türkan ve ark., 2005) ve canavar otu enfeksiyonu (Demirbaş ve Acar, 2008; Şen, 2013) bitkilerde klorofil içeriğinin azalmasına yol açmaktadır. Diğer yandan, Er-99 çeşidinin Gökçe çeşidine kıyasla daha çok lipid peroksidasyona uğramış olması da bu düşüncüyü destekler niteliktedir. Bunun nedeni, yaprak dokusunda PCO, kök dokusunda ise hem PCO hem de CO uygulamasına karşı Gökçe çeşidinin açık şekilde ROT'dan daha iyi korunmuş olmasıyla ilgili olabilir. Çünkü aynı uygulamalar Er-99 çeşidinde lipid peroksidasyonu arttırmıştır. B uygulamasına duyarlılık ve dayanıklılık ile ilgili benzer bilgiler Demirbaş ve ark., (2013) ve Şen (2013) tarafından da saptanmıştır.

Gökçe çeşidinde antioksidan savunma sisteminin lipid peroksidasyon sonuçlarıyla uyumlu şekilde ROT'ne karşı sağladığı korumada; ne kök ne de yaprak dokusunda Askorbat-Glutatyon döngüsünün etkili olduğu söylenemez. Buna rağmen bu çeşitte, özellikle PCO uygulamalarında başarılı antioksidan savunma sistemi tepkisi, SOD ile üretilen süperoksit radikalinin oluşturduğu H₂O₂'nin detoksifikasyonu için yaprakta POX, APX, CAT ve GR, kökte ise POX ve APX enzimleri etkili çalışmıştır. Böylece çift stres (PCO) etkisinde lipid peroksidasyondan daha az etkilenmiştir. Er-99 çeşidinde, klorofil içeriğinin korunamamış olması ve lipid peroksidasyon zararının artmış olmasına rağmen, tüm antioksidan savunma sistemi enzimlerinin özellikle kök dokusunda başta PCO olmak üzere tüm uygulamalara karşı şaşırtıcı şekilde artmıştır. Hatta Askorbat-Glutatyon döngüsünün etkili çalıştığı da anlaşılmaktadır. Bu çelişkili durum, APX ve POX haricinde yaprak dokularında da mevcuttur. ROT, toksik olmakla birlikte, bitkilerin biyotik ve abiyotik streslere adaptasyonları için merkezi bir bileşendir (Garg ve Manchanda, 2009). Antioksidan savunma sistemi ise bu zararlı etkileri hafifletir (Demirbaş ve ark., 2013). Bitkilerde sinyal molekülü gibi farklı rolleri nedeniyle ROT'lar çok sıkı kontrol edilmelidirler (Garg ve Manchanda, 2009). Bu nedenle, Er-99 çeşidinde karşılaşılan yüksek enzim aktiviteleri, belki de oluşan zararın şiddetini azaltmak için karşılaşılan bir durum olabilir.

Canavarotu enfeksiyonunu önlemek için geçici olarak ekim zamanını değiştirmeye varan uygulamalar yapılırsa da, enfeksiyon riskinde çok önemli bir kısıtlama olmamaktadır (Arjona-Berral ve ark., 1987; Rubiales ve ark., 2003). Diğer taraftan, canavar otları

yeniden dayanıklı ırklar oluşturduklarından problem olmayı sürdürürler (Demirbaş ve Acar, 2008). *O. crenata*'ya karşı nohut genleri kullanılarak direnç sağlanabileceği gösterilse de (Rubiales ve ark., 2003), yabani ve küçük nohut türlerinde gen kaynaklarının yeteri kadar bilinmemesi direnç varlığının seviyesi hakkında soru işareti oluşturmaktadır (Rubiales ve ark., 2004).

Kuraklık stresinin bitkilerde stomaların kapanmasına neden olduğu, buna bağlı olarak fotosentezin yavaşladığı ve fotosentetik verimin azaldığı bilinmektedir. Öyle ki şiddetli kuraklık durumunda C3 bitkilerinde fotorespirasyon kaçınılmazdır. Kurak koşullarda bu şekildeki ROT üretimi nedeniyle oksidatif stres oluşmaktadır (Acar ve ark., 2001). Yapılan son bir çalışmada, duyarlı Küsmen çeşidine kıyasla Gökçe çeşidinin PEG teşvikli kuraklık stresine dayanıklı olduğu gösterilmiştir (Sağlam ve ark., 2014).

Bu çalışmada, antioksidan savunma sistemi temelinde kurağa toleransın, canavar otu enfeksiyonuna duyarlılıkla bir bağlantısının olup olmadığı araştırılmıştır. Kurağa duyarlı Er-99 çeşidinin çift stres uygulamasına karşı etkili bir antioksidan savunmaya sahip olduğu belirlenmiştir. Gökçe çeşidi ise dayanıklı olmasına rağmen bunu antioksidan savunma sistemi enzimleri temelinde göstermemiştir. PEG teşvikli kuraklık uygulaması göstermiştir ki, Gökçe'de kurağa dayanıklılık yaprak su potansiyeli, stoma iletkenliği, fotosentez ve transpirasyon arasındaki bir dengeyle ilişkilidir (Sağlam ve ark., 2014). Bu çalışmada da kuraklığın özellikle Gökçe çeşidinin gövde dokusunda antioksidan savunma sistemini teşvik etmemesi buna bağlı olarak açıklanabilir. Aslında, çift stres uygulaması Gökçe çeşidinden çok Er-99 çeşidinde lipid peroksidasyonu azaltmıştır. Bu azalış Er-99 çeşidinde antioksidan savunma sistemi ile desteklenmektedir. Sonuç olarak, kuraklığa hassas olduğu bilinen Er-99 çeşidi çift stres uygulaması sayesinde tek başına kuraklığın zararlı etkilerinden korunmada daha etkili bir antioksidan korumaya sahip bulunmuştur.

Bu durum çoklu stres uygulamalarının daha iyi araştırılması gerektiğini göstermektedir. Belli bir stres koşuluna duyarlı veya dayanıklı olarak nitelenen çeşitler, başka faktörler eşliğinde daha iyi bir metabolizma gösterip, duyarlı oldukları faktöre karşı avantaj yakalayabilirler. Bu durum, strese alışmaya benzese de, antioksidan savunma yollarının işleyişinin daha iyi anlaşılması gerektiğine işaret etmektedir.

KAYNAKLAR

- Acar O. ve Ozkal B., 2015. Does Plant Activator Application Help the Antioxidant Defense of Tomato Plants During Broomrape Infection? 17th European Weed Research Society Symposium "Weed Management in Changing Environments", Montpellier, France, 143.
- Acar O., Turkan I., Ozdemir F., 2001. Superoxide dismutase and peroxidase activities in drought sensitive and resistant barley (*Hordeum vulgare* L.) varieties. *Acta Physiologiae Plantarum*, 23,351-356.
- Acharjee S., Sarmah B.K., 2013. Biotechnologically generating 'super chickpea' for food and nutritional security. *Plant Science*, 207, 108-116.
- Akçin A., 1988. Yemelik Dane Baklagiller. Selçuk Üniversitesi Yayınları, 43.
- Aksoy E., 2010. Ülkesel Canavar otu (*Orobancha* spp.) Projesi, Proje No: TÜBİTAK 105G080. Adana Ziraat Mücadele Araştırma.
- Anbessa, Y. ve Bejiga, G., 2002. Evaluation of Ethiopian chickpea landraces for tolerance to drought. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 49(6), 557-564.
- Anonymous, 2013. Nohut kaç kalori, besin değerleri. <http://kalori-fayda.blogspot.com.tr/2013/03/nohut-kac-kalori-nohut-besin-degerleri.html#.VoFeChWyOko>
- Arjona-Berral A., Mesa-García J., García-Torres L., 1987. Phenology and growth of *Orobancha crenata* Forsk. (broomrape) in four legume crops. *Weed Research* 27, 349-360.
- Arnon D. I., 1949. Cupper Enzymes in Isolated Chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24:1-15.
- Aydın B., 2010. Orobans'ın Çanakkale (Türkiye)'de Tarımı Yapılan Bazı Biber Çeşitlerindeki Antioksidan Enzim Seviyelerinde Neden Olduğu Değişimlerin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Türkiye.
- Beauchamp C., Fridovich I., (1971). Superoxide Dismutase: Improved assay and

- applicable to acrylamid gels. *Anal. Biochem.*, 44: 276-287.
- Bergmeyer N., 1970. Methoden der enzymatischen analyse. *In: Vol 1 Akademie Verlag, Berlin: 636-647.*
- Bradford M., 1976. A Rapid and sensitive method for the quantition of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, 72: 248-254.
- Campbell, N. A., Reece, J. B., Gündüz, E., Demirsoy, A. ve Türkan, İ., 2008. *Biyoloji. Palme Yayıncılık.*
- Cardoso C., Spira C.R. ve Bouwmeester H.J., 2011. Strigolactones and root infestation by plant-parasitic *Striga*, *Orobanche* and *Phelipanche* spp. *Plant science*, 180: 414–420.
- Castillejo M.A., Amiour N., Dumas-Gaudot E., Rubiales D. ve Jorriin J.V., 2004. A proteomic approach to studying plant response to crenate broomrape (*Orobanche crenata*) in pea (*Pisum sativum*). *Phytochemistry*, 65, 1817-1828.
- Dalmia A., Sawhney V., 2004. Antioxidant defense mechanism under drought stress in wheat seedlings. *Physiol. Mol. Biol. Plant* 10, 109_114.
- defense system and oxidative damage in leaves of maize seedlings. *Plant Cell Physiol.* 42, 1265_1273.
- Demidchik V., 2015. Mechanisms of oxidative stress in plants: from classical chemistry to cell biology. *Environmental and Experimental Botany*, 109, 212-228.
- Demirbaş S. ve Acar O., 2008. Superoxide dismutase and peroxidase activities from antioxidative enzymes in *Helianthus annuus* L. roots during *Orobanche cumana* Wallr. penetration. *Fresenius Environmental Bulletin*, 17(8).
- Demirbas S., Vlachonasios K. E., Acar O. and Kaldis A., 2013. The effect of salt stress on *Arabidopsis thaliana* and *Phelipanche ramosa* interaction. *Weed Research*, 53(6), 452-460.
- Demirkan, H., 2005. Bazı bitki parçalarının *Orobanche ramosa* L'nın gelişimine olan allelopatik etkilerinin araştırılması. *Ege Üniv Ziraat Fak Dergisi* 42(3): 45-54.

- Doğan Y., 2014. Mardin Kızıltepe Ekolojik Koşullarında Kışlık Olarak Yetiştirilebilecek Nohut (*Cicer arietinum* L.) Çeşitlerin Belirlenmesi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 31 (1), 40-49.
- drought of three bean cultivars, *Biol. Plant.* (50), 389-394.
- FAO (Food and Agriculture Organization), 2009. <http://www.fao.org>
- FAO (Food and Agriculture Organization), 2010. <http://www.fao.org>
- Fernández-Aparicio M., Perez-de-Luque A., Prats E., Rubiales D., 2008. Variability of interactions between barrel medic (*Medicago truncatula*) genotypes and orobanche species. *Ann Appl Biol* 153: 117–126.
- Foyer C. H., Halliwell B., 1976. Presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: A proposed role in ascorbic acid metabolism. *Planta*, 133: 21-25.
- Gara L., Pinto M. C. ve Tommasi F., 2003. The Antioxidant Systems vis-a-vis Reactive Oxygen Species During Plant-Pathogen Interaction. *Plant Physiol. and Biochemistry*, 41: 863-870.
- Garg N. and Manchanda G., 2009. ROS generation in plants: boon or bane? *Plant Biosys.* 143(1), 81-96.
- Gauthier M., Veronesi C., El-Halmouch., Leflon M., Jestin C., Labalette., Simier P., Delourme R. ve Delavault P., 2012. Characterisation of resistance to branched broomrape, *Phelipanche ramosa*. *Crop Protection* 42: 56-63.
- Giannipolities N. ve Ries S.K., 1977. Superoxide Dismutase Occurrence in Higher Plants. *Plant. Physiol.* 59: 309-314.
- Gill S. S. ve Tuteja N., 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry*, 48(12), 909-930.
- Goldwasser Y., Hershenhorn J., Plakhine D., Kleifeld Y. and Rubin, B., 1999. Biochemical Factors Involved in Vetch Resistance to *Orobanche aegyptiaca*. *Physiological And Molecular Plant Pathology*, 54:87-96.

- Görkem H.N., 2011. Bazı Patlıcan Çeşitlerinin Antioksidan Savunma Sistemi Üzerine Canavar Otu (*Phelipanche ramosa* (L.) Pomel) Parazitinin Etkilerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Türkiye.
- Guan G.F., Wang Y.S., Cheng H., Jiang, Z.Y. and Fei J., 2015. Physiological and biochemical response to drought stress in the leaves of *Aegiceras corniculatum* and *Kandelia obovata*. *Ecotoxicology*, 24 (7-8), 1668-1676.
- Gunes, A., Inal, A., Adak, M. S., Bağcı, E. G., Cicek, N. ve Eraslan, F., 2008. Effect of drought stress implemented at pre-or post-anthesis stage on some physiological parameters as screening criteria in chickpea cultivars. *Russian Journal of Plant Physiology*, 55(1), 59-67.
- Gürbüz A., Kaya M., Divanlı Türkan A., Kaya G., Kaya M.D. ve Çiftçi C.Y., 2009. Bazı Nohut (*Cicer arietinum* L.) Çeşitlerinde Tane İriliği ve Kuraklık Stresinin Çimlenme Özelliklerine Etkisi, *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22 (1), 69-74.
- Gürbüz Y., Kaplan, M. ve Davies, D. R., 2008. Effect of Condensed Tannin Content on Digestibility and Determination of Nutritive Value of Selected Some Native Legumes Species. *J. Anim. Vet. Adv*, 7(7), 854-562.
- He M., Shi D., Wei X., Hu Y., Wang T. and Xie, Y., 2016. Gender-related differences in adaptability to drought stress in the dioecious tree *Ginkgo biloba*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 38(5), 1-14.
- ICARDA, 1989. Food Legume Improvement Program: Annual Report 1988. ICARDA, Aleppo, Syria.
- Ishikawa T. ve Shigeoka S., 2008. Recent advances in ascorbate biosynthesis and the physiological significance of ascorbate peroxidase in photosynthesizing organisms. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 72, 1143_1154.
- Jiang M., Zhang J., 2001. Effect of abscisic acid on active oxygen species, antioxidative defence system and oxidative damage in leaves of maize seedlings. *Plant and Cell Physiology*, 42(11), 1265-1273.
- Kadıoğlu A., 2007. Bitki Fizyolojisi. Esen Trabzon: OfsetMatbaacılık.

- Kalefetoğlu T. ve Ekmekçi Y., 2005. The effects of drought on plants and tolerance mechanisms., G.U. Journal of Science, 18(4), 723-740.
- Kanner J., Kinsella J. E., 1983. Lipid deterioration initiated by phagocytic-cells in muscle foods - beta-carotene destruction by a myeloperoxidase hydrogen-peroxide halide system. J. Agric. Food Chem., 31: 370-376.
- Karaküllükçü E. ve Adak M.S., 2008. Bazı Nohut (*Cicer arietinum* L.) Çeşitlerinin Tuza Toleranslarının Belirlenmesi. Tarım Bilimleri Dergisi, 14 (10), , 313-319, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi.
- Kaya M. ve Şanlı A., 2008. Ekim Derinliğinin Nohut (*Cicer arietinum* L.) Çeşitlerinde Kök ve Toprak Üstü Organlarının İlk Gelişmesine Etkisi. Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 12-2, 115-122, Süleyman Demirel Üniversitesi.
- Kayan N., 2012. Farklı Gelişme Dönemlerinde Uygulanan Sulamanın Bazı Nohut (*Cicer arietinum* L.) Çeşitlerinde Verim ve Verim Öğelerine Etkisi. YYÜ TAR BİL DERG, 22 (1), 40-47.
- Klein O., Kroschel J., 2002. Biological control of *Orobanche* spp. with *Phytomyza Orobanchia*, A Review. *Bio Control* 47: 245–277.
- Kukreja S., Nandwal A. S., Kumar N., Sharma S. K., Unvi V. and Sharma P. K., 2005. Plant water status, H₂O₂ scavenging enzymes, ethylene evolution and membrane integrity of *Cicer arietinum* roots as affected by salinity. *Biologia Plantarum*, 49(2), 305-308.
- Labrousse P., Arnaud M.C., Griveau Y., Fer A., Thalouarn, P., 2004. Analysis of resistance criteria of sunflower recombined inbred lines against *Orobanche cumana* Wallr. *Crop protection*, 23: 407-413.
- Linke K.H., Singh K.B., Saxena M.C., 1991. Screening technique for resistance to *Orobanche crenata* Forks. in chickpea. *International Chickpea Newsletter* 24, 32–34.
- Linnaeus C., 1753. *Species Plantarum*. Tomus II: 738.
- Luque A. P., Jorriñ J., Cubero J. I. and Rubiales, D., 2005. *Orobanche crenata* Resistance And Avoidance in Pea (*Pisum* spp.) Operate at Different Developmental Stages of

- The Parasite European Weed Research Society. *Weed Research*, 45: 379–387.
- Madhava R. K. V., Sresty T. V. S., 2000. Antioxidative parameters in the seedlings of pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Millspaugh) in response to Zn and Ni stresses. *Plant Sci.*, 157: 113-128.
- Mafakheri A., Siosemardeh A., Bahramnejad B., Struik P. C. ve Sohrabi Y., 2011. Effect of drought stress and subsequent recovery on protein, carbohydrate contents, catalase and peroxidase activities in three chickpea (*Cicer arietinum*) cultivars. *Australian Journal of Crop Science*, 5(10), 1255.
- Mafakheri A., Siosemardeh A., Bahramnejad B., Struik P.C., Sohrabi Y. , 2010. Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll contents in three chickpea cultivars. *Aust. J. Crop Sci.*, 4, 580–585.
- Malhotra R. S., Sarker A., Saxena M. C., 2004. Drought tolerance in chickpea and lentil—present status and future strategies. *Challenges and Strategies of Dryland Agriculture*, (challengesandst), 257-273.
- Mauromicale G., Monaco A. L. ve Longo A. M., 2008. Effect of branched broomrape (*Orobanche ramosa*) infection on the growth and photosynthesis of tomato. *Weed Science*, 56(4), 574-581.
- McCord J. M., Keele B. B. ve Fridovich I., 1971. An enzyme-based theory of obligate anaerobiosis: the physiological function of superoxide dismutase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 68(5), 1024-1027.
- Microbiol.*, 51, 157–168.
- Moller I. M., Jensen P. E. ve Hansson A., 2007. Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 58, 459-481.
- Nakano Y., Asada K., 1981 Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiol.*, 22(5): 867-880.
- Nayar S., Sharma P., Soni V. ve Malik C.P., 2013. Effect of Drought Stress on Antioxidant Enzyme Activity in Two Cultivars of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) under in vitro conditions. *Jour. Pl. Sci. Res.*, 29(1), 105-11.

- Noctor G., Foyer, C. H., 1998. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annual review of plant biology*, 49(1), 249-279.
- Özkal B., 2014. Biyotik Stresin (*Phelipanche aegyptiaca*) Bitki Aktivatörleri Uygulanan Domates Bitkisinde Biyokimyasal ve Fizyolojik Etkileri. Yüksek Lisans Tezi. Çanakkale, Türkiye.
- Pan Y., Wu L.J. and Yu Z.L., 2006. Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch), *Plant Growth Regul.* 49 (2-3), 157-165.
- Parker C., 2009. Observations on the current status of *Orobanche* and *Striga* problems worldwide. A Review. *Pest Manag Sci.* 65: 453–459.
- Patel P.K. ve Hemantaranjan A., 2012. Antioxidant Defense System in Chickpea (*Cicer arietinum* L.): Influence by Drought Stress Implemented at Pre- and Post-anthesis Stage. *Amerikan Journal of Plant Physiology*, 7(4), 164-173.
- Perez-De-Luque A., Jorriñ J., Cubero J.I. ve Rubiales D., 2005. *Orobanche crenata* resistance and avoidance in pea (*Pisum* spp.) operate at different developmental stages of the parasite. *European Weed Research Society Weed Research*, 45, 379-387.
- Popelka J. C., Higgins T. V. J., 2007. Transgenic Crops IV. In: III.5. Chickpea. *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, (59): 251-262.
- Rai G.K., Rai N.P., Rathaur S., Kumar S., Singh M., 2013. Expression of rd29A:: *AtDREB1A/CBF3* in tomato alleviates drought-induced oxidative stress by regulating key enzymatic and non-enzymatic antioxidants. *Plant physiology and biochemistry*, 69, 90-100.
- Reizelman-Lucasen, A., 2003. Synthesis and Function of Germination Stimulants for Seed of Parasitic Weeds *Striga* and *Orobanche* spp. (Doktora tezi). Nijmegen University, Nijmegen, Holland.
- Rizza F., Badeck F.W., Cattivelli L., Li Destri O., Di Fonzo N., ve Stanca A.M., 2004. Use of a water stress index to identify barley genotypes adapted to rainfed and irrigated conditions. *Crop Sci.*, 44, 2127-2137.

- Romero-Puertas M. C., Corpas F. J., Sandalio L. M., Leterrier M., Rodríguez- Serrano M., Del Río L. A. and Palma J. M., 2006. Glutathione reductase from pea leaves: response to abiotic stress and characterization of the peroxisomal isozyme. *New phytologist*, 170(1), 43-52.
- Rubiales D. ve Fernández-Aparicio M., 2012. Innovations in parasitic weeds management in legume crops. A review. *Agronomy for sustainable development*, 32(2), 433-449.
- Rubiales D., Alcántara C., Pérez-de-Luque A., Gil J., Sillero J.C., 2003. Infection by crenate broomrape (*Orobanche crenata*) in chickpea (*Cicer arietinum*) as influenced by sowing date, weather conditions and genetic resistance. *Agronomie* 23, 359–362.
- Rubiales D., Fernández-Aparicio M., Wegmann K. ve Joel D. M., 2009. Revisiting strategies for reducing the seedbank of *Orobanche* and *Phelipanche* spp. *Weed Res* 49: 23-33.
- Rubiales, D., Alcántara, C., Sillero, J. C., 2004. Variation in resistance to *Orobanche crenata* in species of *Cicer*. *Weed Research*, 44(1), 27-32.
- Saglam A., Terzi R. ve Demiralay M., 2014. Effect of polyethylene glycol induced drought stress on photosynthesis in two chickpea genotypes with different drought tolerance. *Acta Biologica Hungarica*, 65(2), 178-188.
- Sairam R.K., Srivastava G.C., Saxena D.C., 2000. Increased antioxidant activity under elevated temperatures: a mechanism of heat stress tolerance in wheat genotypes. *Biol Plant* 43: 245–251.
- Sauerborn J., Müller-Stöver D., Hershenhorn J., 2007. The role of biological control in managing parasitic weeds. *Crop Protection* 26: 246–254.
- Saxena M. C., 1990. Problems and Potential of Chickpea Production in the Nineties. *Chickpea in the Nineties* : 13-25.
- Saxena N. P., Johansen C., Saxena M. C., Silim S. N., 1993. Selection for drought and salinity tolerance in cool-season food legumes. agris.fao.com
- Şen B., 2013. Bazı Domates Varyetelerinde Tuz Stresinin (NaCl) ve Biyotik Stresin (*Phelipanche aegyptiaca*) Biyokimyasal ve Fizyolojik Etkileri. Yüksek Lisans Tezi.

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Türkiye.

Sharma P. and Dubey R.S.,2005. Modulation of nitrate reductase activity in rice seedlings under aluminium toxicity and water stress: role of osmolytes as enzyme protectant, J. Plant Physiol. (162), 854-864.

Sharma P., Jha A. B., Dubey R. S. ve Pessarakli M., 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. Journal of Botany, 2012.

Singh K. B., Malhotra R. S., Halila M. H., Knights E. J., Verma, M. M., 1994. Current status and future strategy in breeding chickpea for resistance to biotic and abiotic stresses. In Expanding the Production and Use of Cool Season Food Legumes (pp. 572-591). Springer Netherlands

Singh K.B., 1990. Problems and prospects of stress resistant breeding in chickpea. In: Breeding for Stress Tolerance in Cool-Season Food Legumes. Ravello (Italy), 10-12 Sep. 1990, ICARDA.

Singh K.B., 1997. Chickpea (*Cicer arietinum* L). Field Crops Res., 53(1-3), 161-170.

Singh K.B., Malhotra R.S. ve Witcombe J.R., 1983. Kabuli Chickpea Germplasm Catalog. ICARDA, Aleppo, Syria.

Srivastava A. K., Bhargava P. and Rai L. C., 2005. Salinity and copper-induced oxidative damage and changes in the antioxidative defence systems of *Anabaena doliolum*. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 21(6-7), 1291-1298.

Toğay N., Toğay Y., Erman M., Doğan Y. ve Çığ F., 2005. Kuru ve Sulu Koşullarda Farklı Bitki Sıklıklarının Bazı Nohut (*Cicer arietinum* L.) Çeşitlerinde Verim ve Verim Ögelerine Etkileri. Tarım Bilimleri Dergisi, 11 (4), 417-421.

TÜİK (Türkiye İstatistik Kurumu), 2014. Kuru baklagiller. <http://www.tuik.gov.tr/>

Türkan I., Bor M., Özdemir F., Koca H., 2005. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant *P. acutifolius* Gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. Plant Sci. 168, 223_231.

Vadez V., Kholova J., Choudhary S., Zindy P., Terrier M., Krishnamurth L., Kumar P.R. ve Turner N.C., 2011. Whole plant response to drought under climate change. In: Crop adaptation to climate change. (Eds S.S. Yadav, R. Redden, J.L. Hatfield, H. Lotze-Campen, A.E. Hall). Chichester-Wiley-Blackwell.

Xie X., Yoneyama K. ve Yoneyama K. 2010. The strigolactone story. *Annu. Rev. Phytopathol.* 48: 93-117.

Zlatev Z.S Lidon, F.C., Ramalho J.C. and Yordanov I.T.,2006. Comparison of resistance to drought of three bean cultivars. *Biologia Plantarum*, 50(3), 389-394.



ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Buşra ÇALIK

Doğum Yeri : Mersin

Doğum Tarihi : 03/02/1990

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Yüksek Lisans Öğrenimi : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Erasmus Eğitimi: University of Debrecen, Macaristan

Bildiği Yabancı Diller : İngilizce (Advanced), Macarca (A1)

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

Ulusal:

1. Demirbaş S., Acar O., Çalık B., Çobanoğlu M.S., Günay E., Teker M., Tuz Stresinin *Triticum aestivum* L. Bitkisinin Spesifik Yaprak Alanı, Yaprak Kütle Alanı, Büyüme, Bağlı Su İçeriği ve Tohum Çimlenmesine Etkisi, 22. Ulusal Biyoloji Kongresi 2014, 23-27 Haziran, Eskişehir.
2. Demirbaş S., Acar O., Çobanoğlu M.S., Günay E., Killi D., Çalık B., Teker M., *Cucurbita pepo* L. Bitkisinde NaCl ve CaCl₂ Uygulamalarının Fotosentetik Verim Parametreleri Üzerine Etkisi, 22. Ulusal Biyoloji Kongresi 2014, 23-27 Haziran, Eskişehir.
3. Acar O., Demirbaş S., Çalık B., Çobanoğlu M.S., Günay E., Teker M., Killi D., Bazı Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) Çeşitlerinde Tuz Stresine Karşı Büyüme ve Klorofil Flüoresan Parametrelerinde Meydana Gelen Değişimler, 22. Ulusal Biyoloji Kongresi 2014, 23-27 Haziran, Eskişehir.

Uluslararası:

1. Demirbaş S., Acar O., Teker M., Killi D., Çobanoğlu M.S., Günay E., Çalık B., Salt stress-induced alterations in chlorophyll fluorescence parameters of two cucumber plant varieties, Konstantin Preslavsky University Of Shumen, Faculty of Natural Science, Department of Biology, Second Student Scientific Conference "Ecology and Environment", 16-17 May, 2014.
2. Demirbaş S., Acar O., Günay E., Killi D., Teker M., Çobanoğlu M.S., Çalık B., Alterations in chlorophyll fluorescence parameters of melon plants under CaCl₂ and NaCl stress, Konstantin Preslavsky University Of Shumen, Faculty of Natural Science, Department of Biology, Second Student Scientific Conference "Ecology and Environment", 16-17 May, 2014.

c) Katıldığı Projeler

Kuraklık Stresi ve *Orobanche crenata* Enfeksiyonuna Maruz Bırakılan Kuraklığa Toleransları Farklı Nohut (*Cicer arietinum* L.) Çeşitlerinde Antioksidan Savunma Yanıtları, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP), 2014-334

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl :

Stajyer - Mersin Sistem Tıp Merkezi Laboratuvarı – 2009

Eğitim Danışmanlığı - New Yurt Dışı Eğitim - 2016

İLETİŞİM

E-posta Adresi : calikbusra33@gmail.com